

СОДЕРЖАНИЕ

Том 141, номер 6, 2021

Модификации комаров для профилактики и контроля трансмиссивных заболеваний <i>Е. В. Шайкевич</i>	523
Разработка новых живых туляремийных вакцин – проблемы и перспективы <i>М. И. Кормилицына</i>	539
Нейрофизиологические корреляты нарушения развития при расстройствах аутистического спектра (РАС) <i>К. Р. Салимова</i>	557
Изменчивость бурого медведя и проблема измельчания особей <i>С. В. Пучковский</i>	567
Опережающее размножение как один из механизмов регуляции популяционных циклов у млекопитающих <i>В. А. Вехник</i>	581
Современное состояние идентификационной птилологии в России <i>О. Л. Силаева, О. Ф. Чернова</i>	595
Генетические детерминанты хлебопекарных качеств зерна и аллельное состояние <i>waхu</i> -генов мягкой пшеницы <i>А. А. Галимова, Б. Р. Кулуев</i>	611

РЕЦЕНЗИИ

Г.А. Савостьянов. Структурные основы биологии развития и трехмерной гистологии. Новый подход к изучению канцерогенеза. СПб.: Лема, 2020. 832 с.

И. В. Змитрович

622

Contents

Vol. 141, No. 6, 2021

Modified Mosquitoes for the Prevention and Control of Vector-Borne Diseases <i>E. V. Shaikevich</i>	523
Development of New Live Tularemia Vaccines – Problems and Prospects <i>M. I. Kormilitsyna</i>	539
Neurophysiological Correlates of Impaired Development in Autism Spectrum Disorders (ASD) <i>K. R. Salimova</i>	557
Variability of Brown Bear and the Problem of Decreasing of Individual Size <i>S. V. Puchkovskiy</i>	567
Anticipatory Reproduction as One of the Mechanisms of Regulation of Birth Rate in Mammals <i>V. A. Vekhnik</i>	581
The Current State of Identification Ptilology in Russia <i>O. L. Silaeva, O. F. Chernova</i>	595
Genetic Determinants of Grain Baking Qualities and Allelic State of <i>waxy</i> Genes of Soft Wheat <i>A. A. Galimova, B. R. Kuluev</i>	611

Reviews

G.A. Savostyanov. Structural Bases of Developmental Biology and 3D Histology. New Approach to Carcinogenesis Studies. St. Petersburg: Lema, 2020. 832 p. <i>I. V. Zmitrovich</i>	622
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

УДК 577.2.579.2.614.449

МОДИФИКАЦИИ КОМАРОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И КОНТРОЛЯ ТРАНСМИССИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

© 2021 г. Е. В. Шайкевич*

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

*e-mail: elenashaikevich@mail.ru

Поступила в редакцию 28.04.2021 г.

После доработки 30.05.2021 г.

Принята к публикации 30.05.2021 г.

Трансмиссивные болезни человека, вызванные паразитами, вирусами, бактериями и передаваемые комарами и другими кровососущими насекомыми, — одна из приоритетных тем здравоохранения в мире. Недостаточное количество или полное отсутствие эффективных вакцин для особо опасных инфекций и устойчивость наиболее компетентных переносчиков к инсектицидам определили потребность в эффективных инновационных стратегиях минимизации заболеваний. Предлагаемый обзор — первое на русском языке обобщение научных и практических достижений в модификации комаров с помощью внутриклеточной симбиотической бактерии *Wolbachia* для снижения распространения патогенов. Суммирование имеющихся данных может послужить стимулом для создания отечественных стратегий контроля за переносчиками.

Ключевые слова: трансмиссивные болезни, комары, симбиотическая бактерия *Wolbachia*

DOI: 10.31857/S0042132421060077

ВВЕДЕНИЕ

Трансмиссивные заболевания, возбудителей которых переносят комары, — вирусные лихорадки денге, чикунгунья, Зика, Западного Нила и менее известные другие, а также малярия и филяриозы — регистрируются сотнями тысяч ежегодно (WHO, 2020). Существуют большие сложности в их лечении и профилактике. В России вспышки лихорадки Западного Нила регистрируются ежегодно, и вирус был определен в комарах двух форм *Culex pipiens* в Волгограде (Федорова и др., 2015). В 2020 г. 316 местных случаев заражения людей лихорадкой Западного Нила, в том числе 38 смертельных случаев, было зарегистрировано в Европейских странах (<https://www.ecdc.europa.eu>). Тенденция повышения заболеваемости населения лихорадкой Западного Нила в РФ зафиксирована в 2019 г., особенно на территории Южного федерального округа (90% от всей заболеваемости в РФ). На территории Волгоградской обл. выявлено одновременное присутствие в комарах *Culex pipiens* и *Culex modestus* вируса Западного Нила и вируса Синдбис (Путинцева и др., 2020). Зараженные инфекционными личинками диروفиларий комары родов *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* и *Coquillettidia* найдены на юге и в центральной европейской части РФ (Shaikevich et al., 2019). Основным переносчиком денге *Aedes aegypti* до недавнего времени был широко распространен по по-

бережью Черного моря на юге РФ (Шайкевич и др., 2018). В Краснодарском крае обнаружены укоренившиеся популяции инвазивных комаров *Aedes albopictus*, имеющие разное происхождение (Федорова и др., 2019); комары этого вида стремительно распространяются по всему миру и переносят возбудителей тяжелых инфекционных лихорадок. *Ae. albopictus* — потенциальные переносчики вируса Зика, вероятность местной передачи которого на северо-восточном побережье Черного моря считается высокой (WHO, 2020). Завозные случаи малярии все чаще регистрируются в России, а подходящие условия для переносчиков, комаров рода *Anopheles*, в связи с потеплением климата делают вероятным появление местной передачи паразита.

Рост населения, урбанизация, глобализация и потепление климата способствуют быстрому появлению и циркуляции арбовирусов (WHO, 2020), а эффективных вакцин для людей пока недостаточно, хотя работы в этом направлении постоянно ведутся (Thompson et al., 2020). Стандартные стратегии профилактики заболеваний обычно сосредоточены на борьбе с комарами: ликвидация мест размножения и использование инсектицидов для быстрого и эффективного уничтожения комаров. Действенный метод сокращения популяций комаров с помощью осушения мест выплода личинок основан на интуитивном

предположении, что, поскольку передача вируса зависит от укуса инфицированного комара, сокращение количества комаров снизит передачу патогенов. Однако полностью уничтожить популяции комаров трудно, и влияние на заболеваемость, если подавление популяции будет лишь частичным, не так уж очевидно (Flores, O'Neill, 2018). А массовое применение инсектицидов способствовало появлению и закреплению мутаций, приводящих к резистентности комаров. Актуальность проблемы в тропических и субтропических странах привела к разработке новых стратегий борьбы с комарами. Модификации комаров представляют собой многообещающий инструмент для борьбы с переносчиками и, как следствие, профилактики болезней. Модифицированные комары успешно выпускаются в природу на различных континентах (Caruto et al., 2020; Crawford et al., 2020; Ryan et al., 2020) и практически ликвидировали заболеваемость лихорадкой денге в одном из районов Австралии (O'Neill et al., 2018). Последнее десятилетие отмечено интенсивными исследованиями в этом направлении.

СТРАТЕГИИ МОДИФИКАЦИИ КОМАРОВ

Многочисленные подходы к модификации комаров можно подразделить на два направления: 1) сокращение численности существующих популяций – выпуск в природу модифицированных насекомых, что приводит к подавлению или искоренению естественных популяций переносчиков; 2) замещение природных популяций – изменение и выпуск в природу комаров, устойчивых к передаче патогена, что должно привести к замене особей в популяции и предотвращению передачи возбудителей. К основным методам модификации комаров относятся стерилизация, трансгенез и методы, основанные на применении симбиотической бактерии *Wolbachia pipientis* (далее *Wolbachia*).

Подходы к сокращению численности популяции комаров предполагают выращивание и выпуск большого количества исключительно самцов, которые не могут произвести жизнеспособное потомство при спаривании с дикими самками. В течение многих поколений постоянного выпуска таких самцов размер популяции переносчиков должен существенно уменьшиться, что, в свою очередь, должно снизить передачу болезни. Применяются при такой стратегии метод стерильных насекомых, метод несовместимых насекомых и различные методы генетической модификации самцов (Flores, O'Neill, 2018). Еще в середине XX в. разработан метод стерильных насекомых SIT (sterile insect technique) – это радиационная или химическая обработка самцов комаров, которая делает их бесплодными (Knipling, 1959). Современные модифицированные версии этого метода, основанные на стерильности самцов комаров,

обеспечиваемой доминантным летальным трансгеном, применялись в полевых условиях для подавления популяций *Ae. aegypti* (Harris et al., 2012; Carvalho et al., 2015). Когда их выпускают в поле, они спариваются с самками дикого типа, которые не могут производить потомство. Техника несовместимых насекомых ИТ (incompatible insect technique) – это выпуск инфицированных бактерией *Wolbachia* самцов, которые при спаривании с самками дикого типа, не содержащими *Wolbachia*, или с самками, имеющими другую несовместимую разновидность *Wolbachia*, не дают потомства из-за несовместимости цитоплазмы (Hoffmann et al., 2011; Dimopoulos 2019; Zheng et al., 2019; Crawford et al., 2020).

Подходы к замещению популяции, напротив, включают выпуск как самцов, так и самок комаров, несущих наследственный фактор, который снижает или блокирует их способность передавать возбудителей болезней. По мере того как модифицированные комары спариваются с дикими комарами, этот фактор будет распространяться по популяции, эффективно делая комаров неспособными передавать патоген без необходимости подавления численности популяции (Flores, O'Neill, 2018). В качестве наследуемого фактора, блокирующего патогены, применяются трансгенные технологии (Williams et al., 2020; Nolan, 2021) и эндосимбиотическая бактерия *Wolbachia* (Ye et al., 2015; Aliota et al., 2016a,b; Dutra et al., 2016; Rocha et al., 2019).

Данный обзор посвящен результатам и перспективам использования симбиотической бактерии *Wolbachia* для снижения эпидемиологической значимости кровососущих комаров. *Wolbachia pipientis* – это встречающийся в природе бактериальный эндосимбионт (Hertig, 1936; Yen, Barr, 1971), который, по современным оценкам, присутствует у 66% всех видов насекомых и у 30% видов комаров (Da Silva et al., 2021). Изучено, что *Wolbachia*, во-первых, блокирует патогены и, во-вторых, быстро распространяется по популяции за счет нарушения системы размножения комаров (цитоплазматической несовместимости) таким образом, что в следующем поколении численно преобладают зараженные симбионтом особи.

Цитоплазматическая несовместимость (ЦН) (cytoplasmic incompatibility, CI) проявляется, когда инфицированные *Wolbachia* самцы комаров спариваются с незараженными самками, в результате полученное потомство погибает на раннем этапе эмбриогенеза. Напротив, самки, инфицированные *Wolbachia*, производят жизнеспособное, инфицированное *Wolbachia* потомство при спаривании с любым самцом, тем самым пропорционально увеличивая число инфицированных *Wolbachia* особей в популяции. ЦН проявляется также, если самка и самец инфицированы разными

штаммами *Wolbachia* (Laven, 1967; Guillemaud et al., 1997). Методы заражения комаров включают трансинфекцию *Wolbachia* с помощью микроинъекций эмбрионов и интродукцию бактерии путем межвидовой гибридизации. В случае необходимости усиления противопатогенных характеристик или проявления ЦН применяют суперинфекции многими штаммами *Wolbachia*. Суперинфицированные (многими штаммами) комары могут быть использованы для внедрения в популяции, уже естественно инфицированные одним из штаммов *Wolbachia*.

РАЗЛИЧНЫЕ ШТАММЫ *Wolbachia* И КОМПЕТЕНЦИЯ ВЕКТОРОВ

Особенно значимыми в эпидемиологическом аспекте видами комаров являются *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus* и комплекс видов *Culex pipiens* – переносчики опасных арбовирусов человека, комары рода *Anopheles* – переносчики возбудителей малярии. Поэтому основные эксперименты по контролю связаны именно с этими видами. Компетентность переносчика (от англ. vector competence) определяется как “способность переносчика передавать патоген”, включает в себя способность вектора инфицироваться, поддерживать и передавать инфекционный агент (Beerntsen et al., 2000). Искусственное заражение некоторыми штаммами *Wolbachia* снижает компетентность переносчиков или вызывает полное блокирование патогенов – ограничение репликации вирусов или размножения бактерий, простейших и филярий в тканях, что приводит к снижению вероятности передачи инфекции у комаров, инфицированных *Wolbachia*. Информация о видах комаров, штаммах бактерии, об антипатогенной способности и ссылки на работы показаны в табл. 1.

Степень влияния разных штаммов *Wolbachia* на комаров генетически различающихся линий или видов неодинакова. Полное подавление репликации вирусов обеспечивают штаммы с повышенной плотностью в клетках, например линия попкорн *wMelPop* у дрозофил (Min, Benzer, 1997). Штамм *wMelPop* или *wMelPop-CLA*, изолят *wMelPop*, адаптированный к клеточной линии комаров (McMeniman et al., 2009), быстро реплицируется в клетках своих хозяев и очень эффективен в ограничении репликации и передачи широкого спектра арбовирусов человека, включая вирус денге DENV (Moreira et al., 2009; Bian et al., 2010), чикунгуньи CHIKV (Moreira et al., 2009; van den Hurk et al., 2012), желтой лихорадки YF (Moreira et al., 2009; van den Hurk et al., 2012) и Западного Нила WNV (Hussain et al., 2013). Заражение инфицированных *wMelPop* самок *Ae. aegypti* филяриями *Brugia pahangi* действительно приводило к >50%-ному сокращению числа микрофилярий, развивающихся до стадии L3 (инфекцион-

ной), по сравнению с контролем, при одинаковой плотности заражения микрофиляриями (Kambris et al., 2009). В *Ae. aegypti*, инфицированных *wMelPop*, нарушена способность переносить возбудителя птичьей малярии *Plasmodium gallinaceum* (Moreira et al., 2009). В лабораторном эксперименте было показано, что заражение *wMelPop* придает устойчивость *Anopheles gambiae* к плазмодиям *Plasmodium berghei* (Kambris et al., 2010; Hughes et al., 2012) и *Plasmodium falciparum* (Hughes et al., 2011). Однако *wMelPop* снижает приспособленность комаров (табл. 2) и тем самым имеет ограничения в распространении и сохранении в природных популяциях комаров, и поэтому не пригоден для программ контроля (McMeniman, O'Neill, 2010; Year et al., 2011; Nguyen et al., 2015; Ross et al., 2016). В *Ae. albopictus* трансинфекция *wMelPop* привела к драматичному снижению жизнеспособности комаров (табл. 2) и отнесена к патогенным симбиозам (Suh et al., 2009). В работе (Ross et al., 2019b) приводится наиболее полный обзор влияния разных штаммов *Wolbachia* на жизнеспособность комаров.

Штамм *wMel*, изолированный из дрозофил, у *Ae. aegypti* блокирует репликацию DENV (Walker et al., 2011; Frentiu et al., 2014; Ye et al., 2015), вируса Зика ZIKV (Aliota et al., 2016a; Dutra et al., 2016) и CHIKV (Aliota et al., 2016b) без значительного снижения приспособленности (Walker et al., 2011). *wMel* также способен быстро распространяться и сохраняться в популяциях комаров (Hoffmann et al., 2011, 2014; Walker et al., 2011; O'Neill et al., 2018). Однако комар-хозяин может потерять *wMel* при тепловом стрессе (Ulrich et al., 2016; Ross et al., 2017), что потенциально снижает степень блокировки вируса и целесообразность использования данного штамма в жарком тропическом климате.

Штамм *Wolbachia wAlbB*, выделенный из комаров *Ae. albopictus*, оказался более стабильным, чем дрозофилиные *wMelPop* и *wMel* при высоких температурах в лаборатории и в поле (Ross et al., 2017, 2019a). При высоких температурах *wAlbB* после инъекций в *Ae. aegypti* показал относительно высокую и стабильную плотность бактерий в клетках и высокую вероятность передачи инфекции от матери (Ross et al., 2017, 2019a; Ant et al., 2018). *wAlbB* быстро распространились в лабораторной популяции *Ae. aegypti* (Xi et al., 2005). Не менее чем у 40% комаров *Ae. aegypti wAlbB* блокирует передачу DENV (Bian et al., 2010; Ant et al., 2018). Двойная инфекция *wAlbB/wMel* показала повышенный уровень ингибирования патогенов в *Ae. aegypti*, по сравнению с составляющими ее штаммами (Joubert et al., 2016).

После трансинфекции *wAlbB* так же, как и *wMelPop*, у комаров *Anopheles gambiae* развитие ооцист малярийного паразита человека *Plasmodi-*

Таблица 1. Штаммы *Wolbachia* в комарах-переносчиках болезней, патогены, на которые они влияют, термоустойчивость штаммов

Вид комара	Штамм <i>Wolbachia</i>	Источник <i>Wolbachia</i>	Снижение передачи патогена	Термоустойчивость штамма <i>Wolbachia</i>	Источник
<i>Aedes aegypti</i>	wMelPop	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Brugia pahangi</i>	Низкая	Kambiris et al., 2009
	wMelPop-CLA	<i>Dr. melanogaster</i>	CHIKV, DENV, <i>Plasmodium gallinaceum</i>	Низкая	Morcira et al., 2009
	wMelPop-CLA/wMel	<i>Dr. melanogaster</i>	DENV-2	Низкая	Walker et al., 2011
	wMel/wMelPop	<i>Dr. melanogaster</i>	YF, CHIKV	Низкая	van der Hurk et al., 2012
	wMel	<i>Dr. melanogaster</i>	DENV	Низкая	Frentiu et al., 2014
	wMel	<i>Dr. melanogaster</i>	DENV	Низкая	Carrington et al., 2017
	wMel	<i>Dr. melanogaster</i>	ZIKV	Низкая	Dutra et al., 2016
	wMel	<i>Dr. melanogaster</i>	ZIKV/DENV	Низкая	Caragata et al., 2019
	wAlbB	<i>Aedes albopictus</i>	DENV	Высокая	Bian et al., 2010; Ant et al., 2018
	wAlbA	<i>Ae. albopictus</i>	ZIKV	Высокая	Chouin-Carneiro et al., 2019
	wMel/wAlbB	<i>Dr. melanogaster/Ae. albopictus</i>	DENV	Высокая	Joubert et al., 2016
	wAu	<i>Drosophila simulans</i>	DENV, ZIKV	Высокая	Ant et al., 2018
	wAlbB	<i>Ae. albopictus</i>	ZIKV	Высокая	Ant et al., 2018
	wMelCS	<i>Dr. melanogaster</i>	DENV-3	Низкая	Fraser et al., 2017
wPip	<i>Culex quinquefasciatus</i>	нет влияния	Высокая	Fraser et al., 2020	
<i>Aedes albopictus</i>	wMel	<i>Dr. melanogaster</i>	DENV	Низкая	Blagrove et al., 2012
	wAlbA/wAlbB	собственные	DENV	Высокая	Mousson et al., 2012
	wMel	<i>Dr. melanogaster</i>	CHIKV	Низкая	Blagrove et al., 2013
	wAlbB	<i>Ae. albopictus</i>	CHIKV	Высокая	Raquin et al., 2015
	wMelPop-CLA	<i>Dr. melanogaster</i>	DENV	Низкая	Frentiu et al., 2010
	wAu/wAlbA/wAlbB	<i>Dr. simulans/собств.</i>	DENV, ZIKV	Высокая*	Mancini et al., 2020
<i>Aedes polynesiensis</i>	wAlbB	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Brugia pahangi</i>	Высокая	Andrews et al., 2012
	wAlbB/wPolA	<i>Ae. albopictus/собств.</i>	DENV	Высокая	Bian et al., 2013
<i>Anopheles gambiae</i>	wAlbB	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>	Высокая	Hughes et al., 2011
	wMelPop	<i>Dr. melanogaster</i>	<i>Plasmodium berghei</i>	Низкая	Hughes et al., 2012
<i>Anopheles stephensi</i>	wAlbB	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>	Высокая	Bian et al., 2013
	wAlbB	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Plasmodium yoelii</i>	Высокая	Murdock et al., 2014
<i>Culex quinquefasciatus</i>	wPip	собств.	WNV	Высокая	Glaser, Meola, 2010

Примечание: * – выше, чем у комаров с природной *Wolbachia*.

Таблица 2. Эффекты штаммов на приспособленность комаров

Вид комара	Штамм <i>Wolbachia</i>	ЦН	Плодовитость самок	Скорость выплода личинок из яиц	Долгожительность	Источник
<i>Aedes aegypti</i>	wMelPop-CLA	+99%	Снижена	Снижена	40% снижено	Moreira et al., 2009; McMeniman et al., 2009; Yeap et al., 2011
	wMel	+100%	нэ	Снижена	10% снижено	Walker et al., 2011
	wMel/wAlbB	+	нэ	Снижена	Снижено	Joubert et al., 2016
	wRi	+	Повышена	нэ	Снижено	Fraser et al., 2017
	wMelICS	+	нэ	Снижена	нэ	Fraser et al., 2017
	wPip	+	Снижена	Снижена	Снижено	Fraser et al., 2017
	wAu	Отсутствует	нэ	—	30% снижено	Ant et al., 2018
	wAlbB	+	нэ	Снижена	Снижено	Xi et al., 2005; Ant et al., 2018
	wAu/wAlbB	+ *	нэ	Снижена	Снижено	Ant et al., 2018
	wAu/wAlbA/wAlbB	+ *	нэ	Снижена	Снижено **	Mancini et al., 2020
<i>Aedes albopictus</i>	wMel	+ ***	Повышена	нэ	нэ	Blagrove et al., 2012, 2013
	wPip	+ ***	30% снижена	50% снижена	15% снижено**	Calvitti et al., 2010
	wPip/wAlbA/wAlbB	+	нэ	нэ	нэ	Zhang et al., 2015
<i>Aedes polynesiensis</i>	wRivB	+	нэ	нэ	Снижено	Brelsfoard, Dobson, 2011
<i>Anopheles stephensi</i>	wAlbB	+ ***	Повышена	Снижена	Повышено	Bian et al., 2013
<i>Culex quinquefasciatus</i>	wAlbB	+ ***	нэ	нэ	—	Ant et al., 2020
	wAlbA	+ ***	не определяли	не определяли	не определяли	Ant et al., 2020
	wPip/wAlbA	+ *	нэ	нэ	—	Ant et al., 2020

Примечание: нэ — нет эффекта; “—” — не определяли; * — односторонняя ЦН за счет wAlbA или wAlbB при скрещивании с незараженными *Wolbachia* самками; ** — снижено у самок, относительно зараженных только wAlbB, на уровне незараженных *Wolbachia*; *** — двусторонняя при скрещивании с зараженными собственными природными штаммами.

um falciparum было значительно снижено (на 40–60%), по сравнению с контрольной линией (Hughes et al., 2011). У *Anopheles stephensi* инфицирование wAlbV также привело к невосприимчивости комаров к *P. falciparum* (Bian et al., 2013). В противоположность этому, реакция другого малярийного паразита *P. berghei* в *An. gambiae* зависит от штамма *Wolbachia*: wAlbV увеличивает количество ооцист, а wMelPop — уменьшает (Hughes et al., 2012). Позже было доказано, что wAlbV значительно снижает количество спорозоитов *P. yoelii*, продуцируемых на ооцисту, в *An. stephensi* при экспериментальных температурах 20, 24 и 28°C, отражающих реальный диапазон температур с тепловым оптимумом около 24°C для передачи и развития паразитов *P. yoelii* (Murdock et al., 2014). Штамм wAlbV в *Ae. polynesiensis* после замещения им собственной *Wolbachia* этого вида комаров штамм wPo1A вызвал низкую чувствительность к филяриям (Andrews et al., 2012) и сильную устойчивость к DENV-2 (Bian et al., 2013). Доказано, что эта устойчивость связана с резким увеличением плотности wAlbV в соматических тканях средней кишки и слюнных железах *Ae. polynesiensis* (Bian et al., 2013).

Штамм wAu, трансинфицированный в *Ae. aegypti* из *Drosophila simulans*, также устойчив при высоких температурах (Ant et al., 2018). В линии *Ae. aegypti*, зараженной wAu, частота инфекции вирусом Денге равнялась нулю в слюнных железах и была значительно снижена в кишечнике, по сравнению с линиями *Ae. aegypti*, инфицированными wAlbV и wMel или диким типом (Ant et al., 2018). Линии, инфицированные двумя штаммами wAu и wAlbV, полностью блокировали передачу инфекционного вируса ZIKV в слюне *Ae. aegypti*, по сравнению с линиями дикого типа. Кроме того, wAu полностью блокировал ZIKV и в тканях брюшка *Ae. aegypti* (Ant et al., 2018). Поскольку wAu не вызывает ЦН ни в дрозофиле, ни в *Ae. aegypti*, была создана линия с суперинфекцией wAu/wAlbV. Такая комбинация блокирует репликацию вирусов за счет wAu и распространяется в популяции *Ae. aegypti* за счет односторонней ЦН, вызываемой wAlbV; жизнеспособность таких комаров в лаборатории не отличалась от линий с единственным штаммом (Ant et al., 2018). В *Ae. albopictus* добавление штамма wAu к имеющимся от природы wAlbA и wAlbV привело к незначительному снижению жизнеспособности (табл. 2), но к полному блокированию репликации и передачи вирусов ZIKV и DENV (Mancini et al., 2020).

Штамм wPip, которым от природы заражены комары комплекса *Culex pipiens*, значительно снижает передачу WNV комарами *Cx. quinquefasciatus*, входящими в данный комплекс видов (Glaser, Meola, 2010). Это один из примеров влияния собственной природной *Wolbachia* на восприимчивость к патогенам комаров-хозяев. После трансин-

фекции из *Cx. quinquefasciatus* wPip значительно снижал жизнеспособность *Ae. albopictus* из Италии, излеченных от их собственных штаммов wAlbA и wAlbV (Calvitti et al., 2010). Позже отрицательное влияние wPip на приспособленность было отмечено и для комаров *Ae. aegypti* (Fraser et al., 2017). Однако в составе тройной инфекции wPip/wAlbA/wAlbV эффект wPip на плодовитость, скорость выплывания и время жизни *Ae. albopictus* из Китая не отличался от двойной инфекции wAlbA/wAlbV и от незараженных комаров (Zhang et al., 2015). Тем не менее, wPip — первый штамм *Wolbachia*, который после трансинфекции в *Ae. aegypti* не проявил противовирусных характеристик и блокирования передачи DENV (Fraser et al., 2020).

Итак, антивирусная активность не одинакова у разных штаммов бактерии в разных видах комаров. Как правило, чужие бактерии защищают от патогенов лучше, чем собственные. Штаммы *Wolbachia* wAlbA и wAlbV, выделенные из *Ae. albopictus*, не являются противовирусными в своем естественном хозяине, но обеспечивают блокирование арбовирусов в *Ae. aegypti* (Bian et al., 2010; Dutra et al., 2016; Chouin-Carneiro et al., 2019), тогда как wPip, как сообщается (Fraser et al., 2020), обладает противовирусным действием в клетках хозяина *Cx. quinquefasciatus*, но не в *Ae. aegypti*. Возможно, это связано с различиями в локализации этих штаммов *Wolbachia* у каждого хозяина. И/или, если несколько механизмов способствуют ингибированию вируса, возможно, каждая комбинация хозяин–*Wolbachia* задействует некоторые или все эти механизмы (Fraser et al., 2020).

МЕХАНИЗМЫ БЛОКИРОВАНИЯ ПАТОГЕНОВ С УЧАСТИЕМ *Wolbachia*

Предложены два возможных механизма подавления *Wolbachia* различных патогенных инфекций у комаров. Во-первых, *Wolbachia* активирует иммунные ответы хозяина, во-вторых, *Wolbachia* конкурирует с патогенами за ограниченное количество питательных веществ.

Wolbachia стимулирует иммунную систему хозяина для более эффективного ответа на вирусную инфекцию, поскольку искусственное инфицирование эндосимбионтом вызывает усиленную экспрессию многих иммунных генов (сигнальные каскады иммунных путей Toll, IMD и JAK/STAT), запуская антимикробные пептиды (Kambris et al., 2009; Pan et al., 2012, 2018; Rancès et al., 2012; Caragata et al., 2016; Terradas et al., 2017; Zhang et al., 2020). После трансинфекции *Wolbachia* в *Ae. aegypti* были активированы иммунные пути Toll, IMD и JAK/STAT, что привело к эффективному снижению репликации CHIKV (Moreira et al., 2009), DENV (Pan et al., 2012; Terradas et al., 2017) и развития филярий и малярийных плазмо-

диев (Kambris et al., 2009; Moreira et al., 2009). Развитие малярийных плазмодиев подавлялось после трансинфекции *Wolbachia* и у *Anopheles gambiae* (Kambris et al., 2010). *Wolbachia* блокирует патогены у *Ae. aegypti* даже при одновременной инфекции вирусами DENV и ZIKV (Caragata et al., 2019).

Механизмы устойчивости комаров, зараженных *Wolbachia*, к арбовирусам наиболее подробно охарактеризованы в *Ae. aegypti*. Инфекция *wAlbB* активирует врожденный иммунный ответ *Ae. aegypti* за счет активации пути Toll (Bian et al., 2010). Искусственное заражение *wAlbB* вызывало 17-кратное увеличение экспрессии дефензина и 4.5-кратное увеличение экспрессии цекропина. Повышенный уровень экспрессии также наблюдался для других генов пути Toll, включая *Rel1*, *Spz1A* и *GGBP1* (Bian et al., 2010). Эти результаты показали, что *Wolbachia* может активировать путь Toll и повысить базальный уровень иммунитета у *Ae. aegypti*. Ранее было доказано, что путь Toll контролирует инфекцию вирусом денге у комаров: после подавления экспрессии гена *cactus* — ингибитора пути Toll — степень инфицирования DENV у комаров снизилась в 4 раза. Когда путь Toll был инактивирован подавлением гена *myd88*, вирусная нагрузка у комаров увеличивалась в 2.7 раза, по сравнению с контрольной группой (Xi et al., 2008). Позже также обнаружили, что повышение количества активных форм кислорода (АФК) как результат инфекции *wAlbB* вовлечено в активацию иммунного ответа: активация пути Toll приводит к экспрессии антиоксидантов для смягчения окислительного стресса и как побочный эффект увеличивает выработку антимикробных пептидов, что приводит к повышенной устойчивости комаров к патогенным инфекциям, в частности, АФК подавляют репликацию DENV в *Ae. aegypti* (Pan et al., 2012). Гены иммунных путей Toll и JAK/STAT продемонстрировали повышенную экспрессию в ответ на инфекцию и другого штамма *Wolbachia* — *wMel* — в культуре клеток *Ae. aegypti* (Terradas et al., 2017).

Наблюдалась усиленная экспрессия иммунных генов у *An. gambiae*, искусственно инфицированных *wMelPop*, и значительное снижение интенсивности инфицирования малярийным плазмодием грызунов *Plasmodium berghei*. Присутствие *Wolbachia* нарушало развитие плазмодиев в соматических клетках *An. gambiae*. Этот эффект уменьшился после нокдауна гена, кодирующего белок TEP1 (telomerase associated protein 1). Экспрессия *TEP1* регулируется сигнальными путями Toll и IMD (Kambris et al., 2010). В другом исследовании через 10 дней после инфицирования *wMelPop* и *wAlbB* наблюдалось, напротив, резкое подавление экспрессии некоторых иммунных генов у *An. gambiae* в ответ на оба штамма *Wolbachia*, включая FBN9, тепловой шок 70, CLIP7A, TEP15 и факторы транскрипции Rel1 и Rel2, и этот пе-

риод времени соответствует репликации *Wolbachia* у комара (Hughes et al., 2011). Численность паразитов *P. berghei* увеличивалась в случае *wAlbB* и снижалась в случае *wMelPop* (Hughes et al., 2012). Если иммунитет влияет на размножение *P. berghei* у комара, эти различия могут быть объяснены специфическими для штамма *Wolbachia* вариациями экспрессии генов комаров.

Как уже упоминалось выше, влияние штамма *wAlbB* на реакцию комаров рода *Anopheles* на разные виды малярийных паразитов не одинаково. Штамм *wAlbB* после трансинфекции в *An. gambiae* увеличивает количество ооцист *P. berghei* (Hughes et al., 2012) и подавляет — *P. falciparum* (Hughes et al., 2011). Такой неодинаковый ответ двух паразитов *Plasmodium* на инфекцию *wAlbB* у комаров объясняют разницей иммунных путей, которыми комары рода *Anopheles* борются с плазмодиями. Путь Toll в первую очередь регулирует размножение *P. berghei*, а путь IMD главным образом регулирует *P. falciparum* (Garver et al., 2009; Mitri et al., 2009). Если устойчивость к патогенам происходит иммуноопосредованным образом, *wAlbB* может не модулировать иммунные гены, критичные для подавления инфекции *P. berghei*, и все же влиять на гены, связанные с устойчивостью к *P. falciparum* (Hughes et al., 2012). Развитие *P. berghei* также происходит при более низких температурах, чем развитие *P. falciparum*, что может влиять на динамику заражения *Wolbachia* и последующие взаимодействия с комарами (Hughes et al., 2012).

Другие исследования подтверждают вторую гипотезу, что симбиотические бактерии *Wolbachia* могут подавлять репликацию вируса за счет использования клеточных ресурсов. Например, было показано, что ограниченное внутриклеточное пространство в клетках, инфицированных *Wolbachia*, лимитирует репликацию DENV (Moreira et al., 2009; Rainey et al., 2016). Кроме того, есть доказательства того, что *Wolbachia* преимущественно использует ресурсы хозяина, такие как холестерин, которые также необходимы для вирусной инфекции (Caragata et al., 2013; Geoghegan et al., 2017). С одной стороны, *Wolbachia* не имеет какой-либо функциональной липополисахаридсинтазы и нуждается в холестерине для образования мембран. С другой стороны, вирусы также используют холестерин хозяина для репликации. Следовательно, оба ведут себя как конкуренты за доступ к холестерину хозяев-комаров (Geoghegan et al., 2017). Трансинфекция штаммом *wStri*, выделенным из *Laodelphax striatellus*, ингибирует репликацию ZIKV в линиях клеток комаров *Ae. albopictus* эффективнее, чем *wAlbB*, а повышенное поступление холестерина умеренно восстанавливает репликацию вируса (Schultz et al., 2017).

Экспрессия некодирующей РНК комаров так же реагирует на инфекцию *Wolbachia* и может регулировать репликацию вируса в инфицированных клетках с помощью механизма РНК-интерференции (Mayoral et al., 2014). Хотя прямое взаимодействие между репликацией вирусов и индукцией *Wolbachia* синтеза микроРНК до конца не изучено (Yen, Failloux, 2020), было доказано, что интенсивно экспрессируемая *aae-miRNA-2940* в клетках *Ae. aegypti*, инфицированных *Wolbachia*, повышает экспрессию метилтрансферазы (Hussain et al., 2011) и впоследствии уменьшает репликацию DENV (Zhang et al., 2013). Более того, эта активация метилтрансферазы отрицательно контролирует экспрессию металлопротеиназы, что приводит к снижению репликации вируса Западного Нила (Slonchak et al., 2014). Показана прямая связь между инфекцией *wMelPop* и увеличением экспрессии гена *argonaute 2*, важного для выработки микроРНК в *Ae. aegypti* (Hussain et al., 2013), последующие изменения экспрессии генов снижают инфекцию DENV (Terradas et al., 2017). В качестве механизма, способствующего блокированию суперинфекции *Ae. aegypti* вирусами DENV и ZIKV, предложено также снижение активности инсулинового рецептора за счет индуцированной *Wolbachia* РНК-интерференции: ингибирование рецептора инсулина нарушает передачу сигналов инсулина, что приводит к снижению репликации вируса (Haqshenas et al., 2019).

Недавно был определен класс липидов — ацилкарнитинов, которые подавляются во время инфекции *wMel* в клеточной культуре *Ae. aegypti* (Manokaran et al., 2020). Снижение количества ацилкарнитинов в клетках увеличивает плотность *Wolbachia*, в то время как добавление химических синтезированных ацилкарнитинов ухудшает размножение *Wolbachia*. Продемонстрировано увеличение репликации вирусов денге и Зика в клетках, инфицированных *wMel*, при добавлении ацилкарнитинов. Ранее было показано, что *Wolbachia* может увеличивать катаболизм активированных жирных кислот (FA-CoA) за счет увеличения экспрессии ферментов семейства тиоэстераз Acyl-CoA (Ye et al., 2013). Предполагается, что *Wolbachia* способствует превращению FA-CoA в свободные жирные кислоты, что приводит к снижению уровня ацилкарнитина. Поскольку ацилкарнитины участвуют в выработке АТФ (энергии) из липидов, их недостаток может привести к общему снижению β -окисления и продукции АТФ. Измерение клеточной АТФ показало значительное снижение уровня АТФ в присутствии *wMel* (Manokaran et al., 2020). Снижение уровня АТФ, в свою очередь, влияет на репликацию вируса, поскольку репликация вируса требует энергии.

Если *Ae. aegypti*, использованные в экспериментах, не заражены в природе *Wolbachia*, то *Ae. albopictus* инфицированы собственными штамма-

ми *Wolbachia* в природе, однако могут передавать различные патогены, включая DENV. Низкие уровни активации генов иммунных ответов были обнаружены при изучении трансинфекции *wMel* в *Ae. albopictus*. Предполагается, что иммунный ответ изначально зараженных бактерией видов может иметь врожденную десенсибилизацию к присутствию *Wolbachia* (Molloy, Sinkins, 2015; Ant et al., 2020). У таких хозяев развился симбиоз с *Wolbachia* в результате совместной эволюции. В такой ситуации иммунные ответы, индуцированные *Wolbachia*, вызывающие стресс у хозяина, могут считаться нежелательными в отсутствие более патогенных инфекций. Альтернативное объяснение того, что собственная инфекция *Wolbachia* не вызывает подавление патогена, — это сниженная плотность и более выраженный тропизм (преимущественное заражение определенных органов или тканей) у естественных хозяев (Moreira et al., 2009).

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ *Wolbachia* В ТКАНЯХ ХОЗЯИНА

Противовирусная защита, опосредованная *Wolbachia*, зависит от присутствия *Wolbachia* в каждой отдельной клетке и не может передаваться окружающим клеткам (Nainu et al., 2019). Например, *Ae. aegypti*, инфицированные *wAlbB*, демонстрировали повышенную экспрессию дефенсина А в средней кишке, но пониженную — в других частях тела (Pan et al., 2018). Поэтому распределение *Wolbachia* в тканях хозяина также важно для блокирования передачи патогенов (Moreira et al., 2009).

После питания комара зараженной кровью, арбовирус попадает в эпителий средней кишки насекомого, распространяется в гемолимфе и в конечном итоге проникает в слюнные железы. Таким образом, присутствие *Wolbachia* в соматических тканях средней кишки и слюнных желез является определяющим для фенотипа, блокирующего передачу. Искусственно привнесенные в *Ae. aegypti* штаммы *Wolbachia wMelPop* (Moreira et al., 2009) и *wAu* (Ant et al., 2018) достигают очень высокой соматической плотности и вызывают особенно сильную блокировку передачи патогенов. Высокая плотность *wAu* показана в клетках эпителия средней кишки, слюнных железах и яичниках *Ae. albopictus*, по сравнению со штаммами *wAlbA* и *wAlbB*, которыми *Ae. albopictus* заражен в природе (Mancini et al., 2020). С другой стороны, высокая плотность *Wolbachia* в организме отрицательно влияет на ряд жизненных характеристик хозяев (McMeniman, O'Neill, 2010; Ant et al., 2018), включая плодовитость, долголетие и вылупляемость яиц комаров (табл. 2). Следовательно, штаммы *Wolbachia* с более высокой плотностью имеют низкий потенциал инвазии в попу-

ляции комаров, что может ограничивать их использование в полевых условиях. Так, *Ae. aegypti* искусственно зараженные wMelPop, были выпущены на полевых участках в Австралии и Вьетнаме, и, несмотря на достижение высоких начальных частот, штамм был утерян после прекращения выпуска (Nguyen et al., 2015). Напротив, wAlbB достигает промежуточных плотностей в *Ae. aegypti* и относительно слабо влияет на многие аспекты приспособленности хозяина (Axford et al., 2016; Ant et al., 2018), обеспечивая при этом значительное подавление передачи вируса денге (Bian et al., 2010).

После трансинфекции в *Culex quinquefasciatus* штамм wAlbB распространился по соматическим тканям со средней плотностью, сравнимой с естественным для этого вида штаммом wPip (Ant et al., 2020). Штаммы wAlbB и wPip близко родственны и относятся к одной супергруппе В *Wolbachia*. Другой штамм wAlbA, принадлежащий супергруппе А *Wolbachia* и генетически далеко отстоящий от wAlbB и wPip, после трансинфекции в *Cx. quinquefasciatus* размножился в соматических клетках до высокой плотности, а комбинированная суперинфекция wPipwAlbA превышала концентрацию wPip в слюнных железах в 400 раз, что делает такую комбинацию перспективной в ингибировании патогенов (Ant et al., 2020).

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МОДИФИКАЦИИ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

Первое полевое испытание *Wolbachia* на популяции *Cx. pipiens fatigans* (современное название — *Cx. quinquefasciatus*) было проведено в 1966 г. в Бирме (Laven, 1967). Были созданы модифицированные комары с цитоплазмой из *Cx. pipiens* парижской линии и ядерным геномом калифорнийских *Cx. p. fatigans*. Самцы этой линии были несовместимы с самками из природных популяций Бирмы за счет ЦН, вызываемой *Wolbachia* парижской линии. Через 10 недель после выпуска модифицированных комаров в природу выплот *Cx. p. fatigans* на экспериментальном участке прекратился (Laven, 1967). В этой же статье были впервые предложены модели искоренения популяций и сформулированы условия, которые необходимо учитывать при планировании стратегии борьбы с комарами.

В настоящее время на разных континентах в полевых исследованиях проводятся выпуски инфицированных *Wolbachia* комаров, самок и самцов, которые, как ожидается, распространятся и закрепятся в целевой популяции, обеспечивая жизнеспособную стратегию борьбы с арбовирусными инфекциями. Самое крупное испытание по замещению популяции переносчиков в открытом поле проводится в Австралии с 2011 г. Около 300 000 wMel-инфицированных *Ae. aegypti*, выра-

щенных в лабораторных условиях, были намеренно выпущены в двух населенных пунктах в 2011 г. Через две недели после выпуска частота инфицированных *Wolbachia Ae. aegypti* увеличилась более чем на 15% в обоих местах. После дополнительных выпусков частота увеличилась до 60% и достигла уровня фиксации через 5 нед. после прекращения выпуска, и эти высокие частоты сохранялись в течение двух следующих лет (Hoffman et al., 2014). Кроме того, было показано, что способность этих комаров блокировать денге оставалась стабильной через несколько лет после выпусков (Frentiu et al., 2014). Последующие выпуски модифицированных wMel комаров *Ae. aegypti* в районах распространения вируса денге в Австралии привели к успешному внедрению *Wolbachia* в местных популяциях комаров и практически полному искоренению местной передачи денге (O'Neill et al., 2018; Ryan et al., 2020). А эмпирический анализ выпусков комаров с *Wolbachia* в Австралии, включая данные о плотности, частоте и продолжительности выпусков модифицированных *Wolbachia* комаров, показал, что *Wolbachia* может легко установиться в местных популяциях комаров и в течение коротких периодов времени выпуска: средний период выпуска 11 нед., диапазон 2–22 нед. Важно отметить, что частота встречаемости *Wolbachia* в популяциях *Ae. aegypti* остается стабильной с момента выпуска в течение восьми лет (Ryan et al., 2020). Этот же метод используют в Бразилии с 2014 г., в Колумбии с 2015 г., в Мексике с 2019 г., в Индонезии с 2014 г. и других странах в рамках теперь уже глобального проекта World Mosquito Program (<https://www.worldmosquito.org>).

Для полевых испытаний в более жарких регионах был выбран штамм wAlbB, который поддерживает более высокую плотность, чем wMel, при высоких температурах выращивания личинок *Ae. aegypti* (Bian et al., 2010; Ant et al., 2018). Выпуски *Ae. aegypti*, зараженных wAlbB, проводились в 2016–2019 гг. на шести различных участках в Большом Куала-Лумпуре, Малайзия, с высокой степенью эндемической передачи вируса денге. В некоторых районах частота передачи wAlbB достигала 98% популяции *Ae. aegypti* через 12 мес. после выпуска. В других — степень инфицированности снижалась за счет притока незараженных *Ae. aegypti* из приграничных с экспериментальными местностей. В местах распространения модифицированных комаров наблюдалось снижение заболеваемости лихорадкой денге, по сравнению с контрольными участками (Nazni et al., 2019).

Кроме этого, через 20 мес. после прекращения выпуска wAlbB-зараженных *Ae. aegypti* собранные в Куала-Лумпуре комары не показали снижения плотности *Wolbachia* или изменений в распределении по тканям, в сравнении с лабораторной колонией *Ae. aegypti*-wAlbB. Штамм wAlbB продол-

жал вызывать полную однонаправленную ЦН, демонстрировал идеальную передачу по материнской линии в лабораторных условиях и сохранял способность подавлять лихорадку денге. Кроме того, собранные в полевых условиях *Ae. aegypti*-wAlbV были экспериментально заражены кровью пациентов с лихорадкой денге из Малайзии и показали значительное блокирование распространения вируса в слюнные железы. Эти результаты показывают, что wAlbV продолжает ингибировать циркулирующие в настоящее время штаммы денге в полевых популяциях *Ae. aegypti*, и доказывают целесообразность применения *Wolbachia* для борьбы с лихорадкой денге (Ahmad et al., 2021).

Во Французской Полинезии в 2009 г. были начаты работы по искоренению популяции *Aedes polynesiensis*, зараженных собственным штаммом wPol (O'Connor et al., 2012). Комаров трансинфицировали штаммом wRiv, взятым от родственного вида комаров *Ae. reversi*, который в природе там не встречается и вызывает двустороннюю ЦН в скрещиваниях с wPol. Только самцы выпущены в целевые районы для спаривания с дикими самками комаров. Исследователи работают в общей сложности на пяти объектах, большинство из которых расположены в роскошных отелях на островах (Marris, 2017). Такие эксперименты по снижению численности с целью полного искоренения популяций, основанные на выпуске только самцов, зараженных *Wolbachia*, часто комбинируются с дополнительной стерилизацией самцов. Перед выпуском комаров облучают дозой рентгеновского излучения, что эффективно стерилизует самок, но не влияет отрицательно на конкурентоспособность самцов. Такую стратегию выбирают тогда, когда выбранный штамм *Wolbachia* вызывает в целевой популяции комаров либо неполную ЦН, либо недостаточное блокирование патогена. Это так называемое комбинирование IT и SIT.

В 2016 г. в Таиланде выпускали в течение шести месяцев около 450 000 самцов *Ae. aegypti* линии ThAB, инфицированных wAlbA и wAlbV штаммами из *Ae. albopictus* (Kittayapong et al., 2019). Поскольку wAlbA и wAlbV в *Ae. aegypti* вызывает неполную ЦН, то дополнительно самцов облучали для исключения возможности оплодотворять самок. Было отмечено значительное снижение среднего количества вылупившихся яиц и количества самок *Ae. aegypti* в обрабатываемой области, по сравнению с контрольной (Kittayapong et al., 2019).

Использование искусственной тройной инфекции wPip/wAlbA/wAlbV в сочетании с SIT в течение 2014–2017 гг. почти уничтожило комаров *Ae. albopictus* на двух небольших населенных островах в Гуанчжоу, Китай (Zheng et al., 2019).

В Италии в 2018 г. провели первые в Европе испытания по выпуску самцов *Ae. albopictus*, зараженных дополнительно штаммом wPip из *Cx. pipiens* (Caruto et al., 2020). За счет ЦН такие самцы стерилизовали самок *Ae. albopictus*. Около 4500 самцов модифицированной линии ARwP выпустили в течение шести недель в одном из районов Рима. Соотношение самцов ARwP и дикого типа было 7 : 10. Анализ собранных яиц, а также взрослых самок и самцов, показал значительное снижение количества жизнеспособных яиц, полную стерильность 30% самок *Ae. albopictus* и 20%-ное снижение плодовитости в экспериментальной популяции, по сравнению с контролем.

В том же 2018 г. в Калифорнии, США выпустили 14.4 миллиона зараженных *Wolbachia* самцов *Ae. aegypti* в трех районах, охватывающих 293 гектара. В пик сезона комаров количество самок *Ae. aegypti* было на 95.5% ниже в районах выпуска, по сравнению с контрольными участками, при этом в наиболее географически изолированном районе сокращение достигло 99%. Авторы указывают на высокую эффективность модифицированных *Wolbachia* комаров на площади в девять раз больше, чем в предыдущих аналогичных испытаниях, что подтверждает потенциал данного подхода в программах общественного здравоохранения и искоренения опасных комаров (Crawford et al., 2020). Однако, несмотря на превосходящее количество зараженных *Wolbachia* самцов (>45 W+ : 1 дикого типа) на каждом участке обработки, абсолютного искоренения популяций авторы не смогли добиться, вероятно, из-за миграции самок дикого типа из необработанных областей (Crawford et al., 2020). Такую же стратегию применения wAlbV для искоренения *Ae. aegypti* использовали в Майами и на одном из островов во Флориде, США (Mains et al., 2019), в Сингапуре и Австралии (Ross et al., 2019b).

Испытания показали, что бактерии *Wolbachia* способны стабильно сохраняться в полевых популяциях и вызывают блокирование патогенов или снижение численности особей целевых популяций. Важнейший вопрос заключается в том, будет ли сохраняться этот эффект и не произойдут ли адаптивные изменения у комаров-переносчиков, бактерий или вирусов, препятствующие успеху этой стратегии.

СЛОЖНОСТИ

Долгосрочная стабильность программ контроля на основе *Wolbachia* будет зависеть от способности конкретного штамма продолжать снижать местную передачу вируса в меняющихся условиях окружающей среды. Кроме того, *Wolbachia* в организме комара конкурирует с вирусом, колонизируя яичники, кишечник и слюнные железы — те же органы, которые необходимы для репликации

и передачи арбовирусов. Таким образом, высокая устойчивость к патогенам связана с высокой плотностью *Wolbachia*, которая может достигать нескольких сотен бактерий на клетку, но и может вызывать значительные затраты на приспособленность: снижение плодовитости, фертильности и выживаемости (табл. 2). Адаптивные изменения комаров, ведущие к эволюции в сторону более низкой плотности *Wolbachia*, приведут, следовательно, к снижению или потере противовирусного фенотипа (Yen, Failloux, 2020).

Штамм *Wolbachia* должен сохранить способность вызывать полную однонаправленную ЦН, что жизненно важно для поддержания высокой частоты инфицирования популяции переносчика. Репродуктивное преимущество зараженных *Wolbachia* самок, обеспечиваемое ЦН, также часто сопровождается пагубным воздействием на жизнеспособность комаров. Эта комбинация преимуществ приспособляемости и затрат приводит к порогу инвазии, ниже которого штамм *Wolbachia* будет иметь тенденцию теряться из популяции, но, если порог превышен, штамм *Wolbachia* будет иметь тенденцию к распространению. Поэтому важно, чтобы количество выпусков комаров превышало пороговую частоту. В случае заражения комаров *Ae. aegypti*, по оценкам, частота *wMel* должна достигать 20–30% в популяции для успешной инвазии (Turelli, Barton, 2017).

На способность *Wolbachia* укорениться может повлиять степень изоляции целевой популяции. Если популяция не изолирована, относительно небольшая популяция инфицированных комаров может быть “затоплена” иммигрантами из окружающих популяций, незараженных *Wolbachia*, что сократит распространенность *Wolbachia* в замещающей популяции до уровня ниже порога инвазии (Turelli, Barton, 2017). Также и случайный выпуск плодовитых самок из модифицированной лабораторной линии может привести к непреднамеренному вторжению нового штамма *Wolbachia* в местную популяцию и сделает любые будущие выпуски самцов, несущих этот штамм, при искоренении популяций неэффективными.

Термоустойчивость выбранного штамма должна соответствовать условиям окружающей среды. Высокие температуры могут снизить плотность *Wolbachia* в модифицированных комарах, действуя на бактериофаг WO, которым инфицирована бактерия. Этот фаг проходит циклы лизогенной и литической фаз, а тепловой шок запускает литическую фазу, во время которой фаг реплицируется и вызывает лизис *Wolbachia*, снижая ее плотность (Bennett et al., 2019).

Помимо температуры, плотность *wMel* у *Ae. aegypti* снижается под влиянием низких уровней антибиотиков, которые могут встречаться в некоторых местах размножения комаров, в то же

время низкие уровни природных антибиотиков не влияют на количество *wAlbB* (Endersby-Harshman et al., 2019).

Уровень устойчивости к инсектицидам в выпускаемых и в целевых природных популяциях также должен учитываться в программах размещения модифицированных комаров. Среди двух линий *Ae. aegypti-wMel* только одна, генетически устойчивая к пиретроидам, смогла установиться в местной популяции в Рио-де-Жанейро, Бразилия (Garcia et al., 2020).

Помимо собственно *Wolbachia*, взаимодействие с другими эндосимбионтами и сложным микробиомом комаров может влиять на приспособленность хозяина и косвенно влиять на инвазию *Wolbachia*. Успех *wMel* в полевых популяциях *Ae. aegypti* обусловлен и тем, что *wMel* оказывает относительно небольшое воздействие на микробиом взрослых особей и не оказывает никакого воздействия на личинок (Audsley et al., 2018).

В отличие от стратегии замещения популяции, подавление численности требует постоянных выпусков модифицированных самцов; снизить темпы выпусков возможно только после успешного первоначального подавления популяции. Надо учитывать также, что сокращение природных популяций комаров может вызвать экологические нарушения, что имеет и негативные последствия (Fang, 2010; Ostera, Gostin, 2011). Еще Лавен (Laven, 1967) отмечал, что после искоренения одного вида вакуум могут заполнить другие комары или насекомые, которые могут оказаться такими же или еще более эффективными переносчиками. Нельзя забывать, что для некоторых водных животных личинки комаров являются необходимой пищей.

У ДРУГИХ НАСЕКОМЫХ

Успех полевых испытаний методов использования *Wolbachia* в борьбе с комарами предполагает возможность применения такой технологии и к другим переносчикам болезней, имеющим важное медицинское и ветеринарное значение. Было продемонстрировано, что *Wolbachia* могут быть трансинфицированы в клеточную линию *Culicoides sonorensis* (Ghosh et al., 2019). Различные виды *Culicoides* являются переносчиками филяриальных нематод *Mansonella* spp. (*M. ozzardi*, *M. persitans*, *M. streptocerca*), *Onchocerca gibsoni* и *O. cervicalis*, гемоспоридий *Leucocytozoon* и *Plasmodium agamae*, вируса болезни Блутанга, вируса Шмалленберга, вируса африканской чумы лошадей, вируса Акабана, вируса эпизоотической геморрагической болезни и др. (Purse et al., 2015). Мухи *Haematobia* являются переносчиками филяриальных нематод, возбудителей стефанофиляриоза, дерматита, нескольких видов *Staphylococcus*.

Исследования динамики заражения куколок кровососущих мух *Haematobia admirens exigua* и *Haematobia irritans irritans* подтвердили, что *Wolbachia* активно размножается в соматических тканях мух и в ряде случаев в яичниках; исследован также эффект трех потенциальных штаммов wMel, wMelPop и wAlbB на жизнеспособность мух (Madhav et al., 2020). Эти эксперименты являются начальными шагами к исследованию стратегий борьбы с вредными кровососущими мошками *Culicoides* и мухами *Haematobia* с использованием *Wolbachia*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За счет своих естественных и экологически безопасных свойств *Wolbachia* может вызывать широкое блокирование патогенов и надежный эффект ЦН, которые вместе обеспечивают эффективность в снижении распространения болезней, передаваемых комарами и другими переносчиками. Собственные штаммы этой бактерии в комарах, как правило, не вызывают значительных иммунных ответов и не всегда достигают высокой плотности в тканях хозяев. За счет этого они являются менее эффективными в блокировании патогенов, чем чужие трансинфицированные штаммы *Wolbachia*. Еще более перспективна суперинфекция многими штаммами бактерии за счет комбинации антипатогенных свойств и способности к ЦН каждого отдельного штамма. Такие комбинации штаммов позволят развить модификацию комаров-переносчиков и приспособить стратегии к климатическим условиям и к большему кругу патогенов. В настоящее время создан глобальный проект World Mosquito Program, в рамках которого с помощью модифицированных *Wolbachia* комаров практически полностью искоренили местную передачу денге в Австралии. В странах Латинской Америки значительно сократилось число новых случаев лихорадки денге, Зика и чикунгуньи. В Индонезии снижение заболеваемости денге достигло 77% в сообществах, где применялись зараженные *Wolbachia* комары (<https://www.worldmosquitoprogram.org>).

В России модификации с помощью *Wolbachia* возможно использовать для борьбы с инвазивными популяциями комаров, которые еще не имеют широкого ареала. Так, модифицированных специально подобранной комбинацией *Wolbachia* комаров можно было бы применять на территории Крымского п-ова, где при энтомологическом мониторинге в Ялте впервые обнаружены кровососущие комары *Ae. albopictus* в 2019 г. (Коваленко и др., 2020) и ожидается установление их популяции. Вероятность завоза вируса через заразившихся путешественников, возвращающихся из субтропических и тропических стран, высока в летние и осенние месяцы, когда условия окружа-

ющей среды благоприятны для увеличения численности и активности комаров. Случаи автохтонной (местной, возникшей от привезенной) передачи, например, вируса чикунгунья от путешественников известны в Европе: 330 в Италии, регионе Эмилья Романа в 2007 г., 23 – во Франции в 2017 г., 270 подтвержденных и 229 вероятных в Италии, в регионах Лацио и Калабрия в 2017 г. (<https://www.ecdc.europa.eu>). Изменения климата и глобализация делают возможным появление особо опасных инфекций прежде всего на юге России. Поэтому актуальными такие программы контроля могут быть также в географически изолированных территориях Краснодарского края и Астраханской обл. Модификации с помощью *Wolbachia* можно использовать и в других локальных популяциях комаров в РФ, где эпидемиологическая ситуация требует внимания.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-14-50132.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Коваленко И.С., Якунин С.Н., Абибулаев Д.Э. и др. Обнаружение *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) в Крыму // Пробл. особ. опас. инф. 2020. № 2. С. 135–137.
- Путинцева Е.В., Алексейчик И.О., Чеснокова С.Н. и др. Результаты мониторинга возбудителя лихорадки Западного Нила в Российской Федерации в 2019 г. и прогноз развития эпидемической ситуации на 2020 г. // Пробл. особ. опас. инф. 2020. № 1. С. 51–60.
- Федорова М.В., Бородай Н.В., Шайкевич Е.В. Особенности пространственного распределения и зараженность вирусом Западного Нила комаров *Culex pipiens* L. в Волгоградской области во время вспышки лихорадки Западного Нила // Мед. паразитол. паразитар. болезни. 2015. № 1. С. 9–14.
- Федорова М.В., Швец О.Г., Медяник И.М., Шайкевич Е.В. Генетический анализ завозной популяции *Aedes albopictus* в Краснодарском крае // Паразитология. 2019. Т. 53. № 6. С. 518–528.
- Шайкевич Е.В., Патраман И.В., Богачева А.С. и др. Инвазивные виды *Aedes albopictus* и *Aedes aegypti* на Черноморском побережье Краснодарского края: генетика (COI, ITS2), зараженность *Wolbachia* и

- Dirofilaria* // Вавилов. журн. генет. селек. 2018. Т. 22. № 5. С. 574–585.
- Ahmad N.A., Mancini M.-V., Ant T.H. et al. *Wolbachia* strain wAlbB maintains high density and dengue inhibition following introduction into a field population of *Aedes aegypti* // Phil. Trans. R. Soc. B. 2021. V. 376. P. 20190809.
- Aliota M.T., Peinado S.A., Velez I.D., Osorio J.E. The wMel strain of *Wolbachia* reduces transmission of Zika virus by *Aedes aegypti* // Sci. Rep. 2016a. V. 6. P. e28792.
- Aliota M.T., Walker E.C., Uribe Yepes A. et al. The wMel strain of *Wolbachia* reduces transmission of chikungunya virus in *Aedes aegypti* // PLoS Negl. Trop. Dis. 2016b. V. 10. P. e0004677.
- Andrews E.S., Crain P.R., Fu Y. et al. Reactive oxygen species production and *Brugia pahangi* survivorship in *Aedes polynesiensis* with artificial *Wolbachia* infection types // PLoS Pathog. 2012. V. 8. P. e1003075.
- Ant T.H., Herd C.S., Geoghegan V. et al. The *Wolbachia* strain wAu provides highly efficient virus transmission blocking in *Aedes aegypti* // PLoS Pathog. 2018. V. 25. № 14 (1). P. e1006815.
- Ant T.H., Herd C., Louis F. et al. *Wolbachia* transinfections in *Culex quinquefasciatus* generate cytoplasmic incompatibility // Insect. Mol. Biol. 2020. V. 29. P. 1–8.
- Audsley M.D., Seleznev A., Joubert D.A. et al. *Wolbachia* infection alters the relative abundance of resident bacteria in adult *Aedes aegypti* mosquitoes, but not larvae // Mol. Ecol. 2018. V. 27. P. 297–309.
- Axford J.K., Ross P.A., Yeap H.L. et al. Fitness of wAlbB *Wolbachia* infection in *Aedes aegypti*: parameter estimates in an outcrossed background and potential for population invasion // Am. J. Trop. Med. Hyg. 2016. V. 94. P. 507–516.
- Beerntsen B.T., James A.A., Christensen B.M. Genetics of mosquito vector competence // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2000. V. 64 (1). P. 115–137.
- Bennett K.L., Gomez-Martinez C., Chin Y. et al. Dynamics and diversity of bacteria associated with the disease vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* // Sci. Rep. 2019. V. 9. P. 12160.
- Bian G., Xu Y., Lu P. et al. The endosymbiotic bacterium *Wolbachia* induces resistance to dengue virus in *Aedes aegypti* // PLoS Pathog. 2010. V. 6 (4). P. e1000833.
- Bian G., Zhou G., Lu P., Xi Z. Replacing a native *Wolbachia* with a novel strain results in an increase in endosymbiont load and resistance to dengue virus in a mosquito vector // PLoS Negl. Trop. Dis. 2013. V. 7 (6). P. e2250.
- Blagrove M.S.C., Arias-Goeta C., Failloux A.B., Sinkins S.P. *Wolbachia* strain wMel induces cytoplasmic incompatibility and blocks dengue transmission in *Aedes albopictus* // PNAS USA. 2012. V. 109. P. 255–260.
- Blagrove M.S.C., Arias-Goeta C., Di Genua C. et al. A *Wolbachia* wMel transinfection in *Aedes albopictus* is not detrimental to host fitness and inhibits chikungunya virus // PLoS Negl. Trop. Dis. 2013. V. 7 (3). P. e2152.
- Brelsfoard C., Dobson S. *Wolbachia* effects on host fitness and the influence of male aging on cytoplasmic incompatibility in *Aedes polynesiensis* (Diptera: Culicidae) // J. Med. Entomol. 2011. V. 48. P. 1008–1015.
- Calvitti M., Moretti R., Lampazzi E. et al. Characterization of a new *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae)—*Wolbachia pipientis* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) symbiotic association generated by artificial transfer of the wPip strain from *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) // J. Med. Entomol. 2010. V. 47. P. 179–187.
- Caputo B., Moretti R., Manica M. et al. A bacterium against the tiger: preliminary evidence of fertility reduction after release of *Aedes albopictus* males with manipulated *Wolbachia* infection in an Italian urban area // Pest. Manag. Sci. 2020. V. 76. P. 1324–1332.
- Caragata E.P., Rancès E., Hedges L.M. et al. Dietary cholesterol modulates pathogen blocking by *Wolbachia* // PLoS Pathog. 2013. V. 9 (6). P. e1003459.
- Caragata E.P., Rezende F.O., Simoes T.C., Moreira L.A. Diet-induced nutritional stress and pathogen interference in *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* // PLoS Negl. Trop. Dis. 2016. V. 10 (11). P. e0005158.
- Caragata E.P., Rocha M.N., Pereira T.N. et al. Pathogen blocking in *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* is not affected by Zika and dengue virus co-infection // PLoS Negl. Trop. Dis. 2019. V. 13 (5). P. e0007443.
- Carrington L.B., Tran N.B.C., Le T.H.N. et al. Field- and clinically derived estimates of *Wolbachia*-mediated blocking of disseminated dengue virus infection in *Aedes aegypti* mosquitoes // PNAS USA. 2018. V. 115. P. 361–366.
- Carvalho D.O., McKemey A.R., Garziera L. et al. Suppression of a field population of *Aedes aegypti* in Brazil by sustained release of transgenic male mosquitoes // PLoS Negl. Trop. Dis. 2015. V. 9. P. e0003864.
- Chouin-Carneiro T., Ant T.H., Herd C. et al. *Wolbachia* strain wAlbA blocks Zika virus transmission in *Aedes aegypti* // Med. Vet. Entomol. 2019. V. 34 (1). P. 116–119.
- Crawford J.E., Clarke D.W., Criswell V. et al. Efficient production of male *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* mosquitoes enables large-scale suppression of wild populations // Nat. Biotechnol. 2020. V. 38. P. 482–492.
- Da Silva L.M.I., Dezordi F.Z., Paiva M.H.S., Wallau G.L. Systematic review of *Wolbachia* symbiont detection in mosquitoes: an entangled topic about methodological power and true symbiosis // Pathogens. 2021. V. 10 (1). P. E39.
- Dimopoulos G. Combining sterile and incompatible insect techniques for *Aedes albopictus* suppression // Tr. Parasitol. 2019. V. 35. P. 671–673.
- Dutra H.L.C., Rocha M.N., Dias F.B.S. et al. *Wolbachia* blocks currently circulating Zika virus isolates in Brazilian *Aedes aegypti* mosquitoes // Cell Host. Microb. 2016. V. 19. P. 771–774.
- Endersby-Harshman N.M., Axford J.K., Hoffmann A.A. Environmental concentrations of antibiotics may diminish *Wolbachia* infections in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) // J. Med. Entomol. 2019. V. 56. P. 1078–1086.
- Fang J. Ecology: a world without mosquitoes // Nature. 2010. V. 466. P. 432–434.
- Flores H.A., O'Neill S.L. Controlling vector-borne diseases by releasing modified mosquitoes // Nat. Rev. Microbiol. 2018. V. 16 (8). P. 508–518.
- Fraser J.E., De Bruyne J.T., Iturbe-Ormaetxe I. et al. Novel *Wolbachia*-transinfected *Aedes aegypti* mosquitoes possess diverse fitness and vector competence phenotypes // PLoS Pathog. 2017. V. 13 (12). P. e1006751.

- Fraser J.E., O'Donnell T.B., Duyvestyn J.M. et al. Novel phenotype of *Wolbachia* strain wPip in *Aedes aegypti* challenges assumptions on mechanisms of *Wolbachia*-mediated dengue virus inhibition // PLoS Pathog. 2020. V. 16 (7). P. e1008410.
- Frentiu F.D., Robinson J., Young P.R. et al. *Wolbachia*-mediated resistance to dengue virus infection and death at the cellular level // PLoS One. 2010. V. 5 (10). P. e13398.
- Frentiu F.D., Zakir T., Walker T. et al. Limited dengue virus replication in field-collected *Aedes aegypti* mosquitoes infected with *Wolbachia* // PLoS Negl. Trop. Dis. 2014. V. 8. P. e2688.
- Garcia G.A., Hoffmann A.A., Maciel-de-Freitas R. et al. *Aedes aegypti* insecticide resistance underlies the success (and failure) of *Wolbachia* population replacement // Sci. Rep. 2020. V. 10. P. 63.
- Garver L.S., Dong Y., Dimopoulos G. Caspar controls resistance to *Plasmodium falciparum* in diverse anopheline species // PLoS Pathog. 2009. V. 5. P. e1000335.
- Geoghegan V., Stainton K., Rainey S.M. et al. Perturbed cholesterol and vesicular trafficking associated with dengue blocking in *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* cells // Nat. Commun. 2017. V. 8. P. 526.
- Ghosh A., Jaspersen D., Cohnstaedt L.W., Brelsfoard C.L. Transfection of *Culicoides sonorensis* biting midge cell lines with *Wolbachia pipientis* // Paras. Vect. 2019. V. 12. P. 483.
- Glaser R.L., Meola M.A. The native *Wolbachia* endosymbionts of *Drosophila melanogaster* and *Culex quinquefasciatus* increase host resistance to West Nile virus infection // PLoS One. 2010. V. 5 (8). P. e11977.
- Guillemaud T., Pasteur N., Rousset F. Contrasting levels of variability between cytoplasmic genomes and incompatibility types in the mosquito *Culex pipiens* // Proc. Biol. Sci. 1997. V. 264. P. 245–251.
- Haqshenas G., Terradas G., Paradkar P.N. et al. A role for the insulin receptor in the suppression of dengue virus and Zika virus in *Wolbachia*-infected mosquito cells // Cell Rep. 2019. V. 26 (3). P. 529.
- Harris A., McKemey A., Nimmo D. et al. Successful suppression of a field mosquito population by sustained release of engineered male mosquitoes // Nat. Biotechnol. 2012. V. 30. P. 828–830.
- Hertig M. The *Rickettsia*, *Wolbachia pipientis* (gen. et sp. n.) and associated inclusions of the mosquito, *Culex pipiens* // Parasitology. 1936. V. 28. P. 453–86.
- Hoffmann A.A., Montgomery B.L., Popovici J. et al. Successful establishment of *Wolbachia* in *Aedes* populations to suppress dengue transmission // Nature. 2011. V. 476. P. 454–457.
- Hoffmann A.A., Iturbe-Ormaetxe I., Callahan A.G. et al. Stability of the wMel *Wolbachia* infection following invasion into *Aedes aegypti* populations // PLoS Negl. Trop. Dis. 2014. V. 8. P. e3115.
- Hughes G.L., Koga R., Xue P. et al. *Wolbachia* infections are virulent and inhibit the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in *Anopheles gambiae* // PLoS Pathog. 2011. V. 7 (5). P. e1002043.
- Hughes G.L., Vega-Rodriguez J., Xue P., Rasgon J.L. *Wolbachia* strain wAlbB enhances infection by the rodent malaria parasite *Plasmodium berghei* in *Anopheles gambiae* mosquitoes // Appl. Env. Microbiol. 2012. V. 78 (5). P. 1491–1495.
- Hussain M., Frentiu F.D., Moreira L.A. et al. *Wolbachia* uses host microRNAs to manipulate host gene expression and facilitate colonization of the dengue vector *Aedes aegypti* // PNAS USA. 2011. V. 108. P. 9250–9255.
- Hussain M., O'Neill S.L., Asgari S. *Wolbachia* interferes with the intracellular distribution of Argonaute 1 in the dengue vector *Aedes aegypti* by manipulating the host microRNAs // RNA Biology. 2013. V. 10 (12). P. 1868–1875.
- Joubert D.A., Walker T., Carrington L.B. et al. Establishment of a *Wolbachia* superinfection in *Aedes aegypti* mosquitoes as a potential approach for future resistance management // PLoS Pathog. 2016. V. 12 (2). P. e1005434.
- Kambris Z., Cook P.E., Phuc H.K., Sinkins S.P. Immune activation by life-shortening *Wolbachia* and reduced filarial competence in mosquitoes // Science. 2009. V. 326. P. 134–136.
- Kambris Z., Blagborough A.M., Pinto S.B. et al. *Wolbachia* stimulates immune gene expression and inhibits plasmodium development in *Anopheles gambiae* // PLoS Pathog. 2010. V. 6. P. e1001143.
- Kittayapong P., Ninphanomchai S., Limohpasmanee W. et al. Combined sterile insect technique and incompatible insect technique: the first proof-of-concept to suppress *Aedes aegypti* vector populations in semi-rural settings in Thailand // PLoS Pathog. 2019. V. 13 (10). P. e0007771.
- Knipling E.F. Sterile-male method of population control // Science. 1959. V. 130. P. 902–904.
- Laven H. Eradication of *Culex pipiens fatigans* through cytoplasmic incompatibility // Nature. 1967. V. 216 (5113). P. 383–384.
- Madhav M., Brown G., Morgan J.A.T. et al. Transinfection of buffalo flies (*Haematobia irritans exigua*) with *Wolbachia* and effect on host biology // Paras. Vect. 2020. V. 13. P. 296.
- Mains J.W., Kelly P.H., Dobson K.L. et al. Localized control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Miami, FL, via inundative releases of *Wolbachia*-infected male mosquitoes // J. Med. Entomol. 2019. V. 56. P. 1296–1303.
- Mancini M.V., Herd C.S., Ant T.H. et al. *Wolbachia* strain wAu efficiently blocks arbovirus transmission in *Aedes albopictus* // PLoS Negl. Trop. Dis. 2020. V. 14 (3). P. e0007926.
- Manokaran G., Flores H.A., Dickson C.T. et al. Modulation of acyl-carnitines, the broad mechanism behind *Wolbachia*-mediated inhibition of medically important flaviviruses in *Aedes aegypti* // PNAS USA. 2020. V. 117 (39). P. 24475–24483.
- Marris E. Bacteria could be key to freeing South Pacific of mosquitoes // Nature. 2017. V. 548. P. 17–18.
- Mayoral J.G., Etebari K., Hussain M. et al. *Wolbachia* infection modifies the profile, shuttling and structure of microRNAs in a mosquito cell line // PLoS One. 2014. V. 9. P. e96107.
- McMeniman C.J., O'Neill S.L. A virulent *Wolbachia* infection decreases the viability of the dengue vector *Aedes aegypti* during periods of embryonic quiescence // PLoS Negl. Trop. Dis. 2010. V. 4. P. e748.

- McMeniman C.J., Lane R.V., Cass B.N. et al. Stable introduction of a life-shortening *Wolbachia* infection into the mosquito *Aedes aegypti* // Science. 2009. V. 323. P. 141–144.
- Min K.T., Benzer S. *Wolbachia*, normally a symbiont of *Drosophila*, can be virulent, causing degeneration and early death // PNAS USA. 1997. V. 94 (20). P. 10792–10796.
- Mitri C., Jacques J.-C., Thiery I. et al. Fine pathogen discrimination within the APL1 gene family protects *Anopheles gambiae* against human and rodent malaria species // PLoS Pathog. 2009. V. 5. P. e1000576.
- Molloy J.C., Sinkins S.P. *Wolbachia* do not induce reactive oxygen species-dependent immune pathway activation in *Aedes albopictus* // Viruses. 2015. V. 7. P. 4624–4639.
- Moreira L.A., Iturbe-Ormaetxe I., Jeffery J.A. et al. A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, chikungunya, and *Plasmodium* // Cell. 2009. V. 139. P. 1268–1278.
- Mousson L., Zouache K., Arias-Goeta C. et al. The native *Wolbachia* symbionts limit transmission of dengue virus in *Aedes albopictus* // PLoS Negl. Trop. Dis. 2012. V. 6. P. e1989.
- Murdock C., Blanford S., Hughes G. et al. Temperature alters *Plasmodium* blocking by *Wolbachia* // Sci. Rep. 2014. V. 4. P. 3932.
- Nainu F., Trenerry A., Johnson K.N. *Wolbachia* mediated antiviral protection is cell-autonomous // J. Gen. Virol. 2019. V. 100. P. 1587–1592.
- Nazni W.A., Hoffmann A.A., NoorAfizah A. et al. Establishment of *Wolbachia* strain wAlbB in Malaysian populations of *Aedes aegypti* for dengue control // Curr. Biol. 2019. V. 29 (24). P. 4241–4248.
- Nguyen T.H., Nguyen H.L., Nguyen T.Y. et al. Field evaluation of the establishment potential of wMelPop *Wolbachia* in Australia and Vietnam for dengue control // Paras. Vect. 2015. V. 8. P. e563.
- Nolan T. Control of malaria-transmitting mosquitoes using gene drives // Phil. Trans. R. Soc. B. 2021. V. 376. P. e20190803.
- O'Connor L., Plichart C., Sang A.C. et al. Open release of male mosquitoes infected with a *Wolbachia* biopesticide: field performance and infection containment // PLoS Negl. Trop. Dis. 2012. V. 6. P. e1797.
- O'Neill S.L., Ryan P.A., Turley A.P. et al. Scaled deployment of *Wolbachia* to protect the community from dengue and other *Aedes* transmitted arboviruses (version 2; peer review: 2 approved) // Gates Open Res. 2018. V. 2. P. e36.
- Ostera G.R., Gostin L.O. Biosafety concerns involving genetically modified mosquitoes to combat malaria and dengue in developing countries // JAMA. 2011. V. 305. P. 930–931.
- Pan X., Zhou G., Wu J. et al. *Wolbachia* induces reactive oxygen species (ROS)-dependent activation of the Toll pathway to control dengue virus in the mosquito *Aedes aegypti* // PNAS USA. 2012. V. 109. P. E23–E31.
- Pan X., Pike A., Joshi D. et al. The bacterium *Wolbachia* exploits host innate immunity to establish a symbiotic relationship with the dengue vector mosquito *Aedes aegypti* // ISME J. 2018. V. 12 (1). P. 277–288.
- Purse B.V., Carpenter S., Venter G.J. et al. Bionomics of temperate and tropical *Culicoides* midges: knowledge gaps and consequences for transmission of *Culicoides*-borne viruses // Annu. Rev. Entomol. 2015. V. 60 (1). P. 373–392.
- Rainey S.M., Martinez J., McFarlane M. et al. *Wolbachia* blocks viral genome replication early in infection without a transcriptional response by the endosymbiont or host small RNA pathways // PLoS Pathog. 2016. V. 12. P. e1005536.
- Rancès E., Ye Y.H., Woolfit M. et al. The relative importance of innate immune priming in *Wolbachia*-mediated dengue interference // PLoS Pathog. 2012. V. 8 (2). P. e1002548.
- Raquin V., Valiente Moro C., Saucereau Y. et al. Native *Wolbachia* from *Aedes albopictus* blocks chikungunya virus infection in cellulose // PLoS One. 2015. V. 10 (4). P. e0125066.
- Rocha M.N., Duarte M.M., Mansur S.B. et al. Pluripotency of *Wolbachia* against arboviruses: the case of yellow fever // Gates Open Res. 2019. V. 3. P. e161.
- Ross P.A., Endersby N.M., Hoffmann A.A. Costs of three *Wolbachia* infections on the survival of *Aedes aegypti* larvae under starvation conditions // PLoS Negl. Trop. Dis. 2016. V. 10. P. e0004320.
- Ross P.A., Wiwatanaratnabutr I., Axford J.K. et al. *Wolbachia* infections in *Aedes aegypti* differ markedly in their response to cyclical heat stress // PLoS Pathog. 2017. V. 13. P. e1006006.
- Ross P.A., Ritchie S.A., Axford J.K., Hoffmann A.A. Loss of cytoplasmic incompatibility in *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* under field conditions // PLoS Negl. Trop. Dis. 2019a. V. 13. P. e0007357.
- Ross P.A., Turelli M., Hoffmann A.A. Evolutionary ecology of *Wolbachia* releases for disease control // Annu. Rev. Genet. 2019b. V. 53. P. 93–116.
- Ryan P.A., Turley A.P., Wilson G. et al. Establishment of wMel *Wolbachia* in *Aedes aegypti* mosquitoes and reduction of local dengue transmission in Cairns and surrounding locations in northern Queensland, Australia (version 2; peer review: 2 approved) // Gates Open Res. 2020. V. 3. P. e1547.
- Schultz M.J., Isern S., Michael S.F. et al. Variable inhibition of Zika virus replication by different *Wolbachia* strains in mosquito cell cultures // J. Virol. 2017. V. 91 (14). P. e00339–17.
- Shaikevich E., Bogacheva A., Ganushkina L. *Dirofilaria* and *Wolbachia* in mosquitoes (Diptera: Culicidae) in central European Russia and on the Black Sea coast // Parasite. 2019. V. 26. P. 2.
- Slonchak A., Hussain M., Torres S. et al. Expression of mosquito microRNA aae-miR-2940-5p is downregulated in response to West Nile virus infection to restrict viral replication // J. Virol. 2014. V. 88. P. 8457–8467.
- Suh E., Mercer D.R., Fu Y., Dobson S.L. Pathogenicity of life-shortening *Wolbachia* in *Aedes albopictus* after transfer from *Drosophila melanogaster* // Appl. Env. Microbiol. 2009. V. 75 (24). P. 7783–7788.
- Terradas G., Joubert D.A., McGraw E.A. The RNAi pathway plays a small part in *Wolbachia*-mediated blocking of dengue virus in mosquito cells // Sci. Rep. 2017. V. 7. P. 43847.

- Thompson R., Del Campo J.M., Constenla D. A review of the economic evidence of *Aedes*-borne arboviruses and *Aedes*-borne arboviral disease prevention and control strategies // *Exp. Rev. Vacc.* 2020. V. 19. P. e1733419.
- Turelli M., Barton N.H. Deploying dengue suppressing *Wolbachia*: robust models predict slow but effective spatial spread in *Aedes aegypti* // *Theor. Popul. Biol.* 2017. V. 115. P. 45–60.
- Ulrich J.N., Beier J.C., Devine G.J., Hugo L.E. Heat sensitivity of *wMel Wolbachia* during *Aedes aegypti* development // *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016. V. 10. P. e0004873.
- van den Hurk A.F., Hall-Mendelin S., Pyke A.T. et al. Impact of *Wolbachia* on infection with chikungunya and yellow fever viruses in the mosquito vector *Aedes aegypti* // *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012. V. 6. P. e1892.
- Walker T., Johnson P.H., Moreira L.A. et al. The *wMel Wolbachia* strain blocks dengue and invades caged *Aedes aegypti* populations // *Nature*. 2011. V. 476. P. 450–453.
- Williams A.E., Franz A.W.E., Reid W.R., Olson K.E. Antiviral effectors and gene drive strategies for mosquito population suppression or replacement to mitigate arbovirus transmission by *Aedes aegypti* // *Insects*. 2020. V. 11 (1). P. e52.
- WHO, 2020. Vector-borne diseases // World Health Organisation Fact sheet.
- Xi Z., Khoo C.C., Dobson S.L. *Wolbachia* establishment and invasion in an *Aedes aegypti* laboratory population // *Science*. 2005. V. 310. P. 326–328.
- Xi Z., Ramirez J.L., Dimopoulos G. The *Aedes aegypti* toll pathway controls dengue virus infection // *PLoS Pathog.* 2008. V. 4 (7). P. e1000098.
- Ye Y.H., Woolfit M., Rancès E. et al. *Wolbachia*-associated bacterial protection in the mosquito *Aedes aegypti* // *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013. V. 7. P. e2362.
- Ye Y.H., Carrasco A.M., Frentiu F.D. et al. *Wolbachia* reduces the transmission potential of dengue-infected *Aedes aegypti* // *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015. V. 9. P. e0003894.
- Yeap H.L., Mee P., Walker T. et al. Dynamics of the “popcorn” *Wolbachia* infection in outbred *Aedes aegypti* informs prospects for mosquito vector control // *Genetics*. 2011. V. 187. P. 583–595.
- Yen J.H., Barr A.R. New hypothesis of the cause of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens* L. // *Nature*. 1971. V. 232. P. 657–658.
- Yen P.S., Failloux A.B. A review: *Wolbachia*-based population replacement for mosquito control shares common points with genetically modified control approaches // *Pathogens*. 2020. V. 9 (5). P. e404.
- Zhang G., Hussain M., O’Neil S.L., Asgari S. *Wolbachia* uses a host microRNA to regulate transcripts of a methyltransferase, contributing to dengue virus inhibition in *Aedes aegypti* // *PNAS USA*. 2013. V. 110. P. 10276–10281.
- Zhang D., Zheng X., Xi Z. et al. Combining the sterile insect technique with the incompatible insect technique: Impact of *Wolbachia* infection on the fitness of triple- and double-infected strains of *Aedes albopictus* // *PLoS One*. 2015. V. 10. P. e0121126.
- Zhang D., Wang Y., He K. et al. *Wolbachia* limits pathogen infections through induction of host innate immune responses // *PLoS One*. 2020. V. 15 (2). P. e0226736.
- Zheng X., Zhang D., Li Y. et al. Incompatible and sterile insect techniques combined eliminate mosquitoes // *Nature*. 2019. V. 572. P. 56–61.

Modified Mosquitoes for the Prevention and Control of Vector-Borne Diseases

E. V. Shaikovich*

Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

*e-mail: elenashaikovich@mail.ru

Human vector-borne diseases caused by parasites, viruses, bacteria and transmitted by mosquitoes and other blood-sucking insects are a priority public health topic around the world. The lack or complete absence of effective vaccines for highly dangerous infections and the resistance of the most competent vectors to insecticides have determined the need for effective innovative strategies to minimize the diseases. This review is the first generalization of scientific and practical advances in the modification of mosquitoes using the intracellular symbiotic bacterium *Wolbachia* to reduce the spread of pathogens in Russian and will serve as an initiative to create domestic strategies for vector control.

Keywords: vector-borne diseases, mosquitoes, symbiotic bacterium *Wolbachia*

УДК 614.4:616.98:579.841.95

РАЗРАБОТКА НОВЫХ ЖИВЫХ ТУЛЯРЕМИЙНЫХ ВАКЦИН – ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

© 2021 г. М. И. Кормилицына*

Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

*e-mail: mkormilits@mail.ru

Поступила в редакцию 29.04.2021 г.

После доработки 28.07.2021 г.

Принята к публикации 28.07.2021 г.

Francisella tularensis – этиологический агент туляремии, природноочаговой инфекции человека и животных. Этот патогенный микроорганизм обладает высокой инфекционностью, может вызывать летальную инфекцию. Разработанный советскими учеными более 70 лет назад аттенуированный туляремиальный штамм 15 Гайского до сих пор остается единственным для производства живой вакцины, с помощью которой в свое время удалось резко снизить заболеваемость туляремией в СССР. Предмет данного обзора – история создания применяемых в настоящее время двух живых вакцин на основе аттенуированного вакцинного штамма 15 Гайского, их преимущества и недостатки. В статье представлены пути конструирования новых аттенуированных мутантов, дефектных в генах, ответственных за вирулентность, в качестве кандидатов в новые вакцинные штаммы туляремиального микроба.

Ключевые слова: туляремия, *Francisella*, вакцина, аттенуированный штамм, иммуногенность, вирулентность

DOI: 10.31857/S0042132421060041

ВВЕДЕНИЕ

Туляремия – опасная природноочаговая зоонозная инфекция, которая широко распространена в странах умеренного климатического пояса Старого и Нового Света. Возбудитель туляремии был впервые выделен в 1911 г. в округе Тулария, Калифорния, США (Олсуфьев, 1975; Olsufiev, Meshcheryakova, 1983). Возбудитель инфекции – *Francisella tularensis*, по современной классификации, входит в группу наиболее опасных патогенных агентов из-за многообразия механизмов и путей заражения, его высокой инфекционности, 100%-ной восприимчивости человека к инфекции при небольших инфицирующих дозах: 10–50 туляремиальных клеток при аэрогенном (АЭ) заражении вызывают туляремию (Saslaw et al., 1961). Он отнесен к так называемым критическим биологическим агентам категории А, учитывая легкость его распространения (Dennis et al., 2001). Самые высокие уровни смертности (30–60 и даже до 80% при отсутствии лечения) зарегистрированы от легкой формы туляремии, как при первичном вдыхании, так и при вторичном гематогенном распространении (Darling et al., 2002; Ellis et al., 2002; Broekhuijsen et al., 2003).

Возбудитель туляремии принадлежит семейству Francisellaceae роду *Francisella*. В пределах ви-

да *F. tularensis* различают четыре подвида (subspecies – ssp.): *tularensis* (неарктический) – наиболее патогенный, *mediaasiatica* (среднеазиатский), *holarctica* (голарктический), который представлен тремя биоварами: *japonica*, *I Ery*^s и *II Ery*^r, а также малопатогенный для человека *novicida/novicida-like* (Мещерякова и др., 1995; Olsufiev, Meshcheryakova, 1983; Sjöstedt, 2005).

Ранее было констатировано, что летальная доза штаммов *F. tularensis* ssp. *tularensis*, вызывающая гибель 100% (LD₁₀₀) экспериментальных животных (мышей, морских свинок, кроликов), а также человека составляла от 1 до 10 колониеобразующих единиц (КОЕ) (Олсуфьев, 1975; Ellis et al., 2002). Однако позднее было выявлено, что представители внутривидовых групп (субпопуляция/генотип/клад) А1 (А1а и А1б) и А2 различаются по патогенности для человека и экспериментальных животных (Kugeler et al., 2009; Molins et al., 2010, 2014). Так, штаммы А1б оказались намного более вирулентными, чем А1а и А2, при внутрикожном (ВК) заражении мышей и, главное, для человека. Смертность для человека, вызванная А1б-, А1а- и А2-генотипами, составляла 24, 14 и 0% соответственно (Petersen, Molins, 2010).

Штаммы *F. tularensis* ssp. *holarctica* высоко патогенны для мышей и морских свинок: при под-

кожном введении (ПК) LD₁₀₀ составляет 1–10 КОЕ, умеренно патогенны для кроликов – LD₁₀₀ > 10⁸–10⁹ КОЕ (Олсуфьев, Мещерякова, 1982; Olsufiev, Meshcheryakova, 1983). Доза, введенная ПК и выраженная в LD₅₀ (с летальностью 50%), для человека – менее 10³ КОЕ (Ellis et al., 2002).

Представители *F. tularensis* ssp. *mediaasiatica* обладают умеренной патогенностью для человека, но несколько большей степенью патогенности для кроликов (LD₅₀ > 10⁶ КОЕ), чем голарктический подвид, и занимают промежуточное положение между ssp. *tularensis* и ssp. *holarctica* (Олсуфьев, 1975; Sandström et al., 1992; Ellis et al., 2002; Timofeev et al., 2020).

Условно патогенный возбудитель – *F. tularensis* ssp. *novicida* вызывает туляремиеподобное заболевание у лиц с иммунодефицитным статусом или имеющих другие проблемы со здоровьем (Larson et al., 1955; Hollis et al., 1989; Petersen, Schriefer, 2005; Sjöstedt, 2005). Этот возбудитель имеет ряд генетических и фенотипических различий, которые ставят под сомнение его таксономическое положение, в связи с этим ряд авторов предлагают рассматривать его как отдельный вид *F. novicida* (Kingry, Petersen, 2014; Rowe, Huntley, 2015).

Отмечено, что только штаммы *F. tularensis* трех подвидов являются главными этиологическими агентами туляремии человека, тогда как представители подвида *novicida* вирулентны для мышей и авирулентны для человека (Ellis et al., 2002; Sunagar et al., 2016).

Выяснение механизмов взаимодействия патоген–хозяин – одна из важнейших проблем, лежащая в основе разработки эффективных средств защиты человека от туляремии. Стратегия туляремийного микроорганизма как факультативного внутриклеточного патогена состоит в способности инфицировать, выживать и распространяться внутри различных типов эукариотических клеток: макрофагов, дендритных клеток, полиморфноядерных нейтрофилов, гепатоцитов, эндотелиальных и альвеолярных эпителиальных клеток II типа (Celli, Zahrt, 2013). Чтобы успешно инфицировать человеческие моноциты/макрофаги, *F. tularensis* покидает фагосому, реплицируется в цитозоле, а затем лизирует клетку перед началом нового цикла повторного заражения (Gillette et al., 2014). Существуют различия при фагоцитозе клеток вирулентного и вакцинного штамма. Так, штамм *F. tularensis* подвида *tularensis* Schu S4 растет в ~100 раз лучше в эпителиальных клетках дыхательных путей, чем живой вакцинный штамм LVS (live vaccine strain) (Jones et al., 2014). Исследования патогенеза экспериментальной туляремии проводились в основном на мышях. При ВК и АЭ заражении *F. tularensis* быстро распространяется в лимфатические узлы, селезенку, печень, костный мозг и легкие, размножаясь в этих орга-

нах (Олсуфьев, 1975; Jia, Horwitz, 2018). Размножение *F. tularensis*, особенно ssp. *tularensis*, в тканях не вызывает, а, скорее всего, подавляет иммунный ответ (цитокиновые реакции) в моноцитах человека, что, вероятно, способствует его повышенной патогенности (Jia, Horwitz, 2018).

Защита макроорганизма от факультативного внутриклеточного микроорганизма *F. tularensis* обеспечивается, главным образом, клеточноопосредованным, а также антигенспецифическим гуморальным иммунитетом. Накапливаются данные о том, что антитела могут играть определенную роль в контроле инфекции, так как *F. tularensis* имеет и внеклеточную фазу (например, в плазме крови), с помощью которой он распространяется в организме инфицированных хозяев (Ray et al., 2009; Hong et al., 2013; Sunagar et al., 2016; Jia, Horwitz, 2018).

Проблема специфической профилактики туляремии, особенно вызванной высоковирулентными туляремийными штаммами, остается актуальной до настоящего времени. За последнее десятилетие накоплен большой опыт в конструировании и исследовании живых аттенуированных штаммов *F. tularensis*, создающих защиту экспериментальных животных против, главным образом, респираторной туляремийной инфекции. Однако высокоэффективной вакцины, защищающей как от штаммов *F. tularensis* подвида *holarctica*, так и от высоковирулентных штаммов подвида *tularensis*, до настоящего времени не было создано. Данный обзор сосредоточен на исследованиях в области разработки высокоиммуногенных аттенуированных штаммов – кандидатов в живые туляремийные вакцины.

СПОНТАННО АТТЕНУИРОВАННЫЕ ШТАММЫ *F. tularensis*

Приоритет в успешной разработке живой туляремийной вакцины принадлежит советским ученым М.М. Эльберту, Н.А. Гайскому, Б.Я. Файбичу и др., которые в середине прошлого века использовали отбор аттенуированных (ослабленных) вариантов путем многочисленных пассажей их родительских штаммов на искусственных питательных средах (Емельянова, 1963; Олсуфьев, 1975). Б.Я. Эльберт и Н.А. Гайский выделили ослабленный по вирулентности штамм “Москва” среди музейных культур. Его иммуногенные свойства, реактогенность были проверены на экспериментальных животных. Штамм был успешно испытан на добровольцах и показал безвредность и высокую иммуногенность, но в дальнейшем он не был сохрнен. Другие кандидаты в вакцинные штаммы были получены Н.А. Гайским с соавторами лабораторным путем из ослабленных по степени вирулентности штаммов в 1940–1950 гг.

Один из них – эффективный вакцинный штамм 15 Гайского оказался нестабильным и снизил свои протективные свойства. Вариант этого штамма, названный 15 НИИЭГ, был восстановлен В.П. Моторной в 1953 г. интратестикулярными пассажами через организм морских свинок (Олсуфьев, 1975). Заболеваемость туляремией в СССР составляла около 100 тыс. человек в 1941–1945 гг. После массовой иммунизации населения в 1946 г. эффективной живой вакциной началось ее резкое снижение, и с 1950 г. она удерживалась в среднем на уровне 100–200 случаев (Олсуфьев, 1975).

Вакцинный штамм 15 НИИЭГ служит основой для производства живой туляремийной вакцины, которая обеспечивает длительный и напряженный иммунитет против инфекции. Эта живая вакцина остается до настоящего времени единственным иммунопрофилактическим средством против туляремии, ее используют для вакцинации населения энзоотичных территорий и групп риска на территории России и стран СНГ. Так, в РФ в последние годы вакцинируют и ревакцинируют около 1 млн человек ежегодно (О состоянии..., 2017).

В 1956 г. вакцинный штамм 15 НИИЭГ в лиофильном состоянии был передан в США. Один из его вариантов, выделенных из голубых колоний (иммуногенный SR-тип), пассировали 5 раз через организм мышей для повышения иммуногенности (Conlan, 2011). Этот штамм получил название: живой вакцинный штамм LVS (live vaccine strain). Вакцина на основе LVS используется для иммунопрофилактики ограниченного контингента людей при опасности заражения туляремией (Mulligan et al., 2017). Новые партии LVS исследуются на людях по следующим свойствам: безопасность, реактогенность и иммуногенность возрастающих доз вакцинации, разные способы введения (El Sahly et al., 2009; Mulligan et al., 2017). Хотя LVS не был лицензирован для использования в США и Европейском союзе, это единственная вакцина на настоящий момент, которая, как было показано, является достаточно безопасной и эффективной для людей. Существует мнение, что новая вакцина должна быть более безопасной, чем LVS, и в то же время обеспечивать защиту против полностью вирулентных *F. tularensis* ssp. *tularensis*, сопоставимую или более высокую, по сравнению с LVS (Jia, Horwitz, 2018).

Вакцина на основе штамма 15 НИИЭГ и его клон LVS обладает рядом недостатков. Отмечено, что вакцинный штамм 15 НИИЭГ (или LVS) при нескольких пассажах на питательной среде диссоциирует и образует КОЕ разного фенотипа: иммуногенный SR-тип КОЕ (голубые, гладкие, непрозрачные), более крупных по размеру, чем вирулентной культуры S-типа; неиммуногенный

R-тип (серые, шероховатые, плоские прозрачные); смешанный тип КОЕ (Олсуфьев, 1975; Gunn, Ernst, 2007). Накопление неиммуногенных R-клеток остается проблемой различных производственных серий или лотов (партий) туляремийной вакцины, что влияет на качество вакцины. Достаточно высокий уровень иммуногенности вакцинного штамма достигается пассированием культуры через организм высокочувствительных животных или *in vitro* через макрофаги либо их прямым отбором на среде для того, чтобы в популяции преобладали иммуногенные клетки (SR-тип). В связи с этим некоторые штаммы-продуценты живой вакцины могут обладать относительно высокой реактогенностью и вызывать побочные эффекты для макроорганизма (лимфадениты, лихорадку и др.). Обнаружено, что вакцина LVS с относительно высокой остаточной вирулентностью сохраняет реактогенность для людей и животных после ВК или АЭ введения (Jia, Horwitz, 2018). Из-за отсутствия генетической стабильности существует потенциальный риск появления мутаций и реверсии в вирулентную форму. Таким образом, продуцент живой вакцины – штамм 15 НИИЭГ (в том числе и LVS) требует постоянного контроля и при необходимости коррекции его иммунобиологических свойств. Защита, создаваемая этими вакцинами, не абсолютная. При высокой эффективности вакцины против заражения голарктическими штаммами *F. tularensis* отмечено, что вакцинный штамм 15 (LVS) не обеспечивал полную защиту экспериментальных животных от инфекции, вызванной вирулентными штаммами *F. tularensis* неарктического подвида (Олсуфьев, Емельянова, 1962). Выявлено, что LVS создавал недостаточный уровень защиты людей от последующего АЭ заражения высоковирулентным штаммом *F. tularensis* ssp. *tularensis*, а уровень протекции зависел от комбинации дозы и способа вакцинации (McCrumb, 1961; Saslaw et al., 1961; Hornick, Eigelsbach, 1966). Применение живой вакцины является небезопасным для групп риска – людей с формирующимся (дети) и ослабленным иммунитетом.

Кандидаты в вакцинные штаммы должны быть способными сохраняться в организме хозяина в течение достаточного периода времени для индукции эффективного иммунного ответа. О персистенции вакцинного штамма 15/10 (синоним 15 НИИЭГ) свидетельствует ассоциация бактерий с клоногенными кроветворными клетками КОЕс-7 в костном мозге с длительностью более 4 мес. (Санин и др., 1994). Подтверждением персистенции может быть длительность клеточного ответа у привитых людей (более 20 лет), о чем свидетельствовали данные, полученные при использовании реакций бласттрансформации лимфоцитов, лейкоцитолита и кожной аллергической пробы с тулярином (Савельева и др., 1992). Персистенция

живых туляремийных клеток играет положительную роль в противотуляремийной защите человека, стимулируя врожденный и адаптивный иммунитет.

Другие спонтанно аттенуированные штаммы

Американские исследователи выявили штаммы *F. tularensis* со свойствами потенциально вакцинных, их аттенуация была результатом длительного хранения на искусственных питательных средах (Downs, Woodward, 1949; Eigelsbach et al., 1951). Среди них штамм Schu S_{I-II} (подвид *tularensis*) был значительно ослаблен для мышей и оказался высокоиммуногенным для морских свинок, по сравнению с LVS. Однако авторы посчитали, что вакцинные штаммы Schu S_{I-II}, как и LVS, имеют высокую остаточную вирулентность для мышей, исключаящую их применение на людях (Eigelsbach, Downs, 1961). В 1955 г. Скродски и Томашунас (по: Емельянова, 1963) таким же методом получили три иммуногенных штамма *F. tularensis* со сниженной вирулентностью, причем их свойства отвечали требованиям, предъявляемым к вакцинным штаммам в бывшем СССР. Скринирование коллекционных штаммов *Francisella* выявило спонтанный аттенуированный мутант *F. tularensis* ssp. *tularensis* (родительский штамм Schu S4), названный FSC043 с LD₅₀ > 10⁸ КОЕ при ВК иммунизации (10²–10⁸ КОЕ), который защищал мышей (BALB/c) от высоковирулентного штамма ssp. *tularensis* FSC033 при ВК или АЭ заражении 10³ или 10¹ КОЕ. Отмечено, что иммунизация FSC043 более эффективна, чем иммунизация LVS, особенно против АЭ заражения (Twine et al., 2005). Позднее был расшифрован механизм его аттенуации (в гене *pdpC*), мутант показал минимальную внутриклеточную репликацию и не вызывал клеточную цитотоксичность (Lindgren et al., 2014).

В лаборатории туляремии Центрального института эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи АМН СССР был получен аттенуированный штамм *F. tularensis* ssp. *tularensis* Schu № 7, эффективный против заражения высоковирулентными штаммами этого подвида (Емельянова, Олсуфьев, 1962). Этот кандидат в вакцинный штамм соответствовал всем требованиям, предъявляемым к вакцинным штаммам. При этом он создавал достаточно высокий иммунитет против АЭ заражения родительским штаммом *F. tularensis* ssp. *tularensis*, в отличие от штамма 15 НИИЭГ, в опытах на домашних кроликах — адекватной биологической модели для изучения протективных свойств вакцинных штаммов неарктического подвида. LD₅₀ вирулентного штамма В399А Cole для кроликов, предварительно иммунизированных ПК (10⁸ КОЕ) штаммами Schu

№ 7 и 15 НИИЭГ (контроль), составляла 1.6 × 10⁵ и 6 × 10⁴ КОЕ соответственно (28 сут — срок наблюдения).

Основой для создания новых вакцин могут быть два штамма *F. tularensis* (ts42), обладающие чувствительностью к температуре культивирования выше 41°C: штамм 15/10 № 83, полученный методом отбора температурочувствительных клонов из вакцинного штамма 15 НИИЭГ, а также уникальный природный изолят *F. tularensis* ssp. *holarctica* № 268, выделенный из воды, с фенотипом чувствительности к 42°C. Эти два штамма имели низкую остаточную вирулентность для мышей, были авирулентными для морских свинок, в то же время обладали высокой иммуногенностью, защищая экспериментальных животных от заражения вирулентным штаммом *F. tularensis* ssp. *holarctica* 503 (в дозе 10³ КОЕ). Более того штамм № 268, десятикратно пассированный через организм мыши, не изменил свою вирулентность для мышей (Kormilitsyna, Meshcheryakova, 1996).

Был предложен (Айкимбаев и др., 2006) аттенуированный штамм *F. tularensis* ssp. *mediaasiatica* 240, перспективный для создания туляремийной вакцины. Этот ослабленный штамм был получен методом культивирования на искусственных питательных средах штамма *F. tularensis* среднеазиатского подвида № 240 с отбором SR-вариантов КОЕ и с воздействием на него иммунной сыворотки по методу Н.А. Гайского. Аттенуированный штамм 240 обладал остаточной вирулентностью для белых мышей: LD₅₀ = 2134 КОЕ, авирулентностью для морских свинок (при ПК заражении в дозах 5 × 10⁸–10⁹ КОЕ), иммуногенностью, слабой реактогенностью и стабильностью свойств.

Антибиотикоустойчивые аттенуированные мутанты F. tularensis

Одним из недостатков известных вакцинных штаммов является отсутствие маркеров (например, антибиотикорезистентности) для дифференциации их от диких штаммов. Спонтанные антибиотикоустойчивые мутанты *F. tularensis* с ослабленной вирулентностью были получены в качестве кандидатов в вакцинные штаммы.

Из клонов аттенуированного штамма среднеазиатского подвида *F. tularensis* ssp. *mediaasiatica* 240 со свойствами вакцинного отобран устойчивый к рифампицину вариант со сниженной остаточной вирулентностью, стабильными аттенуированными свойствами — *F. tularensis* ssp. *mediaasiatica* 240, *rif-R*, который предложен в качестве перспективной туляремийной вакцины (Куница, 2012). Остаточная вирулентность этого рифампициноустойчивого штамма среднеазиатского подвида

для белых мышей более чем в 17 раз ниже таковой используемого в настоящее время производственного вакцинного штамма 15 НИИЭГ, при этом протективная активность штамма оказалась очень высокой. Для защиты белых мышей от заражения туляремией достаточно введения единичных клеток штамма *F. tularensis* ssp. *mediaasiatica* 240, rif-R. Предлагаемый в качестве вакцины штамм способен защитить животных от доз почти в 2 раза больших, чем штамм 15 НИИЭГ. Напряженность иммунитета, вызванного заявляемым штаммом, выше, а реактогенность штамма значительно ниже используемого производственного штамма 15 НИИЭГ.

В качестве кандидата в вакцинные штаммы *F. tularensis* подвида *tularensis* разработан антибиотикорезистентный штамм В399А-Cole Str^r 2500/к (устойчивый к стрептомицину) для защиты от высоковирулентных штаммов (Кормилицына и др., 2006). Получение мутантов высоковирулентного штамма В399А-Cole, резистентных к стрептомицину, проводили по двум мутациям: 1) отбор клонов, условно зависимых от стрептомицина, 2) выделение из них стрептомициннезависимых мутантов – ревертантов (с отбором по морфологии КОЕ крупного типа на среде без стрептомицина). Таким образом, после двух мутаций, приводящих к стрептомицинустойчивости, получен аттенуированный штамм, обладающий антигенной активностью, иммуногенностью для белых мышей и домашних кроликов, безвредностью для морских свинок и домашних кроликов, стабильностью по основным биологическим признакам. Причем штамм В399А-Cole Str^r 2500/к создавал более надежную защиту кроликов в условиях как ПК, так и АЭ заражения высоковирулентным штаммом *F. tularensis* ssp. *tularensis* В399А-Cole, по сравнению с вакцинным штаммом 15 НИИЭГ. Так, в опытах на кроликах, иммунизированных ПК (10^8 КОЕ) потенциально вакцинным штаммом В399А-Cole Str^r 2500/к и через 28 сут зараженных различными дозами штамма В399А-Cole, LD₅₀ вирулентного штамма составляла $\sim 10^5$ КОЕ, а для иммунизированных штаммом 15 НИИЭГ LD₅₀ $\sim 7 \times 10^3$ КОЕ (срок наблюдения – 1 мес.). Недостаток этого кандидата в вакцинные штаммы – относительно высокая остаточная вирулентность (LD₅₀ – 355 КОЕ) при ПК введении его мышам. Геном этого штамма с измененной вирулентностью не расшифрован.

КОНСТРУИРОВАНИЕ АТТЕНУИРОВАННЫХ МУТАНТОВ *F. tularensis*

В последние десятилетия направляются большие усилия (особенно за рубежом) на разработку новой лицензируемой вакцины против туляремии. Поиск новых вакцинных штаммов в основ-

ном ведется в двух направлениях с использованием в качестве основы: 1) известных вакцинных штаммов (15 НИИЭГ или LVS); 2) вирулентных *F. tularensis* штаммов, преимущественно подвида *tularensis*, с целью конструирования генетически расшифрованных, стабильных, ослабленных мутантов, имеющих сниженную реактогенность, с высокими протективными свойствами.

Факторы патогенности туляремийного микроба

Факторы патогенности играют важную роль в разработке аттенуированных мутантов *F. tularensis* трех подвигов. Они могут работать в ходе инфекции либо индивидуально, либо сообща. Удаление одного из этих компонентов может привести или не привести микроорганизм в состояние авирулентности. Расшифровка геномов некоторых вирулентных штаммов *F. tularensis* и вакцинных – LVS, 15 НИИЭГ показала различия в генах, кодирующих факторы патогенности, при значительном сходстве их геномов. В геноме LVS отмечено 7 генов, являющихся возможной причиной аттенуации родительского штамма (Rohmer et al., 2006). При сравнении геномов 15 НИИЭГ и LVS выявлены 5 общих уникальных единичных нуклеотидных замен и 2 делеции, которые отличают оба вакцинных штамма от всех остальных штаммов *F. tularensis* и влияют на повышение степени аттенуации этих вакцинных штаммов (Нарышкина и др., 2020).

Francisella использует множество стратегий для противодействия врожденным защитным механизмам хозяина, включая экспрессию пилей IV типа, модификацию липоолигосахаридов, кислые фосфатазы, использование рецептора компонента (CR3) для подавления иммунного ответа и систему секреции VI типа, кодируемую в острове патогенности FPI (*Francisella pathogenicity island*).

Поверхностные структуры

Бактериальные адгезины (пили, фимбрии, капсульные белки и др.) обеспечивают микроорганизму и макроорганизму возможность находиться в тесном контакте.

Определение роли пилевых генов *F. tularensis* – сложных адгезинов, вовлеченных в важные взаимодействия клетки хозяина с патогенными туляремийными бактериями, должно включать вопросы их влияния на выживание и передачу туляремийной инфекции при различных природных условиях. Кластер пилевых генов *Francisella* IV типа, как оказалось, содержит 14 генов, включающих различные белки наружной, внутренней мембраны, АТФазы и пилевые субъединичные белки. Поверхностные волокна составлены из 5–6 субъединиц белков пилинов PilE1–PilE6 (Ark, Mann, 2011). Делеция по пилевым генам *pilE5* (*pilE*) и

pilE6 (fimT) не влияла на вирулентность штамма Schu S4, тогда как мутанты LVS (*LVSΔpilE5* и *LVSΔpilE6*) демонстрировали значительную аттенуацию для мышей BALB/c (>70%), по сравнению с родительским LVS (Ark, Mann, 2011). Ген *pilA (pilE1)* требуется для полной вирулентности штаммов *F. tularensis* как *ssp. holarctica*, так и *ssp. tularensis* (Salomonsson et al., 2009; Forslund et al., 2010). Выявлено, что аттенуация штаммов LVS, а также 15 НИИЭГ, его вариантов и большинства авирулентных штаммов *F. tularensis ssp. holarctica* – результат потери полноценных генов *pilA (pilE1)* и *FTT_0918* (FTT0918 – белок наружной мембраны 58 кДа, участвующий в метаболизме железа) (Кормилицына и др., 2010, 2013; Salomonsson et al., 2009).

Многие исследователи сфокусировали свои усилия на капсуле туляремиального микроба, так как она требуется для протективного иммунитета и всей его вирулентной стратегии (Rowe, Huntley, 2015). Состав капсулы может отличаться у подвидов *tularensis* и *holarctica*, включая LVS (Bandara et al., 2011; Barker et al., 2016). *F. tularensis* продуцирует два отдельных внеклеточных компонента: капсульный О-антиген и капсулоподобный комплекс, которые функционируют аналогично традиционной капсуле (Catanzaro, Inzana, 2020). Капсулоподобный комплекс представляет собой гетерогенную совокупность гликопротеинов, белков и, возможно, везикул и трубочек наружной мембраны. Полисахариды капсульного О-антигена идентичны липополисахаридной субъединице О-антигена (Apicella et al., 2010; Bandara et al., 2011; Rowe, Huntley, 2015; Catanzaro, Inzana, 2020). Полноструктурный липополисахарид (ЛПС) функционирует в качестве каркаса для капсулы, и таким образом осуществляется взаимодействие между ЛПС и капсулой, необходимой для наружной мембраны (Rasmussen et al., 2014). Предполагают, что мишенями комплемент-опсонизации являются ЛПС и капсула, которые защищают микроорганизм от смертельной активности сывороточного комплемента, одновременно стимулируют поглощение туляремиальных бактерий клетками хозяина и противодействуя их поглощению фагоцитами (Lindemann et al., 2011; Jones et al., 2014). Штаммы, лишённые О-антигена, как капсулы, так и ЛПС, обычно чувствительны к сыворотке крови и ослаблены *in vivo* (Gunn, Ernst, 2007; Catanzaro, Inzana, 2020). Капсульный О-антиген также не содержит олигосахарид внутреннего ядра, который присутствует в ЛПС. Продемонстрировано также, что KdhAB – двухкомпонентная Kdo-гидролаза (первая глюкоза, соединяющая липид А с остальными олигосахаридами ядра) играет важную роль в патогенности бактерии LVS (Okap et al., 2013; Catanzaro, Inzana, 2020). Тем не менее, полностью не ясна дифференциальная роль капсульного О-антигена и О-антигена ЛПС в виру-

лентности и резистентности к защитным средствам хозяина (Catanzaro, Inzana, 2020).

Показано, что фазовые вариации LVS – от голубого до серого – включают структурные модификации О-антигена ЛПС – ядра и липида А и влияют на внутримакрофагальную выживаемость и протективную способность против заражения вирулентным штаммом *F. tularensis* (Soni et al., 2010). ЛПС серого варианта КОЕ имел драматические изменения. Выявлено (Soni et al., 2010), что потеря двух важных гликозилтрансферазных генов липида А – *flmF2 (FTL_1611)* и *flmK (FTL_1609)* вызывает авирулентность для экспериментальных мышей и, возможно, играет роль в раннем клиренсе и отсутствии развития защитного иммунного ответа против заражения вирулентным штаммом *F. tularensis*. Понимание механизма перехода фазы вариации от голубой до серой может привести к тому, что будущая туляремиальная вакцина будет более стабильной и эффективной.

Мутации в генах, вовлекаемых в биосинтез капсулы, были исследованы с целью получения живых вакцинных штаммов. Выяснено, что одни гены (*wbtA1*, *wbtA2*, *wbtC*, *wbtI*, *wbtM* и *FTL_0708*) востребованы для продукции капсулы, другие (*capB*, *capC*, *lpxL*, *wbtK*, *FTT_0706* и *FTT_0673-0674*) – нет (Apicella et al., 2010). Прерывание работы гена *wzy*, ответственного за полимеразу О-антигена, также нарушает формирование капсульного О-антигена и ЛПС (Rasmussen et al., 2015). Мутанты *F. tularensis*, дефектные по генам, вовлеченным в предполагаемый синтез капсулы и мембраны, оказались аттенуированными для мышей. Некоторые из мутантов с дефектными генами: *capBC (FTL_1416, FTT_0805, FTT_0806)*, *wzy (FTL_0598)*, *FTL_0057, FTL_0325, FTL_0291, wbtC (FTT_1462c)* обладали определенным уровнем защиты против заражения вирулентными штаммами (Jia et al., 2010; Michell et al., 2010; Kim et al., 2012; Twine et al., 2012b; Mahawar et al., 2013).

Отмечено, что способ иммунизации мутантом и путь последующего заражения вирулентным штаммом влиял на эффективность защиты. Введенный ПК мышам мутант Schu S4 $\Delta capB$ создавал 100%-ную защиту от такого же способа заражения вирулентным штаммом Schu S4 (Michell et al., 2010); интраназальная (ИН) вакцинация мышей LVS $\Delta capB$ обеспечивала 100%-ный иммунитет против ИН введения вирулентного штамма *F. tularensis* Schu S4 ($10 \times LD_{50}$), а при ВК иммунизации ни одно животное не выжило (Jia et al., 2010) (табл. 1).

Мутант LVS с делецией фрагмента гена *wbtA* (кодирует дегидратазу полисахарида О-антигена), введенный ВК, вызывал 100%-ную защиту мышей BALB/cByJ от ВК заражения 17 КОЕ штамма *F. tularensis* подвида *holarctica* FSC 108, но при ИН иммунизации – недостаточную протекцию (20%) против заражения 10 КОЕ штамма

Таблица 1. Протективные свойства генетически аттенуированных штаммов *F. tularensis*

<i>F. tularensis</i> (<i>Ft</i>) подвид <i>holarctica</i> или <i>tularensis</i> , штамм, мутация (делеция/модификация) локуса гена	Модель животных	Способ вакцинации*, доза (КОЕ)	Заражение вирулентным штаммом подвита <i>Ft</i> , способ введения, доза (КОЕ)	% выживших животных (по сравнению с контролем LVS или 15 НИИЭГ)**	Источник
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_0918 (fipA)</i>	Мыши BALB/c	ВК (10^5)	<i>tularensis</i> FSC033 1) ВК (5×10^2); 2) АЭ (~10)	1) 100 (100); 2) ~33 (0)	Twine et al., 2005
<i>Ft holarctica</i> LVS <i>FTL_1793 (sodB)</i>	Мыши C57BL/6	ИН (~ 5×10^3)	<i>tularensis</i> Schu S4 ИН (14)	40 (0)	Bakshi et al., 2008
<i>Ft holarctica</i> LVS <i>FTL_0552 (pmrA)</i>	Мыши 1) BALB/c; 2) C57BL/6	1) ИН (10^5); 2) ИН (10^4)	<i>tularensis</i> Schu S4 ИН (10^2)	1) 30; 2) 0	Sammons-Jackson et al., 2008
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_0893</i> и <i>FTT_0894 (pur-MCD)</i>	Мыши BALB/c	I: 1) ВК (10^1-10^6); 2) ИН (10^1-10^6). II: ИН (10^4)	<i>tularensis</i> Schu S4 I: ИН (5×10^2). II: 1) ВК (10^2 и 2×10^2); 2) ИН (10^2 и 2×10^2)	I: 1) 0 и 2) 10. II: 1) ~67 (100) и 100 (100); 2) ~14 (100) и 0 (0)	Pechous et al., 2008
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1103 (fipB)</i>	Мыши BALB/c	ИН (1×10^8)	<i>tularensis</i> Schu S4 ИН (95)	75	Qin et al., 2009
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1416 (capB)</i>	Мыши C57BL/6	ИН 1) (2.6×10^7 и 1.3×10^8); 2) (2.6×10^8)	<i>tularensis</i> Schu S4 ИН 1) (37 и 68); 2) (68)	1) 100 и 100; 2) 50	Jia et al., 2010
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_0918 (fipA)</i> и <i>FTT_0805 (capB)</i>	Мыши BALB/c	1) ВК (10^6); 2) ИН (10^5)	<i>tularensis</i> Schu S4 АЭ (20)	1) 0 (67); 2) 100 (100)	Conlan et al., 2010
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1769c (clpB)</i>	Мыши I: BALB/c II: C3H/HeN	1) ВК (10^5); 2) ПО (10^8)	<i>tularensis</i> Schu S4 АЭ (20)	I: 1) 60 (0); 2) 40 (0). II: 1 и 2) 0 (0)	Conlan et al., 2010
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1769c (clpB)</i>	Мыши BALB/c	ВК (10^5)	<i>tularensis</i> Schu S4 1) ИН (10 , 10^2 , 10^3); 2) ВК (10^5)	1) 100 (30), 80 (0), 20 (0); 2) 100 (100)	Shen et al., 2010

Таблица 1. Продолжение

<i>F. tularensis</i> (<i>Ft</i>) подвид <i>holartica</i> или <i>tularensis</i> , штамм, мутация (делеция/модификация) локуса гена	Модель животных	Способ вакцинации*, доза (КОЕ)	Заражение вирулентным штаммом подвита <i>Ft</i> , способ введения, доза (КОЕ)	% выживших животных (по сравнению с контролем LVS или 15 НИИЭГ)**	Источник
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_0805</i> (<i>capB</i>)	Мыши BALB/c	1) ПК (1.6×10^4 , 5, 6); 2) ПК (10^4)	<i>tularensis</i> Schu S4 1) ПК (1.2×10^2); 2) ПК (10^3)	1) 80–100; 2) 60 (100)	Michell et al., 2010
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1181c</i> (<i>ggr</i>)	Мыши BALB/c	ПК (8.75×10^3 , 4, 5, 6)	<i>tularensis</i> Schu S4 ПК (10^2 LD ₅₀)	100	Ireland et al., 2011
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1769c</i> (<i>clpB</i>)	Мыши 1) BALB/c; 2) C57BL/6	ВК (10^5)	<i>tularensis</i> Schu S4 АЭ (10^2)	1) ~75; 2) 0	Twine et al., 2012a
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1462c</i> (<i>wbtC</i>)	Мыши BALB/c	ВК (10^3 – 10^5)	<i>tularensis</i> Schu S4	1) 100; 2) 0	Twine et al., 2012b
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_0918</i> (<i>fupA</i>)	Мыши C57BL/6J	ПК ($\sim 5 \times 10^2$, $\sim 2 \times 10^3$ и $\sim 2 \times 10^4$)	<i>tularensis</i> Schu S4 ПК (5×10^2)	0–25	Ramakrishnan et al., 2012
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_0025</i> (<i>slE</i>) и <i>FTT_0918</i> (<i>fupA</i>)	Мыши C57BL/6J	ПК 1) 37; 2) 397, 1588, 15880	<i>tularensis</i> Schu S4 ПК 1) (12); 2) (5×10^2)	1) 100; 2) 100	Ramakrishnan et al., 2012
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_0369c</i>	Мыши BALB/c	1) ВК (50); 2) ИН (10); 3) ВК (5×10^4)	<i>tularensis</i> Schu S4 1) ВК (50), ИН (10); 2) ВК (50), ИН (10); 3) ИН (50 и 2×10^2)	1) 100, 90; 2) 50, 80; 3) 100 и 0	Rockx-Brouwer et al., 2012
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1676</i>	Мыши BALB/c	1) ВК (50); 2) ИН (10).	<i>tularensis</i> Schu S4 1) ВК (50), ИН (10); 2) ВК (50), ИН (10);	1) 100, 100; 2) 25, 50	Rockx-Brouwer et al., 2012
<i>Ft holartica</i> FSC200 <i>FTL_0094</i> (<i>clpB</i>)	Мыши BALB/c	1) ВК (10^5); 2) ВК (10^3 , 10^5 , 10^7)	<i>tularensis</i> Schu S4 1) ИН (86); 2) ИН (105)	1) 40 (0); 2) 0–20	Golovtsov et al., 2013

Таблица 1. Продолжение

<i>F. tularensis</i> (<i>Ft</i>) подвид <i>holarctica</i> или <i>tularensis</i> , штамм, мутация (делеция/модификация) локуса гена	Модель животных	Способ вакцинации*, доза (КОЕ)	Заражение вирулентным штаммом подвита <i>Ft</i> , способ введения, доза (КОЕ)	% выживших животных (по сравнению с контролем LVS или 15 НИИЭГ)**	Источник
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1769c (clpB)</i>	Мыши BALB/c	ВК (10^3 , 10^5 , 10^7)	<i>tularensis</i> Schu S4 1) ИН (10^5); 2) ВК (10^3)	1) ~60–100 (0); 2) 100 (100)	Golovtsov et al., 2013
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1769c (clpB)</i>	Мыши BALB/c	ВК (10^5)	<i>tularensis</i> Schu S4 1) ВК (2×10^3); 2) ИН (75)	1) 100; 2) 100	Ryden et al., 2013
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1462c (wbtC)</i>	Мыши BALB/c	ВК (10^5)	<i>tularensis</i> Schu S4 1) ВК (2×10^3); 2) ИН (75)	1) ~71; 2) 0	Ryden et al., 2013
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1631c (gfpX)</i>	Мыши BALB/c	ВК (10^5)	<i>tularensis</i> Schu S4 1) ВК (2×10^3); 2) ИН (75)	1) ~71; 2) 0	Ryden et al., 2013
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1181c (ggf)</i>	Мыши BALB/c	ВК (10^5)	<i>tularensis</i> Schu S4 1) ВК (2×10^3); 2) ИН (75)	1) 100; 2) ~67	Ryden et al., 2013
<i>Ft holarctica</i> LVS <i>FTL_0057, FTL_0291, FTL_0325</i>	Мыши BALB/c	ИН (10^7)	<i>tularensis</i> Schu S4 ИН (10^2)	100	Mahawar et al., 2013
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT0918-FTT0919 (fipA-fipB)</i>	Мыши BALB/c	1) ВК (10); 2) ИН (10)	<i>tularensis</i> Schu S4 1) ВК (2.4×10^3); 2) ИН (25)	1) 100; 2) 25	Lindgren et al., 2014
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>guaBA</i>	Кролики NZW	СК (1×10^9)	<i>tularensis</i> Schu S4 АЭ (10^3-10^4)	27 (0)	Reed et al., 2014
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_0471 (aroD)</i>	Кролики NZW	СК (1×10^9)	<i>tularensis</i> Schu S4 АЭ (10^3-10^4)	36 (0)	Reed et al., 2014
<i>Ft holarctica</i> FSC200 <i>dsbA</i>	Мыши BALB/c	ПК ($10-10^5$ и 10^7); ИН ($10-10^6$)	<i>tularensis</i> Schu S4 1) ПК (10^2); 2) ИН (10^2)	1) 70; 2) ~17	Straskova et al., 2015

Таблица 1. Окончание

<i>F. tularensis</i> (<i>Ft</i>) подвид <i>holarctica</i> или <i>tularensis</i> , штамм, мутация (делеция/модификация) локуса гена	Модель животных	Способ вакцинации*, доза (КОЕ)	Заражение вирулентным штаммом подвита <i>Ft</i> , способ введения, доза (КОЕ)	% выживших животных (по сравнению с контролем LVS или 15 НИИЭГ)**	Источник
<i>Ft holarctica</i> LVS <i>FTL_0687 (emrA)</i>	Мыши C57BL/6	ИН (~10 ⁶)	<i>tularensis</i> Schu S4 ИН (32)	15	Suresh et al., 2015
<i>Ft holarctica</i> 15 НИИЭГ <i>purMCDN</i>	Мыши BALB/c	ПК (10 ⁶ –10 ⁸)	1) <i>holarctica</i> 503 ПК (4 × 10 ³) и ИН (4 × 10 ⁴); 2) <i>tularensis</i> Schu ПК (4 × 10 ³) и ИН (4 × 10 ⁴)	1) 20–40 и 0; 2) 0–20 и 0	Мокриевич, 2016
<i>Ft holarctica</i> FSC200 (<i>gapA</i>)	Мыши BALB/c	ПК (1.5 × 10 ² , 3 × 10 ² , 3 × 10 ⁵ , 3 × 10 ⁷)	<i>holarctica</i> FSC200 ПК (3 × 10 ² КОЕ)	100	Pavkova et al., 2017
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>prtB</i>	Мыши C57BL/6J	ИН 1) (7.3 × 10 ⁵); ИН 2) (1.1 × 10 ⁶)	<i>tularensis</i> Schu S4 1) ИН (7, 70, 162); 2) ИН (39, 78, 360)	1) 36; 2) 42	Balzano et al., 2018
<i>Ft tularensis</i> Schu P9 <i>pppC</i>	Мыши C57BL/6J	ПК (10 ⁶)	<i>tularensis</i> Schu P9 ИН (10 ² LD ₅₀)	38	Tian et al., 2018
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_1029 (dacD)</i>	Мыши BALB/c	ИН 1) 55, 2) 544	<i>tularensis</i> Schu S4 I: ИН (3); II: ИН (77)	I: 1 и 2) 100; II: 1) 40, 2) 100	Kijek et al., 2019
<i>Ft holarctica</i> 15 НИИЭГ <i>igIC</i> и <i>recA</i>	Мыши BALB/c	ПК (10 ²)	<i>tularensis</i> Schu S4 ИН (3 × 10 ³)	30	Карцева и др., 2020
<i>Ft holarctica</i> 15 НИИЭГ <i>sodB</i> и <i>recA</i>	Мыши BALB/c	ПК (10 ²)	<i>tularensis</i> Schu S4 ИН (3 × 10 ³)	70 (50)	Карцева и др., 2020
<i>Ft tularensis</i> Schu S4 <i>FTT_0471 (aroD)</i>	Мыши C57BL/6J	ИН 1) (5 × 10 ¹⁻³); 2) (1 × 10 ⁴⁻⁵)	<i>tularensis</i> Schu S4 ИН (10 ²)	1) ~87; 2) 100	Cunningham et al., 2020

Примечание: * ПК – подкожно, ВК – внутривенно, СК – скарификация, ВП – внутриперитонеально, ИН/АЭ/ПО – интраназально/аэрозольно/перорально (соответствующие воздушно-капельному, то есть аэрозольному заражению). Результаты бустерной иммунизации в таблице не включены. ** В скобках – % выживших контрольных животных, иммунизированных LVS или 15 НИИЭГ, после заражения таким же вирулентным штаммом.

Schu S4 подвида *tularensis* (Sebastian et al., 2007). Тройная ИН вакцинация мышей BALB/cByJ мутантом LVS с делецией фрагмента гена *wzu* (LVS::wzu) вызывала как гуморальный, так и клеточный иммунитет, а уровень защиты против ИН заражения 8 КОЕ штамма Schu S4 был ниже (84%), чем у родительского штамма (100%), тогда как LVS::*ΔwbtA* индуцировал только клеточный иммунитет и не защищал против ИН заражения штаммом Schu S4 (Kim et al., 2012). При использовании другого мутанта — Schu S4 *ΔwbtC* (*wbtC* кодирует биосинтез ЛПС) отмечено, что он защищал мышей от ВК введения штамма Schu S4, но не от АЭ (Twine et al., 2012b; Ryden et al., 2013) (табл. 1). Только бустерная вакцинация мутантом LVS с делецией локуса гена *kdhAB* (*KdhAB* — двухкомпонентная гидролаза *Kdo*, участвует в биосинтезе ЛПС) приводила к защите (90%) от ИН заражения малыми дозами вирулентного штамма Schu S4 (Okan et al., 2013). У мутантов Schu S4 *waaY* и *waaL*, потерявших капсулу и часть цепи O-антигена ЛПС, отмечены высокие протективные свойства при ИН заражении Schu S4 только в условиях бустерной иммунизации ими мышей BALB/c (Rasmussen et al., 2014).

Другие факторы вирулентности

Различные факторы вирулентности были изучены также для создания новых вакцинных штаммов *F. tularensis* — мутантов с повреждением генов: метаболизма питательных веществ (*purMCD*, *purMCDN*, *gapA*, *ggg*, *aro*), стресс-регуляции на оксидантный стресс (*sodB*, *emrA1*) и тепловой шок (*clpB*), белков мембраны (*FTL_0325*, *FTL_0057*, *FTL_0291*), образования дисульфидных связей (*dsbA*), липопротеина (*FTT_1103*), метаболизма железа (*FTT_0025* и *FTT_0918*), нуклеотидного биосинтеза гуанина (*guaBA*) и других функций (табл. 1). Например, аттенуированные мутанты при одном и том же способе (ПК) введения аттенуированного мутанта Schu S4 *Δggg* или FSC200 *ΔgapA* и последующего заражающего вирулентного штамма защищали экспериментальных животных в 100% случаев (табл. 1) (Ireland et al., 2011; Pavkova et al., 2017). Мыши, вакцинированные ПК или ВК мутантами *Ft ssp. holarctica* 15 *ΔpurMCDN* или *Ft ssp. tularensis* Schu S4 *ΔpurMCD*, имели неполную защиту или ее отсутствие при ИН заражении Schu (табл. 1) (Мокриевич, 2016; Pechous et al., 2008).

Много усилий прилагается к поиску аттенуированных мутантов *Francisella*, обеспечивающих оптимальную защиту против респираторного способа заражения высоковирулентными штаммами *F. tularensis*. Мутация в одном гене, ответственном за биосинтез ароматических аминокислот, — *aroD* высоковирулентного штамма Schu S4 привела не только к полной аттенуации *F. tularen-*

sis ssp. tularensis Schu S4 *ΔaroD*, но и к высоким его иммуногенным свойствам, выявляемым при ИН введении вирулентного штамма Schu S4 мышам (табл. 1) (Cunningham et al., 2020). Мыши, ИН вакцинированные делеционным мутантом Schu S4 *FTT1103*, имели иммунитет к ИН заражению штаммом Schu S4 в пределах 50–100% (табл. 1) (Qin et al., 2009). Недостаточная защита мышей от ИН заражения вирулентным штаммом Schu S4 также была отмечена (Suresh et al., 2015; Balzano et al., 2018) у мутантов LVS *emrA1* и Schu S4 *ΔfptB* (ген *fptB* кодирует фагосомальный транспортер) (табл. 1). Аналогичный результат был получен (Twine et al., 2005; Straskova et al., 2015) с использованием мутантов Schu S4 *ΔFTT0918* и *ΔdsbA/FSC200* (табл. 1).

Отмечено, что комбинация иммунизирующих доз и количества введенных вирулентных туляремиальных бактерий штамма Schu S4 влияла на результат защиты мышей. Так, иммунизированные ИН малыми дозами мутанта Schu S4 *dacD* (*dacD* участвует в биосинтезе пептидогликана) животные были защищены от малых доз ИН заражения Schu S4 и частично от более высоких (табл. 1) (Kijek et al., 2019). Также при вакцинации мутантов Schu S4 *ΔFTT0369c* и *ΔFTT1676* показана защита животных от малых доз (10 и 50 КОЕ) ИН введения штамма Schu S4, но не от ИН заражения 2×10^2 КОЕ при испытании более иммуногенного мутанта *ΔFTT0369c* (табл. 1) (Rockx-Brouwer et al., 2012).

Мутанты LVS и Schu S4 *ΔclpB* показали высокую чувствительность к тепловому шоку и низкому рН, проявляя дефектную внутриклеточную репликацию, сопровождающуюся нарушением секреторной системы VI типа (Alam et al., 2018). Отмечено, что делеция только одного гена *clpB* приводила к значительной аттенуации штаммов *F. tularensis ssp. holarctica* FSC200 и *F. tularensis ssp. tularensis* Schu S4 при ВК введении мышам, сопоставимой с LVS (Golovliov et al., 2013). При этом мутант FSC200 *ΔclpB* имел большую остаточную вирулентность для иммунодефицитных мышей при ИН или ВК пути введения, чем LVS и Schu S4 *ΔclpB*. При сравнении протективности двух мутантов более иммуногенным оказался Schu S4 *ΔclpB*, в отличие от FSC200 *ΔclpB* и LVS (табл. 1) (Golovliov et al., 2013).

Гены FPI ответственны за внутриклеточную репликацию, способность бактерий к выходу из фагосомы и вирулентность, а мутанты этих генов рассматриваются как потенциально вакцинные штаммы (Jones et al., 2014). *F. tularensis* Schu S4 и LVS показывают значительные различия в уровне экспрессии генов FPI, вовлеченных в репликацию: у Schu S4 он был примерно в 3 раза выше, чем у LVS (Jones et al., 2014). Гены FPI, которые кодируют способность лизировать фагосомальную мембрану, играют центральную роль в спо-

способности патогенов достигать цитозоля. Мутация любого из генов FPI приводит к тому, что бактерии подвида *tularensis* становятся безвредными для мышей, например, делеция в гене FPI – *iglH* или *iglC* (локусы *igl* кодируют внутриклеточный рост) (Twine et al., 2005; Conlan et al., 2010; Straskova et al., 2015). Однако эти мутанты не защищали от АЭ заражения вирулентным штаммом Schu S4 (табл. 1). Другой ген FPI – *pdpC* также востребован в патогенности *F. tularensis* (Tian et al., 2018). ПК иммунизированные аттенуированным мутантом Schu P9 Δ *pdpC* мыши имели незначительный иммунитет (38%) против ИН заражения высоковирулентным штаммом Schu P9 в дозе 100 LD₅₀ (табл. 1). Вакцинированные этим же мутантом (ПК 10⁶ КОЕ) две макаки *Macaca fascicularis* после интрахеального (ИТ) заражения массивной летальной дозой 10⁶ КОЕ штамма Schu P9 выжили. Мутант был стабилен после 10 серийных пассажей через организм мышей (Tian et al., 2018, 2019).

При анализе литературных источников обращают на себя внимание мутанты с более высоким стандартом: со способностью защищать экспериментальных животных против заражения высоковирулентным штаммом Schu S4, с протективной эффективностью, эквивалентной или выше, чем у LVS. Этими мутантами были (табл. 1): *F. tularensis* ssp. *holarctica* 15/23-1/*sodB* Δ *recA*, LVS Δ *purMCD*, LVS *sodB*, LVS Δ *capB*, FSC200 Δ *clpB*, *F. tularensis* ssp. *tularensis* Schu S4 Δ *FTT0918*, SCHU S4 Δ *purMCD*, Schu S4 Δ *clpB*, Schu S4 Δ *0918* Δ *capB*, Schu S4 Δ *guaBA*, Schu S4 Δ *aroD* (Карцева и др., 2020; Twine et al., 2005; Bakshi et al., 2008; Pechous et al., 2008; Conlan et al., 2010; Jia et al., 2010; Shen et al., 2010; Golovliov et al., 2013; Reed et al., 2014).

Так как получение аттенуированных штаммов *F. tularensis* с одной мутацией не всегда приводило к ожидаемым результатам, особенно при ИН введении высоковирулентного штамма *F. tularensis* ssp. *tularensis*, были предприняты попытки создания высокоиммуногенных мутантов с делециями в двух генах. Так, если при ПК вакцинации мышей Schu S4 с одной делецией Δ *fsI* и последующего ПК заражения штаммом Schu S4 протективные свойства не были обнаружены, а при вакцинации Δ *furA* в живых оставалось минимальное количество животных, то двойной мутант Δ *fsI* Δ *furA* создавал 100%-ную защиту (табл. 1) (Ramakrishnan et al., 2012). Двойной мутант Schu S4 Δ *0918* Δ *capB* на модели мышей BALB/c обладал протективной активностью против АЭ заражения Schu S4 более высокой, чем LVS (табл. 1) (Conlan et al., 2010). Комбинация двух делетированных генов *FTT_0369c* и *FTT_1676* не улучшила эффективность протективных свойств мутанта Schu S4 Δ *FTT0369c* Δ *FTT1676* (Rockx-Brouwer et al., 2012). ВК иммунизация Schu S4 Δ *clpB* Δ *capB* (10⁷ КОЕ)

также не обеспечила полной защиты мышей от АЭ заражения Schu S4 (10² КОЕ) – только 20% выживших, тогда как иммунизация Schu S4 Δ *clpB* создала защиту ~60% животных от высоковирулентного штамма (табл. 1) (Golovliov et al., 2013).

Наиболее полными из всех разработок вакцинных штаммов стали исследования (Мокриевич, 2016), которые были посвящены улучшению свойств существующей вакцины 15 НИИЭГ. Вакцинный штамм *F. tularensis* подвида *holarctica* 15/23-1 Δ *recA* с делециями в двух генах: одной копии гена *iglC* и *recA* (*iglC* кодирует белок внутриклеточного роста рекомбиназу А, *recA* – систему рекомбинации *F. tularensis*) обладал сниженной реактогенностью, большей стабильностью при сохранении протективного потенциала родительского штамма. ПК иммунизация штаммом 15/23-1 Δ *recA* мышей BALB/c и морских свинок создавала защиту от ПК заражения штаммом 503 и Schu (мышь) на уровне штамма 15 НИИЭГ. В процессе исследования этого штамма со свойствами вакцинного был разработан алгоритм, предусматривающий комплексное использование оптимизированных критериев оценки перспективных вакцинных штаммов *F. tularensis*, основанных на информативных, хорошо изученных и широко применяемых тестах. Этот штамм может рассматриваться в качестве перспективной кандидатной вакцины против туляремии. Продолжением исследований 15/23-1 Δ *recA* стало изучение (Карцева и др., 2020) иммуногенных свойств штамма 15/23-1/*sodB* Δ *recA* (с модификацией гена *sodB*), у которого был обнаружен более выраженный уровень защиты мышей (70%) от высокой дозы ИН заражения Schu S4, по сравнению с таковым у мышей, иммунизированных 15 НИИЭГ и 15/23-1 Δ *recA*: 50 и 30% соответственно (табл. 1).

Заслуживают внимания усилия по разработке потенциальных вакцинных кандидатов против туляремии на основе малопатогенного штамма *F. tularensis* ssp. *novicida*. Мутант штамма U112 с отсутствующим геном – липопротеином наружной мембраны – *FTN0109* снизил свою вирулентность (>10⁵ КОЕ) для мышей двух линий – BALB/c и C57BL/6, по сравнению с родительским штаммом U112 (<10 КОЕ) (Cunningham et al., 2015). Однако ИТ вакцинация (10⁶ КОЕ) этим мутантом крыс Fischer 344 (второй модели легочной туляремии, близкой по чувствительности к человеку) создавала частичную (50%) защиту против ИН введения высоковирулентного штамма *F. tularensis* Schu S4 (1.25 × 10⁴ КОЕ) (Cunningham et al., 2015). После ИТ или ПО вакцинации крыс Fischer 344 мутантом U112 Δ *iglB* и последующего АЭ заражения штаммом *F. tularensis* Schu S4 (1.25 × 10⁴ КОЕ) живыми остались также только половина животных (Signarovitz et al., 2012). Лучшие результаты были получены при ПО вакцинации

(10^7 КОЕ) U112 *DigI*B:*fljB* мышей BALB/c и крыс Fischer 344: мутант обеспечивал им 83%-ную защиту против ИТ введения (10^4 КОЕ) штамма *F. tularensis* Schu S4 (Cunningham et al., 2014). Продемонстрировано различное воздействие одной и той же мутации у разных подвидов *F. tularensis*. Так, если аттенуированный мутант *F. tularensis* ssp. *novicida* *Fn iglD*, введенный ИТ (10^5 и 10^7 КОЕ), защищал крыс Fischer 344 против последующего ИТ (10^4 КОЕ) заражения высоковирулентным штаммом *F. tularensis* ssp. *tularensis* (100 и 83% соответственно), то мутант другого подвида *F. tularensis* ssp. *tularensis* *Ftt iglD*, инокулированный ПО (10^7 КОЕ), создавал 50%-ную защиту крыс. Из 6 макак *Macaca fascicularis*, иммунизированных *Fn iglD* бронхоскопией (10^8 КОЕ), выжило 5 (83%) после АЭ заражения ($>10^3$ КОЕ) штаммом Schu S4 (Chu et al., 2014). Испытанные мутанты *F. novicida* с отмеченными протективными свойствами могут быть платформой для создания живой противотуляремийной вакцины.

Модели туляремийной инфекции на животных

Оптимальные модели, воспроизводящие особенности заболевания у человека, — мыши, кролики и крысы. Морские свинки могут быть использованы при исследовании остаточной вирулентности, безвредности, прививаемости, иммунности и стабильности испытываемых штаммов как 15 НИИЭГ, так и новых аттенуированных *F. tularensis* ssp. *holarctica*, что указывается в требованиях к штаммам туляремийного микроба — кандидатам в вакцинные (Основные требования..., 2007). Данные по изучению кандидатов в вакцинные штаммы *F. tularensis* ssp. *tularensis* на модели морских свинок противоречивы из-за возможно более высокой чувствительности их легочной системы к штаммам этого подвида.

В большинстве экспериментов доклинические испытания новых вакцинных штаммов проходят на мышах. При выборе экспериментальной модели следует учитывать, что LVS гораздо более вирулентен для мышей, чем людей, когда он вводится ингаляционно (Conlan, 2011). Мыши одинаково восприимчивы к штаммам как *F. tularensis* ssp. *tularensis*, так и *F. tularensis* ssp. *holarctica*, но отмечены различия в зависимости от дозы, вирулентности патогенного штамма и пути введения, а также от линий мышей (Chen et al., 2003; Elkins et al., 2016). На мышьиной модели разработаны стандарты определения уровня аттенуации туляремийных микробов, при этом в качестве критериев использованы следующие характеристики: LD₅₀ при ИТ, внутрибрюшинном и ВК пути введения должна быть ≤ 1000 КОЕ, ≤ 100 КОЕ и $\geq 10^7$ КОЕ соответственно (Marohn, Barry, 2013).

В ряде экспериментов показано, что защита от ИТ заражения малыми дозами вирулентного штамма *F. tularensis* ssp. *tularensis* была обеспечена у мышей линии BALB/c, вакцинированных LVS, но не мышей C57BL/6 (Chen et al., 2003; Bakshi et al., 2008; Roberts et al., 2018). Такая же закономерность отмечена и для мышей двух линий (BALB/c и C57BL/6), иммунизированных мутантами (табл. 1): LVS *FLL_0552*, Schu S4 *ΔclpB* (Sammons-Jackson et al., 2008; Twine et al., 2012a). Однако ИТ иммунизация мутантом LVS *sodB_{Fl}* обеспечивает высоковоспроизводимую 40%-ную защиту у мышей C57BL/6 при ИТ заражении высоковирулентным штаммом Schu S4 (табл. 1), по сравнению с мышами, вакцинированными родительским LVS (Bakshi et al., 2008). При ИТ иммунизации мутантом Schu S4 *ΔFTT1103* выживало 50–100% мышей линии C57BL/6 и 75% — BALB/c (табл. 1) после последующего ИТ заражения Schu S4 (Qin et al., 2009). Предположительно (Suresh et al., 2015), показателем защитной эффективности какого-либо кандидата в вакцину в организме человека является уровень протекции мышей линии C57BL/6 — высокочувствительных к заражению штаммом *F. tularensis* ssp. *tularensis* Schu S4. Отмечено преимущество беспородных мышей SW в качестве альтернативной модели вакцинации для тестирования вакцин против респираторного заражения *F. tularensis* Schu S4 (Sunagar et al., 2018). Авторы показали, что с точки зрения иммунологического разнообразия эта модель более соответствует человеческой, по сравнению с инбредными мышами C57BL/6. Мутант *Ft LVS sodB*, введенный ИТ, обеспечивал (табл. 1) 100%-ную защиту от ИТ заражения мышей SW штаммом Schu S4, в отличие от мышей C57BL/6, у которых отмечена 50%-ная защита (Sunagar et al., 2018). На модели инбредных мышей C57BL/6, иммунизированных LVS *sodB*, показано, что самцы инбредных мышей оказались более чувствительны к последующему заражению *F. tularensis* Schu S4, чем самки, однако беспородные мыши SW не проявили гендерных различий при заражении этим вирулентным штаммом. Большая часть работ отражают результаты исследования протективных свойств мутантов на модели мышей BALB/c (табл. 1). Вероятнее всего, в эффективной иммунизации против штамма *F. tularensis* Schu S4 решающим является используемый аттенуированный штамм для развития защитного иммунитета, а не линия мышей (Griffin et al., 2015). Предположительно (Timofeev et al., 2020), конструирование аттенуированного штамма ssp. *mediaasiatica* со свойствами вакцинного позволяет формировать иммунный ответ в течение достаточно длительного времени и более эффективную защиту при заражении высоковирулентными штаммами подвидов *tularensis* и *mediaasiatica*.

Защиту против высоких доз респираторного заражения *F. tularensis* намного сложнее достичь, чем против ВК или ПК инфицирования (табл. 1). Выявлено, что кролики являются хорошей моделью легочной формы туляремии у человека при воздействии аэрозолей, содержащих вирулентные *F. tularensis* ssp. *tularensis* (например, Schu S4). Кролики занимают промежуточное положение между мышами и крысами (Reed et al., 2014). СК-вакцинация кроликов мутантами штамма Schu S4 с делециями в генах *guaBA* и *aroD* обеспечила слабую защиту от АЭ заражения штаммом Schu S4 (27 и 36% соответственно), в отличие от LVS-вакцинированных кроликов (табл. 1), павших от таких же доз заражения (Reed et al., 2014). Следует отметить большую эффективность АЭ способа вакцинации кроликов LVS, по сравнению с СК, против АЭ заражения Schu S4 (Stinson et al., 2016).

Использование в качестве моделей мышей, крыс и кроликов наиболее целесообразно для оценки эффективности разрабатываемой живой вакцины, особенно с учетом небольшого размера этих лабораторных животных (в отличие от обезьян) и их способности воспроизводить различные аспекты туляремии у человека (Roberts et al., 2018).

Следует указать, что вышеперечисленные мутанты *F. tularensis* – кандидаты в потенциально вакцинные штаммы, были исследованы по схемам, отличающимся друг от друга: различные дозы вакцинации новых аттенуированных штаммов, интервал между вакцинацией и заражением, проведение экспериментов на одной или нескольких моделях животных различных линий и т.д. В связи с этим исследования новых мутантов как потенциальных кандидатов в вакцину желательнее проводить по единой схеме.

Различия между штаммами *F. tularensis* трех подвидов указывают на то, что разработка вакцины против туляремии, вероятнее всего, будет сосредоточена на штаммах ssp. *tularensis*, которые смогут создать иммунитет против заражения высоковирулентными штаммами возбудителя туляремии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время только живые вакцины на основе вакцинных штаммов *F. tularensis* – 15 НИИЭГ и LVS, несмотря на указанные их недостатки, обеспечивают эффективную иммуноспецифическую защиту против туляремии. Рассматриваются возможности использования новых кандидатов в потенциально вакцинные штаммы. Многие исследования сосредоточены на разработке вакцины, способной защитить от наиболее вирулентных штаммов *F. tularensis*, в частности, от штаммов

подвида *tularensis*, получаемых респираторным путем. Наиболее вероятный путь продолжения поиска новых вакцинных штаммов – конструирование аттенуированных мутантов, дефектных в более чем одном из генов, ответственных за ослабление вирулентности туляремийного микроба. Опасения по поводу безопасности вызваны тем, что туляремийные штаммы с одной ослабляющей мутацией имеют риск возврата к вирулентности во время репликации *in vivo*. Продолжает оставаться актуальным создание живых вакцин нового поколения, обладающих высокой иммуногенностью против заражения высоковирулентными штаммами *F. tularensis*.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Айкимбаев А.М., Чмиров О.Б., Лухнова Л.Ю. и др. Штамм бактерии *Francisella tularensis mediaasiatica* 240, аттенуированный, используемый для приготовления вакцины. Патент РК KZ (A) № 12742, 17.02.2003; опублик. 15.09.2006 г., бюл. № 9.
- Емельянова О.С. Изучение изменчивости микроба туляремии в искусственных и естественных условиях: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.: НИИЭМ им. почет. акад. Н.Ф. Гамалеи АМН СССР, 1963. 26 с.
- Емельянова О.С., Олсуфьев Н.Г. Попыты получения и испытания аттенуированной культуры, иммунизирующей против американского штамма Schu // Вопр. противоэпидем. защ. насел. 1962. Вып. 2–3. С. 269–274.
- Карцева А.С., Калмантаева О.В., Силкина М.В. и др. Характеристика иммуногенных и протективных свойств модифицированных вариантов штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ // Пробл. особ. опас. инф. 2020. № 3. С. 62–69.
- Кормилицына М.И., Маракуша Б.И., Петровская В.Г., Мещерякова И.С. Штамм бактерий *Francisella tularensis* для приготовления живой вакцины против туляремийной инфекции. Автор. свидет. на изобретение № 294124 19.01.1987, по заявке № 316545, SU 1 839 960 A1; опублик. 20.06.2006, бюл. № 17.
- Кормилицына М.И., Михайлова Т.В., Мещерякова И.С. Выявление генов *pilA* и *FTT0918* в ДНК штаммов *Francisella tularensis* различной вирулентности // Сб. тр. VII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участ. “Молекулярная диагностика – 2010” (Москва, 24–26 ноября 2010) / Ред. В.И. Покровский. М.: Киселёва Н.В., 2010. Т. 1. С. 392–395.

- Кормилицына М.И., Мещерякова И.С., Михайлова Т.В. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Francisella tularensis*, различающихся по таксономической принадлежности и вирулентности // Мол. генет. микробиол. вирусол. 2013. № 3. С. 22–25.
- Куница Т.Н. Штамм бактерий *Francisella tularensis mediaasiatica* 240, gif-R, аттенуированный, рифампициностойчивый, высокоиммуногенный, используемый для приготовления вакцины. Патент РК KZ A4 № 25947, 08.11.2011; опубл. 15.08.12 г., бюл. № 8.
- Мещерякова И.С., Кормилицына М.И., Родионова И.В., Константинова Н.Д. Характеристика новых видов патогенных микроорганизмов рода *Francisella* // Журн. микробиол. 1995. № 5. С. 3–8.
- Мокриевич А.Н. Молекулярно-генетические подходы к исследованию возбудителя туляремии для целей совершенствования диагностики и специфической профилактики: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М.: ГНЦ ПМБ, 2016. 46 с.
- Нарышкина Е.А., Краснов Я.М., Альхова Ж.В. и др. Полногеномное секвенирование и филогенетический анализ вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ // Пробл. особ. опас. инф. 2020. № 2. С. 91–97.
- Олсуфьев Н.Г. Таксономия, микробиология и лабораторная диагностика возбудителя туляремии. М.: Медицина, 1975. 192 с.
- Олсуфьев Н.Г., Емельянова О.С. Об иммунологических отношениях разновидностей туляреминого микроба Старого и Нового света // Журн. гиг. эпидемиол. микробиол. иммунол. Прага. 1963. Т. 7 (1). С. 41–49.
- Олсуфьев Н.Г., Мещерякова И.С. Внутривидовая таксономия возбудителя туляремии *Francisella tularensis* McCoу et Charin // Журн. гиг. эпидемиол. микробиол. иммунол. Прага. 1982. № 3. С. 281–291.
- Основные требования к вакцинным штаммам туляреминого микроба. Методические указания МУ 3.3.1.2161-07. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007. 51 с.
- О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018. 268 с.
- Савельева Р.А., Ананова Е.В., Пронин А.В. и др. Определение продолжительности поствакцинального иммунитета против туляремии // Журн. микробиол. 1992. № 6. С. 51–52.
- Санин А.В., Сосновская О.Ю., Голованова Т.А. и др. Иммунологический анализ бактериальной персистенции в костном мозге // Журн. микробиол. 1994 (Приложение). С. 36–40.
- Alam A., Golovliov I., Javed E., Sjöstedt A. *ClpB* mutants of *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* and *tularensis* are defective for type VI secretion and intracellular replication // Sci. Rep. 2018. V. 8 (1). P. 11324.
- Apicella M.A., Post D.M., Fowler A.C. et al. Identification, characterization and immunogenicity of an O-antigen capsular polysaccharide of *Francisella tularensis* // PLoS One. 2010. V. 5 (7). P. e11060.
- Ark N.M., Mann B.J. Impact of *Francisella tularensis* pilin homologs on pilus formation and virulence // Microb. Pathog. 2011. V. 51 (3). P. 110–120.
- Bakshi C.S., Malik M., Mahawar M. et al. An improved vaccine for prevention of respiratory tularemia caused by *Francisella tularensis* SchuS4 strain // Vaccine. 2008. V. 26 (41). P. 5276–5288.
- Balzano P.M., Cunningham A.L., Grassel C., Barry E.M. Deletion of the major facilitator superfamily transporter *fptB* alters host cell interactions and attenuates virulence of type A *Francisella tularensis* // Infect. Immun. 2018. V. 86 (3). P. e00832-17.
- Bandara A.B., Champion A.E., Wang X. et al. Isolation and mutagenesis of a capsule-like complex (CLC) from *Francisella tularensis*, and contribution of the CLC to *F. tularensis* virulence in mice // PLoS One. 2011. V. 6 (4). P. e19003.
- Barker J.H., Kaufman J.W., Apicella M.A., Weiss J.P. Evidence suggesting that *Francisella tularensis* O-antigen capsule contains a lipid A-like molecule that is structurally distinct from the more abundant free lipid A // PLoS One. 2016. V. 11 (6). P. e0157842.
- Broekhuijsen M., Larsson P., Johansson A. et al. Genome-wide DNA microarray analysis of *Francisella tularensis* strains demonstrates extensive genetic conservation within the species but identifies regions that are unique to the highly virulent *F. tularensis* ssp. *tularensis* // J. Clin. Microbiol. 2003. V. 41 (7). P. 2924–2931.
- Catanzaro K.C.F., Inzana T.J. The *Francisella tularensis* polysaccharides: what is the real capsule? // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2020. V. 84 (1). P. e00065-19.
- Celli J., Zahrt T.C. Mechanisms of *Francisella tularensis* intracellular pathogenesis // Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2013. V. 3 (4). P. a010314.
- Chen W., Shen H., Webb A. et al. Tularemia in BALB/c and C57BL/6 mice vaccinated with *Francisella tularensis* LVS and challenged intradermally, or by aerosol with virulent isolates of the pathogen: protection varies depending on pathogen virulence, route of exposure, and host genetic background // Vaccine. 2003. V. 21 (25–26). P. 3690–3700.
- Chu P., Cunningham A.L., Yu J.J. et al. Live attenuated *Francisella novicida* vaccine protects against *Francisella tularensis* pulmonary challenge in rats and non-human primates // PLoS Pathog. 2014. V. 10 (10). P. e1004439.
- Conlan J.W. Tularemia vaccines: recent developments and remaining hurdles // Future Microbiol. 2011. V. 6 (4). P. 391–405.
- Conlan J.W., Shen H., Golovliov I. et al. Differential ability of novel attenuated targeted deletion mutants of *Francisella tularensis* subspecies *tularensis* strain SCHU S4 to protect mice against aerosol challenge with virulent bacteria: effects of host background and route of immunization // Vaccine. 2010. V. 28 (7). P. 1824–1831.
- Cunningham A.L., Guentzel M.N., Yu J.J. et al. Enhancement of vaccine efficacy by expression of a TLR5 ligand in the defined live attenuated *Francisella tularensis* subsp. *novicida* strain U112Δ*iglB*:*fjlB* // Vaccine. 2014. V. 32 (40). P. 5234–5240.
- Cunningham A.L., Dang K.M., Yu J.J. et al. Vaccination with the live attenuated *Francisella novicida* mutant

- FTN0109* protects against pulmonary tularemia // *W. J. Vacc.* 2015. V. 5. P. 25–36.
- Cunningham A.L., Mann B.J., Qin A. et al. Characterization of Schu S4 aro mutants as live attenuated tularemia vaccine candidates // *Virulence*. 2020. V. 11 (1). P. 283–294.
- Darling R.G., Catlett C.L., Huebner K.D., Jarrett D.G. Threats in bioterrorism. I: CDC category A agents // *Emerg. Med. Clin. North Am.* 2002. V. 20 (2). P. 273–309.
- Dennis D.T., Inglesby T.V., Henderson D.A. et al. Tularemia as a biological weapon: medical and public health management // *JAMA*. 2001. V. 285 (21). P. 2763–2773.
- Downs C.M., Woodward J.M. Studies on pathogenesis and immunity in tularemia; immunogenic properties for the white mouse of various strains of *Bacterium tularensis* // *J. Immunol.* 1949. V. 63 (2). P. 147–162.
- El Sahly H.M., Atmar R.L., Patel S.M. et al. Safety, reactogenicity and immunogenicity of *Francisella tularensis* live vaccine strain in humans // *Vaccine*. 2009. V. 27 (36). P. 4905–4911.
- Eigelsbach H.T., Downs C.M. Prophylactic effectiveness of live and killed tularemia vaccines. I. Production of vaccine and evaluation in the white mouse and guinea pig // *J. Immunol.* 1961. V. 87 (4). P. 415–425.
- Eigelsbach H.T., Braun W., Herring R.D. Studies on the variation of *Bacterium tularensis* // *J. Bacteriol.* 1951. V. 61 (5). P. 557–569.
- Elkins K.L., Kurtz S.L., De Pascalis R. Progress, challenges, and opportunities in *Francisella* vaccine development // *Exp. Rev. Vacc.* 2016. V. 15. № 9. P. 1183–1196.
- Ellis J., Oyston P.C., Green M., Titball R.W. Tularemia // *Clin. Microbiol. Rev.* 2002. V. 15 (4). P. 631–646.
- Forslund A.L., Salomonsson E.N., Golovliov I. et al. The type IV pilin, PilA, is required for full virulence of *Francisella tularensis* subspecies *tularensis* // *BMC Microbiol.* 2010. V. 10. P. 227.
- Gillette D.D., Curry H.M., Cremer T. et al. Virulent type A *Francisella tularensis* actively suppresses cytokine responses in human monocytes // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2014. V. 4. P. 45.
- Golovliov I., Twine S.M., Shen H. et al. A $\Delta clpB$ mutant of *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* strain, FSC200, is a more effective live vaccine than *F. tularensis* LVS in a mouse respiratory challenge model of tularemia // *PLoS One*. 2013. V. 8 (11). P. e78671.
- Griffin A.J., Crane D.D., Wehrly T.D., Bosio C.M. Successful protection against tularemia in C57BL/6 mice is correlated with expansion of *Francisella tularensis*-specific effector T cells // *Clin. Vacc. Immunol.* 2015. V. 22 (1). P. 1119–1128.
- Gunn J.S., Ernst R.K. The structure and function of *Francisella* lipopolysaccharide // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2007. V. 1105. P. 202–218.
- Hollis D.G., Weaver R.E., Steigerwalt A.G. et al. *Francisella philomiragia* comb. nov. (formerly *Yersinia philomiragia*) and *Francisella tularensis* biogroup *novicida* (formerly *Francisella novicida*) associated with human disease // *J. Clin. Microbiol.* 1989. V. 27 (7). P. 1601–1608.
- Hong K.J., Park P.G., Seo S.H. et al. Current status of vaccine development for tularemia preparedness // *Clin. Exp. Vaccine Res.* 2013. V. 2 (1). P. 34–39.
- Hornick R.B., Eigelsbach H.T. Aero-genic immunization of man with live tularemia vaccine // *Bacteriol. Rev.* 1966. V. 30 (3). P. 532–538.
- Ireland P.M., LeButt H., Thomas R.M., Oyston P.C.F. A *Francisella tularensis* SCHU S4 mutant deficient in c-glutamyltransferase activity induces protective immunity: characterization of an attenuated vaccine candidate // *Microbiology*. 2011. V. 157 (11). P. 3172–3179.
- Jia Q., Horwitz M.A. Live attenuated tularemia vaccines for protection against respiratory challenge with virulent *F. tularensis* subsp. *tularensis* // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018. V. 8. P. 154.
- Jia Q., Lee B.Y., Bowen R. et al. A *Francisella tularensis* live vaccine strain (LVS) mutant with a deletion in *capB*, encoding a putative capsular biosynthesis protein, is significantly more attenuated than LVS yet induces potent protective immunity in mice against *F. tularensis* challenge // *Infect. Immun.* 2010. V. 78 (10). P. 4341–4355.
- Jones B.D., Faron M., Rasmussen J.A., Fletcher J.R. Uncovering the components of the *Francisella tularensis* virulence stealth strategy // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2014. V. 4. P. 32.
- Kijek T.M., Mou Sh., Bachert B.A. et al. The D-alanyl-D-alanine carboxypeptidase enzyme is essential for virulence in the Schu S4 strain of *Francisella tularensis* and a *dacD* mutant is able to provide protection against a pneumonic challenge // *Microb. Pathog.* 2019. V. 137. P. 103742.
- Kim T.H., Pinkham J.T., Heninger S.J. et al. Genetic modification of the O-polysaccharide of *Francisella tularensis* results in an avirulent live attenuated vaccine // *J. Infect. Dis.* 2012. V. 205 (7). P. 1056–1065.
- Kingry L.C., Petersen J.M. Comparative review of *Francisella tularensis* and *Francisella novicida* // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2014. V. 4. P. 35.
- Kormilitsyna M.I., Meshcheryakova I.S. The new vaccine strains (or variants) of *Francisella tularensis* // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 1996. V. 13 (3). P. 215–219.
- Kugeler K.J., Mead P.S., Janusz A.M. et al. Molecular epidemiology of *Francisella tularensis* in the United States // *Clin. Infect. Dis.* 2009. V. 48 (7). P. 863–870.
- Larson C.L., Wicht W., Jellison W.L. A new organism resembling *P. tularensis* isolated from water // *Public Health Rep.* 1955. V. 70 (3). P. 253–258.
- Lindemann S.R., Peng K., Long M.E. et al. *Francisella tularensis* Schu S4 O-antigen and capsule biosynthesis gene mutants induce early cell death in human macrophages // *Infect. Immun.* 2011. V. 79 (2). P. 581–594.
- Lindgren M., Tancred L., Golovliov I. et al. Identification of mechanisms for attenuation of the FSC043 mutant of *Francisella tularensis* SCHU S4 // *Infect. Immun.* 2014. V. 82 (9). P. 3622–3635.
- Mahawar M., Rabadi S.M., Banik S. et al. Identification of a live attenuated vaccine candidate for tularemia prophylaxis // *PLoS One*. 2013. V. 8 (4). P. e61539.
- Marohn M.E., Barry E.M. Live attenuated tularemia vaccines: recent developments and future goals // *Vaccine*. 2013. V. 31. № 35. P. 3485–3491.

- McCrum F.R. Aerosol infection of man with *Pasterella tularensis* // *Bacteriol. Rev.* 1961. V. 25 (3). P. 262–267.
- Michell S.L., Dean R.E., Eyles J.E. et al. Deletion of the *Bacillus anthracis capB* homologue in *Francisella tularensis* subspecies *tularensis* generates an attenuated strain that protects mice against virulent tularemia // *J. Med. Microbiol.* 2010. V. 59 (11). P. 1275–1284.
- Molins C.R., Delorey M.J., Yockey B.M. et al. Virulence differences among *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* clades in mice // *PLoS One.* 2010. V. 5 (4). P. e10205.
- Molins C.R., Delorey M.J., Yockey B.M. et al. Virulence difference between the prototypic Schu S4 strain (A1a) and *Francisella tularensis* A1a, A1b, A2 and type B strains in a murine model of infection // *BMC Infect. Dis.* 2014. V. 14. P. 67.
- Mulligan M.J., Stapleton J.T., Keitel W.A. et al. Tularemia vaccine: safety, reactogenicity, “take” skin reactions, and antibody responses following vaccination with a new lot of the *Francisella tularensis* live vaccine strain – A phase 2 randomized clinical trial // *Vaccine.* 2017. V. 35 (36). P. 4730–4737.
- Okan N.A., Chalabaev S., Kim T.H. et al. Kdo hydrolase is required for *Francisella tularensis* virulence and evasion of TLR2-mediated innate immunity // *mBio.* 2013. V. 4 (1). P. e00638-12.
- Olsufiev N.G., Meshcheryakova I.S. Subspecific taxonomy of *Francisella tularensis* McCoy and Chapin 1912 // *Int. J. Syst. Bacter.* 1983. V. 33. P. 872–874.
- Pavkova I., Kopeckova M., Klimentova J. et al. The multiple localized glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase contributes to the attenuation of the *Francisella tularensis dsbA* deletion mutant // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017. V. 7. P. 503.
- Pechous R.D., McCarthy T.R., Mohapatra N.P. et al. A *Francisella tularensis* Schu S4 purine auxotroph is highly attenuated in mice but offers limited protection against homologous intranasal challenge // *PLoS One.* 2008. V. 3 (6). P. e2487.
- Petersen J.M., Schriefer M.E. Tularemia: emergence/re-emergence // *Vet. Res.* 2005. V. 36 (3). P. 455–467.
- Petersen J.M., Molins C.R. Subpopulations of *Francisella tularensis* ssp. *tularensis* and *holarctica*: identification and associated epidemiology // *Fut. Microbiol.* 2010. V. 5 (4). P. 649–661.
- Qin A., Scott D.W., Thompson J.A., Mann B.J. Identification of an essential *Francisella tularensis* ssp. *tularensis* virulence factor // *Infect. Immun.* 2009. V. 77 (1). P. 152–161.
- Ramakrishnan G., Sen B., Johnson R. Paralogous outer membrane proteins mediate uptake of different forms of iron and synergistically govern virulence in *Francisella tularensis tularensis* // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287 (30). P. 25191–25202.
- Rasmussen J.A., Post D.M.B., Gibson B.W. et al. *Francisella tularensis* Schu S4 lipopolysaccharide core sugar and O-antigen mutants are attenuated in a mouse model of tularemia // *Infect. Immun.* 2014. V. 82 (4). P. 1523–1539.
- Rasmussen J.A., Fletcher J.R., Long M.E. et al. Characterization of *Francisella Tularensis* Schu S4 mutants identified from a transposon library screened for O-antigen and capsule deficiencies // *Front. Microbiol.* 2015. V. 6. P. 338.
- Ray H.J., Cong Y., Murthy A.K. et al. Oral live vaccine strain-induced protective immunity against pulmonary *Francisella tularensis* challenge is mediated by CD4⁺ T cells and antibodies, including immunoglobulin A // *Clin. Vaccine Immunol.* 2009. V. 6 (4). P. 444–452.
- Reed D.S., Smith L.P., Cole K.S. et al. Live attenuated mutants of *Francisella tularensis* protect rabbits against aerosol challenge with a virulent type A strain // *Infect. Immun.* 2014. V. 82 (5). P. 2098–2105.
- Roberts L.M., Powell D.A., Frelinger J.A. Adaptive immunity to *Francisella tularensis* and considerations for vaccine development // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018. V. 8. P. 115.
- Rockx-Brouwer D., Chong A., Wehrly T.D. et al. Low dose vaccination with attenuated *Francisella tularensis* strain SchuS4 mutants protects against tularemia independent of the route of vaccination // *PLoS One.* 2012. V. 7 (5). P. e37752.
- Rohmer L., Brittnacher M., Svensson K. et al. Potential source of *Francisella tularensis* live vaccine strain attenuation determined by genome comparison // *Infect. Immun.* 2006. V. 74 (12). P. 6895–6906.
- Rowe H.M., Huntley J.F. From the outside-in: the *Francisella tularensis* envelope and virulence // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2015. V. 23 (5). P. 94.
- Ryden P., Twine S., Shen H. et al. Correlates of protection following vaccination of mice with gene deletion mutants of *Francisella tularensis* subspecies *tularensis* strain, Schu S4 that elicit varying degrees of immunity to systemic and respiratory challenge with wild-type bacteria // *Mol. Immunol.* 2013. V. 54 (1). P. 58–67.
- Salomonsson E., Kuoppa K., Forslund A.L. et al. Reintroduction of two deleted virulence loci restores full virulence to the live vaccine strain of *Francisella tularensis* // *Infect. Immun.* 2009. V. 77 (8). P. 3424–3431.
- Sammons-Jackson W.L., McClelland K., Manch-Citron J.N. et al. Generation and characterization of an attenuated mutant in a response regulator gene of *Francisella tularensis* live vaccine strain (LVS) // *DNA Cell. Biol.* 2008. V. 27 (7). P. 387–403.
- Sandström G., Sjöstedt A., Forsman M. et al. Characterization and classification of strains of *Francisella tularensis* isolated in the central Asian focus of the Soviet Union and in Japan // *J. Clin. Microbiol.* 1992. V. 30 (1). P. 172–175.
- Saslaw S., Eigelsbach H.T., Prior J.A. et al. Tularemia vaccine study. II. Respiratory challenge // *Arch. Intern. Med.* 1961. V. 107. № 5. P. 702–714.
- Sebastian S., Dillon S.T., Lynch J.G. et al. A defined O-antigen polysaccharide mutant of *Francisella tularensis* live vaccine strain has attenuated virulence while retaining its protective capacity // *Infect. Immun.* 2007. V. 75 (5). P. 2591–2602.
- Shen H., Harris G., Chen W. et al. Molecular immune responses to aerosol challenge with *Francisella tularensis* in mice inoculated with live vaccine candidates of varying efficacy // *PLoS One.* 2010. V. 5 (10). P. e13349.
- Signarovitz A.L., Ray H.J., Yu J.J. et al. Mucosal immunization with live attenuated *Francisella novicida* U112Δ*iglB* protects against pulmonary *F. tularensis* SCHU S4 in the Fischer 344 rat model // *PLoS One.* 2012. V. 7 (10). P. e47639.

- Sjöstedt A.B. Genus I. *Francisella* Dorofe'ev 1947, 176^{AL} // Bergey's manual of systematic bacteriology. V. 2 (The Proteobacteria). Pt B (The Gammaproteobacteria) / Eds D.J. Brenner, N.R. Krieg, J.T. Staley, G.M. Garrity. N.Y.: Springer, 2005. P. 200–210.
- Straskova A., Spidlova P., Mou S. et al. *Francisella tularensis* type B $\Delta dsbA$ mutant protects against type A strain and induces strong inflammatory cytokine and Th1-like antibody response *in vivo* // Pathog. Dis. 2015. V. 73 (8). P. ftv058.
- Soni S., Ernst R.K., Muszyński A. et al. *Francisella tularensis* blue–gray phase variation involves structural modifications of lipopolysaccharide O-antigen, core and lipid A and affects intramacrophage survival and vaccine efficacy // Front. Microbiol. 2010. V. 1. P. 129.
- Stinson E., Smith L.P., Cole K.S. et al. Respiratory and oral vaccination improves protection conferred by the live vaccine strain against pneumonic tularemia in the rabbit model // Pathog. Dis. 2016. V. 74 (7). P. ftw079.
- Sunagar R., Kumar S., Franz B.J., Gosselin E.J. Tularemia vaccine development: paralysis or progress? // Vaccine. 2016. V. 6. P. 9–23.
- Sunagar R., Kumar S., Namjoshi P. et al. Evaluation of an outbred mouse model for *Francisella tularensis* vaccine development and testing // PLoS One. 2018. V. 13 (12). P. e0207587.
- Suresh R.V., Ma Z., Sunagar R. et al. Preclinical testing of a vaccine candidate against tularemia // PLoS One. 2015. V. 10 (4). P. e0124326.
- Tian D., Uda A., Park E.-S. et al. Evaluation of *Francisella tularensis* $\Delta pdpC$ as a candidate live attenuated vaccine against respiratory challenge by a virulent SCHU P9 strain of *Francisella tularensis* in a C57BL/6J mouse model // Microbiol. Immunol. 2018. V. 62 (1). P. 24–33.
- Tian D., Uda A., Ami Y. et al. Protective effects of the *Francisella tularensis* $\Delta pdpC$ mutant against its virulent parental strain SCHU P9 in *Cynomolgus macaques* // Sci. Rep. 2019. V. 9 (1). P. 9193.
- Timofeev V., Titareva G., Bakhteeva I. et al. The comparative virulence of *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica* for vaccinated laboratory animals // Microorganisms. 2020. V. 8 (9). P. 1403.
- Twine S., Byström M., Chen W. et al. A mutant of *Francisella tularensis* strain SCHU S4 lacking the ability to express a 58-kilodalton protein is attenuated for virulence and is an effective live vaccine // Infect. Immun. 2005. V. 73 (12). P. 8345–8352.
- Twine S., Shen H., Harris G. et al. BALB/c mice, but not C57BL/6 mice immunized with a $\Delta clpB$ mutant of *Francisella tularensis* subspecies *tularensis* are protected against respiratory challenge with wild-type bacteria: association of protection with post-vaccination and post-challenge immune responses // Vaccine. 2012a. V. 30 (24). P. 3634–3645.
- Twine S., Vinogradov E., Lindgren H. et al. Roles for *wbtC*, *wbtI*, and *kdtA* genes in lipopolysaccharide biosynthesis, protein glycosylation, virulence, and immunogenicity in *Francisella tularensis* strain SCHU S4 // Pathogens. 2012b. V. 1. P. 12–29.

Development of New Live Tularemia Vaccines – Problems and Prospects

M. I. Kormilitsyna*

Gamaleya Federal Research Centre of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

*e-mail: mkormilits@mail.ru

Francisella tularensis is an etiological agent of tularemia, a natural focal infection of humans and animals. This pathogenic microorganism is highly infectious, can cause fatal infection, especially when inhaled. The attenuated tularemia strain 15 of Gaysky, developed by Soviet scientists more than 60 years ago, remains the only one for the production of a live vaccine, with the help of which the problem of specific prevention of tularemia in humans is solved. The subject of the review is the history of the creation of currently used two live vaccines based on the attenuated vaccine strain 15 Gaysky, their advantages and disadvantages. The ways of constructing new attenuated mutants defective in the genes responsible for virulence as candidates for new vaccine strains of tularemia microbe are presented.

Keywords: tularemia, *Francisella*, vaccine, attenuated strain, immunogenicity, virulence

УДК 612.821+616.896

НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ НАРУШЕНИЯ РАЗВИТИЯ ПРИ РАССТРОЙСТВАХ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА (РАС)

© 2021 г. К. Р. Салимова*

Московский государственный психолого-педагогический университет, Москва, Россия

**e-mail: ksalimova@yandex.ru*

Поступила в редакцию 12.07.2021 г.

После доработки 19.07.2021 г.

Принята к публикации 19.07.2021 г.

Расстройства аутистического спектра (РАС) – это большая группа нарушений психического развития, обусловленных сочетанием генетических и средовых факторов. В настоящей обзорной статье рассмотрены исследования возрастной динамики формирования ЭЭГ в норме и особенности ЭЭГ при недифференцированных формах РАС. Анализ литературы показывает, что при РАС нарушаются онтогенетические закономерности формирования паттернов ЭЭГ. Некоторые из основных проявлений аутизма, например социальную изолированность и неспособность к сопереживанию, можно объяснить нарушением работы зеркальных нейронов. В обзоре подробно обсуждаются механизмы функционирования системы зеркальных нейронов у здоровых людей и при расстройствах аутистического спектра. В контексте РАС важной является теория “модели психического”, которая также рассматривается в настоящей статье.

Ключевые слова: расстройства аутистического спектра, ЭЭГ-корреляты нормального и нарушенного развития ЦНС, система зеркальных нейронов, модель психического

DOI: 10.31857/S0042132421060065

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность научных исследований в области расстройств аутистического спектра (РАС) в настоящее время крайне высока. Это обусловлено широким распространением этих расстройств (около 1% в общей популяции) и трудностями социальной реабилитации в этой группе. Нейрофизиологические исследования детей с РАС занимают важное место в понимании патогенеза нарушения. Так как у детей с аутизмом наблюдается дефицит в эмоциональной сфере, который влечет за собой трудности социального взаимодействия, некоторые исследователи связывают нарушения при РАС с нарушением работы зеркальных нейронов (Ramachandran, Oberman, 2006). Согласно другим данным, зеркальные нейроны (ЗН) считаются нейрофизиологической основой имитации (Cole et al., 2018). Основным показателем работы системы зеркальных нейронов (СЗН) в электроэнцефалограмме (ЭЭГ) считается сенсомоторный мю-ритм. Имеется незначительное количество работ, показывающих, что у людей с РАС могут наблюдаться отклонения показателей сенсомоторного ритма от нормативных (De Vega et al., 2019).

Исходя из вышеизложенного, в статье обобщены литературные данные о нарушениях функ-

ционирования мозга при РАС, в том числе о нарушениях работы ЗН и об атипичных характеристиках ЭЭГ, а также о нейрофизиологических основах подражания; представлены данные о динамике формирования ЭЭГ в норме. Такой анализ позволит сформулировать перспективные направления исследований для изучения патогенеза РАС.

КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

РАС – комплексное нарушение развития, характеризующееся высокой гетерогенностью. В настоящее время выделяют большую группу несиндромальных форм РАС, которые классифицируются на основании интеллектуальных и речевых нарушений, а также синдромальные формы, патогенез которых хорошо изучен: синдром FXS и синдром Ретта (Горбачевская, Чуприков, 2017; Горбачевская и др., 2017). Считается, что до 40–50% случаев РАС обусловлены средовыми факторами: возрастом родителей, родовой травмой, ишемией и гипоксией в родах, окислительным стрессом, нейровоспалением, эндокринными нарушениями и др. (Modabbernia et al., 2017). Современные нейроанатомические исследования убе-

дительно доказывают, что в основе поведенческих нарушений при аутизме лежит патология развития головного мозга. Основные модели аутизма указывают на атипичное развитие нейронных связей между функциональными отделами мозга: чрезмерное увеличение количества связей между расположенными рядом структурами и уменьшение количества межполушарных связей (Emerson et al., 2017). Показаны нарушения связей в соматосенсорной коре, зрительной коре и в субкортикальных областях мозга при аутизме (Chen et al., 2015). У детей до трех лет обнаруживается ускоренное увеличение объема лобной коры, височной коры и миндалины, затем остановка и нейродегенерация (Courchesne et al., 2007). Тяжесть нарушений при РАС существенно варьирует, интеллектуальные нарушения отмечены в 68–90% случаев, при этом нередко люди в спектре аутизма достигают высоких результатов в области музыкального и других видов искусств и математики. Отмечено, что такие результаты наблюдаются при высокофункциональном аутизме, когда имеются нарушения в социально-коммуникативной сфере, но коэффициент интеллекта выше 70. В связи с этим адаптивность людей с высокофункциональным аутизмом также высока. Сопутствующими при РАС являются нарушения координации движений, дефицит внимания, нарушения сна и желудочно-кишечные расстройства (Sharma et al., 2018). По имеющимся данным, у мальчиков и мужчин РАС встречается в 4.5 раза чаще, чем у девочек и женщин, а также не зависит от национальности и социально-экономического положения (Masi et al., 2017). Нарушение социальной коммуникации является одной из основных характеристик и сохраняется на протяжении всей жизни человека с РАС. Сенсорный профиль, выявляющий отклонения в сенсорной сфере, изменен у 80–90% людей в спектре аутизма (Vaganek et al., 2006). Профиль психомоторного развития нарушен в 90% случаев, а уровень адаптивных навыков ниже возрастных у всех людей с РАС (Lam, Aman, 2007). Считается, что помощь ребенку на самых ранних этапах постнатального онтогенеза может существенно улучшить его социальные навыки. В связи с этим огромную значимость имеет поиск ранних нейробиологических маркеров РАС. Широкое распространение получила теория нарушения работы ЗН при аутизме (Schunke et al., 2016). Предполагается, что именно этот механизм может являться нейробиологической основой социальных и коммуникативных дефицитов. Тем не менее, прежде чем обсуждать особенности электрической активности головного мозга у детей с РАС, необходимо рассмотреть онтогенетические закономерности формирования ЭЭГ в норме.

ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОЗГА У ДЕТЕЙ И ЕЕ ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ

Для оценки электрической активности мозга у нормотипичных¹ детей необходимо обратить внимание на формирование выборки. Наиболее адекватным подходом, на наш взгляд, является отбор участников по объективным показателям психического и соматического здоровья, оценку которых производит группа специалистов. В исследованиях (Горбачевская, 2000; Безруких и др., 2009) было показано, что у трехлетних детей в ЭЭГ доминирует частотный компонент, отвечающий критериям зрительного альфа-ритма взрослых. В этом возрасте он локализован не только в затылочных зонах коры, но распространяется и на ассоциативные корковые зоны, что, возможно, связано с образованием коротко- и длинноаксонных внутрикорковых связей. В центральных зонах коры доминирует сенсомоторный ритм 8–9 Гц, что также по частотным характеристикам входит в формальные частотные границы этого ритма. На основании визуального анализа ЭЭГ все многообразие вариантов биоэлектрической активности у нормотипичных детей (не имеющих патологий развития, с нормативным интеллектом) сгруппировано в три основных типа ЭЭГ.

Организованный тип характеризуется доминированием альфа-ритма в затылочных зонах коры и невысоким уровнем медленноволновой активности. Он преобладает у большинства детей любого возраста, по-видимому, генетически детерминирован и сохраняется на протяжении жизни.

К *низкоамплитудному типу* относят ЭЭГ со сниженной амплитудой колебаний (меньше 30 мкВ), нередко с отдельными фрагментами разнообразной ритмической активности. Частота встречаемости этого типа в исследованной авторами популяции нормотипичных детей не превышает 10%. Этот тип так же, как и организованный тип, не претерпевает существенных изменений с возрастом, как показали лонгитюдные наблюдения (Горбачевская, Кожушко, 1990).

Особое внимание авторы обратили на *деорганизованный тип с наличием альфа-ритма*, к которому относят ЭЭГ, содержащую ритмическую альфа-активность, сочетающуюся с медленными колебаниями. Последние по индексу могут достигать 30%. Этот тип более всего представлен у детей дошкольного возраста в силу относитель-

¹ Понятие “нормотипичный” относится к детям без сопутствующих патологий развития с нормативным интеллектом. Оно противопоставляется термину “люди с РАС”, то есть люди с атипичной траекторией развития. Термин “здоровый контроль” применительно к РАС не используется, поскольку люди с РАС так же, как и другие люди, могут быть здоровы физически. Термин “нормальный” в контексте РАС также не используется в силу этических причин и уважения к людям с РАС и их семьям.

ной слабости приспособительных и компенсаторных механизмов нервной системы в этот период. Медленные колебания в затылочных зонах коры представлены довольно широко и варьируют по форме. При этом они могут достигать по амплитуде больших величин и быть представлены длительными ритмическими всплесками, что расценивается некоторыми авторами как аномальная активность (Niedermeyer, 1998).

Однако лонгитюдное исследование ЭЭГ здоровых участников в течение 10–14 лет (Горбачевская, Кожушко, 1990; Горбачевская, 2000) показало, что с возрастом по мере улучшения компенсаторных процессов происходит трансформация дезорганизованного типа в организованный у подавляющего числа участников. Авторы предположили, что повышенный уровень медленноволновой активности в затылочных зонах коры может быть связан с симптомокомплексом вертебро-базиллярной недостаточности (Пахомова, Баринаева, 1995), обусловленным нарушением кровоснабжения в основной и позвоночных артериях. Данный симптомокомплекс не выявлялся на клиническом уровне, и в старшем школьном возрасте дезорганизованный тип ЭЭГ уже не регистрировался.

В подростковом возрасте существенное влияние на ЭЭГ оказывают изменения, обусловленные половым созреванием (Крылов, Кулакова, 1981; Алферова, Фарбер, 1990). В возрасте 10–11 лет у девочек и 13–14 лет у мальчиков (3–4 стадии полового созревания) в ЭЭГ, по данным лонгитюдного наблюдения, усиливаются всплески островершинных альфа- и тета-волн, несколько повышается индекс тета-активности, более заметными становятся всплески ритмической бета-активности в лобно-центральных зонах коры. В возрасте 13–15 лет отмечено (Горбачевская, Кожушко, 1990) появление тета-активности в передних отведениях в виде ритмических колебаний частотой 6–7 Гц и существенное усиление сенсомоторного мю-ритма, что авторами связали с повышенной активностью гипоталамо-гипофизарного комплекса, так как ранее такие изменения были описаны при очаговом поражении диэнцефальных структур (Болдырева, 1978). Авторами отмечено уменьшение по мере взросления выраженности сенсомоторного ритма и восстановление “правильного” зонального распределения с отчетливым затылочным фокусом зрительного альфа-ритма. К возрасту 21 года ЭЭГ, как правило, достигает дефинитивного уровня, однако, может содержать некоторое количество дельта- и тета-колебаний в затылочных зонах коры, которые полностью исчезают только к 30 годам (Niedermeyer, 1998). Наличие такой выраженной динамики формирования разных ритмических компонентов ЭЭГ в норме может служить основой для изучения этих закономерностей у детей с нарушениями разви-

вающейся нервной системы (Горбачевская, 2000, 2011).

ЭЭГ-КОРРЕЛЯТЫ НАРУШЕНИЯ РАЗВИТИЯ ПРИ РАССТРОЙСТВАХ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

Модель психического в контексте РАС

Известно, что при РАС нарушаются нормальные онтогенетические закономерности формирования ЦНС (Deidda et al., 2014). Существенное распространение получила теория нарушения работы ЗН при РАС, а также связи РАС с моделью психического (Andreou, Skrimpa, 2020).

Модель психического (theory of mind, ТоМ, модель психического состояния) описывает способность человека понимать и интерпретировать как собственные мысли, чувства и поведенческие паттерны, так и мысли, чувства и поведенческие паттерны других (Holopainen et al., 2019; Strikwerda-Brown et al., 2019). Первые представления о ТоМ связаны с работами Ж. Пиаже. В 1950-х гг. исследователи предполагали доминирование эгоцентризма в детском возрасте и рост способности к пониманию психического по мере взросления (Сергиенко и др., 2009). В 1970-х гг. появляются исследования когнитивного развития, цель которых — проникнуть в природу различных задач и возможных стратегий их решения. С 1980-х гг. до настоящего времени работы, посвященные ТоМ, касаются базовых ментальных состояний: желаний, намерений, знаний, чувств и т.д.

Несмотря на то, что понятие ТоМ не объясняет все особенности аутизма, оно имеет первостепенное значение для понимания социальных и коммуникативных дефицитов при РАС. У людей с РАС наблюдается дефицит в понимании мыслей, чувств и поведенческих паттернов других людей (Holopainen et al., 2019). Именно поэтому в психологических задачах, где оцениваются эти навыки, они чаще всего демонстрируют низкие показатели (Jones et al., 2018). Успешность детей с РАС в сложных задачах на оценку социально-коммуникативных навыков коррелирует с их социальной компетентностью. Применение навыков распознавания чувств и эмоций в повседневной жизни при РАС часто бывает снижено (Hoogenhout, Malcolm-Smith, 2017). Таким образом, несмотря на способность части детей с аутизмом в некоторой степени справляться с задачами ТоМ, они не могут в достаточной степени реализовать эти навыки в социальных ситуациях. Эти нарушения обуславливают социальные, поведенческие и коммуникативные дефициты, а также несоответствия в социальном взаимодействии и неспособность определять психическое состояние другого человека. Тем не менее, понимание поведения других людей внутри группы людей с

РАС может варьировать. Показано, что дети с РАС, которые успешно справляются с задачами на понимание ложных убеждений, считаются в большей степени социально интегрированными, по сравнению со своими сверстниками с аутизмом, которые не справляются с этими задачами (Livingston et al., 2019). Спонтанность в отношении взаимных социально-психологических сигналов у людей с РАС полностью отсутствует, даже в случае высокофункционального аутизма. Из-за социально-коммуникативных дефицитов они чаще всего не могут интерпретировать информацию, полученную от мимики других людей. При этом показано, что высокофункциональные люди в спектре аутизма все же способны каким-то образом интерпретировать психические состояния других людей на основе общей информации от выражения лица (Brewer et al., 2019).

Система зеркальных нейронов и модель психического (ТоМ)

Нейрофизиологической основой социальных и коммуникативных нарушений при РАС считается, в том числе, нарушение работы ЗН (Ramachandran, Oberman, 2006). ЗН – нейроны головного мозга, которые разряжаются как в ответ на выполнение действия, так и в ответ на наблюдения за действием. Они в основном находятся в нижней лобной извилине, премоторной коре, дополнительной моторной области, первичной соматосенсорной коре и нижней теменной коре, поэтому предполагается, что они напрямую связаны с социальными способностями и навыками у приматов и людей, включая имитацию, сочувствие, понимание мыслей и чувств, а также развитие языка (Yang et al., 2015). Имеются данные, подтверждающие существование множества областей в человеческом мозге, наделенных механизмами нейронного зеркального отражения для гибкой интеграции и дифференциации перцептивных и моторных аспектов действий, выполняемых лично и другими людьми (Rizzolatti et al., 2001). В совокупности нейроны этих областей мозга получили название системы зеркальных нейронов (СЗН). В связи с тем, что у людей с РАС наблюдаются дефициты во всех вышеупомянутых областях коры, считается, что при РАС нарушается работа СЗН (Cole et al., 2018).

Показано, что механизм, лежащий в основе активации ЗН, тесно связан со способностью к имитации и обучению на основе имитации, к имитации жестов и мимики. Нижняя лобная извилина и вентральная премоторная кора играют основную роль в имитации, что важно для проявления эмпатии на нейробиологическом уровне и отражает связь поведенческого и эмоционального развития через невербальную коммуникацию (Spunt, Adolphs, 2019). Нижняя лобная извилина

также имеет особое значение в определении намерений и целей человека, а также в передаче и восприятии эмоциональных состояний, связанных с имитацией мимики (Abu-Akel, Shamay-Tsoory, 2011; Wadsworth et al., 2018). Одна из концепций, объясняющих имитацию, – идеомоторная теория действия. В ней предполагается, что моторное действие человека является вторичным, а первичными являются цель и намерение, определяющие это действие (Iacoboni, 2009). Считается, что ЗН вовлечены в процесс социального понимания, а их работа облегчает восприятие эмоционального состояния других в результате того, что человек способен понимать свои собственные внутренние состояния и переживания. Далее будут подробно рассмотрены особенности работы СЗН в норме и при РАС.

СИСТЕМА ЗЕРКАЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ В НОРМЕ И ПРИ РАССТРОЙСТВАХ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

Общие характеристики зеркальных нейронов в норме

ЗН были открыты в 1992 г. группой итальянских ученых в экспериментах на обезьянах (Di Pellegrino et al., 1992; Rizzolatti, Craighero, 2004). Особенностью многих ЗН является то, что они кодируют как двигательные реакции, так и более сложные стимулы, связанные с восприятием движения. Первоначально такие нейроны были обнаружены в области F5 вентральной премоторной коры (Di Pellegrino et al., 1992) и нижней теменной доле (Bonini et al., 2010) головного мозга обезьяны (*Macaca nemestrina*). В настоящее время существует значительный объем данных, подтверждающих, что ЗН также присутствуют в мозге человека (Rizzolatti et al., 2001; Iacoboni, Dapretto, 2006; Mukamel et al., 2010; Molenberghs et al., 2012). Позднее было показано, что нейроны, которые реагируют как на движение, так и на наблюдение за действиями, у обезьян находятся не только в области F5. Большое скопление таких нейронов описано в коре верхней височной борозды (Jellema et al., 2000). Нейроны этой области реагируют на следующие типы движений: ходьба, поворот головы, сгибание туловища и движение рук. Небольшое количество нейронов верхней височной борозды разряжается также во время наблюдения за целенаправленными движениями рук.

В метаанализе 125 исследований (Molenberghs et al., 2012) обнаружено, что основная сеть областей мозга, которая активируется в заданиях на моторное подражание, включает в себя нижнюю лобную извилину, дорсальную и вентральную премоторную кору, а также нижнюю и верхнюю теменные доли. Эти области дополняются другими зонами, участвующими в обработке сомато-

сенсорной, слуховой и эмоциональной информации, в зависимости от задействованных сенсорных модальностей. Это значит, что области мозга, вовлеченные в имитацию, гораздо шире, чем предполагалось ранее. Также у человека при наблюдении или выполнении определенных действий “перекрывающиеся” области мозга активируются в зависимости от модальности задачи (например, зрительная, слуховая, соматосенсорная). Эти результаты согласуются с мнением (Iacoboni, Dapretto, 2006), что активность ЗН мозга выходит за рамки контроля действий и участвует в обработке информации от внешних стимулов.

Мю-ритм как коррелят активности системы зеркальных нейронов

ЭЭГ позволяет исследовать активацию мозговых структур во время наблюдения за действием или выполнения действия, в связи с чем широко используется для изучения работы СЗН. Однако в отличие от регистрации активности отдельных нейронов у приматов ЭЭГ не позволяет точно определить активность конкретных нейронов. Мю-ритм (сенсомоторный ритм) у человека регистрируется в центральных зонах коры в полосе 8–13 Гц, при этом его амплитуда уменьшается при выполнении действия (например, произвольного движения руки) (Aridan et al., 2018). Такое уменьшение амплитуды известно как десинхронизация мю-ритма.

Исследователи, изучающие активность СЗН, отметили такое же уменьшение амплитуды во время наблюдения за действием других людей. Считается, что выраженность десинхронизации мю-ритма в центральных зонах коры – показатель активации сенсомоторной коры (Hobson, Bishop, 2017). Имеются исследования, в которых показано, что мю-ритм, регистрирующийся в центральных зонах коры, – результат нейронной активности именно этих областей коры головного мозга (Pineda, 2005).

В настоящее время имеется большое количество исследований, в которых изучается активность мю-ритма при выполнении действий и при наблюдении за действиями, при этом методы оценки десинхронизации при наблюдении у разных авторов существенно различаются (Aridan et al., 2018). Анализироваться могут реакции на ряд различных стимулов, например, сжимание руки, движения всего тела, например в танце, предъявление страниц нот и другие. Расположение электродов и количество каналов регистрации ЭЭГ, в которых исследуется активность, также различаются. При таком многообразии данных возникают следующие вопросы:

1) постоянно ли присутствует десинхронизация во время наблюдения за действием?

2) отражает ли десинхронизация мю-ритма активность СЗН?

Для ответа рассмотрим следующие данные. В исследовании (Nari et al., 1997), в котором оценивалось расположение корковых источников, генерирующих мю-ритм, было выявлено, что они в основном сгруппированы вокруг центральной борозды в центральных, а также в теменных областях. Другие авторы показали, что корковые источники, лежащие в основе мю-ритма, также в основном сосредоточены в центральных и теменных областях новой коры (Thorpe et al., 2016). Важно отметить, что эти данные сходны с результатами функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) мозга человека, с помощью которой было показано, что нейроны в центральных и теменных областях коры активируются как во время наблюдения за действием другого человека, так и во время выполнения действий самим участником исследования (Buccino et al., 2004). Основываясь на этих данных, исследователи считают десинхронизацию мю-ритма коррелятом активности СЗН у человека (Coll et al., 2017).

В подтверждение этой гипотезы проведен (Fox et al., 2016) метаанализ 85 исследований, в которых изучался мю-ритм ЭЭГ. Результаты подтвердили значительную десинхронизацию мю-ритма ЭЭГ как во время выполнения действия, так и во время наблюдения за действием. Авторы считают обоснованным, что регистрация мю-ритма во время выполнения действия и наблюдения за движением является эффективным инструментом для оценки работы СЗН у человека. При этом, хотя данные метаанализа доказывают возможность оценки СЗН с помощью ЭЭГ, авторы не выявили конкретных зон коры, в которых наблюдалась десинхронизация мю-ритма при наблюдении за действием.

Особенности системы зеркальных нейронов при расстройствах аутистического спектра

Как было описано выше, десинхронизация мю-ритма считается одним из нейрофизиологических маркеров реакций при имитации. Именно поэтому изучение особенностей СЗН позволит разобраться в механизмах, лежащих в основе дефицита имитации при РАС. Предполагаемая дисфункция СЗН при РАС влияет также на понимание действия и намерения другого человека. В частности, у людей с РАС наблюдается нарушение в восприятии движения и понимании его намерения (Praszkier, 2016).

Некоторыми исследователями показано, что при РАС изменяются типичные характеристики мю-ритма (De Vega et al., 2019). Предполагалось (Bernier et al., 2007), что при РАС нарушается способность к имитации, которая коррелирует с на-

рушением десинхронизации мю-ритма. В исследовании участвовали 14 взрослых мужчин с диагнозом РАС и 15 нормотипичных мужчин, сопоставимых по возрасту, полу и коэффициенту интеллекта, возрастной диапазон составлял 18–44 года. Эксперимент включал в себя выполнение четырех задач: 1) сидеть, положив руки на колени; 2) наблюдать за человеком, который берет в руки предмет; 3) после устной инструкции взять этот предмет так же, как это делал человек в задаче 2, на экране в этот момент демонстрируется только предмет; 4) имитировать действия человека, который брал предмет, на экране параллельно демонстрируется действие из задачи 2. Согласно полученным данным, различий в особенностях ЭЭГ между этими двумя группами при выполнении задач 1 и 3 не было выявлено. Тем не менее, для группы РАС была характерна достоверно меньшая десинхронизация мю-ритма при наблюдении за движением (задачи 2 и 4), по сравнению с нормотипичным контролем. Это подтверждает гипотезу о нарушении СЗН при РАС и, следовательно, о дефиците способности к имитации. Авторы, однако, предположили, что работа СЗН в этих случаях нарушена не полностью, поскольку способность к имитации при РАС снижена, а не полностью отсутствует. Эти результаты (Bernier et al., 2007) согласуются с данными о дефиците социальной интеграции, а также подтверждают, что нарушения имитации при РАС на ЭЭГ отражаются в нарушении десинхронизации мю-ритма (De Vega et al., 2019).

Несмотря на наличие убедительных данных в пользу нарушения работы СЗН при РАС, ряд исследователей считают эту теорию весьма спорной. В частности, оценивался (Fan et al., 2010) индекс десинхронизации мю-ритма во время наблюдения за движением/имитации движения у людей с РАС и нормотипичных людей. Участники исследования в возрастном диапазоне 10–26 лет наблюдали за статичным объектом на экране, смотрели видеозапись движения руки, смотрели видео движущейся белой точки, имитировали действие рукой, как в просмотренном видео. Авторы не выявили значимых различий между двумя группами по индексу десинхронизации мю-ритма при наблюдении за движением и при имитации. Также в этих группах отсутствовала значимая корреляция между эффективностью имитации и десинхронизацией мю-ритма, что противоречит результатам других авторов (Datko et al., 2018). Индекс мю-ритма у участников с РАС практически не отличался от такового у нормотипичных участников исследования, несмотря на то, что в группе с РАС имитация была существенно снижена. Было обнаружено, что с возрастом результаты ни в группе с РАС, ни в контрольной группе не изменялись.

В другом исследовании (Dumas et al., 2014) проверяли связь нарушения работы СЗН и десинхронизации мю-ритма у взрослых с РАС. В отличие от работ, в которых оценивали весь диапазон 8–13 Гц в центральных областях коры, авторы анализировали два поддиапазона 8–10 и 10–12/13 Гц во всех зонах коры у участников исследования с РАС и у нормотипичных участников. Полученные результаты выявили различную десинхронизацию мю-ритма в двух полосах частот между этими группами. В частности, при наблюдении за жестами в верхнем диапазоне частот было выявлено достоверное увеличение мощности мю-ритма в группе РАС, в то время как в нижнем диапазоне в обеих группах выявлено снижение мощности ритма как при наблюдении, так и при выполнении движений. Авторы предположили, что активность СЗН в группе РАС сохранена, однако нарушается нисходящая модуляция сигнала при наблюдении за движениями, и это отражается в нарушенном понимании намерений другого человека.

Таким образом, имеются доказательства того, что при РАС изменяются типичные характеристики мю-ритма. Некоторые авторы отмечают снижение десинхронизации, другие – сниженные способности к имитации, а также атипичные диапазоны мю-ритма.

ДРУГИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭЭГ ПРИ РАССТРОЙСТВАХ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

При РАС нарушаются нормальные онтогенетические закономерности формирования ЦНС, что отражается и на характеристиках ЭЭГ, при этом аномальные формы активности в ЭЭГ не занимают ведущего места в картине нарушений, полагают исследователи, проанализировавшие ЭЭГ большой группы детей с РАС (Горбачевская, Якупова, 1999). Они считают, что при этих заболеваниях изменяется нормотипичный курс онтогенетического развития отдельных частотных полос ЭЭГ и общий ЭЭГ-паттерн. Последний характеризует слаженность тормозных и возбуждающих процессов коры и степень ее функциональной активности. Для всех изученных ими форм РАС, сопровождающихся нарушением когнитивных функций, они отмечали снижение спектральной плотности альфа-ритма, особенно низкочастотных его составляющих, и повышение уровня бета-активности. Возможно, это отражает дисбаланс процессов возбуждения и торможения, связанный с нарушением в системе ГАМК-эргических нейронов (Жукова, 2016; Marotta et al., 2020). Особенности бета-ритма при РАС представляют интерес, поскольку было показано, что при наблюдении за действиями и при имитации индекс бета-ритма в центральных областях коры

также может изменяться (Pineda, 2005). По некоторым данным, группа детей с недифференцированным аутизмом характеризуется более высокой мощностью тета- и бета-ритмов, что связано с широко распространенной синхронной активностью во всей коре с максимальной амплитудой во фронтальной коре (Kozhushko et al., 2018). Однако, как было показано другими исследователями, высокий уровень тета-активности часто отмечается при синдромальных формах РАС (Горбачевская, Якупова, 1999; Горбачевская, 2011).

РАС в большинстве случаев сочетаются с когнитивными нарушениями, которые в этой группе наблюдаются в 68–90% случаев. Степень когнитивных нарушений варьирует от легкой до тяжелой, а интеллект выше среднего присутствует примерно у 5% детей с РАС (Hamner et al., 2020). Несмотря на клиническую значимость когнитивных нарушений при РАС, нейрофизиологическим коррелятам когнитивных нарушений посвящено небольшое число работ. Имеющиеся исследования спектральной мощности альфа-колебаний при РАС проведены на различающихся по возрасту и по когнитивным функциям группах. Это несоответствие привело к противоречивым результатам: было показано увеличение (Edgar et al., 2015), уменьшение (Sheikhani et al., 2012) и отсутствие изменения мощности альфа-ритма (Coben et al., 2008) в группе РАС, по сравнению с типично развивающимися сверстниками. Другие авторы сравнивали пиковую частоту альфа-ритма в группе РАС с нормой (Dickinson et al., 2018). Было выявлено, что этот показатель у детей с РАС был снижен, по сравнению с нормотипичными детьми. Более того, в группе РАС была выявлена сильная положительная корреляция пиковой альфа-частоты с баллом невербального интеллекта.

Интерес также представляют ЭЭГ-характеристики детей с высокофункциональным аутизмом и, следовательно, с улучшенными адаптационными навыками. Анализ двух групп детей с высокофункциональным аутизмом без интеллектуальных нарушений (1 – с нормативным интеллектом, 2 – с признаками одаренности) показал, что у обеих групп нарушены сроки смены доминирующего по частоте альфа-ритма, характерные для нормотипичных детей. Это отражается в более высокой частоте доминирующего альфа-ритма практически во всех исследованных возрастных периодах, а также в достоверном увеличении значений спектральной плотности в полосе частот 10–13 Гц в младшем возрасте в группе 1. Поскольку амплитудно-частотные характеристики ЭЭГ отражают процессы созревания различных зон коры, связанные с формированием новых корковых связей, то раннее включение нейронных систем, генерирующих высокочастотную ритмическую альфа-активность, может свидетельствовать о нарушении процесса их формиро-

вания. Это может происходить за счет генетических нарушений, которые влияют на деятельность нейромедиаторных систем мозга (Башина, 1999). Дети с признаками одаренности демонстрировали, напротив, выраженную задержку формирования высокочастотных компонентов альфа-ритма вплоть до возраста 12 лет (Горбачевская и др., 2010). С другой стороны, имеются морфологические данные, полученные на другой группе одаренных детей, указывающие на особенности формирования мозга у этих детей, касающиеся процессов апоптоза (программированной клеточной смерти). Данные морфологического исследования мозга показали, что в этой группе одаренных детей в возрасте до 12 лет толщина коры была меньше, чем у нормотипичных участников того же возраста (O'Reilly et al., 2017). Авторы предположили, что у этих детей могли быть усилены процессы апоптоза, что приводило к уменьшению толщины коры, по сравнению с нормотипичными участниками, но при этом существенно увеличивалось количество синаптических контактов. Именно до 12 лет, по данным этого исследования, толщина коры обратно пропорциональна уровню интеллектуального развития. После этого возраста тенденция меняется на противоположную.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время накоплено большое количество данных, которые подтверждают нарушения онтогенеза ЦНС при расстройствах аутистического спектра. Они проявляются, в том числе, в атипичных характеристиках ЭЭГ: повышенной бета-активности, а также измененных характеристиках сенсомоторного ритма (мю-ритма). Именно эти изменения связывают с особенностями, характерными для РАС: трудностями социализации, нарушениями в понимании как собственных эмоций и чувств, так и эмоций и чувств других людей, а также стереотипным поведением. Помимо триады нарушений, типичной для РАС, концепция модели психического (theory of mind) позволяет объяснить нарушения социального взаимодействия на психологическом уровне.

Поскольку при аутизме наблюдается дефицит в эмоциональной сфере, который влечет за собой трудности социальных взаимодействий, некоторые исследователи связывают особенности РАС с нарушением работы зеркальных нейронов. Считается, что зеркальные нейроны в процессе эволюции сформировались для выполнения определенных социально-когнитивных функций. Существование системы зеркальных нейронов на анатомическом уровне подтверждено у животных. Но имеется лишь одно исследование (Mukamel et al., 2010), в котором вживлялись электроды и проводилась регистрация активности ЗН чело-

века напрямую. В силу этических причин работа зеркальных нейронов человека оценивается косвенно с помощью фМРТ и ЭЭГ (по показателям мю-ритма). Перспективными для изучения нарушений при РАС могут стать грамотно спланированные исследования, учитывающие имеющиеся данные как о зеркальных нейронах, так и о специфике нарушений их функционирования.

На настоящий момент недостаточно имеющихся данных для конкретного понимания нейрофизиологических основ дефицитов при РАС. Дальнейшим шагом в изучении патогенеза РАС должно стать проведение междисциплинарных исследований, объединяющих как нейрофизиологические, так и психологические подходы к выявлению различных аспектов нарушений.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит коллег из научной лаборатории ФРЦ МГППУ за советы и дискуссии, полезные для подготовки данной статьи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 20-113-50061. The work was supported by RFBR grant, project № 20-113-50061.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алферова В.В., Фарбер Д.А.* Отражение возрастных особенностей функциональной организации мозга в электроэнцефалограмме покоя // Структурно-функциональная организация развивающегося мозга / Ред. О.С. Адрианов, Д.А. Фарбер. Л.: Наука, 1990. С. 45–65.
- Башина В.М.* Аутизм в детстве. М.: Медицина, 1999. 101 с.
- Безруких М.М., Мачинская Р.И., Фарбер Д.А.* Структурно-функциональная организация развивающегося мозга и формирование познавательной деятельности в онтогенезе ребенка // Физиол. человека. 2009. Т. 35. № 6. С. 10–24.
- Болдырева Г.Н.* Межцентральные отношения в коре головного мозга человека в норме и при очаговом поражении диэнцефальных структур: Автореф. дис... док. биол. наук. М.: Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, 1978. 35 с.
- Горбачевская Н.Л.* Особенности формирования ЭЭГ у детей в норме и при разных типах общих (первазивных) расстройств развития: Автореф. дис... док. биол. наук. М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2000. 263 с.
- Горбачевская Н.Л.* Возрастные особенности электроэнцефалограммы здоровых детей и подростков // Детская и подростковая психиатрия. Клинические лекции для профессионалов / Ред. Ю.С. Шевченко. М.: МИА, 2011. С. 643–658.
- Горбачевская Н.Л., Кожушко Л.Ф.* Динамика формирования ЭЭГ у мальчиков и девочек школьного возраста (по данным 9-летнего наблюдения) // Журн. невропатол. психиат. им. С.С. Корсакова. 1990. Т. 90. № 8. С. 75–79.
- Горбачевская Н.Л., Якупова Л.П.* Особенности картины ЭЭГ у больных с разными типами аутистических расстройств // Аутизм в детстве. М.: Медицина, 1999. С. 57–69.
- Горбачевская Н.Л., Чуприков А.П.* Синдром Ретта // Цунами детского аутизма. Медицинская и психолого-педагогическая помощь / Ред. А.П. Чуприков. М.: Гнозис, 2017. С. 81–93.
- Горбачевская Н.Л., Давыдова Е.Ю., Петрова С.О. и др.* Роль биологических и социальных факторов в успешности школьного обучения // Физиол. человека. 2010. Т. 36. № 3. С. 66–73.
- Горбачевская Н.Л., Тюшкевич С.А., Данилина К.К.* Синдром умственной отсталости, сцепленной с ломкой хромосомой X (синдром FXS) // Цунами детского аутизма. Медицинская и психолого-педагогическая помощь / Ред. А.П. Чуприков. М.: Гнозис, 2017. С. 68–80.
- Жукова М.А.* Особенности ЭЭГ-ритмов у людей с РАС // Психол. наука образов. 2016. Т. 21. № 3. С. 47–55.
- Крылов Д.Н., Кулакова Т.П.* Отражение в ЭЭГ-показателях хронического затормаживания функций мозга у детей в пубертатном возрасте // Возрастные особенности физиологических систем детей и подростков / Сб. тез. IV Всесоюз. конф. “Физиология развития человека” (Москва, 20–22 октября 1981). М.: ВНИИПМ, 1981. С. 39.
- Пахомова М.П., Баринова В.С.* ЭЭГ-корреляты синдрома вертебро-базиллярной недостаточности // Нейрофизиологические основы формирования психических функций в норме и при аномалиях развития. М.: Наука, 1995. С. 46.
- Сергиенко Е.А., Лебедева Е.И., Прусакова О.А.* Модель психического в онтогенезе человека. М.: Институт психологии РАН, 2009. 416 с.
- Abu-Akel A., Shamay-Tsoory S.* Neuroanatomical and neurochemical bases of theory of mind // Neuropsychologia. 2011. V. 49. P. 2971–2984.
- Andreou M., Skrimpa V.* Theory of mind deficits and neurophysiological operations in autism spectrum disorders: a review // Brain Sci. 2020. V. 10 (6). P. 393.
- Aridan N., Ossmy O., Buaron B. et al.* Suppression of EEG mu rhythm during action observation corresponds with subsequent changes in behavior // Brain Res. 2018. V. 1691. P. 55–63.
- Baranek G.T., David F.J., Poe M.D. et al.* Sensory experiences questionnaire: discriminating sensory features in

- young children with autism, developmental delays, and typical development // *J. Child Psychol. Psych.* 2006. V. 47 (6). P. 591–601.
- Bernier R., Dawson G., Webb S., Murias M.* EEG mu rhythm and imitation impairments in individuals with autism spectrum disorder // *Brain Cogn.* 2007. V. 64. P. 228–237.
- Bonini L., Rozzi S., Serventi F. et al.* Ventral premotor and inferior parietal cortices make distinct contribution to action organization and intention understanding // *Cereb. Cortex.* 2010. V. 20 (6). P. 1372–1385.
- Brewer R., Bird G., Gray K., Cook R.* Face perception in autism spectrum disorder: modulation of holistic processing by facial emotion // *Cognition.* 2019. V. 193. P. 1–8.
- Buccino G., Vogt S., Ritzl A. et al.* Neural circuits underlying imitation learning of hand actions: an event-related fMRI study // *Neuron.* 2004. V. 42 (2). P. 323–334.
- Chen C.P., Keown C.L., Jahedi A. et al.* Diagnostic classification of intrinsic functional connectivity highlights somatosensory, default mode, and visual regions in autism // *Neuroim. Clin.* 2015. V. 8. P. 238–245.
- Coben R., Clarke A.R., Hudspeth W., Barry R.J.* EEG power and coherence in autistic spectrum disorder // *Clin. Neurophysiol.* 2008. V. 119. P. 1002–1009.
- Cole E.J., Barraclough N.E., Enticott P.G.* Investigating mirror system (MS) activity in adults with ASD when inferring others' intentions using both TMS and EEG // *J. Autism Dev. Disord.* 2018. V. 48. P. 2350–2367.
- Coll M.P., Press C., Hobson H. et al.* Crossmodal classification of mu rhythm activity during action observation and execution suggests specificity to somatosensory features of actions // *J. Neurosci.* 2017. V. 37 (24). P. 5936–5947.
- Courchesne E., Pierce K., Schumann C.M. et al.* Mapping early brain development in autism // *Neuron.* 2007. V. 56 (2). P. 399–413.
- Datko M., Pineda J.A., Müller R.A.* Positive effects of neurofeedback on autism symptoms correlate with brain activation during imitation and observation // *Eur. J. Neurosci.* 2018. V. 47 (6). P. 579–591.
- De Vega M., Padrón I., Moreno I.Z. et al.* Both the mirror and the affordance systems might be impaired in adults with high autistic traits. Evidence from EEG mu and beta rhythms // *Autism Res.* 2019. V. 12 (7). P. 1032–1042.
- Deidda G., Bozarth I.F., Cancedda L.* Modulation of GABAergic transmission in development and neurodevelopmental disorders: investigating physiology and pathology to gain therapeutic perspectives // *Front. Cell. Neurosci.* 2014. V. 8. P. 119.
- Di Pellegrino G., Fadiga L., Fogassi L. et al.* Understanding motor events: a neurophysiological study // *Exp. Brain Res.* 1992. V. 91 (1). P. 176–180.
- Dickinson A., DiStefano C., Senturk D., Jeste S.S.* Peak alpha frequency is a neural marker of cognitive function across the autism spectrum // *Eur. J. Neurosci.* 2018. V. 47 (6). P. 643–651.
- Dumas G., Soussignan R., Hugueville L. et al.* Revisiting mu suppression in autism spectrum disorder // *Brain Res.* 2014. V. 1585. P. 108–119.
- Edgar J., Heiken K., Chen Y. et al.* Resting-state alpha in autism spectrum disorder and alpha associations with thalamic volume // *J. Autism Dev. Disord.* 2015. V. 45. P. 795–804.
- Emerson R.W., Adams C., Nishino T. et al.* Functional neuroimaging of high-risk 6-month-old infants predicts a diagnosis of autism at 24 months of age // *Sci. Transl. Med.* 2017. V. 9 (393). P. eaag2882.
- Fan Y.T., Decety J., Yang C.Y. et al.* Unbroken mirror neurons in autism spectrum disorders // *J. Child Psychol. Psychiatry.* 2010. V. 51. P. 981–988.
- Fox N., Bakermans-Kranenburg M., Yoo K. et al.* Assessing human mirror activity with EEG mu rhythm: a meta-analysis // *Psychol. Bull.* 2016. V. 142 (3). P. 291–313.
- Hamner T., Hepburn S., Zhang F. et al.* Cognitive profiles and autism symptoms in comorbid down syndrome and autism spectrum disorder // *J. Dev. Behav. Pediatr.* 2020. V. 41 (3). P. 172–179.
- Hari R., Salmelin R., Mäkelä J.P. et al.* Magnetoencephalographic cortical rhythms // *Int. J. Psychophysiol.* 1997. V. 26. P. 51–62.
- Hobson H.M., Bishop D.V.* The interpretation of mu suppression as an index of mirror neuron activity: past, present and future // *R. Soc. Open Sci.* 2017. V. 4 (3). P. 1–22.
- Holopainen A., De Veld D.M., Hoddenbach E., Begeer S.* Does theory of mind training enhance empathy in autism? // *J. Autism Dev. Disord.* 2019. V. 49 (10). P. 3965–3972.
- Hoogenhout M., Malcolm-Smith S.* Theory of mind predicts severity level in autism // *Autism.* 2017. V. 21 (2). P. 242–252.
- Iacoboni M.* Imitation, empathy, and mirror neurons // *Annu. Rev. Psychol.* 2009. V. 60. P. 653–670.
- Iacoboni M., Dapretto M.* The mirror neuron system and the consequences of its dysfunction // *Nat. Rev. Neurosci.* 2006. V. 7 (12). P. 942–951.
- Jellema T., Baker C.I., Wicker B., Perrett D.I.* Neural representation for the perception of the intentionality of actions // *Brain Cogn.* 2000. V. 442. P. 280–302.
- Jones C.R.G., Simonoff E., Baird G. et al.* The association between theory of mind, executive function, and the symptoms of autism spectrum disorder // *Autism Res.* 2018. V. 11 (1). P. 95–109.
- Kozhushko N., Nagornova Z., Evdokimov S. et al.* Specificity of spontaneous EEG associated with different levels of cognitive and communicative dysfunctions in children // *Int. J. Psychophysiol.* 2018. V. 128. P. 22–30.
- Lam K.S., Aman M.G.* The repetitive behavior scale-revised: independent validation in individuals with autism spectrum disorders // *J. Autism Dev. Disord.* 2007. V. 37 (5). P. 855–866.
- Livingston L.A., Colvert E., Bolton P., Happé F.* Good social skills despite poor theory of mind: exploring compensation in autism spectrum disorder // *J. Child Psychol. Psychiatry.* 2019. V. 60. P. 102–110.
- Marotta R., Risoleo M.C., Messina G. et al.* The neurochemistry of autism // *Brain Sci.* 2020. V. 10 (3). P. 163–182.
- Masi A., DeMayo M.M., Glozier N., Guastella A.J.* An overview of autism spectrum disorder, heterogeneity and treatment options // *Neurosci. Bull.* 2017. V. 33 (2). P. 183–193.

- Modabbernia A., Velthorst E., Reichenberg A.* Environmental risk factors for autism: an evidence-based review of systematic reviews and meta-analyses // *Mol. Autism*. 2017. V. 8. P. 13–29.
- Molenberghs P., Cunnington R., Mattingley J.* Brain regions with mirror properties: a meta-analysis of 125 human fMRI studies // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2012. V. 36 (1). P. 341–349.
- Mukamel R., Ekstrom A.D., Kaplan J. et al.* Single-neuron responses in humans during execution and observation of actions // *Curr. Biol.* 2010. V. 20. P. 750–756.
- Niedermeyer E.* Frontal lobe functions and dysfunctions // *Clin. Electroencephalogr.* 1998. V. 29 (2). P. 79–90.
- O'Reilly C., Lewis J.D., Elsabbagh M.* Is functional brain connectivity atypical in autism? A systematic review of EEG and MEG studies // *PLoS One*. 2017. V. 12 (5). P. 1–28.
- Pineda J.A.* The functional significance of mu rhythms: translating “seeing” and “hearing” into “doing” // *Brain Res. Rev.* 2005. V. 50. P. 57–68.
- Praszkier R.* Empathy, mirror neurons and SYNC // *Mind Soc.* 2016. V. 15. P. 21–25.
- Ramachandran V.S., Oberman L.M.* Broken mirrors: a theory of autism // *Sci. Am.* 2006. V. 295. P. 62–69.
- Rizzolatti G., Craighero L.* The mirror-neuron system // *Annu. Rev. Neurosci.* 2004. V. 27. P. 169–192.
- Rizzolatti G., Fogassi L., Gallese V.* Neurophysiological mechanisms underlying the understanding and imitation of action // *Nat. Rev. Neurosci.* 2001. V. 2. P. 661–670.
- Schunke O., Schöttle D., Vettorazzi E. et al.* Mirror me: imitative responses in adults with autism // *Autism*. 2016. V. 20 (2). P. 134–144.
- Sharma S.R., Gonda X., Tarazi F.I.* Autism spectrum disorder: classification, diagnosis and therapy // *Pharmacol. Ther.* 2018. V. 190. P. 91–104.
- Sheikhani A., Behnam H., Mohammadi M.R. et al.* Detection of abnormalities for diagnosing of children with autism disorders using of quantitative electroencephalography analysis // *J. Med. Syst.* 2012. V. 36. P. 957–963.
- Spunt R.P., Adolphs R.* The neuroscience of understanding the emotions of others // *Neurosci. Lett.* 2019. V. 693. P. 44–48.
- Strikwerda-Brown C., Ramanan S., Irish M.* Neurocognitive mechanisms of theory of mind impairment in neurodegeneration: a transdiagnostic approach // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2019. V. 15. P. 557–573.
- Thorpe S.G., Cannon E.N., Fox N.A.* Spectral and source structural development of mu and alpha rhythms from infancy through adulthood // *Clin. Neurophysiol.* 2016. V. 127. P. 254–269.
- Wadsworth H.M., Maximo J.O., Donnelly R.J., Kana R.K.* Action simulation and mirroring in children with autism spectrum disorders // *Behav. Brain Res.* 2018. V. 341. P. 1–8.
- Yang D.Y.J., Rosenblau G., Keifer C., Pelphrey K.A.* An integrative neural model of social perception, action observation, and theory of mind // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2015. V. 51. P. 263–275.

Neurophysiological Correlates of Impaired Development in Autism Spectrum Disorders (ASD)

K. R. Salimova*

Moscow State University of Psychology and Education, Moscow, Russia

*e-mail: ksalimova@yandex.ru

Autism spectrum disorders (ASD) is a large group of developmental disorders caused by a combination of genetic and environmental factors. It is described as a separate diagnosis in the 11th revision of the International Classification of Diseases. The forms of the disorder are distinguished based on existing intellectual and language deficits. The problem is relevant due to ASD wide spread (about 1% in the general population) and difficulties of social rehabilitation of such people. Neurophysiological studies of this heterogeneous group revealed various impairments of ontogenetic formation of EEG patterns. Some of the main autism features, such as social isolation and inability to empathize, can be attributed to dysfunctional mirror neurons. The article reviews studies of age-related formation of EEG in normal group, as well as EEG of undifferentiated ASD. It also in detail discusses mechanisms of dysfunction of mirror neuron system in these disorders.

Keywords: autism spectrum disorders, EEG correlates of normal and impaired development of CNS, mirror neuron system, theory of mind

УДК 575.2+599.742.21+639.111.77

ИЗМЕНЧИВОСТЬ БУРОГО МЕДВЕДЯ И ПРОБЛЕМА ИЗМЕЛЬЧАНИЯ ОСОБЕЙ

© 2021 г. С. В. Пучковский*

Удмуртский государственный университет, Ижевск, Россия

*e-mail: SVPuch@mail.ru

Поступила в редакцию 18.03.2021 г.

После доработки 31.03.2021 г.

Принята к публикации 31.03.2021 г.

Представлен обзор опубликованных материалов о весе тела бурых медведей Северного полушария. Охвачены территории Европы, России, Японии (о. Хоккайдо), Канады и США. Сгруппированы данные, отражающие основные формы изменчивости этого признака: возрастную, сезонную, географическую, индивидуальную. Учитываются половые различия, а также отличия по весу медведей, содержащихся в неволе. Длительность жизни одной генерации бурых медведей в среднем близка к 10 годам. Доля медведей возраста 20 лет и более в популяции невелика и с годами быстро снижается, зато прогрессируют признаки старения медведей, снижается также их вклад в репродукцию популяции. Медведи возраста свыше 30 лет в природных популяциях очень редки; долгожители, возраст которых превысил 40 лет, единично регистрировались в условиях неволи. Репродуктивный вклад в демографию популяции самцов и самок бурого медведя, достигших предельного возраста, близок нулю. Возрастной тренд динамики веса тела соответствует правилу биологического роста Л. фон Бергаланфи и включает четыре возрастные фазы, которые выделены по преобладающей функции (рост, созревание, репродукция, старение). Названа также пятая фаза – отрицательного роста (дегенерация). Отрицательный рост присущ редко встречающимся предельно старым особям и медведям-шатунам. Возрастная динамика веса тела дополняется ежегодным осенним увеличением веса (накопление жировых запасов) и их расходом в период зимнего сна. Обсуждается дискуссионная тема измельчания популяций бурого медведя. Более убедительно объяснение, в соответствии с которым значительный пресс охоты приводит к омоложению возрастного состава популяции и, как дополнительное следствие избирательного отстрела, к уменьшению весовых показателей особей в популяции. Динамика весовых характеристик популяции, вызванная избирательностью охоты по размеру и полу, обратима. Отстрел медведей, находящихся в возрастной фазе дегенерации (предельно старые и шатуны), вклад которых в репродукцию популяции предельно мал (или равен нулю), вряд ли может ухудшить генофонд популяции.

Ключевые слова: бурый медведь, вес тела, возрастные фазы, избирательный отстрел, уменьшение размера особей

DOI: 10.31857/S0042132421060053

ВВЕДЕНИЕ

В связи с охотой на крупных млекопитающих возникают вопросы, среди которых один из практически значимых: каковы последствия отстрела для трофейных достоинств охотничьего объекта? Последствия обнаруживаются ближайшие и отдаленные, предполагаются обратимые и необратимые. Для собственника и устроителя охот, например, важно иметь уверенность, что трофейная ценность особей в местной популяции бурого медведя *Ursus arctos* L. с годами не будет снижаться. Среди отечественных специалистов (охотоведов и зоологов) нет единства в объяснении реальности и причин вероятных изменений в свойствах, включая трофейно значимые, особей охотничье-

го ресурса. Соответственно, затруднительно давать прогнозы на многолетнюю эксплуатацию популяции бурого медведя. С одной стороны, “Никаких научных доказательств об отрицательном влиянии трофейной охоты на морфометрические показатели медведей Камчатки ... не имеется” (Мельников, Мельников, 2008, с. 162). С другой стороны, констатируется (Степаненко, 2020) измельчание медведей во многих популяциях России, в том числе и на Камчатке; в перспективе, по мнению автора, видится прогрессирующее измельчание и остальных популяций.

Для обоснованного ответа на поднятый вопрос нужны обобщения фактов, которые возможно получить в результате проведения многолетнего и достаточно полно выстроенного мониторинга за

состоянием и динамикой изменчивости бурого медведя. Но такой мониторинг еще предстоит довести до удовлетворительного состояния и уже на его основе накопить фактический материал. Внутривидовая изменчивость млекопитающих имеет множество проявлений (Яблоков, 1966; Шмальгаузен, 1968; Майр, 1968, 1971; Филипченко, 1978; Hallgrímsson, Maiorana, 2000). Предметом обсуждения в статье являются несколько типов изменчивости: онтогенетическая, возрастная, индивидуальные различия. Цель данной работы — обзор публикаций, содержащих материалы и обобщения по изменчивости бурого медведя, полезные для рассмотрения проблемы влияния охоты на размеры особей этого вида, и обсуждение результатов обзора. Основные темы обсуждения: длительность индивидуальной жизни; возрастная динамика веса тела как показателя общих размеров; сезонная динамика веса тела; географическая изменчивость веса тела; индивидуальная изменчивость; природа измельчания особей в популяциях бурого медведя.

Территориально работа ограничена Европой, Россией, Японией (о. Хоккайдо), Канадой, Аляской и другими штатами США, населенными бурими медведями, что в основном соответствует бореальному и умеренному поясам климатической карты Северного полушария. Определенную и весьма обычную трудность представляет следующее обстоятельство: при изучении популяций охотничьих объектов исследователь, как правило, вынужден использовать выборку, полученную в результате охоты, то есть состав промысловой пробы. Промысловая проба искаженно представляет реальный состав популяции по полу, возрасту и другим характеристикам. Вероятных причин такого искажения, по меньшей мере, две: избирательность отстрела (или отлова) и, как следствие избирательности, вероятное изменение состава выжившей части популяции вследствие потери ею изъятых частей. Приходится также мириться с различной полнотой предоставления количественных показателей авторами проанализированных публикаций.

ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЖИЗНИ

При обсуждении длительности жизни бурого медведя необходимо учитывать индивидуальные различия и динамичность (изменчивость во времени) любого демографического показателя в популяциях. Динамичность обусловлена смертностью, которая, с одной стороны, своеобразна в любой возрастной группе, с другой — способна заметно изменяться в зависимости от ряда экологических факторов. В статье преимущественно используются данные авторов, которые наблюдали медведей в неволе, отслеживая их возраст, ли-

бо определяли возраст животных, обитающих на воле, по срезам зубов (Клевезаль, 2007). Предельный возраст бурых медведей в условиях неволи, по данным авторов обзоров (Туманов, 2017; Sato, 2009), достигает у самцов 28–30 лет, у самок — 35–38. В другой обзорной публикации (Schwartz et al., 2003) указано, что в неволе (зоопарк в Мемфисе, США) самец-долгожитель прожил 50 лет, самка — 42 года. Эти значения выбиваются из ряда прочих данных о длительности жизни бурых медведей, но могут рассматриваться как показатели популяционно-видового потенциала.

Далее приводятся результаты изучения возраста медведей, обитающих в природе.

Средний возраст без подразделения по полу в выборке из 89 взрослых бурых медведей, добытых в Словакии (Hell, Sládek, 1979), был определен в 10 лет. В Словении местная популяция подвергается значительному прессу легальной охоты (Krofel et al., 2012): ежегодно за период 1998–2008 гг. изымались 20% популяции. Столь высокая доля отстрела, видимо, — единственный пример в мире. Зарегистрирован наибольший возраст особей в пробе из 547 медведей, добытых за весь период наблюдений: самца — 15 и самки — 18 лет, то есть медведи этой популяции далеко не доживают до предельного для вида возраста. В процессе изучения с использованием неинвазивных методов медвежьих берлог в Швеции (Elfström, Swenson, 2009) исследователи зарегистрировали 114 медведей, имевших возраст от 2 до 30 лет, в среднем — 7.7 лет. В промысловой пробе за 1990–2015 гг., взятой в той же стране, средняя длительность жизни медведей составила 5 лет (Frank et al., 2017). Данные из Швеции демонстрируют, насколько материалы промысловой пробы могут отличаться от оценки возрастного состава популяции, полученной неинвазивным методом: состав промысловой пробы заметно моложе.

Половой зрелости бурые медведи в России достигают в возрасте 5–6 лет (самцы) и 4–5 (самки) (Завацкий, 1987; Пажетнов, 1990). По визуальным наблюдениям в Кроноцком заповеднике на нерестовой реке признаки старения имели 11.6% медведей обоего пола (Серёдкин, Пачковский, 2004). В этом же заповеднике 20 лет подряд велись наблюдения (Николаенко, 2003) в природе за двумя самцами; самцы дожили до возраста 28 и 29 лет. Добытые в природе наиболее старые медведи Туруханского р-на Красноярского края имели возраст: самец — 39, самка — 29 лет (Завацкий, 1981). Как показали наблюдения в неволе (Colmenares, Rivero, 1983) и в природе в ландшафтах с невысокой лесистостью (где медведи более доступны визуальным наблюдениям), стареющие самцы при очень внушительных размерах нередко проигрывают более молодым, активным и агрессивным самцам в борьбе за право спариться

с рецептивной медведицей (Николаенко, 2003; Гордиенко, 2012; Пучковский, 2017). Как следует из обзорной публикации (Гептнер и др., 1967, с. 450), “один медвежонок чаще бывает у молодых и старых медведиц”.

В национальном парке Глейшер, США, в порядке регулирующего изъятия были отстреляны 4 самки возрастом от 9 до 30 лет (Martinka, 1974). Материалы по репродуктивному созреванию (возраст первого помета) и старению самок бурого медведя, полученные из 18 популяций Северной Америки и двух – Швеции (Schwartz et al., 2003), объединили 4726 регистраций радиомеченных медведиц. Большинство медведиц созревает в возрасте 5 лет, однако первый помет медведицы в природе приносят, как правило, на несколько лет позднее. Наиболее велик репродуктивный вклад медведиц в возрасте 9–15 лет; репродуктивное старение становится заметным с 16 лет, но особенно быстро происходит после 25 лет. Ни одна медведица старше 29 лет не рожала (van Daele et al., 2001; Steyaert et al., 2012), в то время как самой старшей из зарегистрированных в природе самок было 34 года.

На полуострове Аляска из 344 добытых бурых медведей самыми старыми были самец 13 лет и самка – 15 лет (Glenn, 1980). Как показали многолетние исследования популяций бурого медведя Большой Йеллоустонской экосистемы и ряда других регионов Северной Америки и Швеции (van Manen et al., 2014; Yellowstone grizzly..., 2017), у самцов снижение репродуктивного вклада в демографию популяции может иметь причиной не столько ослабление репродуктивной функции, сколько уменьшающуюся способность физически соревноваться за самок с более молодыми самцами. Хотя в природе самцы доживают до 30 лет, ни один самец бурого медведя старше 27 лет не был зарегистрирован как репродуктивно успешный (Steyaert et al., 2012). В Японии (о. Хоккайдо) из добытых спортивной охотой и в порядке регулирующего отстрела проблемных бурых медведей ($n = 823$) 98% имели возраст, не превышающий 16 лет (Sato, 2009). Самыми старыми из всех оказались самец 30 лет и самка 34 лет.

Возраст поколения (генерации) бурых медведей центральной части Европейской России составляет в среднем 8 лет в эксплуатируемой популяции и 9–10 лет – в охраняемой популяции (Пажетнов, 1993а). С учетом сохранения репродуктивных возможностей и реальной длительности жизни зверей, составляющих репродуктивное ядро популяции, имеющие данные по демографии (Данилов, 1988; Пажетнов, 1993б; Чернявский, Кречмар, 2001; Туманов, 2017; Bunnell, Tait, 1985; Swenson et al., 2001; Schwartz et al., 2003) позволяют оценить длительность жизни одного поколения бурого медведя в среднем близким к 10 годам

(Пучковский, 2005; Пажетнов, 2011). Уточню, что в данном случае важна не средняя продолжительность жизни всех родившихся особей, а только тех, которые составляют репродуктивную часть популяции и обеспечивают рождение следующей генерации. Доля медведей, имеющих возраст 20 лет и более, невелика и с годами быстро снижается, зато прогрессируют признаки старения медведей, снижается также их вклад в репродукцию популяции. Медведи возрастом свыше 30 лет в природных популяциях очень редки; долгожители, возраст которых превысил 40 лет, единично регистрировались в условиях неволи. Репродуктивный вклад в демографию популяции самцов и самок бурого медведя, достигших предельного возраста, понижен.

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ВЕСА ТЕЛА И ВОЗРАСТНЫЕ ФАЗЫ

По весу взрослые самцы бурого медведя превосходят самок на 30–50%, поэтому показатели веса рассматриваются в материалах обзора, когда это оказывается возможным, порознь. Как установлено (Завацкий, 1987), в Туруханском р-не Красноярского края местные медведи растут и набирают вес до предельного возраста (25–30 лет), однако рост неравномерен. После наступления половой зрелости по мере дальнейшего взросления увеличение веса и общих размеров замедляется. Из добытых в Туруханском р-не медведей 25 взрослых самцов имели средний возраст 15.4 года и 13 самок – 10.2 года (Завацкий, 1991). Взвешивались только медведи, добытые в летние месяцы, когда упитанность зверей минимальна. Средний вес самцов составил 189 кг, наибольший – 264. Средний вес самок – 111 кг, наибольший – 125.

Из уже названных выше материалов можно видеть, что наиболее возрастные медведи составляют незначительную долю популяций, которая со временем сходит на нет. Поэтому изучение динамики веса стареющих особей не обеспечивается достаточным количеством фактов, пригодных для обработки методами математической статистики. На берлоге близ г. Белозёрск (на то время – Новгородская губерния) был добыт (Мельницкий, 1915) очень крупный, “замечательно старый и худой” самец. Предполагается (Лазарев, 1979), что у наиболее старых особей Камчатки вес снижается. Визуальные наблюдения тоже дают некоторые основания предполагать, что вес больных или стареющих особей на пределе жизни может снижаться (Ревенко, 1993). Удалось проследить зимой 2008 г. на Камчатке (<http://shpilenok.livejournal.com/2011/01/11/>, дата обращения 13.02.2021) последние недели жизни крупного, истощенного и, видимо, очень старого медведя. Примеры единичны, но и они дают основания полагать, что вес предельно старых медведей меняется в сторону

Таблица 1. Возрастные фазы онтогенеза бурого медведя, выделяемые по преобладающей функции, и возрастной тренд динамики веса тела

Показатели	Возрастные фазы				
	рост	созревание	репродукция	старение	дегенерация
Возрастной диапазон, годы	0–6	4–6	7–15	≥16	≥25
Динамика роста	Быстрый	Умеренно быстрый	Замедляющийся	Затухающий	Отрицательный

понижения. Предположительно, такому вектору динамики соответствует фаза возрастной дегенерации (табл. 1).

Бурые медведи на п-ове Аляска достигают 95% от предельного веса в возрасте: самцы – 6.5 лет, самки – 4.5 лет (Glenn, 1980). Медведи старше этих возрастных показателей продолжают набирать вес, но скорость этого процесса понижается. Средний вес пяти самцов старше 9 лет составил 389 кг, 25 самок старше 9 лет – 207 кг. Максимальный вес оказался у самца возраста 10 лет 442 кг, у самой крупной самки 15 лет – 277 кг. Оценки возрастной динамики веса тела бурых медведей Северной Америки, сделанные по материалам из более поздних публикаций (Hilderbrand et al., 1999, 2019), в общем подтверждают выводы автора статьи, цитированной выше.

Зарубежные специалисты склонны обсуждать вычисленную асимптотическую массу тела (asymptotic body mass) (Kingsley et al., 1988; Swenson et al., 2007), которая представляет собой результат возрастной динамики веса, трактуемой как асимптотический процесс: постоянное увеличение с постоянным замедлением увеличения. При этом авторы ссылаются на общебиологическое правило роста живых систем (в данном случае индивидуального уровня) и соответствующие этому правилу уравнение и кривую на графике, предложенные Бергаланфи (von Bertalanffy, 1969). В качестве иллюстрации на рис. 1 представлена од-

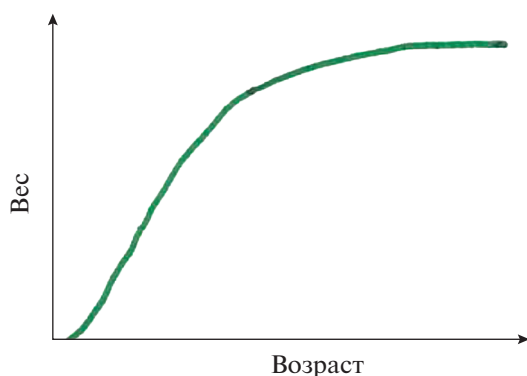


Рис. 1. Графическое выражение (сигмоидальная кривая) правила биологического роста Л. фон Бергаланфи. По вертикальной оси – вес, по горизонтальной – возраст.

новершинная кривая, которая выражает связь между возрастом и весом тела особи (<https://animalbiosciences.uoguelph.ca/~swatland/HTML10234/LEC20/LEC20.html>, дата обращения 05.03.2021). Располагая данными о возрасте конкретного медведя и весе его тела на момент исследования, используя уравнение правила роста, зарубежные коллеги получают кривую линию, которая должна демонстрировать тренд возрастной динамики веса особи. Подобные графические материалы нашли место в ряде публикаций (Kingsley et al., 1988; Hilderbrand et al., 1999, 2019; Swenson et al., 2007). На таких графиках не бывает отражена дегенеративная фаза динамики веса тела (табл. 1).

На основе обобщения материалов о весе тела медведей разного возраста, изложенных выше, и с учетом правила роста Бергаланфи нами названы возрастные фазы динамики роста (табл. 1), которые в целом составляют основной тренд динамики. Фазы выделены по наиболее характерной функции. Фаза роста характеризуется быстрым увеличением веса тела. В фазе созревания медведи достигают половой зрелости, причем скорость роста замедляется. В фазе репродукции осуществляется наибольший репродуктивный вклад в демографию популяции, вес тела продолжает увеличиваться, но скорость увеличения заметно снижена. В фазе старения репродуктивный вклад понижается, темп прироста веса тела минимален. В фазе дегенерации репродуктивный вклад стремится к нулю, вес тела может снижаться.

Количество особей в популяции, которые представляют названные фазы, с возрастом тоже снижается, особенно заметно – для фаз 4 и 5. Более того, в эксплуатируемых популяциях медведей с явными признаками старения может и не быть вовсе (Glenn, 1980; Krofel et al., 2012). По этой причине обеспеченность материалами, которые доступны для изучения фаз старения и дегенерации, минимальна. Соответственно, характеризовать представителей этих фаз пока можно по единичным примерам и на основе предположений до накопления фактических материалов в нужном количестве. Более определенно можно полагать, что вклад стареющих медведей (фазы 4 и 5) в репродукцию популяции и в ее генофонд минимален. Эти категории из возрастного состава популяций бурого медведя являются примерами избыточности по отношению к функции

репродукции живых систем на популяционно-видовом уровне организации (Пучковский, 1999). Поясню: при минимальном прессе охоты и на особо охраняемых территориях медведи-долгожители могут в популяции сохраняться, но уже находиться за пределами репродукционного процесса.

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ВЕСА ТЕЛА

В популяциях бурого медведя, как правило, хорошо выражена сезонная динамика веса тела. Осенью звери усиленно питаются, набирая жировые запасы, необходимые для расходования в период зимнего сна и в первые недели после выхода из берлоги (Медведи..., 1993; Bears..., 1994; Yellowstone grizzly..., 2017). Заметное накопление жировой массы начинается во второй половине августа, с переходом на достаточно калорийные массовые корма. За нажировочный период (период гиперфагии в англоязычных публикациях) масса тела возрастает, достигая максимума перед залеганием в берлоги. В таежных регионах России жировые запасы могут достигать у взрослых медведей 30% от массы всего тела (Пажетнов, 1990).

В сводной публикации европейских авторов сравнивались показатели веса тела бурых медведей на севере (Швеция и Норвегия) и юге (Словения и Хорватия) Европы (Swenson et al., 2007). Северные медведи расходовали жировые запасы и теряли к весне 26% от веса осенью (самцы) и 39% (самки). Южные самки теряли к весне 18%, у самцов заметных различий не было выявлено. При этом авторы исследования отметили, что зимний сон у южных медведей вдвое короче, более того, часть медведей-самцов этого региона вообще не ложится в берлоги.

Согласно данным (Завацкий, 1987), в Туруханском р-не Красноярского края ко времени залегания в берлоги жировые запасы составляют от 17 до 25% живого веса тела. Самец, добытый на Северо-Востоке Сибири (Чернявский, Кречмар, 2001), при весе тела 211 кг имел 55 кг жира. Из обзора публикаций по регионам Сибири (Смирнов, 2017) следует, что осенне-зимняя упитанность бурых медведей обоего пола составляет 20–25%.

Таким образом, сезонный тренд динамики веса тела бурого медведя отражает накопление жировых запасов, которые достигают максимальных значений поздней осенью, ко времени залегания в берлоги. К весне происходит уменьшение общего веса тела за счет расходования жировых запасов. Выраженность этой динамики напрямую зависит от суровости и продолжительности зимы и, соответственно, от продолжительности зимнего сна (Строганов, 1962; Гептнер и др., 1967; Медведи..., 1993; Смирнов, 2017; Hilderbrand et al., 1999, 2019;

Friebe et al., 2001). Моделирование энергетики зимнего сна показало, что при длительности периода гибернации свыше 120 дней, для репродуктивного успеха медведицы запас жира не может быть менее 19% от осеннего веса ее тела (López-Alfaro et al., 2013).

По исследованиям в России, при выходе из берлоги медведей часть их жировых запасов еще сохраняется (Пажетнов, 1990; Устинов, 1993; Чернявский, Кречмар, 2001; Туманов, 2017), но в течение нескольких недель они полностью расходуются.

Особую категорию представляют собой медведи-шатуны (Бромлей, 1965; Гептнер и др., 1967; Формозов, 1976; Медведи..., 1993), которые в отдельные годы регистрировались в ряде регионов России (Пучковский и др., 2019). По времени регистрации шатуны приурочены к осени и зиме. Наличие шатунов свойственно регионам с суровой, продолжительной и многоснежной зимой; они появляются в годы неурожая основных нажировочных кормов (Гудритис, 1963; Павлов, Жданов, 1972; Медведи..., 1993; Смирнов, 2017). Среди шатунов, которые обследованы специалистами, количественно преобладали взрослые самцы (Смирнов, 2017; Кожечкин, Смирнов, 2017; Mogdosov, 2005). Для шатунов также характерна высокая или крайняя степень истощения и, соответственно, пониженный вес тела (Гудритис, 1963; Формозов, 1976; Смирнов, 2017; Пучковский, Буткалюк, 2020). Смертность среди шатунов повышена, в течение первых месяцев зимы эта категория медведей вымирает. Есть основания предполагать, что динамика веса тела шатунов подобна таковой предельно старых медведей и соответствует дегенеративной фазе (табл. 1).

ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВЕСА ТЕЛА

О значительной географической изменчивости бурого медведя Старого Света писали многие авторы (Миддендорф, 1851; Огнёв, 1931; Строганов, 1962; Гептнер и др., 1967; Давиташвили, 1970; Чернявский, Кречмар, 2003; Couturier, 1954; Kurtén, 1973). Исследования по генетике популяций и филогеографии бурого медведя, основанные на использовании методов палеозоологии и молекулярной генетики и рисующие довольно сложную картину становления и статуса современных подвидов и географических популяций (Барышников, 2007; Kitchener et al., 2020), в статье не рассматриваются.

В фундаментальной сводке (Couturier, 1954) указан наибольший вес бурых медведей из Пиренейских гор: для самца – 350, для самки – 250 кг. Согласно современной публикации (Swenson et al., 2007), медведи-самцы из Южной Европы

(территории Словении и Хорватии) имели весной средний вес тела 248 кг ($n = 111$), самки — 115 кг ($n = 67$). Медведи Северной Европы (территории Швеции и Норвегии) весной весили 201 (самцы, $n = 412$) и 96 кг (самки, $n = 446$). Данные о весе тела осенью для южных популяций: 243 (самцы, $n = 83$) и 141 кг (самки, $n = 69$); значения веса осенью для северных популяций составляют 273 кг (самцы, $n = 301$) и 158 (самки, $n = 281$). То есть при использовании для сравнения веса зверей, накопивших жировой запас для зимнего сна, северные медведи выглядят несколько тяжелее южных. По результатам весенних определений, напротив, обнаруживается весовое превосходство южных медведей.

Наши соотечественники пишут, что “о добытых медведях массой 300 кг в Республике Коми достоверных сведений нет” (Полежаев, Нейфельд, 1998, с. 67). В Лапландском заповеднике предельный вес взрослых самцов — 315 кг, для 13 особей средний вес составил 185 кг. Для самок ($n = 10$) аналогичные показатели составили 175 и 135 кг (Гилязов, 2011). В Карелии из 75 взвешенных только три взрослых самца весили более 300 кг (320, 340 и 370) (Данилов, Тирронен, 2017). Вес добытых медведей из Архангельской обл. находился в пределах 100–300 кг (Вайсфельд, 1993). Вес отстрелянных взрослых медведей в Тверской обл. составил: одна самка — 175 кг; 6 самцов — от 230 до 315 кг (Пажетнов, 2006). Из 223 медведей, добытых в Удмуртии за 1986–1989 гг., 162 имели вес в пределах 100 кг и только 4 превышали по весу 200 кг (Лоскутов и др., 1993). Предельный вес медведей из Башкирии — 300–320 кг (там же).

Из более чем 120 медведей, добытых в Томской обл., лишь 2 оказались тяжелее 300 кг. В основном они имели вес от 100 до 150 кг (Лялин, 1983). Вес и размеры бурого медведя, обитающего в Западном Саяне, не отличаются от популяций Средней Сибири (Туруханский р-н Красноярского края) (Завацкий, 2004). По размерам тела медведи из Якутии мельче, чем в других регионах Сибири и Дальнего Востока (Тавровский и др., 1971; Ахременко, Седалищев, 2008), в частности, вес взрослых самцов Якутии не превышал 140–150 кг (Тавровский и др., 1971). Для медведей Камчатки установлено (Лазарев, 1979), что предельного веса самки достигают в 9–10 лет, самцы — в 18–20 лет. Данные о весе уссурийских бурых медведей, собранные в 1970-е гг. в Амуро-Уссурийском крае (Кучеренко, Баталов, 1979), особенно впечатляют. Взвешивались туши (без шкуры, внутренностей, головы и лап): 437, 470 и 505 кг, пол указан только для последней туши (самец). Авторы предположили, что живой вес последнего медведя был близок к 750 кг. Есть данные о бурых медведях с о. Хоккайдо (Sato, 2009). Средний вес живых медведей в природе составил: самцов — 192.4 ($n = 7$), самок — 102.9 кг ($n = 31$). Максимальный вес,

установленный соответственно в ноябре и октябре: самца — 400 кг, самки — 152 кг.

Показатели трофейной характеристики бурых медведей зарубежной Европы и России (измерения черепа и шкур) несколько возрастают с продвижением с запада на восток, наиболее значительны они для медведей Камчатки (Козловский, Колесников, 2007). Весовые показатели медведей Камчатки, южной части Дальнего Востока (Приамурье) также наиболее велики (Гептнер и др., 1967), к ним приближаются по размерам медведи Сахалина и Курильских о-вов (Юдин, 1993; Чернявский, Кречмар, 2001, 2003), о. Хоккайдо (Sato, 2009). Причину крупных размеров особей популяций бурого медведя, населяющих прибрежные районы северо-востока Азии, можно видеть в доступности, разнообразии и полноценности кормов, представленных прежде всего идущими на нерест лососевыми рыбами (Воронов, 1974). Крупные размеры камчатского и уссурийского подвидов бурого медведя также связывают (Формозов, 1976) с разнообразием и обилием кормов, а более мелкие размеры особей других географических рас — с условиями сравнительно скудного питания.

Популяциям бурого медведя (в том числе тем, которые принято именовать гризли) Северной Америки также свойственна значительная географическая изменчивость длины тела и размеров черепа (Rausch, 1963; Kurtén, 1973; Kitchener et al., 2020). Медведи п-ова Аляска, о-вов Афонгак и Кодьяк наиболее крупные, медведи внутренних территорий штата Аляска и континентальных популяций заметно мельче (Glenn, 1980; McDonough, Christ, 2012). Крупные размеры особей окраинных популяций генетически детерминированы, соответствуют довольно суровому климату и хорошим кормовым условиям. По мнению многих исследователей, показатели веса медведей, подобно линейным показателям, обусловлены факторами питания и плотности популяции и, в зависимости от их благоприятности, различаются среди популяций, населяющих разные территории (Kingsley et al., 1988; Hilderbrandt et al., 1999, 2018, 2019; Schwartz et al., 2003; Zedrosser et al., 2006, 2007; van Daele et al., 2012). Масса тела взрослых бурых медведей колеблется от 80 кг до более 600 кг; наиболее значительные показатели веса тела (так же, как и линейные размеры) свойственны прибрежным популяциям Аляски, где для этих хищников имеется доступ к водоемам с мигрирующими лососями, к пищевым объектам на побережье океана, к ягодникам, и в целом пищевые условия наиболее благоприятны. Близкие по высокому уровню благоприятности для популяции бурого медведя условия свойственны Камчатке (Ревенко, 1993; Честин и др., 2006; Гордиенко, 2012). Выдающиеся весовые показатели медведей Амуро-Уссурийского края

(Кучеренко, Баталов, 1979) пока не нашли объяснения.

Названные выше материалы по географической изменчивости веса тела бурого медведя проявляют удовлетворительное соответствие очерку географических закономерностей изменчивости размеров бурого медведя (Гептнер и др., 1967). Весовые характеристики популяций, населяющих Европу (за рубежом и в пределах России) и Западную Сибирь (европейско-сибирские медведи) (Гептнер и др., 1967), близки. Несколько крупнее медведи Алтае-Саянской горной системы и Восточной Сибири, части территорий Дальнего Востока (восточно-сибирские медведи) (Гептнер и др., 1967). Особое место занимают популяции Якутии, которым свойственны сравнительно мелкие размеры особей. В пределах этого огромного региона тоже проявляется географическая изменчивость, пока еще недостаточно изученная. Имеющиеся материалы позволили предположить, что северные популяции мельче тех, что обитают в южных и восточных частях Якутии (Боесков и др., 2011). Популяции медведей, населяющие в пределах России тихоокеанское побережье, о-ва Северной Пацифики (Сахалин, Шантарские и Курильские, Хоккайдо) и Камчатку, отличаются более крупными линейными размерами и весом тела. Наиболее крупные для Евразии медведи характерны для Камчатки и Амуро-Уссурийского края. В последнем случае речь идет об уссурийском медведе (Гептнер и др., 1967; Чернявский, Кречмар, 2003), весовые характеристики и распространение которого нуждаются в уточнении.

ИНДИВИДУАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВЕСА ТЕЛА

О значительной индивидуальной изменчивости бурого медведя по многим признакам и о разнообразии предполагаемых причин изменчивости писали многие авторы (Миддендорф, 1851; Ширинский-Шихматов, 1900; Огнёв, 1931; Строганов, 1962; Гептнер и др., 1967; Давиташвили, 1970; Couturier, 1954; Kurtén, 1973).

По наблюдениям на п-ове Аляска (Glenn, 1980), одновозрастные медведи различаются между собой по весу и размерам довольно сильно, в том числе – в пределах одного выводка. Предполагаемых причин целый ряд: конкуренция за молоко между медвежатами в выводке; забота матери, которой может не хватать на всех медвежат; не всегда равные условия питания в семье и при переходе к самостоятельной жизни и проч. Работы по передержке медвежат при подготовке их к выпуску в природные условия дали хорошие возможности для выявления изменчивости медвежат-сеголетков по боязливости, активности и иным чертам поведения, весу и скорости роста, размерным показателям и другим признакам

морфологии и физиологии (Пажетнов и др., 1999).

Описан медведь (Сабанеев, 1878), вероятно, весивший “никак не менее тридцати пудов” (480 кг), убитый в Екатеринбургском уезде. Вес 9 взрослых медведей на Северо-Востоке Сибири (Чернявский, Кречмар, 2001) варьировал от 145 до 270 кг. Но один самец, добытый в октябре 1984 г. в бас. р. Анадырь, выделялся огромным весом (приблизительно 600 кг).

Есть факты и противоположной крайности. Среди медвежат из одного выводка бывает отстающий в росте, своего рода заморыш. Заморыши описаны по наблюдениям в природе (Завацкий, 2004). Такими фактами, основанными на наблюдениях в полувольных условиях, располагают специалисты по подготовке медвежат к выпуску в природу (Пажетнов и др., 1999). Медведица способна родить 1–4 (очень редко больше) медвежат (Строганов, 1962; Данилов, 2017; Смирнов, 2017). Медвежата из больших выводков вынуждены конкурировать за пищу, заботу и защиту медведицы, в таких выводках больше вероятность появления заморышей, которым не будет хватать молока. Вероятность гибели таких медвежат повышена. Общеизвестно, например, что камчатских медведей отличают крупные размеры. Но и там могут быть встречены сравнительно некрупные (для своего возраста) особи. Так, на территории Южно-Камчатского заказника медведица с двумя медвежатами-сеголетками имела вес 120 кг в возрасте 18 лет (Гордиенко, 2012).

ВЕС ТЕЛА В НЕВОЛЕ

В природе перед залеганием в берлоги медвежата-сеголетки весят 30–40 кг, а в зоопарках к декабрю откармливаются и до 80 кг (Верещагин, 1978). Выращенные в полувольных условиях медвежата-сеголетки успевают набрать ко времени залегания в берлогу вес примерно в 1.5 раза больший, чем медвежата в диком состоянии (Терновский, Терновская, 1972). “В естественных условиях к концу нажировочного периода (ноябрь) медвежата-сеголетки весят 35–45 кг ..., тогда как при искусственном питании – 60–70 кг” (Пажетнов, 1990, с. 114). Цитируемый автор объясняет такое отличие “не только обилием и доступностью пищи, но и разной степенью двигательной активности”.

В зоопарках медведи могут достигать огромного веса (Гильмутдинов, Малёв, 2011): в зоопарке г. Мена (Черниговская обл.) бурый медведь весил 600 кг; два бурых медведя в зверинце г. Бузулук (Оренбургская обл.) в возрасте около 4 лет имели вес приблизительно 400 кг каждый.

ПРИРОДА ИЗМЕЛЬЧАНИЯ ОСОБЕЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ

Теоретические основы динамики признаков живых систем на индивидуальном и популяционно-видовом уровнях обобщены в трудах по эволюционной биологии (Шмальгаузен, 1968, 1982; Грант, 1991; Пучковский, 2013; Blanckenhorn, 2000) и по вопросам управления популяциями охотничьих животных (Уатт, 1971; Шварц, 1981; Павлов, 1989). Обстоятельный обзор публикаций по филогенетике, таксономии и изменчивости видов семейства медвежьих Ursidae представлен в монографии (Барышников, 2007). На этих теоретических положениях основывается интерпретация материалов по изменчивости веса тела бурого медведя, изложенных выше.

Теоретически вес и общие размеры бурого медведя могут изменяться со временем и различаться в разных популяциях в соответствии с тремя различными модусами адаптации: онтогенетическим (1), демографическим (2) и эволюционным (3).

1. В процессе онтогенеза индивид испытывает воздействие условий среды, различных по степени благоприятности, что проявляет себя в возрастной, географической, сезонной изменчивости веса тела, в том числе при обитании в неволе. Онтогенетические адаптивные изменения ненаследственны, то есть не отражаются в генетических структурах.

2. В популяции под влиянием комплекса причин могут измениться демографические характеристики: возрастной и половой состав. При этом могут измениться весовые показатели популяции (средние величины, лимиты). Соотношение полов и возрастных групп, сопутствующие им весовые показатели могут измениться за время существования одного поколения, что само по себе не отразится в генофонде и может быть обратимым.

3. Совместное действие факторов эволюции при участии селективного отстрела способно со временем изменить вес и общие размеры особей популяции, что отразится в генотипе особей и генофонде популяции.

Высказано предположение, что избирательность отстрела “очень быстро” и “повсеместно” (Степаненко, 2020, с. 31) приводит к измельчанию популяций бурого медведя. Каковы же факты, относящиеся к этой теме, и что знают об измельчании популяций бурого медведя ученые, которые занимались сбором, изучением этих фактов и их осмыслением? Известно, что в самых разных странах зарубежья и в части регионов России за счет интенсивной охоты на медведей длительность их жизни сокращена, и они не достигают предельных размеров. То есть наиболее понятное объяснение некоторого измельчания добываемых медведей в пределах эксплуатируемых популяций состоит в омоложении возрастного состава

таких популяций. Это объяснение, до сих пор не утратившее своего значения, предложено еще в XIX в. (Миддендорф, 1851). В наше время известно достаточно много примеров некоторого сокращения встречаемости наиболее крупных (по весу и размерам) особей в эксплуатируемых популяциях бурого медведя (Воронов, 1974; Медведи..., 1993; Валенцев и др., 2006; Лайшева, 2006; Филь, 2006; Данилов, Тирронен, 2017; Смирнов, 2017; Krofel et al., 2012).

Согласно данным, численность бурого медведя во многих губерниях европейской части России в начале XX в. была невысокой вследствие интенсивной охоты, звери весом свыше 200 кг добывались на берлогах редко (Мельницкий, 1915). Автор представил обзор данных (собственных и его современников) о весе убитых медведей: в Новгородской губернии 82 взрослых медведя в среднем имели вес 8 пудов (128 кг), самый тяжелый из них весил 13 пудов (208 кг); в Олонецкой и Новгородской губерниях из не менее 600 медведей, средний вес которых (включая вес медвежат) составил 4.5 пудов (72 кг), самый крупный медведь весил 16 пудов 12 фунтов (261.5 кг), при этом зафиксирован случай, когда медведь имел вес 18 пудов 7 фунтов (291 кг). Сам Н.А. Мельницкий не встречал медведей более 14 пудов (224 кг). Считается (Пажетнов, 1990, с. 190), что на то время (конец XIX—начало XX вв.) жизнь медведей была короткой и они не успевали достигнуть наиболее крупных размеров. “В наше время не приходится говорить об измельчании бурого медведя в Центре России: зверь массой 250–270 кг не такая уж большая редкость” (там же).

В Швеции бурый медведь в прошлом истреблялся как вредный, опасный зверь, и в 1930-е гг. стал редким. В дальнейшем отношение к этому виду изменилось, его численность стала расти, и в последние десятилетия на бурого медведя практикуется охота. Медведи в странах Северной Европы не только восстановили численность, но по своим размерам близки к тем, что обитают в европейской части России в наше время; их вес в единичных случаях превышает 300 кг (Swenson et al., 2007). Из этих примеров и из публикаций по Европейской России (Пажетнов, 1990; Пажетнов и др., 2002; Данилов, 2017) следует, что измельчание медведей вследствие интенсивной охоты в рамках десятилетий (возможно, и первых столетий) обратимо. То есть некоторое снижение пресса охоты, при котором средняя продолжительность жизни медведей увеличивается, позволяет медведям современных поколений набрать достаточно большой вес тела.

Зарубежные коллеги (Krofel et al., 2012) привели данные по отстрелу и другим формам изъятия медведей из популяции в Словении в 1998–2008 гг., проведя анализ возрастного (возраст определялся

по срезу зубов) и полового состава промысловой пробы. Эти материалы частично цитируются выше. Среди взрослых медведей самки составили 36.2%. Медведи массой свыше 150 кг (такого веса достигают самцы в 6 лет) составили из выборки не более 10%. Самцы в составе такой популяции не достигают предельного веса (для Словении это 330 кг), их трофейная ценность невысока. Очевидно, что режим отстрела медведей в данном случае направлен на поддержание воспроизводства популяции на высоком уровне и на сохранение ее омоложенного состава (Пучковский, 2017).

Особый случай – пример с медведями Кавказа. На Кавказе известен и много лет изучался удивительный, но реальный феномен (Кудактин, Честин, 1993): совместное существование (вплоть до формирования общих гонных групп в гонный период) трех форм бурого медведя. Феномен настолько необычный, что ученые вынуждены были использовать для обозначения этих форм термин “экоморфа”. Такие экоморфы, различающиеся по размерам особей и ряду иных биологических характеристик, не соответствуют формальным критериям подвида (считается, что подвиды всегда аллопатричны, то есть совместно не обитают (Майр, 1968, 1971)), но ведут себя как разные виды, способные к ассортативному (избирательному) скрещиванию. Экоморфу *caucasicus* отличают наибольшие размеры, поэтому она наиболее привлекательна для охотников и по названной причине чаще подвергается отстрелу. В этом примере избирательное изъятие более крупной экоморфы вполне реально (Кудактин, Честин, 1993; Лайшева, 2006). Но данный случай уникален, других мест с симпатричными (сообитающими) экоморфами бурого медведя в России (возможно, что и нигде в мире) больше нет. Столь необычная популяция Кавказа должна быть объектом особой охраны, организации эволюционного мониторинга и исследования с применением генетических методов.

На Камчатке с 1990-х гг. существует трофейная охота на медведя с явно выраженной избирательностью по размеру особей. В промысловой пробе преобладают взрослые (нередко с признаками старения) самцы (Валенцев и др., 2006). Соответственно, за многие годы такого изъятия авторами отмечается некоторое омоложение популяции и снижение вероятности встретить предельно крупных самцов. Учеты за ряд лет, включая учеты с воздуха (Гордиенко и др., 2006), показали, что среди взрослых медведей Камчатки в природе (то есть среди живых медведей!) заметно преобладают самки (Гордиенко, 2012). Исследовательница тоже связывает эти изменения с трофейной охотой на полуострове, избирательностью отстрела (с. 58). Из материалов, полученных в результате изучения популяций бурого медведя Камчатки, следует, что вследствие отстрела (в значительной мере направленного на получение

ценного трофея) среди выживших повышается доля взрослых самок, менее привлекательных для охотника. Одновременно снижается доля взрослых самцов, среди которых наиболее крупные (обычно наиболее старые) становятся все более редкими. В конечном счете названные изменения полового и возрастного состава оцениваются как измельчание особей в популяции.

В обзорной публикации (Смирнов, 2017, с. 209) выражено опасение, что отстрел наиболее крупных самцов-доминантов “ведет к ухудшению наследственных качеств потомства”. На с. 288 высказано предположение: “измельчание новых поколений зверей свидетельствует, что меняется в худшую сторону генофонд популяции медведей”.

Вот другая группа мнений о фактах измельчания популяций бурого медведя и о том, насколько эти факты связаны с генофондом. “Отстрел крупных самцов, а особенно особей с признаками старения, нельзя считать воздействием, несущим в себе угрозу генофонду популяции медведя” (Филь, 2006, с. 145). “Охота только на очень крупных зверей селективна и при длительном сохранении такой практики, теоретически, может привести к генетическому отбору в сторону измельчания особей в популяции” (Данилов, Тирронен, 2017, с. 13). Ученые, основательно изучающие бурого медведя Камчатки и допускающие селективную роль трофейной охоты, считают преждевременным делать определенные выводы об ухудшении генофонда популяций, “по крайней мере, до получения результатов генетических исследований по данному вопросу” (Валенцев и др., 2006, с. 49).

В целом избирательный отстрел медведей с высокой трофейной ценностью ведет к некоторому омоложению локальных эксплуатируемых популяций, и предположения о возможном (за многие годы трофейной охоты!) снижении средних размеров местных взрослых медведей не лишены оснований. Но на Камчатке трофейная охота не ведется по всей территории обитания бурых медведей, да и в других регионах России тоже есть особо охраняемые природные территории, населенные медведями, где трофейная охота проводится не на всех площадях, открытых для охоты.

Обратимся к селекции и ее генетическим основам. Насколько известно, селекцией бурого медведя специально никто не занимался, поэтому воспользуемся аналогиями из теории селекции и примерами из животноводства. Генотип особи в течение индивидуальной жизни относительно стабилен (Дубинин, Глембоцкий, 1967; Трапезов, 2009; Инге-Вечтомов, 2010). Однако свойства быков как производителей в практике разведения крупного рогатого скота имеют свой возрастной оптимум от 4 до 10 лет (Маркушин, 1983). После этого наступает период постепенно-

го угасания половых функций, но генотип производителя остается прежним. Строго говоря, с возрастом за счет появления геномных мутаций гены половых клеток могут измениться, а это значит, что у стареющих особей такие генетические изменения более вероятны, чем у молодых производителей (Инге-Вечтомов, 2010). В генетике человека известна прямая зависимость частоты вновь возникающих мутаций от возраста родителей (Фогель, Мотульски, 1990; https://elementy.ru/novosti_nauki/433114/Chislo_mutatsiy_u_detey_zavisit_ot_vozrasta_oboih_roditeley, дата обращения 07.03.2021). Однако такого уровня генетические исследования в популяциях бурого медведя пока не осуществлены, точными знаниями в этой сфере наука не располагает. Можно лишь предполагать, по аналогии с селекцией домашних млекопитающих и генетикой человека, что ценность стареющих бурых медведей как носителей части генофонда популяции в лучшую сторону отличаться не может. Как было отмечено выше, репродуктивный вклад стареющих медведей обоего пола заметно снижается. Соответственно, изъятие из популяции наиболее старых самцов и медведей-шатунов вряд ли способно ухудшить генофонд популяции.

В принципе, селекция медведей, направленная на изменение общих размеров и соответствующие ему эволюционные сдвиги в генотипах особей и генофондах популяций, возможна (Беляев, 1981; Шварц, 1981; Трапезов, 2009), но для их выявления необходим налаженный эволюционный мониторинг. Вопрос эволюционной динамики популяций бурого медведя относится к особой теме эволюционной биологии, по которой имеется множество публикаций. Этот вопрос требует отдельного рассмотрения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Жизнь особей бурого медведя подразделяется нами на пять возрастных фаз (табл. 1), которые различаются по доминирующим функциям: это рост, созревание, репродукция, старение, дегенерация. Возрастные фазы характеризуются также различиями в динамике веса тела. В зарубежных публикациях отражена традиция (Kingsley et al., 1988; Swenson et al., 2007; Hilderbrand et al., 2019), в соответствии с которой тренд возрастной динамики веса тела удовлетворительно описывается уравнением биологического роста (von Bertalanffy, 1969), но ограничен четырьмя возрастными фазами из названных выше. Однако реальная динамика веса тела бурого медведя несколько сложнее. В некоторых популяциях медведи доживают до фазы дегенерации, отличие которой — уменьшение веса тела (истощение) и полное устранение из репродукции. Возрастная динамика веса осложнена также ежегодным набором жировых запасов в период гиперфагии и постепенным их

расходованием в период зимнего сна и в первые недели после выхода из берлоги. Кроме того, в части регионов России в годы катастрофически низкого урожая нажировочных кормов появляются шатуны, не сумевшие набрать жировых запасов, необходимых для полноценного зимнего сна. Такие медведи обречены на гибель, динамика их веса соответствует фазе дегенерации. Однако возраст шатунов может быть разным.

Как следует из просмотренных материалов об изменчивости веса, обсуждаемых на фоне возрастной динамики, пресс охоты может иметь своим реальным результатом омоложение возрастного состава эксплуатируемой популяции и в этой связи — измельчание ее весовых показателей. Такие изменения обратимы, при снижении пресса охоты показатели возраста и веса особей в популяции восстанавливаются (Пажетнов, 1990; Данилов, 2017). Режим отстрела или отлова может явиться действенным инструментом управления популяциями бурого медведя (Пучковский, 2017), включая весовой, возрастной и половой состав. Практика трофейной охоты (Валенцев и др., 2006; Филь, 2006) и знание основ селекции животных (Беляев, 1981; Шварц, 1981; Трапезов, 2009; Инге-Вечтомов, 2010) пока не дают достаточных оснований для определенных выводов о реальном значении селективной охоты (по размеру, возрасту и полу) в качестве фактора ухудшения генофонда популяций бурого медведя.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет, что у него нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ахременко А.К., Седалищев В.Т. Экологические особенности бурого медведя (*Ursus arctos* L., 1758) в Якутии // Экология. 2008. № 3. С. 201–205.
- Барышников Г.Ф. Медвежьи (Carnivora, Ursidae). СПб.: Наука, 2007. 541 с.
- Беляев Д.К. Дестабилизирующий отбор как фактор доместикации // Генетика и благосостояние человека / Ред. М.Е. Вартамян. М.: Наука, 1981. С. 53–66.
- Боевский Г.Г., Пузаченко А.Ю., Барышников Г.Ф. К проблеме географической изменчивости бурого медведя (*Ursus arctos* L.) в Якутии // Бюл. Моск. общ. испытат. природы. Отд. биол. 2011. Т. 116. Вып. 1. С. 3–9.
- Бромлей Г.Ф. Медведи юга Дальнего Востока СССР. М.-Л.: Наука, 1965. 120 с.

- Вайсфельд М.А. Северо-Восток Европейской территории России // Медведи: бурый медведь, белый медведь, гималайский медведь. Размещение запасов, экология, использование и охрана / Ред. М.А. Вайсфельд, И.Е. Честин. М.: Наука, 1993. С. 37–50.
- Валенцев А.С., Воробанов В.Ю., Гордиенко В.Н. и др. Мониторинг и система управления популяцией камчатского бурого медведя // Бурый медведь Камчатки: экология, охрана и рациональное использование. Владивосток: Дальнаука, 2006. С. 43–49.
- Верещанин Н.К. Бурый медведь // Крупные хищники и копытные звери. М.: Лесн. пром., 1978. С. 50–69.
- Воронов В.Г. Млекопитающие Курильских островов. Л.: Наука, 1974. 164 с.
- Гептнер В.Г., Наумов Н.П., Юргенсон П.Б. и др. Морские коровы и хищные // Млекопитающие Советского Союза. Т. 2. Ч. 1. М.: Высшая школа, 1967. 1004 с.
- Гильмутдинов Р.Я., Малёв А.В. Содержание медведей в зоопарке – потенциальная опасность для обслуживающего персонала и посетителей // Медведи. Современное состояние видов. Перспектива существования с человеком / Мат. VIII Всерос. конф. спец., изуч. медведей (Торопецкая биологическая станция “Чистый лес”, 17–21 сентября 2011). Великие Луки: 2011. С. 59–72.
- Гилязов А. Медведь Лапландии // Охота охот. хоз. 2011. № 11. С. 8–12.
- Гордиенко Т.А. Бурый медведь полуострова Камчатка: экология, поведение, управление популяцией. Дис. ... канд. биол. наук. Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ, 2012. 225 с.
- Гордиенко В.Н., Гордиенко Т.А., Кириченко В.Е. Обзор работ по авиаучету численности бурого медведя на Камчатке // Бурый медведь Камчатки: экология, охрана и рациональное использование. Владивосток: Дальнаука, 2006. С. 56–64.
- Грант В. Эволюционный процесс: критический обзор эволюционной теории. М.: Мир, 1991. 488 с.
- Гудритис В.Э. О медведях-шатунах в Восточной Сибири // Зоол. журн. 1963. Т. 42. Вып. 6. С. 960–961.
- Давиташвили Л.Ш. Изменчивость организмов в геологическом прошлом. Тбилиси: Мецниереба, 1970. 254 с.
- Данилов П.И. Демография бурого медведя (*Ursus arctos* L.) в СССР // Фауна и экология наземных позвоночных / Ред. Э.В. Ивантер. Петрозаводск: КФ АН СССР, 1988. С. 138–154.
- Данилов П.И. Охотничьи звери Карелии: экология, ресурсы, управление, охрана. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2017. 388 с.
- Данилов П., Тирронен К. Бурый медведь и охота на него в Карелии // Охота охот. хоз. 2017. № 12. С. 12–15.
- Дубинин Н.П., Гембоцкий Я.Л. Генетика популяций и селекция. М.: Наука, 1967. 591 с.
- Завацкий Б.П. К вопросу о продолжительности жизни и сроках наступления половой зрелости бурого медведя // Экология, морфология и охрана медведей в СССР. Тез. докл. / Ред. С.М. Успенский. М., 1981. С. 19–21.
- Завацкий Б.П. Темпы роста бурого медведя в связи с наступлением половой зрелости // Экология медведей. Новосибирск: Наука, 1987. С. 115–119.
- Завацкий Б.П. Материалы по морфологии бурого медведя Средней Сибири // Медведи в СССР: Сборник научных трудов / Ред. Б.П. Завацкий, Ю.Г. Швецов. Новосибирск: Наука, 1991. 264 с.
- Завацкий Б.П. Снежный барс, бурый медведь и волк Саяно-Шушенского заповедника. Шушенское: Саяно-Шушенский биосферный заповедник, 2004. 127 с.
- Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. СПб.: Н-Л, 2010. 720 с.
- Клевезаль Г.А. Принципы и методы определения возраста млекопитающих. М.: КМК, 2007. 283 с.
- Кожечкин В., Смирнов М. Каннибализм у бурых медведей Центральной Сибири // Охота охот. хоз. 2017. № 1. С. 12–18.
- Козловский И.С., Колесников В.В. Трофейная характеристика бурого медведя в различных регионах Евразии // Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства / Мат. Международ. науч.-практ. конф. (Киров, 22–25 мая 2007). Киров: ГНУ ВНИИОЗ, 2007. С. 196–198.
- Кудактин А.Н., Честин И.Е. Кавказ // Медведи: бурый медведь, белый медведь, гималайский медведь. Размещение запасов, экология, использование и охрана / Ред. М.А. Вайсфельд, И.Е. Честин. М.: Наука, 1993. С. 136–169.
- Кучеренко С.П., Баталов А.С. Особенности маньчжурского бурого медведя // Экологические основы охраны и рационального использования хищных млекопитающих / Мат. Всесоюз. совещ. (Москва, 23–27 января 1978). М.: Наука, 1979. С. 225–226.
- Лазарев А.А. Возрастные изменения веса тела и размеров черепа бурого медведя Камчатки // Экологические основы охраны и рационального использования хищных млекопитающих / Мат. Всесоюз. совещ. (Москва, 23–27 января 1978). М.: Наука, 1979. С. 364–365.
- Лайшева О.А. Роль охоты в жизни популяции кавказского бурого медведя // Медведи России и прилегающих стран: состояние популяций, система человек–медведи, эксплуатация, охрана, воспроизводство / Мат. VII Всерос. конф. спец., изуч. медведей (Твер. обл., 21–25 августа 2006). Тверь: Центральный лесной заповедник, 2006. С. 62–65.
- Лоскутов А.В., Павлов М.П., Пучковский С.В. Бурый медведь. Волжско-Камский край // Медведи: бурый медведь, белый медведь, гималайский медведь. Размещение запасов, экология, использование и охрана / Ред. М.А. Вайсфельд, И.Е. Честин. М.: Наука, 1993. С. 91–135.
- Лялин В.Г. Бурый медведь (*Ursus arctos* L.) Томского Приобья // Экология наземных позвоночных Сибири. Томск: ТГУ, 1983. С. 39–46.
- Майр Э. Зоологический вид и эволюция. М.: Мир, 1968. 597 с.
- Майр Э. Принципы зоологической систематики. М.: Мир, 1971. 454 с.

- Маркушин А.Л. Сроки использования сельскохозяйственных животных. М.: Россельхозиздат, 1983. 157 с.
- Медведи: бурый медведь, белый медведь, гималайский медведь. Размещение запасов, экология, использование и охрана / Ред. М.А. Вайсфельд, И.Е. Честин. М.: Наука, 1993. 519 с.
- Мельников В.К., Мельников В.В. Современные проблемы организации охотничьего хозяйства России, охотничьего туризма и анализ правового обеспечения его в зарубежных странах и России. М.: Минсельхоз РФ, 2008. 367 с.
- Мельничкий Н.А. Медведь и охота на него. Петроград: Наша охота, 1915. 223 с.
- Миддендорф А.Ф. Естественная история медведя обыкновенного (*Ursus arctos* L.). СПб.: К. Вингебер, 1851. С. 187–296.
- Николаенко В. Камчатский медведь. М.: Логата, 2003. 120 с.
- Огнёв С.И. Звери Восточной Европы и Северной Азии. Т. 2. М., Л.: ГИЗ, 1931. 776 с.
- Павлов Б.К. Управление популяциями охотничьих животных. М.: Агропромиздат, 1989. 144 с.
- Павлов М.П., Жданов А.П. О миграциях и агрессивном поведении бурых медведей в сибирской тайге // Экология, морфология, охрана и использование медведей / Ред. В.Е. Соколов. М.: Наука, 1972. С. 64–66.
- Пажетнов В.С. Бурый медведь. М.: Агропромиздат, 1990. 215 с.
- Пажетнов В.С. Экологические основы охраны и управления популяциями бурого медведя Центральной части Европейской России: Дис. ... док. биол. наук (в виде научного доклада). М.: ИЭМЭЖ, 1993а. 48 с.
- Пажетнов В.С. Бурый медведь. Центр Европейской территории России // Медведи: бурый медведь, белый медведь, гималайский медведь. Размещение запасов, экология, использование и охрана / Ред. М.А. Вайсфельд, И.Е. Честин. М.: Наука, 1993б. С. 5–51.
- Пажетнов В.С. Гибель бурых медведей (*Ursus arctos*) и результативность охоты на них в Тверской области // Медведи России и прилегающих стран: состояние популяций, система человек–медведи, эксплуатация, охрана, воспроизводство / Мат. VII Всерос. конф. спец., изуч. медведей (Твер. обл., 21–25 августа 2006). Тверь: Центральный лесной заповедник, 2006. С. 83–85.
- Пажетнов В.С. Человек–бурый медведь. Формирование взаимоотношений // Медведи. Современное состояние видов. Перспектива сосуществования с человеком / Мат. VIII Всерос. конф. спец., изуч. медведей (Торопецкая биологическая станция “Чистый лес”, 17–21 сентября 2011). Великие Луки: 2011. С. 213–221.
- Пажетнов В.С., Пажетнов С.В., Пажетнова С.И. Методика выращивания медвежат-сирот для выпуска в дикую природу. Тверь: А. Ушаков и К°, 1999. 48 с.
- Пажетнов В.С., Пажетнов С.В., Пажетнова С.И. Бурый медведь Западного Валдая // Состояние популяций крупных хищных млекопитающих в заповедниках России / Бюл. научно-методического центра по изучению крупных хищных млекопитающих в заповедниках России / Ред. А.С. Желтухин, В.В. Кочетков. М., 2002. Вып. 2. С. 148–161.
- Полежаев Н.М., Нейфельд Н.Д. *Ursus arctos*, бурый медведь // Фауна европейского Северо-Востока России. Млекопитающие. Т. 2. Ч. 2. Китообразные, Хищные, Ластоногие, Парнопалые. СПб.: Наука, 1998. С. 66–79.
- Пучковский С.В. Избыточность живых систем: понятие, определение, формы, адаптивность // Журн. общ. биол. 1999. Т. 60. № 6. С. 642–653.
- Пучковский С.В. К- и г-стратегии выживания: признаки, критерии, мозаичность // Вестн. Удмурт. ун-та Сер. биол. Науки о земле. 2005. № 10. С. 17–40.
- Пучковский С.В. Эволюция биосистем. Факторы микроэволюции и филогенеза в эволюционном пространстве–времени. Ижевск: “Удмуртский университет”, 2013. 443 с.
- Пучковский С.В. Популяции бурого медведя и цели природопользования // Охота охот. хоз. 2017. № 9. С. 14–17.
- Пучковский С., Буткалюк В. Проблемные медведи и потенциальные шатуны Сахалина // Охота охот. хоз. 2020. № 8. С. 6–10.
- Пучковский С.В., Рублёва Е.А., Буйновская М.С. Шатуны бурого медведя в России // Вестн. Удмурт. ун-та. Сер. биол. Науки о Земле. 2019. Т. 29. Вып. 1. С. 124–136.
- Ревенко И.А. Бурый медведь. Камчатка // Медведи: бурый медведь, белый медведь, гималайский медведь. Размещение запасов, экология, использование и охрана / Ред. М.А. Вайсфельд, И.Е. Честин. М.: Наука, 1993. С. 380–402.
- Сабанеев Л.П. Медведь и медвежий промысел на Урале // Природа и охота. 1878. Т. 4. Вып. 12. С. 35–62.
- Серёдкин И.В., Пачковский Д. Питание бурого медведя лососем на реке Кроноцкой в 2003 г. // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей / Мат. V науч. конф. (Петропавловск-Камчатский, 22–24 ноября 2004). Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, 2004. С. 284–287.
- Смирнов М.Н. Бурый медведь в Центральной Сибири (образ жизни, поведенческая экология). Красноярск: Поликом, 2017. 292 с.
- Степаненко В.Н. Влияние охоты на размеры и поведение бурого медведя // Гум. асп. охоты охот. хоз. 2020. № 2 (27). С. 26–39.
- Строганов С.У. Звери Сибири. Хищные. М.: АН СССР, 1962. 458 с.
- Тавровский В.А., Егоров О.В., Кривошеев В.Г. и др. Млекопитающие Якутии. М.: Наука, 1971. 660 с.
- Терновский Д.В., Терновская Ю.Г. Опыт изучения биологии бурого медведя в условиях полувольного содержания // Экология, морфология, охрана и использование медведей / Ред. В.Е. Соколов. М.: Наука, 1972. С. 82–84.
- Трапезов О.В. Дарвинизм и уроки российской практической селекции // Вестн. ВОГиС. 2009. Т. 13. № 2. С. 249–297.

- Туманов И.Л. Бурый медведь на островах Южных Курил. СПб.: ИПК БИОНТ, 2017. 160 с.
- Уатт К. Экология и управление природными ресурсами. М.: Мир, 1971. 463 с.
- Устинов С.К. Прибайкалье // Медведи: бурый медведь, белый медведь, гималайский медведь. Размещение запасов, экология, использование и охрана / Ред. М.А. Вайсфельд, И.Е. Честин. М.: Наука, 1993. С. 275–301.
- Филипченко Ю.А. Изменчивость и методы ее изучения. М.: Наука, 1978. 238 с.
- Филь В.И. К вопросу об экологических предпосылках управления популяцией бурого медведя в Камчатской области // Тр. Камчат. фил. Тихоок. ин-та геогр. ДВО РАН. Вып. 6. Петропавловск-Камчатский: Камчатский печатный двор, 2006. С. 132–147.
- Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека. В 3-х т. Т. 2. Действие генов. Мутации. Популяционная генетика. М.: Мир, 1990. 378 с.
- Формозов А.Н. Звери, птицы и их взаимосвязи со средой обитания. М.: Наука, 1976. 309 с.
- Чернявский Ф.Б., Кречмар М.А. Бурый медведь (*Ursus arctos* L.) на Северо-Востоке Сибири. Магадан: ИБПС СВНЦ ДВО РАН, 2001. 93 с.
- Чернявский Ф.Б., Кречмар М.А. Таксономия и история бурого медведя (*Ursus arctos*) Берингии // Зоол. журн. 2003. Т. 82. № 4. С. 534–541.
- Честин И.Е., Болтунов А.Н., Валенцев А.С. и др. Популяция бурого медведя полуострова Камчатка: состояние, управление и угрозы в 1990-х гг. // Бурый медведь Камчатки: экология, охрана и рациональное использование. Владивосток: Дальнаука, 2006. С. 6–42.
- Шварц С.С. Экологические закономерности эволюции. М.: Наука, 1980. 278 с.
- Ширинский-Шихматов А. По медвежьим следам. М., 1900. 154 с.
- Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции (теория стабилизирующего отбора). М.: Наука, 1968. 451 с.
- Шмальгаузен И.И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М.: Наука, 1982. 383 с.
- Юдин В.Г. Бурый медведь. Сахалин и Курильские острова // Медведи: бурый медведь, белый медведь, гималайский медведь. Размещение запасов, экология, использование и охрана / Ред. М.А. Вайсфельд, И.Е. Честин. М.: Наука, 1993. С. 403–419.
- Яблоков А.В. Изменчивость млекопитающих. М.: Наука, 1966. 363 с.
- Bears – their biology and management / Eds J.J. Claar, P. Schullery. Yellowstone National Park, 1994. 587 p.
- Blanckenhorn W.U. The evolution of body size: what keeps organisms small? // Quart. Rev. Biol. 2000. V. 75. № 4. P. 385–407.
- Bunnell F.I., Tait D.E.N. Mortality rates of north American bears // Arctic. 1985. V. 38. № 4. P. 316–323.
- Colmenares F., Rivero H. Male-male tolerance, mate sharing and social bonds among adult male brown bears living under group conditions in captivity // Acta Zool. Fenn. 1983. № 174. P. 149–151.
- Couturier M.A. L'ours brun (*Ursus arctos* L.). Grenoble: Marcel Couturier, 1954. 905 p.
- Elfström M., Swenson J.E. Effects of sex and age on den site use by Scandinavian brown bears // Ursus. 2009. V. 20 (2). P. 85–93.
- Frank Sh.C., Ordiz A., Gosselin J. et al. Indirect effects of bear hunting: a review from Scandinavia // Ursus. 2017. V. 28 (2). P. 150–164.
- Friebe A., Swenson J.E., Sandegren F. Denning chronology of female brown bears in Central Sweden // Ursus. 2001. V. 12. P. 37–46.
- Glenn L.P. Morphometric characteristics of brown bears on the central Alaska Peninsula // Bears – their biology and management. Washington: Bear Biology Association, 1980. P. 313–319.
- Hallgrímsson B., Maiorana V. Variability and size in mammals and birds // Biol. J. Linn. Soc. 2000. V. 70. Iss. 4. P. 571–595.
- Hell P., Sládek J. Určovanie veku medved'a hnedého (*Ursus arctos* L.) zjednodušenou metódou výbrusu zubov a jrho využitie v pol'ovníckej praxi // Folia venator. 1979. № 9. С. 163–171.
- Hilderbrand G.V., Schwartz C.C., Robbins C.T. et al. Importance of meat, particularly salmon to body size, population productivity, and conservation of North American brown bears // Can. J. Zool. 1999. V. 77 (1). P. 132–138.
- Hilderbrand G.V., Gustine D.D., Mangipane B. et al. Body size and lean mass of brown bears across and within four diverse ecosystems // J. Zool. 2018. V. 305. P. 53–62.
- Hilderbrand G.V., Joly K., Sorum M.S. et al. Brown bear (*Ursus arctos*) body size, condition, and productivity in the Arctic, 1977–2016 // Polar Biol. 2019. V. 42. P. 1125–1130.
- Kingsley M.C.S., Nagi J.A., Reynolds H.V. Growth in length and weight of northern brown bears: differences between sexes and populations // Can. J. Zool. 1988. V. 66. № 4. P. 981–986.
- Kitchener A., Bellemain E., Ding X. et al. Systematics, evolution, and genetics of bears // Bears of the World: ecology, conservation and management / Eds V. Penteriani, M. Melletti. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2020. P. 3–20.
- Krofel M., Jonozovič M., Jerina K. Demography and mortality patterns of removed brown bears in a heavily exploited population // Ursus. 2012. V. 23 (1). P. 91–103.
- Kurtén B. Transberingian relationships of *Ursus arctos* Linné (brown and grizzly bears) // Comment. Biol. 1973. V. 6. P. 3–10.
- López-Alfaro C., Robbins Ch.T., Zedrosser A., Nielsen S.E. Energetics of hibernation and reproductive trade-offs in brown bears // Ecol. Modell. 2013. V. 270. P. 1–10.
- Martinka C.J. Population characteristics of grizzly bears in Glacier National Park, Montana // J. Mammal. 1974. V. 55. № 1. P. 21–29.
- McDonough Th.J., Christ A.M. Geographic variation in size, growth, and sexual dimorphism of Alaska brown bears, *Ursus arctos* // J. Mammal. 2012. V. 93 (3). P. 686–697.
- Mordosov I.I. Brown bear ecology in the Olekma river basin // Int. Bear News. 2005. V. 14. № 2. P. 18–19.

- Rausch R.L.* Geographic variation in size of North American brown bears, *Ursus arctos* L., as indicated by condylobasal length // *Canad. J. Zool.* 1963. V. 41. P. 33–45.
- Sato Y.* *Ursus arctos* Linnaeus, 1758 // *The wild mammals of Japan* / Eds S.D. Ohdashi, Y. Ishibashi, M.A. Iwasa, T. Saitoh. Kyoto: Shoukadon Book Sellers, 2009. P. 232–234.
- Schwartz C.C., Keating K.A., Reynolds III H.V. et al.* Reproductive maturation and senescence in the female brown bear // *Ursus.* 2003. V. 14 (2). P. 109–119.
- Steyaert S.M.J.G., Endrestøl A., Hackländer K. et al.* The mating system of the brown bear *Ursus arctos* // *Mamm. Rev.* 2012. V. 42. № 1. P. 12–34.
- Swenson J.E., Sandegren F., Brunberg S., Segerström P.* Factors associated with loss of brown bear cubs in Sweden // *Ursus.* 2001. V. 12. P. 69–80.
- Swenson J., Adamič M., Hube, D., Stokke S.* Brown bear body mass and growth in northern and southern Europe // *Oecologia.* 2007. V. 153 (1). P. 37–47.
- van Daele L.J., Morgart J.R., Hinkes M.T. et al.* Grizzlies, Eskimos, and biologists: cross-cultural bear management in southwest Alaska // *Ursus.* 2001. V. 12. P. 141–152.
- van Daele L.J., Barnes V.G., Belant J.L.* Ecological flexibility of brown bears on Kodiak island, Alaska // *Ursus.* 2012. V. 23. № 1. P. 21–29.
- van Manen F.T., Ebinger M.R., Haroldson M.A. et al.* Re-evaluation of Yellowstone grizzly bear population dynamics not supported by empirical data: response to Doak and Cutler // *Cons. Lett.* 2014. V. 7 (3). P. 323–331.
- von Bertalanffy L.* General system theory. Foundation, development, applications. N.Y.: G. Brasillier, 1969. 289 p.
- Yellowstone grizzly bears: ecology and conservation of an icon of wildness / Eds P.J. White, K.A. Gunther, F.T. van Manen. Yellowstone National Park: Yellowstone Forever, 2017. 150 p.
- Zedrosser A., Dahle B., Swenson J.E.* Population density and food conditions determine adult female body size in brown bears // *J. Mammal.* 2006. V. 87. P. 510–518.
- Zedrosser A., Bellemain E., Taberlet P., Swenson J.E.* Genetic estimates of annual reproductive success in male brown bears: the effects of body size, age, internal relatedness and population density // *J. Anim. Ecol.* 2007. V. 76. P. 368–375.

Variability of Brown Bear and the Problem of Decreasing of Individual Size

S. V. Puchkovskiy*

Udmurt State University, Izhevsk, Russia

*e-mail: SVPuch@mail.ru

A review of published materials on the body weight of brown bears in the Northern Hemisphere is presented. The territories of Europe, Russia, Japan (Hokkaido island), Canada and the USA are covered. The data reflecting the main forms of intraspecific variability of this trait are grouped: age, seasonal, geographic, individual. Sex differences are taken into account, as well as differences in the weight of bears kept in captivity. The life span of one generation of brown bears is on average close to 10 years. The share of bears aged 20 years or more in the population is small and decreases rapidly over the years, but signs of aging of bears are progressing, and their contribution to the reproduction of the population also decreases. Bears over 30 years old are very rare in natural populations; long-livers, whose age exceeded 40 years, were recorded singly in captivity. The reproductive contribution to the demography of the population of male and female brown bears that have reached the age limit is close to zero. The age trend in the dynamics of body weight corresponds to the rule of biological growth by L. von Bertalanffy and includes four age phases, which are distinguished by the predominant function (growth, maturation, reproduction, aging). The fifth phase is also named – negative growth (degeneration). Negative growth is inherent in rare extremely old individuals and shatun bears. The age-related dynamics of body weight is complemented by an annual increase in weight (accumulation of fat reserves) and their consumption during hibernation. The controversial topic about body reduction in brown bear populations is considered, different points of view are given. A more convincing explanation is that a significant hunting pressure leads to a rejuvenation of the age composition of the population and, as an additional consequence of selective shooting, to a decrease in the size of individuals weight in the population. The dynamics of the weight characteristics of the population, caused by hunting selectivity, is reversible. Shooting bears in the age phase of degeneration (extremely old and shatuns), whose contribution to the reproduction of the population is extremely small (or equal to zero), can hardly significantly worsen the genefond of the population.

Keywords: age phases, body weight, brown bear, decreasing of individual size, selective shooting

УДК 599

ОПЕРЕЖАЮЩЕЕ РАЗМНОЖЕНИЕ КАК ОДИН ИЗ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ ПОПУЛЯЦИОННЫХ ЦИКЛОВ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© 2021 г. В. А. Вехник*

Институт экологии Волжского бассейна РАН, филиал Самарского федерального исследовательского центра РАН, Тольятти, Россия

*e-mail: ivavika@rambler.ru

Поступила в редакцию 02.04.2021 г.

После доработки 30.05.2021 г.

Принята к публикации 30.05.2021 г.

Одним из наиболее дискуссионных вопросов в репродуктивной биологии остается механизм опережающего размножения. Для выяснения общих закономерностей регуляции размножения млекопитающих и положения опережающего размножения в системе механизмов репродуктивной регуляции проанализированы сведения по репродуктивной биологии более 140 видов млекопитающих. Выделены четыре уровня регуляции размножения, идентифицируемых при анализе полевых и лабораторных исследований. Опережающее размножение представляет собой группу регуляционных механизмов разной природы, действующих на популяционном уровне в сообществах с периодически доступными ресурсами, приводящих к синхронизации пиков обилия пищевых ресурсов и начала самостоятельной жизни потомства.

Ключевые слова: млекопитающие, резорбция, опережающее размножение, репродуктивная регуляция

DOI: 10.31857/S0042132421060090

ВВЕДЕНИЕ

В современной экологии зависимость интенсивности размножения от обилия доступных ресурсов не вызывает сомнений (Odum, 1959). Подъем численности животных происходит обычно через определенный временной интервал в ответ на повышение флуктуирующего уровня обилия пищевых ресурсов (Ostfeld, Keesing, 2000). Однако в некоторых случаях этот период может быть элиминирован за счет ряда экологических механизмов (Wauters et al., 2008). Подобный малоизученный принцип популяционной регуляции, дискутируемый в мировом научном сообществе, известен под названием опережающее размножение (anticipatory reproduction). Впервые опережающее размножение как отдельный регуляторный механизм было описано в журнале "Science" (Boutin et al., 2006). Механизм заключается в том, что животные рожают оптимальное число потомков до фактического созревания урожая основных кормов, обеспечивая высокую выживаемость потомства в период максимального обилия пищи. Это явление было открыто в разных географических регионах у ряда видов млекопитающих: обыкновенной белки *Sciurus vulgaris* (Boutin et al., 2006), американской белки *Tamiasciurus hudsonicus* (Boutin et al., 2006), белоногого хомячка *Peromyscus leucopus* (Marcello et al., 2008),

восточного бурундука *Tamias striatus* (Bergeron et al., 2011). В то же время ряд авторов оспаривают существование опережающего размножения как особого механизма (King, 2013). Так, существует убедительное доказательство (White, 2013), что размножение невозможно без достаточного количества пищи. При этом подчеркивается, что все исследования опережающего размножения основаны на косвенных наблюдениях или математических моделях и не содержат экспериментальных исследований – при целенаправленном исследовании у обыкновенной белки в западной Финляндии опережающее размножение не было обнаружено (Selonen et al., 2015). Возражение (Boutin et al., 2013) заключается в том, что самки принимают "решение" о размножении в зависимости от остаточной репродуктивной ценности, полагаясь на триггеры из окружающей среды.

Таким образом, реальность существования явления опережающего размножения служит предметом дискуссий. Однако накопленный ряд наблюдений по нескольким видам не позволяет игнорировать существование подобного феномена. Целью данной работы стало разрешение вопроса о сущности и механизмах опережающего размножения.

Регуляция размножения млекопитающих в целом является несопоставимо менее изученной

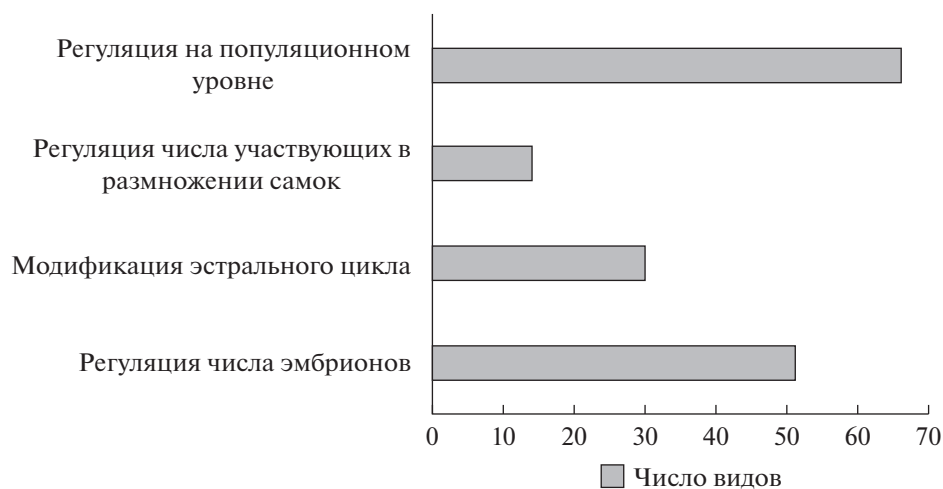


Рис. 1. Число рассмотренных в обзоре видов млекопитающих ($n = 142$) с изученными механизмами репродуктивной регуляции на разных уровнях.

проблемой, чем регуляция численности. При рассмотрении разных аспектов репродуктивной регуляции складывается противоречивая картина. Для систематизации данных по репродуктивной биологии видов, выявления общих закономерностей регуляции размножения и определения положения опережающего размножения среди других механизмов были рассмотрены примеры факторов, влияющих на интенсивность репродукции млекопитающих. Проанализированы сведения по репродуктивной биологии более 140 видов млекопитающих. Выделено четыре уровня регуляции размножения. В обзоре приведены отдельные примеры видов, у которых прослежены результаты воздействий на каждом уровне (рис. 1). Это позволяет соотнести характерные черты опережающего размножения с изученными ранее закономерностями регуляции размножения млекопитающих. Аспекты гормональных механизмов репродуктивной регуляции не рассматриваются, так как они могут действовать на разных уровнях, и, возможно, представленная система будет выглядеть совсем иначе.

УРОВНИ РЕГУЛЯЦИИ РАЗМНОЖЕНИЯ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

1. Регуляция числа эмбрионов влияет на число потомков в конкретном выводке самки, участвующей в размножении. Определяющими здесь служат воздействия локальных детерминант окружающей среды в период вынашивания детенышей. На самок, условно принадлежащих к одной популяции, на этом уровне могут воздействовать абсолютно разные факторы. Число потомков каждой особи в этом случае — лишь следствие совокупности воздействий локальных факторов на

конкретную самку в период вынашивания детенышей.

Наиболее распространенным механизмом регуляции числа детенышей является резорбция — рассасывание части эмбрионов в неблагоприятных условиях. Она отмечалась у подавляющего числа изученных видов млекопитающих, включая представителей отрядов Chiroptera (Bouchard et al., 2001), Rodentia (Ивантер, 1975; Лобков, 1999; Bruce, 1966; Owusu et al., 2010), Carnivora (Туманов, 2003), Artiodactyla (Слудский, 1956) и др. У верблюдовых Camelidae эмбриональная смертность часто связана с невозможностью правого рога матки к поддержанию беременности, а также с механизмами, препятствующими многоплодной беременности (Vaughan, Tibary, 2006).

Нарушения в развитии эмбрионов могут быть связаны с нарушениями в питании (Ashworth et al., 1999). Повышение содержания белка в рационе в период созревания ооцитов или во время оплодотворения снижает итоговое количество эмбрионов либо нарушает развитие некоторых из них. В то же время рост оставшихся эмбрионов ускоряется. Это было прослежено в лабораторных условиях на примере мышей *Mus musculus* (Lane, Gardner, 1994), коров *Bos taurus* (Elrod, Butler, 1993), овец *Ovis aries* (Parr et al., 1987). Непосредственное влияние на развитие оказывают яды, содержащиеся в растениях (McEvoy et al., 2001).

Рацион питания оказывает влияние на соотношение полов потомства. Хотя грызуны, как и большинство млекопитающих, склонны рожать одинаковое число самок и самок, в условиях недостатка пищи снижается число выводков с преобладанием самок. Это наблюдалось у домашней мыши *Mus musculus* (Krackow et al., 2003), золотистых хомячков *Mesocricetus auratus* (Labov et al.,

1986). Однако в других работах (Rosenfeld et al., 2003) отмечено, что у лабораторных мышей при диете с низким содержанием насыщенных жиров число самок в выводках возрастает. В целом факторами, влияющими на соотношение полов, были признаны: питание, физическое состояние, сезон, возраст начала размножения, размер выводка, вес выводка и возраст самки на настоящий момент (Rosenfeld, Roberts, 2004).

Регуляции числа потомков служат и паузы в ходе размножения, приводящие к снижению числа детенышей в определенный период времени, выявленные у более ста видов млекопитающих (Mead, 1993). Из 27 отрядов млекопитающих 9 способны к репродуктивным задержкам, включая *Diptrotodontia*, *Dasyuromorphia*, *Eulipotyphla*, *Cingulata*, *Carnivora*, *Rodentia*, *Chiroptera*, *Lagomorpha* и *Cetartiodactyla* (Orr, Zuk, 2014). Паузы в размножении происходят между спариванием и оплодотворением, оплодотворением и имплантацией эмбриона, а также в ходе развития эмбриона (Терновский, Терновская, 1994).

К первому уровню регуляции можно отнести проявления различных материнских эффектов — эпигенетических влияний родительских фенотипов на потомство. В работе (Vadyaev, 2008) приводятся четыре пути модификации развития эмбриона: прямое влияние на фенотип потомства, обеспечение дивергенции фенотипов потомства, модификация изменчивости генотипов потомства и влияние на скорость роста. Резорбцию эмбрионов можно считать одним из наиболее ярких проявлений материнских эффектов.

Широко распространена концепция влияния эмбрионального развития на здоровье и жизнедеятельность — DOHaD concept (the developmental origins of health and disease), которая выявляет влияние изменений в родительском организме на созревание гамет, раннее эмбриональное развитие, рост эмбриона и здоровье потомства. Согласно этой концепции, изменения в материнском организме в период беременности могут затрагивать несколько поколений за счет влияния на созревание гамет эмбриона, создавая программирующие эффекты (Barker et al., 1989; Fernández et al., 2014). Доказана зависимость между развитием эмбриона и здоровьем взрослых особей, при которых причины заболеваний взрослых следует искать во внутриутробном периоде или даже в течение гаметогенеза (Peters, Herbstman, 2011).

2. Модификация эстрального цикла — следующий уровень регуляции размножения. Структура эстрального, или менструального, цикла млекопитающих определяет периоды, когда самки способны принимать участие в размножении в зависимости от физиологического состояния и факторов внешней среды. Этот уровень объединяет воздействия, определяющие потенциальное число

выводков, которое может дать конкретная самка за определенный период времени при благоприятных внешних условиях.

Широко распространен триггерный эффект присутствия самца на стимуляцию эструса, доказанный для ряда видов грызунов: серой крысы *Rattus norvegicus* (Hughes, 1964), курганчиковой мыши *Mus spicilegus* (Féron, Gheusi, 2003), морских свинок *Cavia aperea* и *Galea musteloides* (Touma et al., 2001). Напротив, предъявление незнакомого самца и даже его запах могут служить стимулами к подавлению эструса, что было показано на примере лабораторных мышей (Parkes, Bruce, 1962); также могут оказывать синхронизирующий эффект на эструс самок, например, оленевого хомячка *Peromyscus maniculatus* (Bronson, Marsden, 1964). У только что спарившихся самок грызунов предъявление незнакомого самца может вызвать прерывание беременности и переход в состояние эструса — Брюс-эффект (Bruce, 1959; Eccard et al., 2017).

Социальные взаимодействия могут влиять на возраст начала репродуктивной активности самок млекопитающих. Это так называемый эффект барана, ускоряющий наступление эструса молодых животных и стимулирующий в разной степени синхронизацию эструса у домашних животных: овец (Knight, Lynch, 1980), коз *Capra hircus* (Shelton, 1960) и коров (Izard, Vandenberg, 1982). Напротив, запах самок может ингибировать наступление эструса грызунов (Bruce, 1966; Féron, Gheusi, 2003).

У ряда видов происходит послеродовой эструс, максимизирующий репродуктивный выход в течение ограниченного периода (Gilbert, 1984). При этом спаривание происходит вскоре после рождения потомства, и у самок одновременно протекают беременность и лактация (Norris, Adams, 1981; Fortun-Lamothe, Prunier, 1999; Franceschini-Zink, Millesi, 2008).

У социальных видов структура эстрального цикла самок и способность к рождению потомства могут находиться под влиянием иерархического положения особей. Например, у гиеновидной собаки *Lycaon pictus* доминирующая самка способна подавлять размножение субординантных особей, у которых сохраняется фертильность. Из-за невозможности размножения у них наблюдается ложная беременность, стимулирующая заботу о детенышах доминантной самки (Creel et al., 1997). У подземных социальных грызунов дамарского пескороя *Cryptomys damarensis* (Bennett et al., 2009) и голого землекопа *Heterocephalus glaber* (Dengler-Crigh, Catania, 2009) подавляется овуляция подчиненных особей. У землекопа *Cryptomys darling* появление самца из неродственной колонии может вызвать протекание эстрального цикла у ра-

бочих самок в случае гибели королевы колонии (Herbst, Bennett, 2001).

Значительное влияние на структуру эстрального цикла млекопитающих может оказывать питание. Недостаток питательных веществ задерживает наступление эструса и повышает долю неактивных самок, что было показано на примере диких животных, в частности белоногого хомячка (Merson, Kirkpatrick, 1981), и домашних животных (Monje et al., 1983).

3. Регуляция числа участвующих в размножении самок определяет число особей, которые способны принести потомство в течение будущего репродуктивного сезона. Участие в размножении зависит как от внешних условий, так и от физического состояния конкретной особи (Евсиков, Мошкин, 1994).

Широко известно влияние массы тела самок на участие в размножении. Этот эффект подробно изучен у грызунов (Огнев, 1940; Лобков, 1999; Lee, 2001). У верблюжьих для наступления половозрелости необходимо достижение определенных показателей массы тела (Sumar, 1996; Brown, 2000).

В наиболее полной мере обобщает регуляцию размножения на этом уровне теория жизненных циклов (Williams, 1966; Stearns, 1992). Согласно этой теории, выживаемость живых организмов, количество потомков и участие в размножении разных возрастных групп не являются генетически детерминированными, а изменяются в зависимости от условий окружающей среды (Dobson, Oli, 2008). Эта теория объясняет вариации размеров живых организмов при рождении и ряд параметров жизненных циклов: скорость роста, возраст полового созревания, количество детенышей и родительский вклад, выживаемость и продолжительность жизни (Zera, Harshmann, 2001). Энергетические затраты самок на размножение, или репродуктивные платы, — один из решающих факторов для участия в размножении.

Обычно репродуктивные платы сравнительно невелики у самцов, но у самок очень высоки (Бабицкий, 2008; Laundre, Hernández, 2003). Более молодым самкам млекопитающих свойственны меньшие затраты на размножение из-за необходимости поддерживать рост (Pilastro et al., 1996; Descamps et al., 2007).

У многих видов выявлены отрицательные взаимосвязи между показателями плодовитости и продолжительности жизни, хотя они и основаны на ряде совершенно разных физиологических механизмов (Вехник, 2017; Partridge et al., 2005; Ruf et al., 2006; Robinson et al., 2012).

Исследования разных видов выявили, что у зимоспящих млекопитающих большое значение для результативности репродукции имеет периодизация размножения каждой особи. Для зимо-

спящих грызунов показано (Millesi et al., 1999; Franceschini-Zink, Millesi, 2008; Vasilieva, Tchabovsky, 2014), что в течение активного сезона начавшие размножение раньше особи достигают большего репродуктивного успеха.

4. Регуляция репродуктивного цикла популяции определяет периодичность и интенсивность размножения конкретной географической популяции. Она охватывает большинство особей в популяции, физиологические параметры которых допускают участие в размножении; в ряде случаев может обеспечивать оптимальный прирост населения с учетом будущих внешних условий. Конечно, выделение границ популяций здесь является условным — сравнение литературных данных показывает, что границы анализируемых популяций очерчены районами исследований разных авторов.

У ряда видов действуют хорошо изученные эндогенные механизмы зависимости репродуктивной активности от продолжительности светового дня (Frylestam, 1980; Bronson, Heideman, 1994; Bradshaw, Holzapfel, 2007). Для экваториальных широт была предложена теоретическая модель, объясняющая взаимосвязь между географической широтой, продолжительностью жизни и репродуктивной фоточувствительностью (Bronson, 1989). Независимо от широты местности, чувствительность к фотопериоду практически исчезает у многих пустынных и саванных видов грызунов из-за нестабильной периодичности осадков и соответствующей доступности свежей растительной пищи, например у африканской песчанки *Meriones shawi* (El-Bakry et al., 1999) и золотистой иглистой мыши *Acomys russatus* (Shanas, Haim, 2004).

Зависимость размножения от количества осадков в районе обитания была обнаружена у грызунов — сумеречной крысы *Rattus colletti* (Madsen et al., 2006) и многососковой крысы *Mastomys huberti* (Granjon et al., 2005); у зайцеобразных — дикого кролика *Oryctolagus cuniculus* (Parer, 1977); оленей (Goss, 1983); обезьян (Wallis, 1995).

Существует несколько примеров влияния долговременных климатических изменений на периодизацию размножения млекопитающих. Так, у голубого гну *Connochaetes taurinus* из-за изменчивости количества осадков и связанных с этим колебаний кормовой базы значительная часть молодняка погибает от голода (Mduma et al., 1999). Потепление климата в Гренландии уменьшило пространственную доступность корма для мигрирующих карибу *Rangifer tarandus* (Post, Forchhammer, 2008). Миграции обычно сопряжены со способностью карибу следовать за зоной появления растительности, обеспечивающей лактирующих самок необходимыми питательными веществами. Однако вследствие потепления климата перио-

дичность появления корма меняется, и самки не успевают к ней приспособиться, поэтому репродуктивный успех карibu уменьшается. У желтобрюхого сурка *Marmota flaviventris* в Скалистых горах выход из спячки почти за 30 лет начал происходить на 38 дней раньше, однако снег в это время еще слишком глубокий для достаточного питания, поэтому размножение тормозится (Inouye et al., 2000).

Сезонность в размножении — один из самых ярких и наиболее обычных механизмов связи интенсивности размножения и доступности ресурсов (Carey, 2014). В Северном полушарии продолжительность дня определяет начало сезона размножения у большинства видов куньих (Терновский, Терновская, 1994) и медвежьих (Spady et al., 2007). Большая часть диких псовых Canidae размножаются строго сезонно в зависимости от географической широты (Asa, Valdespino, 1998). Так, псовые, живущие в Северной Америке, становятся репродуктивно активными, когда начинает возрастать длина дня, однако в Южной Америке период размножения у ряда видов начинается, когда продолжительность дня убывает (Carey, 2014). У кошачьих сезонность размножения наблюдается в умеренных широтах и отсутствует в тропиках или на экваторе (Найденко, 2019).

Однако и у близкородственных видов существуют значительные вариации репродуктивных стратегий даже внутри семейств. Так, в семействе куньих есть как несезонные полиэстральные виды, так и размножающиеся сезонно полиэстральные виды (Рожнов, 2011; Bateman et al., 2009).

Для множества видов достоверно продемонстрировано снижение темпов размножения при повышенной плотности населения. Подобные механизмы хорошо изучены (Шилов, 1977; Роговин, Мошкин, 2007; Chitty, 1960). Выявлен ряд плотностнозависимых материнских эффектов на разных стадиях популяционной динамики (Назарова, 2008). В целом, плотностнозависимые механизмы являются настолько широко распространенной парадигмой, что исследователи зачастую видят связь с плотностью там, где на самом деле действуют другие механизмы. Вопрос о том, действительно ли на динамику численности влияет непосредственно текущая плотность населения, а не внешние факторы, преимущественно обилие ресурсов, остается спорным (Fryxell et al., 1998; White, 2007).

Широко распространенное явление — зависимость размножения от урожая доступных кормов (Pucek et al., 1993; Elias et al., 2004). Так, показано (Turchin, Hanski, 1997) отсутствие циклов у полевых в южных широтах. В низких широтах продуцируется наивысшая вегетативная биомасса, и резких изменений кормовой базы не происходит.

Продолжительность вегетативного сезона уменьшается с увеличением широты и долготы, и в северных широтах периоды роста численности происходят после накопления нужного количества питательных веществ (Lane, Henttonen, 1983; White, 2011). Отмечено, что в Лапландии правильные многолетние циклы грызунов превратились практически в сезонные изменения численности в середине 1980-х гг. (Henttonen, 2018). Аналогичное изменение правильных циклов наблюдали на территории Великобритании за 20-летний период (Bierman et al., 2006). Кроме того, растения тундры влияют на популяционные циклы полевых выделением ядовитых веществ. Отдельные фенольные составляющие действуют как ингибиторы размножения (Berg, 2003).

ОПЕРЕЖАЮЩЕЕ РАЗМНОЖЕНИЕ

Регуляция по принципу опережающего размножения также прослеживается на уровне популяций. Это явление отмечается в сообществах с циклически повторяющимися периодами доступности пищи — пульсирующих сообществах (термин Ostfeld, Keesing, 2000) — при сопоставлении периодов появления потомства и максимального обилия пищи. Необходимое условие реализации механизма опережающего размножения — зависимость выживаемости особей от обилия основных кормов на протяжении короткого периода. При этом прослеживается корреляция рождаемости не с текущим или предшествующим, а с будущим урожаем кормов. В пользу реальности опережающего размножения говорит тот факт, что лабораторными исследованиями доказано, что грызуны во время лактации тратят больше энергии, чем во время беременности (Leshner et al., 1972).

Как отдельный регуляторный механизм, по известным нам данным, опережающее размножение авторы представляют всего у пяти видов. Впервые опережающее размножение было описано на примере красной белки в Канаде и обыкновенной белки в Бельгии и Италии. Выявлена зависимость между интенсивностью размножения видов и размером будущего урожая белой ели *Picea glauca*, сосен обыкновенной *Pinus sylvestris* и черной *Pinus nigra*, каштана *Castanea sativa*, дуба *Quercus* spp., бука *Fagus sylvatica*, граба *Carpinus betulus* и лещины *Corylus avellana* (Boutin et al., 2006). Корреляции данных параметров с урожаем предыдущих лет не выявлено. При этом предполагается наличие триггера в окружающей среде, на основе которого грызуны “предсказывают” будущий урожай кормов, определяющий выживаемость потомства. Возможным триггерным фактором авторы (Boutin et al., 2006) считают обилие молодых генеративных побегов деревьев.

Размножение восточного бурундука *Tamias striatus* происходит за несколько месяцев до созревания американского бука *Fagus grandifolia* (Bergeron et al., 2011). При этом наблюдается корреляция между урожайностью бука и числом детенышей на одну самку. Однако авторы не приводят гипотезы о каком-либо триггерном факторе, указывая лишь, что “предсказывание” происходит благодаря тому, что период спаривания бурундуков по времени предшествует периоду появления обильного урожая.

Выявлено (Marcello et al., 2008), что размножение белого хомячка определяется численностью периодических цикад *Magicicada* sp. Перед появлением цикад наблюдалось трехкратное увеличение численности грызунов за счет интенсивного размножения, при этом продолжительность периода беременности не позволяет им начинать размножение за счет питания насекомыми. Таким образом, хомячки способны “предсказывать” появление цикад и повышать темпы размножения задолго до пика их численности. Возможным триггером служит обилие личинок, спускающихся с деревьев на поверхность земли примерно за месяц до начала массового лета.

В исследовании обыкновенной белки в Альпах проверяли гипотезы как опережающего размножения, так и зависимости интенсивности размножения от текущего обилия кормов. Была выявлена корреляция годового прироста в течение летне–осеннего сезона размножения с будущим осенним урожаем. При этом в течение весеннего пика размножения рождаемость определялась преимущественно урожаем предыдущего года, однако вклад ее в общий прирост популяции был гораздо ниже (Wauters et al., 2008).

Известный пример опережающего размножения – соня-полчок *Glis glis*. Гон этих зимоспящих грызунов начинается за два–три месяца до начала обильного плодоношения основных кормов – семян деревьев. В разных частях ареала регуляция размножения вида реализуется на основе двух совершенно различных принципов. В оптимуме ареала, Центральной и Западной Европе, размножение полчка связано с наличием или отсутствием буковых орешков или желудей в широколиственных лесах – основном биотопе вида. Самцы в начале лета питаются цветками и бутонами бука, употребление которых в пищу стимулирует сперматогенез. В годы неурожая бука самцы остаются репродуктивно неактивными, так как гонады не функционируют на протяжении всего активного сезона. Спариваний не происходит, и беременность самок не наступает. Таким образом, потомство появляется только в годы обильного плодоношения бука 2–3 раза в жизни (Bieber, 1998; Fietz et al., 2005; Ruf et al., 2006). Однако вопрос о том, выполняют ли цветы и бутоны бука

триггерную функцию либо служат источником высокоэнергетических кормов, остается не решенным окончательно. Даже экспериментальные исследования дали противоположные результаты (Fietz et al., 2009; Lebl et al., 2010; Borowski et al., 2018).

В периферической популяции полчка на Жигулевской возвышенности (Среднее Поволжье) выявлена зависимость размножения вида от обилия незрелых семян дуба *Quercus robur* (Vekhnik, 2019). Механизм репродуктивной регуляции по перекрыванию временных рамок репродуктивного периода и созревания кормов сходен с другими примерами опережающего размножения. Регуляция размножения основана на массовой резорбции эмбрионов беременных самок в неурожайные годы. Ежегодно самцы репродуктивно активны и у подавляющего большинства самок наблюдается беременность. В годы низкой урожайности дуба происходит массовая резорбция эмбрионов. Таким образом, массовое размножение происходит один раз в 2–3 года. Основным фактором, влияющим на успешность вынашивания потомства, является количество незрелых желудей в питании беременных самок. В урожайные годы потомство появляется примерно за месяц до созревания желудей. В данном случае прослеживается не “предсказывание” будущего обилия ресурсов, а облигатная зависимость рождаемости от веществ, содержащихся в незрелых желудях и орехах.

Были проведены сравнительные исследования механизма опережающего размножения полчка с массовым полиэстральным видом – желтогорлой мышью *Apodemus flavicollis*. Выявлен очень сходный с опережающим размножением механизм регуляции размножения в той же местности (Vekhnik et al., 2019). Регуляция размножения вида основана на репродуктивной активности самцов при постоянном уровне активности самок. В урожайные годы пик активности самцов приходится на самое начало созревания желудей и затем постепенно спадает. К моменту опадения желудей готовые к спариванию самцы почти не встречаются. Благодаря протеканию беременности самок в период роста обилия кормов задержка между рождением сеголеток и плодоношением дуба отсутствует. В период опадения желудей – максимальной доступности основного корма – многие детеныши уже становятся самостоятельными. Механизм регуляции размножения мыши в этом случае заключается не в “предсказании” будущего урожая посредством экологических триггеров, но, как и в случае полчка, определяется зависимостью плодовитости от текущего обилия незрелых семян. Возможной причиной такой синхронизации является состав рациона, в частности, содержание липидов и жирных кислот в основных кормах. В период созревания желудей в их составе значительно увеличивается доля триацил-

глицеринов – основных составляющих жировых отложений у животных, что повышает выживаемость потомства. Кроме того, уменьшение содержания стерина в желудях в ходе созревания может способствовать снижению репродуктивной активности самцов желтогорлой мыши в августе, несмотря на обилие пищи, поскольку растительные стеринны структурно связаны со стероидными гормонами животных.

Выявленный механизм регуляции размножения желтогорлой мыши во время осеннего пика размножения сходен с аналогичным способом репродуктивной регуляции сонь в центральном европейском секторе ареала. Однако у полчка в оптимуме ареала механизм регуляции размножения гораздо более синхронный и растянутый по времени: полчок при размножении полагается на обилие цветков и бутонов бука, в то время как начало размножения мышей приходится на начало роста желудей через полтора месяца после цветения. На периферии ареала у полчка механизм регуляции размножения как бы урезан из-за того, что цветение дуба происходит задолго до массового пробуждения сонь, вследствие чего возник такой феномен, как массовая резорбция.

Таким образом, при всех трех значительно отличающихся механизмах репродуктивной регуляции дендрофильных грызунов отсутствует задержка между появлением потомства и периодом максимального обилия кормов, а также четко прослеживается зависимость рождаемости от будущего обилия кормов в биотопах, что служит признаками опережающего размножения. Здесь прослеживается не действие какого-либо триггерного фактора, а зависимость интенсивности размножения от обилия незрелых кормов. Причем даже в случае полчка в оптимуме ареала цветы и бутоны бука, как показало одно из экспериментальных исследований, служат не триггерным фактором, а источником высокоэнергетического корма (Fietz et al., 2005).

Таким образом, опережающее размножение представляется не адаптацией конкретных популяций какого-либо вида к условиям окружающей среды, а широко распространенной синхронизацией репродуктивного цикла млекопитающих с периодичностью появления пищевых ресурсов в экосистемах. Единого механизма этой синхронизации не существует, но итогом и определяющим признаком опережающего размножения всегда будет начало самостоятельной жизни потомства в период максимального обилия пищи, что приводит к повышению выживаемости потомства. Эти выводы не совпадают как с позицией (White, 2013), отказывающей опережающему размножению в существовании как самостоятельному явлению, так и с мнением (Boutin et al., 2013), что опережающее размножение происходит в ответ

на действие триггера из окружающей среды за счет использования дополнительных резервов самками. При этом можно обозначить четкие критерии опережающего размножения, выделяющие его среди других механизмов регуляции размножения: появление потомства задолго до пика обилия ресурсов и корреляция рождаемости с будущей урожайностью основных кормов. В случае длительных периодов дефицита основного корма в экосистеме явно прослеживается адаптивное значение подобной синхронизации.

В рассмотренных примерах опережающего размножения видна определяющая роль кормовой базы в репродуктивной регуляции млекопитающих. Значение обилия ресурсов в регуляции численности популяций было рассмотрено в обзорной работе (White, 2007), доказывающей решающую роль пищевого фактора в популяционной динамике млекопитающих. В случае опережающего размножения детеныши растут в период обильного урожая, и достигается максимальная выживаемость потомства, которую автор считает “ахиллесовой пятой” в существовании популяций (White, 2008). Выживаемость потомства в случае опережающего размножения оказывается ключевым фактором, определяющим “репродуктивные решения”.

Так, у полчка в Центральной Европе зависимость участия в размножении от возраста самок прослеживается только при средних кормовых условиях. В годы неурожая основных кормов размножение практически отсутствует, а в годы обильного плодоношения бука размножаются самки всех возрастных групп, независимо от их остаточной репродуктивной ценности (Lebl et al., 2011). Наши исследования показали, что в урожайные годы участие в размножении принимали даже годовалые самки, хотя обычно их вклад в воспроизводство очень низок (Vekhnik, 2019). Видимые репродуктивные платы в урожайные годы отсутствуют как у полчка (Fietz et al., 2005), так и у обыкновенных и красных белок (Boutin et al., 2006). Таким образом, принцип опережающего размножения можно проследить только на популяционном уровне при сопоставлении репродуктивного цикла и динамики обилия ресурсов для конкретной популяции, репродуктивные ограничения при анализе участия каждой особи в размножении могут не прослеживаться.

В исследовании (Bergeron et al., 2011) выживаемость взрослых особей восточного бурундука не зависела от урожайности бука. При этом выживаемость сеголеток была снижена в неурожайные годы, но их активность была сравнительно высокой и не зависела от урожая бука. У красной белки выявлена сходная зависимость выживаемости детенышей в зимний период от урожая ели (Williams et al., 2014).

У полчка механизм опережающего размножения приводит к парадоксальной ситуации. В годы размножения выживаемость всегда ниже, чем в нерепродуктивные годы, и у самок выживаемость обычно выше, чем у самцов. Это отражается на значительных изменениях продолжительности жизни, выявленных в наших исследованиях и работах других авторов (Вехник, 2017; Ruf et al., 2006; Lebl et al., 2011).

Показано, что при синхронизации по типу опережающего размножения наблюдаются и другие репродуктивные преимущества. Так, у красной белки, размножение которой зависит от плодоношения белой ели, рождение детенышей происходит за несколько месяцев до появления урожая шишек, и к моменту обильного плодоношения размножение полностью прекращается. В урожайные годы число детенышей более, чем в два раза, выше, а доля участвующих в размножении сеголеток затем в три раза выше. Самки, затратившие больше репродуктивных усилий в урожайные годы, имели в целом больший репродуктивный успех на протяжении жизни, а также большая доля их потомков участвовала в размножении. При этом не происходит роста репродуктивных плат размножающихся самок (Hämäläinen et al., 2017).

В ряде работ описаны механизмы популяционной регуляции, по периодизации размножения животных и пиков обилия их пищевых ресурсов сходных с опережающим размножением, авторы которых не упоминают принцип опережающего размножения. Эти механизмы могут быть основаны на абсолютно разных закономерностях, однако результатом их является синхронизация роста потомства и пика обилия пищевых ресурсов.

В исследовании обыкновенной белки в Альпах (Wauters et al., 2008) проверено наличие корреляции интенсивности размножения вида как с урожаем предыдущего года, так и с урожаем текущего года. Выявлена корреляция годового прироста в течение летне-осеннего сезона размножения с будущим осенним урожаем. При этом в течение весеннего пика размножения рождаемость определялась преимущественно урожаем предыдущего года, однако вклад ее в общий прирост популяции был гораздо ниже. Авторы не классифицируют полученные результаты как опережающее размножение, а считают рост популяции в соответствии с обилием ресурсов без задержки популяционного ответа стабильной ситуацией, когда ресурсы в экосистемах производятся в течение коротких периодов максимального обилия и ведут к повышению выживаемости молодняка.

Так, у белоногого хомячка выявлена сходная зависимость размножения от обилия семян сахарного клена *Acer saccharum* (Falls et al., 2007). Потомство появляется в мае, а основной период

плодоношения приходится на сентябрь. Наибольшая доля молодых особей предшествует годам пика численности и обилия семян. При этом существует сдвиг урожайности в один год в ответ на погодные условия. Летняя температура в период формирования примордиев листьев служит предиктором урожайности на следующий год и, соответственно, успешного размножения хомячков. В результате доля молодых особей в непиковые годы выше, чем в годы максимальной численности. Авторы триггерным фактором начала размножения считают температуру воздуха, однако колебания интенсивности размножения она определять не может. Возможно, на рождаемость в этом случае оказывает влияние обилие вегетативных частей растений, служащих источником пищи.

У оленьего хомячка *Peromyscus maniculatus* на территории Канады обнаружена синхронизация размножения с суммарным плодоношением псевдотсуги Мензиса *Pseudotsuga menziesii* и западной тсуги *Tsuga heterophylla* (Gashwiler, 1979). Пик плодовитости самок наблюдался в июне-июле, за 2–3 мес. до созревания семян деревьев. У самцов схема репродуктивной активности слегка опережала сроки репродуктивного периода самок. Максимум репродуктивной активности наблюдался в мае, затем постепенно падал в июне-августе и резко прекращался в сентябре. Затем общий подъем численности происходил на следующий год. Механизм синхронизации размножения с обилием ресурсов не был объектом исследования, однако можно заключить, что в этом случае регуляция размножения происходила преимущественно за счет фертильности самок, так как их плодовитость значительно изменялась в зависимости от будущей урожайности, у самцов не обнаружено достоверных отличий в доле репродуктивно активных особей по годам.

У зайца-русака *Lepus europaeus* в Австралии наблюдаются сходные закономерности. Период обилия растительности наблюдается в сентябре-декабре, а период максимальной численности беременных самок приходится на июль, в сентябре начинается пик обилия уже лактирующих самок (Stott, Harris, 2006). При этом авторы не ставят своей задачей найти какой-либо триггерный фактор, а приводят выявленные закономерности как стабильную ситуацию.

Очень сходный с опережающим размножением регуляторный механизм обнаружен у домового мыши *Mus musculus* в Австралии (Vomford, 1987). Когда становятся доступными семена молочной спелости, мыши переключаются на питание ими и начинают размножение месяц спустя. К моменту созревания семян размножение достигает своего пика и затем начинает убывать. При этом размножение протекает асинхронно в разных биото-

пах, что подтверждает его зависимость от обилия доступной пищи. Данное исследование послужило естественным экспериментом, поскольку включало исследования на нескольких полях, обрабатываемых в разное время, что позволяло выявить зависимость репродукции от воздействия биотических либо абиотических факторов.

Роль цветов бамбука в размножении грызунов, преимущественно серой крысы, показана на территории Индии. Цветение бамбука, которое начинается в январе (при этом семена появляются в мае—июне), служит триггером для массового размножения грызунов, которые наносят огромный ущерб урожаю. Для сокращения периода размножения грызунов рекомендуется даже вырубка и сжигание бамбука в период цветения (Chakma et al., 2018).

У хищников также обнаружены сходные механизмы регуляции. Так, обыкновенная лисица *Vulpes vulpes* в лесах Швеции увеличивает репродуктивные усилия в зависимости от будущей численности добычи (Lindström, 1988). Механизмом реализации опережающего размножения в этом случае служат изменения уровня овуляции у самок в зависимости от обилия размножающихся (беременных или лактирующих) самок полевок. Динамику обилия полевок отслеживали по доле их останков в желудках отстреленных лисиц, начиная с мая проводили учеты численности полевок. Обнаружена корреляция между уровнем овуляции лисиц в конце февраля и будущей численностью полевок в мае, при этом зависимость плодовитости от физического состояния лисиц не выявлена. Предполагается (Lindström, 1988), что триггерным фактором могут служить гормоны размножения полевок, выделяющиеся только в фазе роста численности. Увеличение потребления гонадотропинов может вызывать повышение уровня аналогичных гормонов у лисиц и стимулировать овуляцию.

Аналогичные способы регуляции рождаемости можно проследить в исследованиях птиц. У ряда видов морских птиц размножение определялось преимущественно текущей доступностью корма, хотя тоже предшествовало периоду максимального обилия пищи (Shultz et al., 2009). У обыкновенной сипухи *Tyto alba* выявлена очень точная синхронизация плотности популяции с циклами численности обыкновенной полевки, причем период задержки популяционного ответа также отсутствует (Pavluvčik et al., 2015).

Похожая закономерность размножения существует у сов. Самцы мохноногого сыча *Aegolius funereus* приносят птенцам значительно больше добычи в годы низкой численности полевок, чем в годы высокой численности полевок. И число особей, добытых родителями, и их общая масса были выше в фазы низкой и растущей численности по-

левок, хотя в годы пика численности пищевая база была гораздо более обильной. Авторы предполагают (Nakkarainen, Korpinmäki, 1994), что репродуктивные усилия сов достигают своего пика в фазу роста численности полевок, а не в годы максимального обилия, потому что в этом случае выживаемость потомства гораздо выше.

Одной из проблем при отнесении регуляторных механизмов конкретного вида к опережающему размножению служит возможная зависимость репродукции вида от абиотических факторов: продолжительности светового дня либо изменения температуры, служащих триггерами для начала размножения. Разделение действия факторов обилия пищи и длины фотопериода возможно при экспериментальных исследованиях, как в случае полчка (Jallageas et al., 1991), но в настоящее время проблема исследована на слишком ограниченном числе видов.

Как литературные данные, так и исследованные нами примеры подтверждают, что опережающее размножение представляет собой группу регуляционных механизмов совершенно разной природы, действующих в сообществах с периодически доступными ресурсами и приводящих к синхронизации пиков обилия пищевых ресурсов и появления детенышей. Опережающее размножение представляется не “предсказыванием” будущего урожая посредством экологических триггеров, а зависимостью рождаемости от текущего обилия пищи, следствием которой является максимальная доступность созревших кормов для уязвимого молодого поколения в переходный период к самостоятельному образу жизни.

При абсолютно разных объектах питания млекопитающих, периодичности размножения и жизненных циклах особей существование единой природы опережающего размножения представляется маловероятным. Поиск экологического триггера начала размножения, на который указывали предыдущие работы (Berger et al., 1981; Voutin et al., 2006), в этом случае становится ненужным. Опережающее размножение утрачивает свой мистический характер, но остается важным адаптационным механизмом млекопитающих.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Механизмы репродуктивной регуляции могут быть сходными у систематически далеких таксономических групп. У одного и того же вида могут одновременно реализовываться разные регуляторные механизмы на нескольких уровнях. Чем выше уровень регуляции, тем большее число особей она охватывает. Воздействие на более высоком уровне нивелирует эффекты, влияющие на более низких уровнях. Участие в размножении особи в конкретный период зависит от совокуп-

ности факторов, действующих на разных уровнях. Фактор питания имеет интегральное значение и воздействует на интенсивность размножения на всех уровнях. Опережающее размножение представляет собой группу регуляторных механизмов разной природы, действующих на популяционном уровне в сообществах с периодически доступными ресурсами, приводящих к синхронизации пиков обилия пищевых ресурсов и появления детенышей. Опережающее размножение выступает не уникальным феноменом, а закономерным регуляторным механизмом, способствующим адаптации к изменчивым кормовым условиям.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаю искреннюю признательность В.П. Вехнику, О.А. Розенцвет, Г.С. Розенбергу и С.В. Саксонову за помощь в проведении исследований и подготовке статьи. Благодарю анонимных рецензентов, глубоко проанализировавших рукопись и внесших значительные дополнения.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследования выполнены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ, темы ИЭВБ РАН – филиала СамНЦ РАН: № АААА-А17-117112040039-7, № АААА-А17-117112040040-3.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бабицкий А.Ф. Регуляция жизненного цикла крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus* Güld. 1770): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М: ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН, 2008. 24 с.
- Вехник В.А. Соня-полчок (*Glis glis*, Gliridae, Rodentia) на периферии ареала: размеры тела и параметры жизненного цикла // Зоол. журн. 2017. Т. 96. № 5. С. 569–580.
- Евсиков В.И., Мошкин М.П. Динамика и гомеостаз природных популяций животных // Сиб. экол. журн. 1994. № 4. С. 331–346.
- Ивантер Э.В. Популяционная экология мелких млекопитающих таежного северо-запада СССР. Л.: Наука, 1975. 242 с.
- Лобков В.А. Смертность в популяциях крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus*, Rodentia, Sciuridae) Северо-Западного Причерноморья // Зоол. журн. 1999. Т. 85. № 10. С. 1247–1256.
- Назарова Г.Г. Материнское влияние на приспособленность потомков и численность популяции: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Новосибирск: ИСЭЖ СО РАН, 2008. 39 с.
- Найденко С.В. Биология размножения кошачьих: механизмы увеличения репродуктивного успеха. М.: КМК, 2019. 192 с.
- Огнев С.И. Звери СССР и прилежащих стран. Т. 4. Грызуны. М.–Л.: Главнаука, 1940. 615 с.
- Роговин К.А., Мошкин М.П. Авторегуляция численности в популяциях млекопитающих (штрихи к давно написанной картине) // Журн. общ. биол. 2007. Т. 68. № 4. С. 244–267.
- Рожнов В.В. Опосредованная хемокоммуникация в социальном поведении млекопитающих. М.: КМК, 2011. 288 с.
- Слудский А.А. Кабан: экология и хозяйственное значение. Алма-Ата: АН КазССР, 1956. 182 с.
- Терновский Д.В., Терновская Ю.Г. Экология куницеобразных. Новосибирск: Наука, 1994. 223 с.
- Туманов И.Л. Биологические особенности хищных млекопитающих России. СПб.: Наука, 2003. 448 с.
- Шилов И.А. Эколого-физиологические основы популяционных отношений у животных. М.: МГУ, 1977. 212 с.
- Asa C., Valdespino C. Canid reproductive biology: an integration of proximate mechanisms and ultimate causes // Integr. Compar. Biol. 1998. V. 38. P. 251–259.
- Ashworth C.J., Beattie L., Antipatis C., Vallet J.L. Effects of pre- and post-mating feed intake on blastocyst size, secretory function and glucose metabolism in Meishan gilts // Reprod. Fertil. Dev. 1999. V. 11. P. 323–327.
- Badyaev A.V. Maternal effects as generators of evolutionary change: a reassessment // Anim. Reprod. Sci. 2008. V. 33. P. 307–323.
- Barker D.J., Osmond C., Golding J. et al. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease // Biomed. J. 1989. V. 298. P. 564–567.
- Bateman H.L., Bond J.B., Campbell M. et al. Characterization of basal seminal traits and reproductive endocrine profiles in North American river otters and Asian small-clawed otters // Zoo Biol. 2009. V. 28. P. 107–126.
- Bennett N.C., Jarvis J.U.M., Millar R.P. et al. Reproductive suppression in eusocial *Cryptomys damarensis* colonies: socially-induced infertility in females // J. Zool. 2009. V. 233. № 4. P. 617–630.
- Berg T.B. Catechin content and consumption ratio of the collared lemming // Oecologia. 2003. V. 135. P. 242–249.
- Berger P.J., Negus N.C., Sanders E.H., Gardner P.D. Chemical triggering of reproduction in *Microtus montanus* // Science (Wash. D.C.). 1981. V. 214. P. 69–70.
- Bergeron P., Réale D., Humphries M.M., Garant D. Anticipation and tracking of pulsed resources drive population dynamics in eastern chipmunks // Ecology. 2011. V. 92. P. 2027–2034.

- Bieber C.* Population dynamics, sexual activity and reproduction failure in the fat dormouse (*Myoxus glis*) // *J. Zool.* 1998. V. 244. P. 223–229.
- Bierman S.M., Fairbairn J.P., Petty S. et al.* Changes over time in the spatiotemporal dynamics of cyclic populations of field voles (*Microtus agrestis*) // *Am. Nat.* 2006. V. 167. P. 583–590.
- Bomford M.* Food and reproduction of wild house mice I. Diet and breeding seasons in various habitats on irrigated cereal farms in New South Wales Aust. // *Wildl. Res.* 1987. V. 14. P. 183–196.
- Borowski Z., Fijałkowska K., Tereba A., Tadeusiak A.* The role of food availability in life history traits and population dynamics of the edible dormouse (*Glis glis*) in pine dominated forest // *Abstr. 6th Int. Conf. Rodent Biol. Manag. and 16th Rodens et Spatium (Potsdam, 3–7 September 2018).* Potsdam, 2018. P. 110.
- Bouchard S., Zigouris J., Fenton M.B.* Autumn mating and likely reabsorption of an embryo by a hoary bat, *Lasiorus cinereus* (Chiroptera: Vespertilionidae) // *Am. Midl. Nat.* 2001. V. 145. P. 210–212.
- Boutin S., McAdam A.G., Humphries M.M.* Anticipatory reproduction in squirrels can succeed in the absence of extra food // *N.Z. J. Zool.* 2013. V. 40. P. 337–339.
- Boutin S., Wauters L.A., McAdam A.G. et al.* Anticipatory reproduction and population growth in seed predators // *Science.* 2006. V. 14. P. 1928–1930.
- Bradshaw W.E., Holzapfel C.M.* Evolution of animal photoperiodism // *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 2007. V. 38. P. 1–25.
- Bronson F.H.* Mammalian reproductive biology. Chicago: Univ. Chicago Press, 1989. 463 p.
- Bronson F.H., Marsden H.M.* Male-induced synchrony of estrus in deer-mice // *Gen. Comp. Endocr.* 1964. V. 4. P. 634.
- Bronson F.H., Heideman P.D.* Seasonal regulation of reproduction in mammals // *The physiology of reproduction / Eds E. Knobil, J.D. Neill.* N.Y.: Raven Press, 1994. P. 1831–1872.
- Brown B.W.* A review on reproduction in South American camelids // *Anim. Reprod. Sci.* 2000. V. 58. P. 169–195.
- Bruce H.M.* An exteroceptive block to pregnancy in the mouse // *Nature.* 1959. V. 88. P. 105.
- Bruce H.M.* Smell as an exteroceptive factor // *J. Anim. Sci.* 1966. V. 25. P. 83–87.
- Carey C.* Climate change, extinction risks, and reproduction of terrestrial vertebrates // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2014. V. 753. P. 35–54.
- Chakma N., Sarker N.J., Belmain S.R. et al.* The linkage between *Melocanna* bamboo flowering and rodent outbreaks: Chittagong Hill Tracts of Bangladesh // *Abstr. 6th Int. Conf. Rodent Biol. Manag. and 16th Rodens et Spatium (Potsdam, 3–7 September 2018).* Potsdam, 2018. P. 115.
- Chitty D.* Population processes in the vole and their relevance to general theory // *Canad. J. Zool.* 1960. V. 38. № 1. P. 99–113.
- Creel S., Creel N.M., Mills M.G.L., Monfort S.L.* Rank and reproduction in cooperatively breeding African wild dogs: behavioral and endocrine correlates // *Behav. Ecol.* 1997. V. 8. P. 298–306.
- Dengler-Criss C.M., Catania K.C.* Cessation of reproduction-related spine elongation after multiple breeding cycles in female naked mole-rats // *Anat. Rec.* 2009. V. 292. Iss. 1. P. 131–137.
- Descamps S., Boutin S., Berteaux D., Gaillard J.M.* Female red squirrels fit Williams' hypothesis of increasing reproductive effort with increasing age // *J. Anim. Ecol.* 2007. V. 76. P. 1192–1201.
- Dobson F.S., Oli M.K.* The life histories of orders of mammals: fast and slow breeding // *Curr. Sci.* 2008. V. 95. № 7. P. 862–865.
- Eccard J.A., Dammhahn M., Ylönen H.* The Bruce effect revisited: is pregnancy termination in female rodents an adaptation to ensure breeding success after male turnover in low densities? // *Oecologia.* 2017. V. 185. P. 81–94.
- El-Bakry H.A., Zahran W.M., Bartness R.J.* Control of reproductive and energetic status by environmental cues in a desert rodent, Shaw's Jird // *Physiol. Behav.* 1999. V. 66. P. 657–666.
- Elias S.P., Witham J.W., Hunter M.L.* *Peromyscus leucopus* abundance and acorn mast: population fluctuation patterns over 20 years // *J. Mammal.* 2004. V. 85. P. 743–747.
- Elrod C.C., Butler W.R.* Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein // *J. Anim. Sci.* 1993. V. 71. P. 694–701.
- Falls J.B., Falls E.A., Fryxell J.M.* Fluctuations of deer mice in Ontario in relation to seed crops // *Ecol. Monogr.* 2007. V. 77. № 1. P. 19–32.
- Fernández A.F., Toraño E.G., Urduñiu R.G. et al.* The epigenetic basis of adaptation and responses to environmental change: perspective on human reproduction // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2014. V. 753. P. 97–117.
- Féron C., Gheusi G.* Social regulation of reproduction in the female mound-builder mouse (*Mus spicilegus*) // *Physiol. Behav.* 2003. V. 78. P. 717–722.
- Fietz J., Pflug M., Schlund W., Tataruch F.* Influences of the feeding ecology on body mass and possible implications for reproduction in the edible dormouse (*Glis glis*) // *J. Comp. Physiol. B.* 2005. V. 175. P. 45–55.
- Fietz J., Kager T., Schauer S.* Is energy supply the trigger for reproductive activity in male edible dormice (*Glis glis*)? // *J. Comp. Physiol. B.* 2009. V. 179. P. 829–837.
- Fortun-Lamothe L., Prunier A.* Effects of lactation, energetic deficit and remating interval on reproductive performance of primiparous rabbit does // *Anim. Reprod. Sci.* 1999. V. 55. P. 289–298.
- Franceschini-Zink C., Millesi E.* Reproductive performance in female common hamsters // *Zoology.* 2008. V. 111. P. 76–83.
- Frylestam B.* Reproduction in the European hare in southern Sweden // *Holarctic Ecol.* 1980. V. 3. P. 74–80.
- Fryxell J.M., Falls J.B., Falls E.A., Brooks R.J.* Long-term dynamics of small-mammal populations in Ontario // *Ecology.* 1998. V. 79. P. 213–225.
- Gashwiler J.S.* Deer mouse reproduction and its relationship to the tree seed crop // *Am. Midl. Nat.* 1979. V. 102. P. 95–104.
- Gilbert A.N.* Postpartum and lactational estrus: a comparative analysis in Rodentia // *J. Comp. Psychol.* 1984. V. 98. P. 232–245.

- Goss R.J. Deer antlers: regeneration, function and evolution. N.Y.: Academic Press, 1983. 236 p.
- Granjon L., Cosson J.-F., Quesseveur E., Sicardet B. Population dynamics of the multimammate rat *Mastomys natalensis* in an annually flooded agricultural region of central Mali // J. Mammal. 2005. V. 86. № 5. P. 997–1008.
- Hakkarainen H., Korpimäki E. Does feeding effort of Tengmalm's owls reflect offspring survival prospects in cyclic food conditions? // Oecologia. 1994. V. 97. P. 209–214.
- Hämäläinen A., McAdam A.G., Dantzer B. et al. Fitness consequences of peak reproductive effort in a resource pulse system // Sci. Rep. 2017. V. 7. P. 9335.
- Henttonen H. Long-term dynamics of voles and lemmings in Finnish Lapland: importance of community approach // Abstr. 6th Int. Conf. Rodent Biol. Manag. and 16th Rodens et Spatium (Potsdam, 3–7 September 2018). Potsdam, 2018. P. 101.
- Herbst M., Bennett N.C. Recrudescence of sexual activity in a colony of the Mashona mole-rat (*Cryptomys darlingi*): an apparent case of incest avoidance // J. Zool. 2001. V. 254. Iss. 2. P. 163–175.
- Hughes R.L. Effect of changing cages, introduction of the male, and other procedures on the oestrous cycle of the rat // G.S.I.R.O. Wildlife Res. 1964. V. 9. P. 115.
- Inouye D.S., Barr B., Armitage K.B., Inouye B.D. Climate change is affecting altitudinal migrants and hibernating species // PNAS USA. 2000. V. 97. P. 1630–1633.
- Izard M.K., Vandenbergh J.G. The effects of bull urine on puberty and calving date in crossbred beef heifers // J. Anim. Sci. 1982. V. 55. P. 1160–1168.
- Jallageas M., Mas N., Nouguié-Soulé J. Control of annual endocrine rhythms in the edible dormouse: nonprimary effect of photoperiod // J. Biol. Rhyth. 1991. V. 6. P. 343–352.
- King C.M. Anticipatory responses to pulsed resources: an introduction // N. Z. J. Zool. 2013. V. 40. № 4. P. 330–331.
- Knight T.W.P., Lynch P.R. The source of ram pheromones that stimulate ovulation in the ewe // Anim. Reprod. Sci. 1980. V. 3. P. 133–138.
- Krackow S., Schmidt T.A., Elepfandt A. Sexual growth dimorphism affect birth sex ratio in house mice // Proc. R. Soc. B. Biol. Sci. 2003. V. 270. P. 943–947.
- Labov J.B., Huck U.W., Vaswani P., Lisk R.D. Sex ratio manipulation and decreased growth of male offspring of undernourished golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) // Behav. Ecol. Sociobiol. 1986. V. 18. P. 241–249.
- Lane K., Henttonen H. The role of plant production in microtine cycles in northern Fennoscandia // Oikos. 1983. V. 40. P. 407–418.
- Lane M., Gardner D.K. Increase in postimplantation development of cultured mouse embryos by amino acids and induction of fetal retardation and exencephaly by ammonium ions // J. Reprod. Fertil. 1994. V. 102. P. 305–312.
- Laundre J.W., Hernández L. Total energy budget and prey requirements of free-ranging coyotes in the Great Basin Desert of the western United States // J. Arid. Environ. 2003. V. 55. P. 675–689.
- Lebl K., Kürbisch K., Bieber C., Ruf T. Energy or information? The role of seed availability for reproductive decisions in edible dormice // J. Comp. Physiol. B. 2010. V. 180. P. 447–456.
- Lebl K., Rotter B., Kürbisch K. et al. Local environmental factors affect reproductive investment in female edible dormice // J. Mammal. 2011. V. 92. № 5. P. 926–933.
- Lee T.H. Mating behavior of the Eurasian red squirrel (*Sciurus vulgaris* Linnaeus, 1758) in Hokkaido, Japan // Mammalia. 2001. V. 65. № 2. P. 131–142.
- Leshner A.I., Siegel A.I., Collier G.H. Dietary self-selection by pregnant and lactating rats // Physiol. Behav. 1972. V. 8. P. 151–154.
- Lindström E. Reproductive effort in the red fox, *Vulpes vulpes*, and future supply of a fluctuating prey // Oikos. 1988. V. 52. P. 115–119.
- Madsen T., Ujvari B., Shine R., Olsson M. Rain, rats and pythons: climate-driven population dynamics of predators and prey in tropical Australia // Austral. Ecol. 2006. V. 31. P. 30–37.
- Marcello G.J., Wilder S.M., Meikle D.B. Population dynamics of a generalist rodent in relation to variability in pulsed food resources in a fragmented landscape // J. Anim. Ecol. 2008. V. 77. P. 41–46.
- McEvoy T.G., Robinson J.J., Ashworth C.J. et al. Feed and forage toxicants affecting embryo survival and fetal development // Theriogenology. 2001. V. 55. P. 113–129.
- Mduma S.A.R., Sinclair A.R.E., Hilborn R. Food regulates the Serengeti wildebeest: a 40-year study // J. Anim. Ecol. 1999. V. 68. P. 1101–1122.
- Mead R.A. Embryonic diapause in vertebrates // J. Exp. Biol. 1993. V. 266. P. 629–641.
- Merson M.H., Kirkpatrick R.L. Relative sensitivity of reproductive activity and body-fat level to food restriction in white-footed mice // Am. Midl. Nat. 1981. V. 106. P. 305–312.
- Millesi E., Hubert S., Everts L.G., Dittami J.P. Reproductive decisions in female European Ground squirrels: factors affecting reproductive output and maternal investment // Ethology. 1999. V. 105. P. 163–175.
- Monje A.R., Alberio R.J., Schiersmann G. et al. Effect of male presence on sexual activities and postcalving of breeding cows in two nutritional levels // Rev. Argent. Anim. Prod. J. 1983. V. 4. P. 364–369.
- Norris M.L., Adams C.E. Pregnancy concurrent with lactation in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) // Lab. Anim. 1981. V. 15. P. 21–23.
- Odum E.P. Fundamentals of ecology. Philadelphia: Saunders, 1959. 598 p.
- Ostfeld R.S., Keesing F. Pulsed resources and community dynamics of consumers in terrestrial ecosystems // Tree. 2000. V. 15. P. 232–237.
- Owusu B.A., Adua E.K., Awotwi E.K., Awumbila B. Embryonic resorption, litter size and sex ratio in the grasscutter, *Thryonomys swinderianus* // Anim. Reprod. Sci. 2010. V. 118. P. 366–371.
- Orr T.J., Zuk M. Reproductive delays in mammals: an unexplored avenue for post-copulatory sexual selection // Biol. Rev. 2014. V. 89. № 4. P. 889–912.
- Parer I. The population ecology of the wild rabbit *Oryctolagus cuniculus* (L.) in a Mediterranean-type climate in New South Wales // Aust. Wildl. Res. 1977. V. 4. P. 171–205.

- Parkes A.S., Bruce H.M. Pregnancy block in female mice placed in boxes soiled by males // J. Reprod. Fertil. 1962. V. 4. P. 303.
- Parr R.A., Davis I.F., Fairclough R.J., Miles M.A. Overfeeding during early pregnancy reduced peripheral progesterone concentrations and pregnancy rate in sheep // J. Reprod. Fertil. 1987. V. 80. P. 317–320.
- Partridge L., Gems D., Withers D.J. Sex and death: what is the connection? // Cell. 2005. V. 120. P. 461–472.
- Pavluvčík P., Poprach K., Machar I. et al. Barn owl productivity response to variability of vole populations // PLoS One. 2015. V. 10. № 12. P. e0145851.
- Perera F., Herbstman J. Prenatal environmental exposures, epigenetics, and disease // Reprod. Toxicol. 2011. V. 31. P. 363–373.
- Pilastro A., Missiaglia E., Marin G. Age-related reproductive success in solitary and communally nesting female dormice // J. Zool. 1996. V. 239. № 3. P. 601–608.
- Post E., Forchhammer M.C. Climate change reduces reproductive success of an Arctic herbivore through tropic mismatch // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 2008. V. 363. P. 2369–2375.
- Pucek Z., Jędrzejewski W., Jędrzejewska B., Pucek M. Rodent population dynamics in a primeval deciduous forest (Białowieża National Park) in relation to weather, seed crop and predation // Acta Theriologica. 1993. V. 38. P. 199–232.
- Robinson M.R., Mar K.U., Lummaa V. Senescence and age-specific trade-offs between reproduction and survival in female Asian elephants // Ecol. Lett. 2012. V. 15. P. 260–266.
- Rosenfeld C.S., Roberts R.M. Maternal diet and other factors affecting offspring sex ratio // Biol. Reprod. 2004. V. 71. P. 1063–1070.
- Rosenfeld C.S., Grimm K.M., Livingston K.A. et al. Striking variation in the sex ratio of pups born to mice according to whether maternal diet is high in fat or carbohydrate // PNAS USA. 2003. V. 100. P. 4628–4632.
- Ruf T., Fietz J., Schlund W., Bieber C. High survival in poor years: life history tactics adapted to mast seeding in the edible dormouse // Ecology. 2006. V. 87. P. 372–381.
- Selonen V., Varjonen R., Korpimäki E. Immediate or lagged responses of a red squirrel population to pulsed resources // Oecologia. 2015. V. 177. P. 401–411.
- Shanas U., Haim A. Diet salinity and vasopressin as reproduction modulators in the desertdwelling golden spiny mouse (*Acomys russatus*) // Physiol. Behav. 2004. V. 81. P. 645–650.
- Shelton M. Influence of the presence of a male goat on the initiation of oestrous cycling and ovulation of Angora does // J. Animal Sci. 1960. V. 19. P. 368.
- Shultz M.T., Piatt J.F., Harding A.M.A. et al. Timing of breeding and reproductive performance in murrelets and kittiwakes reflect mismatched seasonal prey dynamics // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2009. V. 393. P. 247–258.
- Spady T.J., Lindburg D.G., Durrant B.S. Evolution of reproductive seasonality in bears // Mamm. Rev. 2007. V. 37. P. 21–53.
- Stearns S.C. The evolution of life histories. Oxford: Oxf. Univ. Press, 1992. 352 p.
- Stott P., Harris S. Demographics of the European hare (*Lepus europaeus*) in the Mediterranean climate zone of Australia // Mamm. Biol. 2006. V. 71. P. 214–226.
- Sumar J.B. Reproduction in llamas and alpacas // Anim. Reprod. Sci. 1996. V. 42. P. 405–415.
- Touma C., Palme R., Sachser N. Different types of oestrous cycle in two closely related South American rodents (*Cavia apera* and *Galea musteloides*) with different social and mating systems // Reproduction. 2001. V. 121. P. 791–801.
- Turchin P., Hanski I. An empirically based model for latitudinal gradient in vole population dynamics // Am. Nat. 1997. V. 149. P. 842–874.
- Vasilieva N.A., Tchabovsky A.V. Timing is the only thing: reproduction in female yellow ground squirrels (*Spermophilus fulvus*) // Can. J. Zool. 2014. V. 92. № 8. P. 737–747.
- Vaughan J.L., Tibary A. Reproduction in female South American camelids: a review and clinical observations // Small Rumin. Res. 2006. P. 259–281.
- Vekhnik V.A. Effect of food availability on the reproduction in edible dormice (*Glis glis* L., 1766) on the eastern periphery of the range // Mamm. Res. 2019. V. 64. P. 423–434.
- Vekhnik V.A., Vekhnik V.P., Rozentsvet O.A., Bogdanova E.S. Possible relations between reproduction of the yellow-necked mouse (*Sylvaemus flavicollis*) and oak yield // Russ. J. Theriol. 2019. V. 18. № 1. P. 33–42.
- Wallis J. Seasonal influence on reproduction in chimpanzees of Gombe National Park // Int. J. Primatol. 1995. V. 16. P. 435–451.
- Wauters L.A., Githiru M., Bertolino S. et al. Demography of alpine red squirrel populations in relation to fluctuations in seed crop size // Ecography. 2008. V. 31. P. 104–114.
- White T.C.R. Resolving the limitation – regulation debate // Ecol. Res. 2007. V. 22. P. 354–357.
- White T.C.R. The role of food, weather and climate in limiting the abundance of animals // Biol. Rev. 2008. V. 83. P. 227–248.
- White T.C.R. What has stopped the cycles of sub-Arctic animal populations? Predators or food? // Bas. Appl. Ecol. 2011. V. 12. P. 481–487.
- White T.C.R. ‘Anticipatory’ reproduction by small mammals cannot succeed without enhanced maternal access to protein food // N. Z. J. Zool. 2013. V. 40. № 4. P. 332–336.
- Williams G.C. Natural selection, the costs of reproduction and a refinement of Lack’s principle // Am. Nat. 1966. V. 100. P. 687–690.
- Williams C.T., Lane J.E., Humphries M.M. et al. Reproductive phenology of a food-hoarding mast-seed consumer: resource- and density-dependent benefits of early breeding in red squirrels // Oecologia. 2014. V. 174. P. 777–788.
- Zera A.J., Harshman L.G. The physiology of life-history trade-offs in animals // Annu. Rev. Ecol. Syst. 2001. V. 32. P. 95–126.

Anticipatory Reproduction as One of the Mechanisms of Regulation of Birth Rate in Mammals

V. A. Vekhnik*

Samara Federal Research Scientific Centre RAS, Institute of Ecology of Volga River Basin RAS, Togliatti, Russia

**e-mail: ivavika@rambler.ru*

The mechanism of anticipatory reproduction remains one of the most controversial issues in reproductive biology. To elucidate the general regularities of the regulation of mammal reproduction and the position of anticipatory reproduction in the system of reproductive regulation mechanisms, the data on the reproductive biology of more than 140 mammalian species were analyzed. Four levels of reproduction regulation were identified, according to the analysis of field and laboratory studies. Anticipatory reproduction is a group of regulatory mechanisms of different character, acting at the population level in communities with periodically available resources, leading to the synchronization of the peaks in the abundance of food resources and the dissolution of litters.

Keywords: mammals, resorption, anticipatory reproduction, reproductive regulation

УДК 599.323.5;675.087

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИДЕНТИФИКАЦИОННОЙ ПТИЛОЛОГИИ В РОССИИ

© 2021 г. О. Л. Силаева¹, *, О. Ф. Чернова¹, **

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

*e-mail: sevinbirdstrike@yandex.ru

**e-mail: chernova@sevin.ru

Поступила в редакцию 04.06.2021 г.

После доработки 22.06.2021 г.

Принята к публикации 22.06.2021 г.

Статья обзорного характера посвящена актуальным прикладным вопросам идентификационной птилологии — раздела науки о перьевом покрове птиц, занимающейся проблемой идентификации птиц по целым перьям и их микроскопическим остаткам. Идентификационная птилология развивается в тесном взаимодействии с авиационной орнитологией¹. Статья содержит анализ данных зарубежной и отечественной литературы по вопросам влияния идентификационной птилологии на авиационную орнитологию, а также развития прикладных, организационных и стратегических вопросов последней. Приведены конкретные примеры таксономической идентификации перьев по микро- и макроструктуре, определена роль некоторых признаков микроструктуры пера для экспертизы и филогенетических построений. Разработана система диагностических признаков одиночного пера, описано несколько новых элементов пера и дополнены сведения по известным перьевым структурам. С помощью математических методов (кластеризация по морфометрическим данным микроструктурных компартаментов пера) определены филогенетические связи между таксонами высшего и среднего ранга. Определена роль коллекций и определителей птиц по макро- и микроструктуре пера для идентификационных исследований перьевого материала. Рассмотрены прикладные и научные пути решения проблем аэродромной экологии, а именно защиты воздушных судов от биоповреждений, вызываемых птицами. Отмечена необходимость идентификации видов — участников столкновений с воздушными судами. Начат проект по физико-географическому и климатическому районированию. Цель проекта — определить наиболее опасные для полетов авиации виды птиц в районах и на территориях аэропортов в разные сезоны года. Созданы комплексные системы видового определения птицы по перьевым остаткам для авиационной орнитологии, куда входит анализ структуры перьевого материала, эколого-географический и молекулярно-генетический анализы; совокупность методов позволяет обрабатывать большие массивы данных исключительно по структуре групп перьев, одиночного пера или его фрагментов.

Ключевые слова: авиационная орнитология, птилология, идентификация по остаткам перьев, микроструктура пера

DOI: 10.31857/S0042132421060089

ВВЕДЕНИЕ

Оперение как уникальная и чрезвычайно полиморфная биологическая структура во многом определяет видовое многообразие и видоспецифичность птиц, служа их “визитной карточкой”. Помимо эстетической и хозяйственной ценности для человека, перья дают ему пример структурной целесообразности — природного технического чуда, сочетающего широкую мультифункциона-

льность, разнообразие, высокую степень дифференциации макро- и микроструктуры и уникальные физико-химические свойства образующих перо кератинов. Именно эти свойства оперения обеспечивают полет, аэро- и гидродинамику, гидрофобность, теплозащиту (Wolf, Walsberg, 2000), протекторные свойства, тактильность, камуфляж и др. (Stettenheim, 1976, 2000). Перья, благодаря специализации, пространственной конфигурации и тонкому строению, служат для производства либо приглушения звуков, издаваемых оперением, в том числе при полете (Weger, Wagner, 2017; Fadeeva, 2021). Они имеют коммуникативное сигнальное значение, участвуя в формировании своеобразного визуаль-

¹ Авиационная орнитология — это одно из направлений прикладной орнитологии, которое занимается минимизацией биоповреждающей деятельности птиц и других животных в аэропортах, в основном столкновений воздушных судов с птицами.

ного языка демонстрационных поз птицы (Бородулина, Формозов, 2015; Ruxton et al., 2017). Известны узкоспециализированные перья. Например, перья могут служить для доставки воды: самцы некоторых африканских видов рябков *Pterocles Temminck*, 1815 в зобу и на гидрофильных перьях брюшка приносят воду для своих птенцов (Гаврилов, 1993; Joubert, Maclean, 1973). Или, напротив, перья обладают гидрофобными свойствами, например, у пингвинообразных *Sphenisciformes* (Костина и др., 1996). У эму *Dromaeus novaehollandiae Vieillot*, 1816 благодаря специализированной архитектонике поверхности (пористости) перья также выполняют целый ряд важнейших функций (Чернова, Фадеева, 2009; Чернова, Коблик, 2010). Перья защищают ушное отверстие также у сов *Strigiformes* и других птиц и улучшают акустическое восприятие звуков (Ильичёв, 1962; Koch, Wagner, 2002).

Для человека, безусловно, важны идентификационные свойства перьев, позволяющие определять таксономическую принадлежность конкретной особи. Топография оперения птицы отличается расположением комплексов более или менее однотипных перьев на определенных участках тела – птерилях. Однако опознать птицу по особенностям расположения, окраске и морфологии перьев, а тем более их фрагментов, не всегда просто.

В настоящее время актуальны исследования перьевых структур в рамках нового фундаментального направления птилологии – систематики птиц, основанной на морфологии пера, так как связь морфологических исследований структуры пера с систематикой и филогенетикой очевидны. Особенности структуры перьев свидетельствуют не только об их таксономическом значении, но и о филогенетическом родстве разных таксонов, а также о популяционной и внутривидовой изменчивости. Методологически это направление опирается на птилологический метод неклассической систематики, что позволяет проводить идентификацию особи по микроструктуре пера.

Прикладные аспекты птилологии сейчас активно развиваются в связи с актуальностью проблемы столкновений воздушных судов (ВС) с птицами; число таких инцидентов постоянно увеличивается. Это обусловлено возрастанием скоростных характеристик ВС, количеством их взлетно-посадочных маневров, а также направленностью шумовой струи двигателя ВС. Идентификация вида птицы, участвовавшей в инциденте, чрезвычайно важна, так как позволяет определить биологические риски для конкретного аэродрома, принять адекватные меры по управлению поведением соответствующего вида птиц для сдерживания роста числа опасных столкновений ВС с птицами. Идентификация не-

обходима также и для конструирования защитных устройств для двигателей ВС. При этом методы определения вида, участвовавшего в столкновении с ВС, коренным образом отличаются от идентификации того же вида в природе. Исследования перьевых структур необходимы для решения глобальной задачи по определению наиболее проблемных, с точки зрения орнитологической безопасности полетов, аэродромов и для создания геоинформационной эколого-орнитологической базы данных аэропортов РФ. Аэродром представляет собой сложнейший комплекс технических, социальных и экологических составляющих, и для решения проблемы безопасности полетов необходим системный подход к контролю аэродромной среды.

Лаборатория экологии и управления поведением птиц (ЛЭУПП) Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (ИПЭЭ РАН) с 1980-х гг. остается базовой для сотрудничества в рамках программы минимизации опасности птиц для ВС, проводимой Международным комитетом по прикладной орнитологии (International Committee of Applied Ornithology) и Международной организацией гражданской авиации (International Civil Aviation Organization, ICAO). ИПЭЭ РАН – единственное научное учреждение в РФ, которое проводит комплексные исследования по идентификации вида птицы с выдачей документированной экспертизы, биологической справки по виду птицы и рекомендаций для конкретного аэропорта.

Определение вида птицы по структуре перьев применяется также в археологии, палеонтологии, палеобиологии, экологии окружающей среды, в криминалистике, в судебной и биологической экспертизе соблюдения норм Конвенции о международной торговле видами дикой фауны и флоры, находящимися под угрозой исчезновения (CITES – The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora). Перьевой покров птиц служит объектом и в других областях исследования: орнитологии, зоологии (ареалы обитания, миграции, пищевой рацион, периоды линьки), бионике (конструирование бесшумных летательных аппаратов и др.), этнографии и антропологии, а также в экологическом образовании. При проведении полевых исследований возникает необходимость определения видовой принадлежности птицы по найденному перу для выяснения многих сторон биологии соответствующего вида. Перья – один из основных идентификационных признаков птицы; они хорошо сохраняются длительное время и имеют много диагностически значимых макро- и микроструктур.

Несколько лет назад нами была опубликована статья по определению вида птицы на основе

микроструктурных характеристик фрагментов пера (Силаева, 2008). В ней на основе анализа зарубежной и отечественной литературы было показано состояние прикладных и фундаментальных исследований микроструктуры перьевого материала. С 2008 г. птилологическое направление получило значительное развитие. Опубликовано серия определителей вида птиц по микро- и макроструктуре перьев (Силаева и др., 2011, 2013, 2015, 2018). Разработана система диагностических признаков одиночного пера, описано несколько новых элементов пера и дополнены сведения по известным перьевым структурам. Активно развивается новое направление таксономических исследований на основе морфологии пера, идентификации таксона по структурным особенностям перьев на уровне макро- и микроструктуры и по архитектонике (внутреннему дизайну) пера.

1) Выявлены особенности и степень индивидуальной изменчивости структурных компарментов пера в пределах таксонов разного ранга, а также филогенетические связи между таксонами по этому показателю.

2) Разработаны новые методы определения таксона по одиночному перу и его фрагментам. С помощью математических методов в результате кластеризации по микроструктурным признакам пера удалось определить системные связи между таксонами высшего и среднего ранга (Силаева и др., 2018). Развивается методологическая база на основе совмещения тестируемых перьевых структур с эталонными.

3) Созданы комплексные системы видового определения птицы по перьевым остаткам для авиационной орнитологии, куда входит анализ структуры перьевого материала, эколого-географический и молекулярно-генетический анализы.

4) В рамках договоров с аэропортами и авиакомпаниями по экспертизе перьевых остатков применяют анализ ДНК для сопряженной идентификации. Необходимо отметить ряд преимуществ морфологической экспертизы перьевого материала перед молекулярно-генетическим анализом: быстрота, простота и дешевизна определения таксона.

5) Для обработки больших массивов данных используют уникальный метод исследования исключительно по структуре групп перьев, одиночного пера или его фрагментов в зависимости от количества перьевого материала.

6) Собраны и частично обработаны базы данных по столкновениям ВС с птицами с идентификацией вида-участника инцидента и установлением географической точки столкновения. Орнитологи и экологи ИПЭЭ РАН получили доступ к базам данных Федерального агентства воздушного транспорта (Росавиация) по инцидентам с птицами и, соответственно, имеют возможность

анализировать данные по биологическим обстоятельствам столкновений. Это позволит определять риски от биоповреждающей активности птиц на конкретных аэродромах, давать рекомендации аэропортам по предотвращению таких инцидентов, а, значит, сохранить жизни людей и технику. Такая аналитическая работа интенсивно ведется, в частности, осуществляется проект по физико-географическому и климатическому районированию.

Цель настоящей статьи состоит: 1) в демонстрации развития птилологических исследований в России за последние годы, а также в анализе перспективных тенденций; 2) в оценке координации птилологических исследований и работ в области экологии аэродромов.

МЕТОДОЛОГИЯ ПТИЛОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Перьевые и таксидермические коллекции как основа птилологических исследований

Метод макроструктурного определения вида птицы по маховым и рулевым перьям, а также по наиболее характерным группам покровных перьев активно применяется в орнитологии для идентификации вида. Вид определяют, сопоставляя оперение живой особи, тушки или фрагментов перьев с коллекционным и/или иллюстративным материалом классических полевых определителей в реальном и электронном виде. Перьевые и таксидермические коллекции используются и для подготовки коллекционных баз микропрепаратов перьев.

Перьевая коллекция ЛЭУПП ИПЭЭ РАН существует с 2005 г. и содержит перьевой материал от 2142 особей 328 видов из 57 семейств и 21 отряда, что составляет 36% видов и 95% отрядов, представленных в современной фауне РФ (Коблик, Архипов, 2014). По 43 видам из 21 семейства и 5 отрядов собраны и оформлены 128 полных коллекций перьев в соответствии с основными птерилиями. Коллекция содержит 292 крыла от 119 видов из 39 семейств и 14 отрядов; 270 шкурок 84 видов из 28 семейств и 8 отрядов птиц. Всего в коллекции более 35 тыс. экземпляров перьев.

В коллекцию входят фрагменты перьев птиц после столкновения с ВС и около 1232 микроскопических препаратов перьев 140 видов птиц из 10 групп. Коллекцию используют как эталонную базу для прикладных морфологических исследований по перьям, а также для других научных и образовательных целей. Систематизированные коллекции покровных перьев редки и ценны, так как обычно сборы включают лишь рулевые и маховые перья.

Пополнение коллекции не наносит вреда птицам, это связано с нашими природоохранными

убеждениями, с применением гуманных, щадящих методов сбора материала, так как никакими высокими научными целями нельзя оправдать массовый отлов и отстрел птиц. В нашу коллекцию поступают остатки погибших птиц: это преимущественно материал, собранный вдоль автодорог и линий электропередач, на кормовых участках хищных птиц или любезно предоставленный нам коллегами, охотниками и егерями. Нам передают также негодные для экспонирования музейные чучела и тушки.

Материалы коллекции использованы нами для написания серии русскоязычных оригинальных определителей птиц разных таксономических групп по перу и его фрагментам (Силаева и др., 2011, 2013, 2015, 2018) и около 30 научных статей. Эти определители можно использовать в качестве классических видовых, а также для микроструктурных исследований (см. ниже).

Определители перьев птиц

К настоящему времени накопилось достаточное количество электронных и бумажных справочников по маховым и рулевым перьям, особенно таких, которые позволяют определять птиц в природе. Для нас представляют интерес перьевые справочники, по которым можно установить принадлежность групп перьев, одиночных перьев или их фрагментов, или универсальные определители для тех и других целей. Такие справочники способствуют развитию идентификационных морфологических исследований по структуре перьевого материала.

Из иностранных атласов-определителей прежде всего следует отметить “Определитель перьев птиц Центральной Европы” (Bergmann, 2015), содержащий сведения по перу для 298 видов наиболее важных гнездящихся птиц и регулярных мигрантов. Руководство снабжено 377 цветными иллюстрациями перьев и 259 таблицами. Во вводной главе рассматриваются наиболее интересные для сбора птилологических коллекций биотопы, линька птиц, а также правовые вопросы сбора перьев, хранение и систематизация перьевых коллекций. Здесь же подробно разбирают особенности строения крыла Воробьинообразных и Неворобьиных птиц с функциональным значением некоторых перьев. Этим же автором опубликовано два полевых определителя такого же стиля по морским, речным и околородным птицам (Bergmann, 2010, 2012). Общая информация по каждому семейству предваряет повидовой очерк, который содержит детальные сведения по оперению с учетом основных птерилий и размеров самого длинного первостепенного махового и рулевого перьев. Таблицы с фотографиями перьев включают основные наиболее характерные и значимые для идентификации вида перья — махо-

вые и рулевые, а также некоторые кроющие. Однако мелкие покровные перья почти не рассматриваются. Определитель имеет тройное назначение: идентификация по отдельно найденным перьям или по одному перу; как традиционный полевой определитель и как учебно-методическое пособие по птилологии.

На заявленный еще в 1990-е гг. “Определитель европейских птиц по перьям” можно подписаться (Atlas of Feathers for Western Palearctic Birds). Это монументальный и оригинальный перьевой атлас, состоящий из двух томов: Воробьинообразные и Неворобьиные птицы. Его особенность в том, что маховые и рулевые перья представленных семейств расположены в виде круговой модели. Абрисы перьев прорисованы разными оттенками цветов и наложены друг на друга. По радиусам отложены значения процентных соотношений между размерами перьев. Самое длинное маховое представлено со значением в 100%, все другие перья определяются по относительному проценту. Такой метод позволяет выявить даже самые тонкие пропорциональные отличия в размерах перьев, например, видов-близнецов. В модель включено и крылышко (*Alula*), поскольку оно выполняет важную аэродинамическую функцию и, несмотря на свой малый размер, относится к крупным перьям. Перья отдельных видов разных перьевых нарядов представлены также в линейной форме.

В 2015 г. в интернете появился анонс немецкоязычного определителя “Рулевые перья птиц Центральной Европы” (Hansen, Synnatzschke, 2015), подготовленный на базе черно-белого определителя тех же авторов (Hansen, Synnatzschke, 1998). В книге описаны рулевые перья 300 видов птиц Центральной Европы. Она дополнена новым материалом и содержит 600 таблиц с промерами перьев; подробно описаны характерные особенности перьев каждого вида и разных перьевых нарядов — половых и возрастных: цвет, форма, индивидуальные вариации длины. Для перьев некоторых видов проведено более тысячи индивидуальных измерений. На базе Музея Наумана (Das Naumann-Museum Köthen (Anhalt, Deutschland)), где собрана самая большая научная коллекция перьев птиц, в 2010 г. организована рабочая группа по морфологии пера. Ее цель — создание атласа по перьям всех птиц мира. Проект был представлен Международному Союзу охраны природы (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, IUCN). Пока собраны перья примерно 10% видов мировой орнитофауны. Сведения о перьях можно найти на ряде сайтов интернета.

Определитель по перьевым микроструктурам двух отрядов птиц Ржанкообразных Charadriiformes и Гусеобразных Anseriformes опубликован

в материалах Европейского комитета по столкновениям ВС с птицами (Perremans, 1992). С помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) автор исследовала перьевые структуры 65 представителей отряда Ржанкообразных, принадлежащих к 31 роду и 13 семействам. Предложена идентификация таксона по дорзальной поверхности кутикулы стержня пера и бородачок. Подобным же образом изучено 16 видов Гусеобразных. Явные различия выявлены между утками, гусями и лебедями. Составлен дихотомический идентификационный ключ. Такие ключи дополняют и украшают определители, могут облегчить процесс идентификации. Однако создание идентификационного ключа довольно затруднительно, так как приходится учитывать множество факторов, не только единичные микро-, но и микроструктурные диагностические признаки.

Из русскоязычных определителей по перу следует отметить «Атлас-определитель перьев птиц» (Корепова, 2016). В нем представлены рулевые и маховые перья 161 вида птиц, принадлежащих к 18 отрядам. Размеры перьев можно легко оценить по масштабированному фону. В основу атласа положен оригинальный принцип структурирования перьевого материала по цвету и цветовым сочетаниям, что облегчает работу по поиску нужного вида. Оперение птиц описано подробно, учтены все детали, необходимые при идентификации птицы по фрагментам ее оперения.

С весны 2018 г. действует сайт по определению вида по перьям, разработанный Лабораторией по изучению перьевого покрова птиц Ульяновского областного музея им. И.А. Гончарова, включающий 180 видов птиц, распространенных в России и некоторых других странах (<http://featherlab.ru>).

К сожалению, определители по перу, сочетающие макро- и микроскопические методы идентификации, единичны (Атлас-определитель..., 1995), при этом микроструктурная часть данного определителя представляет собой перевод-компиляцию работ (Brom, 1986, 1991).

Серия оригинальных определителей, опубликованных нами, отличается многовариантным применением; они могут использоваться как классические видовые справочники, а также как макро- и микроструктурные по перу. Они преимущественно предназначены для использования в прикладных идентификационных исследованиях (Силаева и др., 2011, 2013, 2015, 2018). Эти определители построены единообразно: включены подробные сведения о биологии видов (ареал, резидентность, питание, поведение, полет, вокализация, опасность для аэродромов и др.), о полевых признаках. В том числе представлены фотографии крыла; созданы иллюстрации сканированных перьев с указанием птерилий, а также изображения, полученные в СЭМ; в некоторых

случаях приведены рисунки перьев орнитолога и художника В.М. Гудкова. Дано описание макро- и микроструктурных особенностей отдельного покровного пера и выявлены качественные и количественные диагностические признаки.

Изучение перьевых макро- и микроструктур групп перьев, одиночного пера и фрагментов пера

Идентификация по перьевому материалу принципиально отличается от определения птиц в полевых условиях или по целым музейным тушкам, так как необходимо установить таксономическую принадлежность птицы по части ее оперения, иногда по мельчайшему фрагменту. Но этот тестируемый объект находится у исследователя в руках, а не в небе, как у полевых орнитологов. На экспертизу для идентификации таксона птицы чаще всего поступают покровные перья или их фрагменты.

На уровне анатомии и световой микроскопии идентификация пера опирается на качественные и количественные (морфометрические) признаки. В российской пtilологии за основу взят сравнительно-морфологический метод исследования с применением статистического анализа морфометрических данных. На основе созданной в ИПЭЭ РАН системы диагностических признаков (СДП) перьевых структур выявлены микроструктурные особенности одиночного пера, которые используются в прикладных работах по идентификации вида птицы по фрагментам пера, а также как таксономические признаки в рамках нового направления неклассической систематики (Силаева, 2019). Анализ основан на имеющих таксономическую значимость различиях структуры групп перьев, одиночного пера и/или его фрагментов.

Отдельное перо птицы как компартмент оперения образует системный комплекс связанных между собой, частично коррелированных в линейно-метрическом отношении микро- и макро-структурных элементов. Эти элементы отражают как индивидуальную, так и видовую изменчивость оперения особи и могут служить признаками таксона разного ранга, позволяя проследивать филогенетические связи между таксонами.

Задача диагностической пtilологии состоит в определении таких структурных признаков покровных перьев птиц, которые могли бы служить в качестве диагностических. Вслед за целым рядом авторов (Chandler, 1916; Miller, 1924; Ziswiler, 1962; Lucas, Stettenheim, 1972; Dove et al., 2005) нами (Силаева, 2011а,б, 2019; Силаева и др., 2011, 2013, 2015, 2018) подтверждены в качестве диагностических признаков следующие перьевые микроструктуры: элементы пухового луча (узлы с зубцами, междоузлия и их пигментация), ворсин-

Таблица 1. Морфометрические признаки элементов пухового луча покровного пера

№ признака	Признак, ед. измерения	Условное обозначение признака
P1	Плотность узлов (среднее количество узлов на 1 мм длины луча), шт.	$R_{\text{узн}}$
P2	Длина междоузлия, мкм	$l_{\text{межд}}$
P3	Ширина междоузлия, мкм	$w_{\text{межд}}$
P4	Длина узла, мкм	$l_{\text{узн}}$
P5	Ширина узла, мкм	$w_{\text{узн}}$
P6	Длина пухового луча, мм	$l_{\text{луча}}$

ки и флексулы; из макроструктур впервые выявлены дополнительные пуховые образования, а также соотношения некоторых признаков опахала. Следует отметить, что наиболее важными структурами пухового луча являются узлы в качестве соединительных элементов между клетками луча, а также междоузлия. Узлы в основном различаются по форме, размеру, количеству зубцов и плотности расположения на луче. Междоузлия — по длине, ширине, изогнутости и соотносительным характеристикам с соседними узлами. Кроме того, нами были открыты и описаны совершенно новые, неизвестные ранее перьевые структуры, а именно: комбинированные бородки, модифицированные пуховые лучи с удлинёнными опахальцами и т.д. (Силаева, Гуменюк, 2008; Силаева и др., 2010).

Изучение микроструктуры проводят преимущественно на покровных перьях, так как они чаще всего поступают на биологическую экспертизу и вызывают наибольшие затруднения при определении таксона. Нами изучены пуховые и комбинированные бородки (Силаева и др., 2011, 2013, 2015, 2018) с типичными пуховыми лучами из базальной пуховой части опахала контурного или полупухового пера. Преимущественно использованы межлопаточные перья. Число изученных особей каждого вида — 1–12, а число тестируемых перьев — 1–5 от каждой особи. Тестирование проходило в несколько этапов: препаровальная подготовка (отмывка и сушка), микро- и макро-морфометрия, изготовление препаратов и микроскопия, а также изучение перьев в СЭМ.

Поиски видоспецифических признаков перьевых структур ведутся нами комплексно с применением разных методов исследования, с использованием качественных и количественных признаков. Так, с помощью статистического метода анализа многомерных данных нам удалось не только выявить признаки перьевых структур, имеющие диагностическое значение, и продемонстрировать особенности и степень индивидуальной изменчивости структурных компонентов пера в пределах таксонов разного ранга, но и по-

казать филогенетические связи между таксонами, что явилось значительным вкладом в новое направление таксономических исследований на основе морфологии пера.

Метод статистического анализа многомерных данных по микроструктурам пера

Этот метод был впервые применен нами для изучения перьевого материала в 2010 г. (Силаева и др., 2010). Для шести отрядов: Гусеобразные Anseriformes, Курообразные Galliformes, Ржанкообразные Charadriiformes, Голубеобразные Columbiformes, Дятлообразные Piciformes и Воробьинообразные Passeriformes и шести семейств Ржанкообразных птиц: Ржанковые Charadriidae, Бекасовые Scolopacidae, Тиркушковые Glareolidae, Поморниковые Stercorariidae, Чайковые Laridae и Чистиковые Alcidae был проведен идентификационный анализ по количественным признакам микроструктур пера с целью определения филогенетических связей между таксонами (Силаева и др., 2018). Кроме того, мы смогли оценить степень информативности признаков и возможность их дальнейшего использования в качестве диагностических (Вараксин и др., 2003).

Исторически значимыми и точными признаками, которые успешно применяли для идентификации высших таксонов, служили два признака пуховых лучей пера: длина пухового луча и плотность узлов на пуховом луче (Brom, 1986, 1991; Prast et al., 1996). Однако для идентификации птицы до рода и вида двух микроструктурных признаков явно недостаточно. Мы дополнили имеющиеся признаки еще четырьмя новыми (табл. 1, рис. 1) (Силаева и др., 2011, 2013, 2015, 2018).

Эти признаки бегло упоминались в литературных источниках, но системно не применялись (Dove, Agreda, 2007; Yan, Wang, 2009; Dove, Koch, 2010). Таким образом, использовали шесть значимых количественных признаков, полученных в результате микроскопической морфометрии (табл. 1). Вкупе эти компартменты луча образуют единый морфологический комплекс, отражаю-

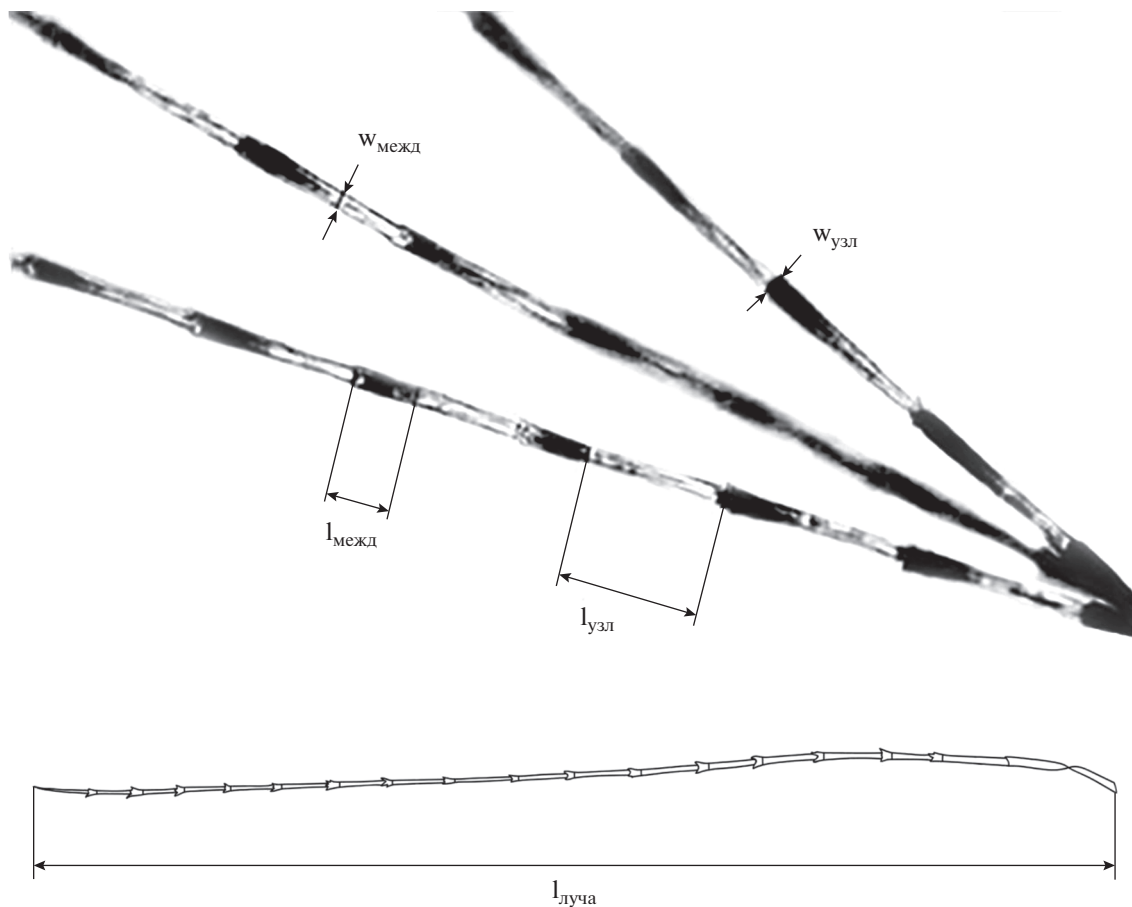


Рис. 1. Морфометрия пуховых лучей покровного пера на примере краснозобика *Calidris ferruginea*. Обозначения: $l_{\text{межд}}$ — длина междуузлия, мкм; $w_{\text{межд}}$ — ширина междуузлия, мкм; $l_{\text{узл}}$ — длина узла, мкм; $w_{\text{узл}}$ — ширина узла, мкм; $l_{\text{луча}}$ — длина пухового луча, мкм; микрофото; увеличение $\times 400$.

ший специфику таксона. Надо отметить, что качественные морфологические данные не нашли применения в филогенетике, возможно, по причине трудности их перевода в количественные (Brom, 1991).

Измерения микроструктур оперения для кластерного анализа проводили в медиальной части луча, где сосредоточены наиболее типичные элементы. Для каждого объекта (одно перо от особи) делали по 10 измерений каждого из шести признаков при увеличении $\times 200\text{--}400$; на одну особь пришлось 60 измерений (рис. 1). Во избежание большой погрешности в измерениях было задействовано минимальное количество операторов (не более двух).

Для статистического анализа сформировали обучающую выборку (ОВ) по шести вышеперечисленным отрядам и шести семействам птиц. В нее вошли данные по проведенным измерениям. ОВ включила все разнообразие набора признаков, которые выявили микроструктурные особенности оперения представленных в ней особей. Репрезентативная выборка состояла из 4060 строк с

числовыми значениями шести признаков. При сегментации ОВ на отряды максимальную информативность обнаружили признаки P2 и P6 (табл. 1); эти признаки, кроме того, оказались слабо коррелированы.

На основании данных ОВ была произведена кластеризация по отрядам (рис. 2). Все кластеры отрядов довольно компактны; исключение составляют Курообразные, кластер которых сосредоточен и деформирован кластером Голубеобразных. Отряд Ржанкообразных занимает промежуточное положение между отрядом Воробьинообразных и отрядом Гусеобразных. В его кластере прослеживаются контуры двух кластеров подотрядов Чайковых и Ржанковых, что будет продемонстрировано ниже данными по сегментации внутри таксона Ржанкообразных (рис. 3). Отряд Дятлообразных оказался внутри кластера Воробьинообразных, проявив родственную связь с ним. Дискуссии по поводу филогении Дятлообразных ведутся уже в течение многих лет; в основном исследователи принимали во внимание остеологические, морфологические и другие

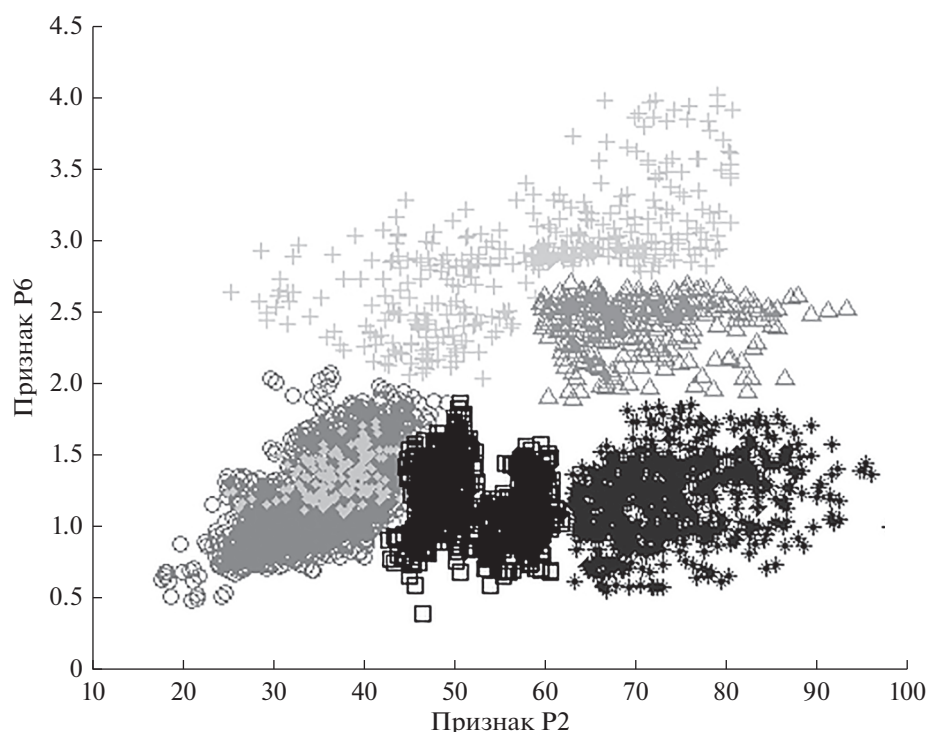


Рис. 2. Визуализация отрядов в пространстве двух некоррелированных информативных признаков P2 и P6. Обозначения: Гусеобразные – *; Курообразные – +; Ржанкообразные – □; Голубеобразные – △; Дятлообразные – ◇; Воробьинообразные – ○.

данные. Перьевые структуры до сих пор играли лишь очень незначительную роль в таксономии, и только в последних работах зарубежных авторов значение морфологических признаков пера возросло (Rijke et al., 2013; Fuller, 2015; Lee et al., 2016; Berglund, Rosvold, 2021). Данные литературы показывают значительное сходство перьевых структур представителей Воробьинообразных и Дятлообразных (Lowe, 1946; Brom, 1991). Диагностическими признаками послужили микроструктуры пухового луча покровных контурных перьев, а именно наличие и форма ворсинок, форма узловых структур, пигментация лучей и др. Результаты этих исследований значительно ослабили гипотезу о монофилии Дятлообразных.

Анализ результатов оценки информативности признаков при сегментации ОВ на семейства внутри отряда Ржанкообразных показал, что в данном случае наибольшей информативностью обладают признаки P1 и P2 (табл. 1, рис. 1, 3). Все шесть семейств достаточно компактны, за исключением Бекасовых, данные которых значительно разбросаны по признаку P1. Удается также увидеть обособленность подотрядов Куликов *Charadrii*, Чайковых и Чистиковых, а семейство Поморниковых хорошо отделилось от Чайковых, хотя кластеры не выглядят четко очерченными. Подотряд Чистиковых, представленный в ОВ родом *Cyclorhynchus* Каур, 1829, группируется в одном

кластере рядом с семейством Чайковых, однако это может быть связано с тем фактом, что подотряд Чистиковых представлен всего одним родом.

Таким образом, в пространстве двух наиболее информативных признаков P2 и P6 в результате кластеризации мы получили визуализацию данных по дифференциации отрядов. Сегментация по отрядам показала хорошее разбиение их на кластеры (рис. 2).

Метод сопоставления макро- и микроструктур эталонного пера с таковыми тестируемого и с экстраполяцией

После проведения морфометрии полученные для изучения перья и/или их фрагменты сопоставляют с коллекционными образцами предполагаемого вида. Сопоставление проводится как с тушками, так и с перьевыми эталонными коллекциями. При наличии только фрагмента пера можно применять метод структурной экстраполяции.

На рис. 4 показано совмещение пера из перьевого биоматериала с эталонным пером грача *Corvus frugilegus* Linnaeus, 1758; в результате определен вид (грач) и птерилия (первостепенное маховое перо).

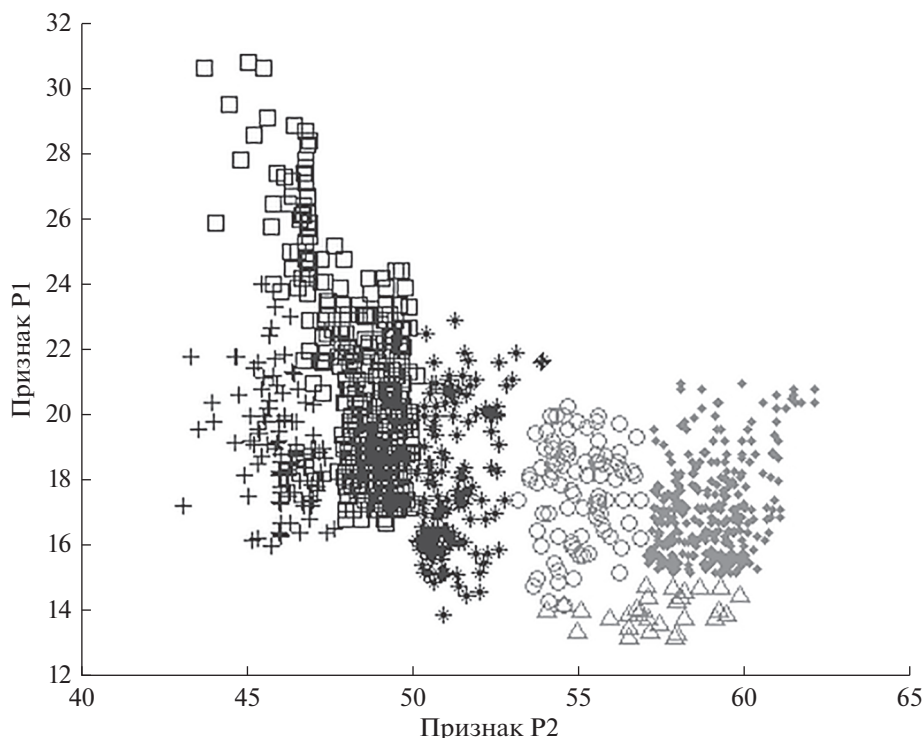


Рис. 3. Визуализация семейств отряда Ржанкообразных в пространстве информативных признаков P1 и P2. Обозначения: Ржанковые – *; Бекасовые – □; Тиркушковы – +; Поморниковы – ○; Чайковые – ◇; Чистиковы – △.

На рис. 5 представлены результаты совмещения микроструктур пуховых лучей тестируемого пера и эталонного пера гуменника *Anser fabalis*. Сходство оценили по нескольким признакам: 1) форма и размер типичных узлов на пуховых лучах; 2) количество типичных и редуцированных узлов на одном луче; 3) наличие изгибов междуузлий.

Эти структурные методы позволили за короткое время без использования молекулярно-генетического анализа обработать большие массивы данных из совместной базы по столкновениям Росавиации и ИПЭЭ РАН. Из 104 инцидентов с ВС в 85% случаев был определен вид, в 7% – семейство, в 7% – два близкородственных вида, лишь в 1% случаев таксон определить не удалось. Структурный метод идентификации вида вошел в комплексный анализ определения вида наряду с молекулярно-генетическим и эколого-географическим.

Поиск диагностических признаков еще далек от завершения. Многие элементы пуховых лучей пока остаются за пределами СДП: очень мало исследованы бородки как контурные, так и пуховые (Fuller, 2015), а также элементы контурных лучей, например, флексулы (Brom, Visser, 1989; Brom, 1991), недостаточно изучены стержневые лучи (Силаева и др., 2013; Lucas, Stettenheim, 1972; Dove, 1999). Ворсинки, например, мы используем пока только как показатели таксонов высшего

ранга и констатируем их наличие, но не можем привлечь данные об их количестве на луче, о конфигурации и расположении на бородке, луче, птерилии. В будущем в качестве еще одного признака можно было бы использовать узловые зубцы, однако пока еще не выработан критерий их оценки. Необходима дальнейшая работа как с уже имеющимися компонентами системы, так и с привлечением новых для понимания того, в какой степени они могут быть полезны для идентификации таксона и в качестве филогенетических признаков.

Несколько примеров экспертиз, выполненных в ЛЭУПП

1) По микроструктурным признакам, выявленным на основе морфологического, морфометрического и эколого-географического анализов перьевого материала проведены экспертизы перьевых остатков из древних отложений для Института истории, археологии и этнографии народов Дальнего Востока ДВО РАН, где проводятся исследования систем жизнеобеспечения древнего человека. По найденным в древних отложениях фрагментам пуховых и контурных бородок в ЛЭУПП ИПЭЭ РАН определены таксоны птиц до уровня отряда и вида. Пуховые лучи пера, собранные с фрагментов керамического сосуда,

Таблица 2. Количественные микроструктурные признаки пуха обыкновенной гаги и белошекой казарки

Признак	Пуховая структура			
	эталонный пух обыкновенной гаги	тестируемый пух	эталонный пух белошекой казарки	тестируемый пух
Длина бородки, мм	21	20	30	29
Количество типичных узлов треугольной формы на пуховых лучах, шт.	3–4	3–4	4–6	4–6
Длина пухового луча, мкм	850	960	2274	2215

принадлежавшего носителям зайсановской культурной традиции Приморья (памятник Клерк-5, палеолагуна 4600–4500 лет назад), являются гнездовым пухом разных видов Гусеобразных, в частности, серого гуся *Anser anser* Linnaeus, 1758 (Пантюхина, Вострецов, 2021).

2) Обнаруженные в древних отложениях (40–26 тыс. лет назад) в Молдове (памятник Брынзе-

ны 1, стоянка Костенки 14) фрагменты пуховых и контурных лучей принадлежат крупным Воробьинообразным птицам, а именно Врановым: по степени вероятности одному из четырех видов: ворон *Corvus corax* Linnaeus, 1758, большеклювая ворона *C. macrorhynchos* Wagler, 1827, грач *C. frugilegus* Linnaeus, 1758 или европейская черная ворона *C. corone* Linnaeus, 1758.

3) Для Автономной некоммерческой организации “Центр по проведению судебных экспертиз и исследований” (АНО “Судебный эксперт”) с целью определения вида птицы проведена сопоставительная биологическая экспертиза перьевого материала двух видов Гусеобразных. По микро- и макроструктурным признакам гнездового пуха с помощью макро- и микроморфометрии установлена видовая принадлежность обыкновенной гаге *Somateria mollissima* Linnaeus, 1758 и белошекой казарке *Branta leucopsis* Bechstein, 1803. Выявленные качественные и количественные макро- и микроструктурные диагностические признаки пуха обоих видов позволили с уверенностью отделить пух одного вида от другого (табл. 2).

Обыкновенная гага. Пуховая структура состоит из бородок бурого цвета, выходящих из короткого стержня; базальные участки бородок в месте выхода из стержня светлые. Бородки короткие.

Белошекая казарка. Пуховые структуры светлые. Базальные концы бородок, выходящих из короткого стержня, в месте выхода почти белые. Бородки очень длинные. Микроструктурные признаки исследуемых видов также отличаются друг от друга (табл. 2).

АЭРОДРОМНАЯ ЭКОЛОГИЯ² И ЭКСПЕРТИЗА ПЕРЬЕВ

Основная задача аэродромной экологии как научно-технического направления состоит в регулировании сложных динамических отношений между человеком, техникой и представителями

² Аэродромная экология – это направление исследований, исходящих из представления, что каждый аэродром является собой биотехнико-социоценоз, характеризующийся определенным набором экологических условий.



Рис. 4. Сопоставление экстраполированного контура тестируемого пера (а) с эталонным маховым пером грача *Corvus frugilegus* (б); фото; масштаб 1 см.

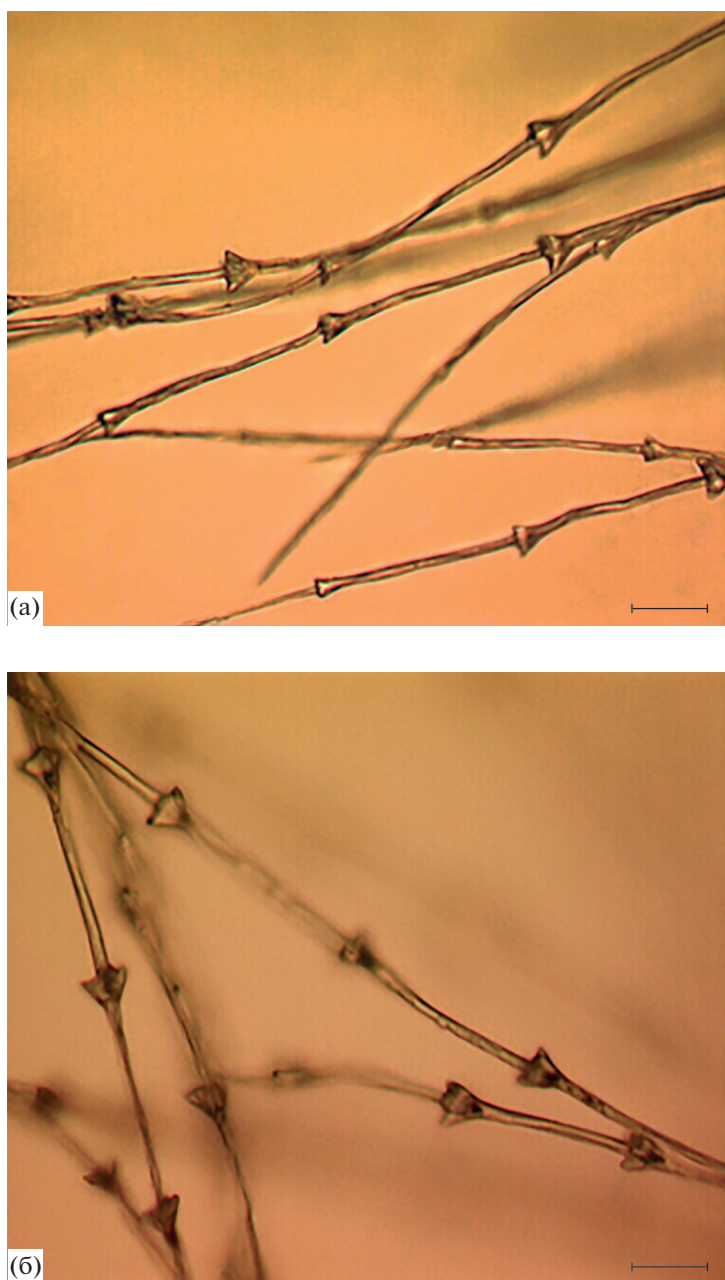


Рис. 5. Сопоставление микроструктурных элементов пуховых лучей эталонного покровного пера гуменника *Anser fabalis* (а) и тестируемого пера (б); микрофото; масштаб 10 мкм.

живой природы в социо-био-экоценозе аэродрома. Аэропорт— это своеобразный стихийный заповедник, удовлетворяющий многим жизненным потребностям птиц и других животных. Более теплая и более освещенная, по сравнению с окружающей средой, взлетно-посадочная полоса предоставляет особенно хорошие возможности для кормежки беспозвоночными; отличный обзор позволяет не стать жертвой хищников. Незначительность или отсутствие беспокойства со стороны людей, наличие мест для гнездования и от-

дыха привлекают как оседлых, так и пролетных птиц. Часто вблизи аэропорта располагаются и другие привлекательные для птиц объекты — сельскохозяйственные поля с зерновыми культурами, водные угодья, свинарники, зверофермы, рыбозаводы, элеваторы, мясокомбинаты и т.п. Очень опасны свалки твердых бытовых отходов, на которых могут кормиться тысячные стаи чаек и Врановых. Маршруты суточных перемещений птиц могут пересекать взлетно-посадочные полосы, и тогда столкновений с ВС не избежать.

Возрастающее количество инцидентов с птицами вызывает озабоченность руководства Минтранса и Росавиации (<https://gulaws.ru/acts/Pismo-Rosaviatsii-ot-29.06.2016-N-AN1.02-2302/>). Определение таксона птицы, участвовавшей в столкновении с ВС, очень важно, поскольку для каждого вида животного как биологического объекта характерно видоспецифическое поведение во взаимоотношениях со средой, которому должны соответствовать средства и методы управления поведением данного вида. Кроме того, необходимо учитывать информацию о массе птицы, которая играет немаловажную роль в столкновении, от нее зависит тяжесть последствий авиационного инцидента. Однако мелкие птицы и летучие мыши могут также причинить значительный вред.

Благодаря нашим идентификационным исследованиям (совместная база данных с ПАО “Аэрофлот”) стали известны следующие факты. Например, в результате столкновения с малым зуйком *Charadrius dubius* Scopoli, 1786 массой в 30–50 г (категория А³) лопатки одного из двигателей ВС были настолько повреждены, что пришлось менять двигатель. Крупная летучая мышь массой 18–40 г, летающая со скоростью около 40–50 км в час, сильно повредила обтекатель радиолокатора ВС. И в этом случае также потребовался дорогостоящий ремонт.

Без определения вида птицы невозможно выработать общую стратегию защиты ВС и определить риски. Соответственно, не будет прямого пути к минимизации столкновений ВС с птицами, а значит, и не удастся достичь конечного результата — сбережения жизни людей и сохранности дорогостоящей авиационной техники.

Необходимо иметь в виду, что не все виды птиц, встречающиеся на аэродромах и в его окрестностях, одинаково опасны для полетов авиации. Кроме того, столкновения происходят не только с фоновыми видами, но и с редкими и уязвимыми. Приоритетное значение во всех работах по минимизации столкновений должно придаваться экологическим методам и управлению поведением птиц, которое подразумевает отвлечение опасных для авиации видов от аэродрома, побуждение их искать другие места для пребывания, но не элиминацию. Птицы — это звено в цепи биоразнообразия орнитофауны страны и ценный биологический ресурс. Большое значение в связи с этим приобретает разработка вероятностных и статистических моделей столкновений с птицами и использование их в практике

аэродромной экологии (Ильичёв и др., 1995; Защита самолетов..., 2007).

В США и странах Европы публикуются идентификационные системы по микроструктурным данным перьевого материала разных видов птиц, которыми могут воспользоваться специалисты в области морфологии пера (Brom, Visser, 1989; Brom, 1991; Prast et al., 1992, 1996, 1998; Shamoun, Yom-Tov, 1996; Yildiz et al., 2009; Lee et al., 2016; D’Alba et al., 2017; Pap et al., 2020). Все остатки биологического происхождения направляются на исследование, которым занимаются профессиональные эксперты. В США, например, в Смитсоновском институте в Вашингтоне определяют остатки птиц после каждого столкновения с ВС. Устанавливают вид столкнувшейся с ВС птицы даже в том случае, если никаких повреждений самолета не было (Reporting..., 2013). Для каждого штата США имеются подробные списки видов птиц, опасных для ВС.

Аналогичная система создается в России. До 2002 г. в России был очень небольшой опыт проведения орнитологических экспертиз (Якоби, 1974; Кошелев и др., 1988; Пыичев et al., 1999). С 2002 по 2014 гг. в результате проведения исследований для аэропортов и авиакомпаний он несколько расширился.

Ситуация изменилась после заключения договора ИПЭЭ РАН с ПАО “Аэрофлот” в 2014 г., идентификационные исследования приобрели системный характер. Содержанием договора стали экспертные исследования вида птицы после столкновения с ВС. С 2015 по 2019 гг. проведено 42 официальных экспертизы по идентификации вида после столкновения ВС с птицами в России и за рубежом (по маршрутам рейсов самолетов ПАО “Аэрофлот”). Эти экспертизы составили ядро уникальной геоинформационной системы безопасности полетов авиации (ГИС БП). Был проведен анализ ГИС БП, рассмотрены причины и факторы, которые привели к появлению особи того или иного вида на аэродроме, даны краткие рекомендации по минимизации столкновений ВС с птицами на конкретных аэродромах. Обнаружено, что большинство столкновений происходит с представителями семейств Ржанкообразных (преимущественно с чайками), Соколообразных Falconiformes и Стрижеобразных Apodiformes. Отмечено, что более 90% столкновений происходит на территории аэропорта или в его окрестностях; при взлете в 1.5 раза чаще, чем при посадке; наибольшее число столкновений приходится на весенне-летнее время и на светлое время суток; от столкновений с птицами страдают преимущественно двигатель, носовая часть и фюзеляж ВС (Силаева и др., 2020).

Идентификационная экспертиза как комплексное исследование включает в себя анализ

³ Весовые категории птиц представлены по рекомендациям Международной организации гражданской авиации: А — масса птицы менее 110 г; В — от 110 до 1810 г; С — от 1810 до 3630 г; D — более 3630 г.

ДНК, а также макро- и микроструктуры группы перьев, одиночного пера или его фрагмента. Исследования структуры пера и ДНК проводят параллельно. Их результаты взаимно дополняют и подтверждают друг друга (Dove et al., 2007). В исследованиях используют также биолого-географический анализ. Он особенно необходим, когда нужно установить географическое место столкновения, что важно для определения ответственности аэропорта за повреждение ВС в результате столкновения.

С 2009 по 2019 гг. было проведено четыре конференции по проблемам авиационной орнитологии, в которых участвовали представители Росавиации и Минобороны РФ. Две научно-технические конференции были организованы сотрудниками ИПЭЭ РАН в 2009 и 2012 гг. (Материалы Первой..., 2009; Материалы Второй..., 2012), две другие “Птицы и полеты авиации” – отраслевой группой “Два крыла” в 2017 и 2019 гг. Целью этих встреч было повышение качества обеспечения орнитологической безопасности полетов, обобщение знаний в области аэродромной экологии, объединение усилий авиационных орнитологов, экологов, сотрудников авиакомпаний и аэропортов, а также других специалистов, работающих в области инженерной и математической экологии, прикладной орнитологии, биомеханики, биоповреждений, аэродинамики и теории полета птиц.

В настоящее время мы собираем данные об индивидуальных эколого-географических условиях аэропорта, связанных с рисками для полетов авиации, сосредоточиваясь в первую очередь на тех аэродромах и путях следования ВС, где происходит наибольшее число столкновений, выявляя проблемные аэродромы с точки зрения биоповреждений птицами и другими животными, и осуществляем паспортизацию аэропорта. Паспорт аэропорта – это описание уникальных взаимоотношений между техническими, биологическими, социальными, географическими и климатическими факторами. Также в паспорт должны быть включены: информация по видам, представляющим наибольшую опасность для полетов авиации в данном аэропорту; сведения о величине популяции вида, стайности, миграционной активности, способности избежать столкновения с ВС, характере и времени пребывания этих видов; общие статистические данные о времени и факторах, с которыми связано наибольшее число столкновений – сезон, время суток, высота и фаза полета. На основе такого паспорта предполагается не только определять параметры биоповреждающих рисков, но и разрабатывать системные тактические и стратегические эколого-технические меры по обустройству территории аэродрома таким образом, чтобы она стала непривлекательной для птиц и других животных.

15 февраля 2020 г. между Росавиацией и ИПЭЭ РАН подписано Соглашение о сотрудничестве, и, в частности, начата совместная обработка базы данных по столкновениям ВС с птицами, включающей в среднем около тысячи сообщений о столкновениях (угрозах столкновений) в год. Начат проект по физико-географическому и климатическому районированию. Цель проекта – понять какие виды, в какие сезоны наиболее опасны в районах и на территориях аэропортов с наибольшим числом столкновений с птицами. Для этого все такие аэропорты будут сгруппированы в зависимости от физико-географического и климатического районирования. Пространственно-типологическая классификация ареалов будет проведена в соответствии с орнитогеографическими и фаунистическими исследованиями (Орнитогеография..., 2009). Таким образом, будет выявлена орнитологическая специфика каждого проблемного аэропорта. Это будет сделано как на общерегиональной основе, так и в зависимости от ландшафтно-биотопических характеристик конкретного аэропорта. На основе этих базовых данных, а также результатов эколого-орнитологического обследования будут даваться рекомендации по мерам предупреждения столкновений с птицами для аэропортов с критической ситуацией по орнитологической безопасности полетов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диагностика таксона птицы по структуре пера перспективна и актуальна, что подтверждают наши оригинальные работы в этом направлении. ЛЭУПП ИПЭЭ РАН – пока единственная лаборатория в России, сотрудники которой проводят такую идентификацию на основе разработанных адекватных методов. Нами показано, что морфология пера может и должна использоваться в качестве таксономического признака в рамках нового направления неклассической систематики, использующего микро- и макроструктурные данные перьев для идентификации вида и систематики. Изучение изменчивости структуры перьев, в конечном счете, будет способствовать пониманию процессов формообразования. Во всяком случае, появилась возможность и необходимость учитывать структурные признаки пера при анализе совокупности черт, характерных для таксонов разного ранга. Результаты проведенных нами исследований показывают неоправданность игнорирования структурных особенностей перьев птиц в филогенетических и таксономических построениях. При этом остается много вопросов и нерешенных задач. Например, совсем немного известно о конвергентных перьевых структурах у неродственных видов, об адаптациях этих структур к экологическим условиям, о внутривидовой изменчивости перьевых характеристик.

Следует также отметить социальную значимость и многоплановость этих прикладных исследований, поскольку в авиационной орнитологии биоповреждения, вызванные птицами, чрезвычайно опасны, так как могут приводить к тяжелым последствиям, связанным не только с потерей дорогостоящего оборудования, но и с гибелью людей. Стоимость ремонта двигателя после столкновения с птицей может достигать 14 млн рублей и более. Жизнь людей не имеет цены.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаем глубокую благодарность руководству и сотрудникам Отдела орнитологии Научно-исследовательского зоологического музея МГУ им. М.В. Ломоносова за помощь в сборе материала. Благодарим также Ю.А. Горохову и Ю.А. Богданову за техническое участие в подготовке рукописи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Государственного задания Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН “51. Экология организмов и сообществ” и “50. 0109-2019-0001. Морфофункциональные адаптации позвоночных”. Экспертиза перьев проведена с использованием оборудования Центра коллективного пользования “Инструментальные методы в экологии” при ИПЭЭ РАН.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атлас-определитель видовой принадлежности птиц по их макро- и микроструктурным фрагментам / Ред. А.И. Кошелев. М.: Воениздат, 1995. 110 с.
- Бородулина Т.Л., Формозов А.Н.* О сигнальных пятнах оперения птиц и особенностях строения перьев вальдшнепа *Scolopex rusticola* // Рус. орнитол. журн. 2015. Вып. 1239. С. 4622–4626.
- Вараксин А.Н., Куренков Н.И., Лебедев Б.Д.* Метод оценки информативности признаков в задачах обработки многомерных данных // Оборон. техн. 2003. № 10. С. 81–84.
- Гаврилов Э.И.* Отряд Рябкообразные // Птицы России и сопредельных регионов: Рябкообразные, Голубообразные, Кукушкообразные, Собообразные / Ред. В.Ч. Ильичев, В.Е. Флинт. М.: Наука, 1993. С. 7–46.

- Защита самолетов и других объектов от птиц. М.: КМК, 2007. 320 с.
- Ильичёв В.Д.* Дополнительные опахала в птерилозисе уха птиц, их строение и функция // Докл. АН. 1962. Т. 144. № 5. С. 1185–1188.
- Ильичёв В.Д., Бирюков В.Я., Нечваль Н.А.* Техничко-экологическая стратегия защиты от биоповреждений. М.: Наука, 1995. 248 с.
- Коблик Е.А., Архипов В.Ю.* Фауна птиц стран Северной Евразии в границах бывшего СССР: списки видов. М.: КМК, 2014. 171 с.
- Корепова Д.А.* Атлас-определитель перьев птиц // Ульяновск: Союз охраны птиц России, 2016. 320 с.
- Костина Г.Н., Соколов В.Е., Романенко Е.В. и др.* Гидрофобность структур пера пингвинов (*Aves, Sphenisciformes*) // Зоол. журн. 1996. Т. 75. Вып. 2. С. 237–247.
- Кошелев А.И., Корзюков А.И., Черничко И.И.* Опыт проведения орнитологических экспертиз в случаях столкновений самолетов с птицами // Проблемы биологического повреждения материалов. Экологические аспекты / Ред. В.Д. Ильичёв. М.: ИЭМЭЖ, 1988. С. 35–44.
- Материалы Первой всероссийской научно-технической конференции “Проблемы авиационной орнитологии”. М.: ИПЭЭ РАН, 2009. 140 с.
- Материалы Второй Всероссийской с международным участием научно-технической конференции “Проблемы авиационной орнитологии”. М.: ИПЭЭ РАН, 2012. 100 с.
- Пантюхина И.Е., Вострецов Ю.Е.* Археология микроостатков: проблемы и перспективы (на примере исследования керамики ранних земледельцев из поселения Клерк-5) // Мат. X Крушановских чтений. 2021, в печати.
- Орнитогеография Палеарктики: современные проблемы и перспективы / Ред. Ю.С. Равкин, Г.С. Джамирзоева, С.А. Букреева. Махачкала: ДГПУ, 2009. 262 с.
- Силаева О.Л.* Определение таксономической принадлежности птицы по одиночным перьям и их останкам // Успехи совр. биол. 2008. № 2. С. 208–222.
- Силаева О.Л.* Функциональное значение дополнительного пера в оперении птицы // В мире науч. откр. 2011а. № 4 (16). С. 268–278.
- Силаева О.Л.* Роль дополнительного пера в системе оперения птицы // Актуальные проблемы экологии и природопользования. Вып. 13. Ч. 1. / Ред. Н.А. Черных. М.: РУДН, 2011б. С. 191–196.
- Силаева О.Л.* Система диагностических признаков кровных перьев птиц отряда Ржанкообразных // Изв. РАН. Сер. биол. 2019. № 6. С. 614–624.
- Силаева О.Л., Гуменюк Г.В.* Особенности структуры пера некоторых Врановых видов птиц // Вестн. МОАЭБП. 2008. Вып. 5 (12). С. 133–140.
- Силаева О.Л., Гуменюк Г.В., Ильичёв В.Д.* Новые данные о структуре пера врановых // Мат. II Междунар. телеконф. “Фундаментальные науки и практика”. 2010. Т. 1. № 3. С. 71–73.
- Силаева О.Л., Ильичёв В.Д., Чернова О.Ф.* Определитель птиц по перу и его фрагментам. Отряд Воробьино-

- образные (Passeriformes). Семейство Врановые (Corvidae). Berlin: LAP, 2011. 306 с.
- Силаева О.Л., Ильичёв В.Д., Чернова О.Ф., Вараксин А.Н. Определитель птиц по перу и его фрагментам. Отряды: Курообразные (Galliformes), Голубеобразные (Columbiformes), Рябкообразные (Pterocletiformes). М.: ИПЭЭ, 2013. 120 с. + CD-ROM.
- Силаева О.Л., Чернова О.Ф., Вараксин А.Н. Определитель птиц по перу и его фрагментам. Отряд Гусеобразные (Anseriformes). М.: ИПЭЭ, 2015. 269 с. + CD-ROM.
- Силаева О.Л., Чернова О.Ф., Букреев С.А., Вараксин А.Н. Определитель птиц по перу и его фрагментам. Отряд Ржанкообразные (Charadriiformes). М.: КМК, 2018. 385 с.
- Силаева О.Л., Холодова М.В., Свиридова Т.В. и др. Исследования столкновений воздушных судов с птицами по данным экспертиз 2002–2019 гг. // Изв. РАН. Сер. биол. 2020. № 6. С. 636–645.
- Чернова О.Ф., Фадеева Е.О. Своеобразная архитектура перьев эму (*Dromaeus novaehollandiae*) // Докл. АН. 2009. Т. 425. № 5. С. 713–717.
- Чернова О.Ф., Коблик Е.А. Древненёбные птицы // Очерки филогении, систематики, биологии, морфологии и хозяйственного использования / Ред. О.Ф. Чернова, Е.А. Коблик. М.: КМК, 2010. 212 с.
- Якоби В.Э. Биологические основы предотвращения столкновений самолетов с птицами. М.: Наука, 1974. 166 с.
- Atlas of feathers for Western Palearctic birds [electronic resource, URL: <https://www.nhbs.com/3/series/atlas-of-feathers-for-western-palearctic-birds>]. Date of request 13.05.2021.
- Berglund B., Rosvold J. Microscopic identification of feathers from 7th century boat burials at Valsgarde in Central Sweden: specialized long-distance feather trade or local bird use? // J. Archaeol. Sci. 2021. V. 36. P. e102828.
- Bergmann H.-H. Vogelfedern an Nord- und Ostsee. Finden und Bestimmen. Wiebelsheim: Quelle & Meyer Verlag, 2010. 157 S.
- Bergmann H.-H. Vogelfedern an Flüssen und Seen. Finden und Bestimmen. Wiebelsheim: Quelle & Meyer Verlag, 2012. 201 S.
- Bergmann H.-H. Die Federn der Vögel Mitteleuropas: ein Handbuch zur Bestimmung der wichtigsten Arten. Wiebelsheim: Aula-Verlag, 2015. 632 S.
- Brom T.G. Microscopic identification of feathers and feather fragments of Palearctic birds // Bijdragen tot de Dierkunde. 1986. Bd. 56. S. 181–204.
- Brom T.G. The diagnostic and phylogenetic significance of feather structures // Publ. PhD. Thesis. Univ. Amsterdam. 1991. 279 p.
- Brom T.G., Visser H. The phylogenetic significance of the feather character “flexules” // Neth. J. Zool. 1989. V. 39. P. 226–245.
- Chandler A.C. A study of the structure of feathers with reference to their taxonomic significance // Univ. Calif. Publ. 1916. V. 13. P. 243–446.
- D’Alba L., Carlsen T.H., Asgeirsson Á. et al. Contributions of feather microstructure to eider down insulation properties // J. Avian Biol. 2017. V. 48. P. 1150–1157.
- Dove C.J. Feather identification and a new electronic system for reporting us air force bird strikes / First Joint Annual Meeting. Vancouver, BC: Bird Strike Committee-USA/Canada, 1999. P. 1–7.
- Dove C.J., Agreda A. Differences in plumulaceous feather characters of dabbling and diving ducks // Condor. 2007. V. 109. P. 192–199.
- Dove C.J., Koch S. Microscopy of feathers: a practical guide for forensic feather identification // JASTEE. 2010. V. 1. Iss. 1. P. 15–61.
- Dove C.J., Hare P.G., Heacker M. Identification of ancient feather fragments found in melting Alpine ice patches in Southern Yukon // Arctic. 2005. V. 58. № 1. P. 38–43.
- Dove C.J., Rotzel N.C., Heacker M., Weigt L.A. Using DNA barcodes to identify bird species involved in birdstrikes // J. Wildlife Manag. 2007. V. 72. P. 1231–1236.
- Fadeeva E.O. Features of the architectonics of the microstructure of the primary remex of Owls (Strigiformes) due to the specifics of the flight // Proc. Nat. Acad. of Belarus. Biol. Ser. 2021. V. 66. № 2. P. 232–246.
- Fuller M.E. The structure and properties of down feathers and their use in the outdoor industry (Ph.D. dissertation). University of Leeds, 2015. 253 p.
- Hansen W., Synnatzschke J. Bestimmungsbuch für Rumpfungen und Mauserfedern. Teil 1 (15): Vögelarten mit Steuerfedern von 135–154 mm Länge. Teil 1 (16): Vögelarten mit Steuerfedern von 155–177 mm Länge // Beitr. Naturkd. Niedersachsens. 1998. Bd. 51. S. 1–130.
- Hansen W., Synnatzschke J. Die Steuerfedern der Vogel Mitteleuropas. The Tail Feathers of the Birds of Central Europe. CreateSpace Independent Publishing Platform, 2015. 828 S.
- Ilyichev V.D., Nechval N.A., Birjukov V.Y. A general statistical approach to identification of bird remains after collision between aircraft and birds // Proc. 20 Meet. BSCE. Helsinki, 1999. P. 169–178.
- Joubert C.S.W., Maclean G.L. The structure of the waterholding feathers of the Namaqua Sandgrouse // Zool. Afr. 1973. V. 8. № 2. P. 141–152.
- Koch U.R., Wagner H. Morphometry of auricular feathers of Barn Owls (*Tyto alba*) // Eur. J. Morphol. 2002. V. 40. P. 15–21.
- Lee J.S., Sarre D., Joseph L., Robertson J. Microscopic characteristics of the plumulaceous feathers of Australian birds: a preliminary analysis of taxonomic discrimination for forensic purposes // Austral. J. Forensic Sci. 2016. V. 48. № 4. P. 421–444.
- Lowe P.R. On the systematic position of the woodpeckers (Picci), honey-guides (Indicator), hoopoes and others // Ibis. 1946. V. 88. P. 103–127.
- Lucas A.M., Stettenheim P.R. Avian anatomy. Integument. Pt 2. Washington: US Dept. Agricult., 1972. 750 p.
- Miller W. DeW. Variations in the structure of the aftershaft and their taxonomic value // Amer. Mus. Novitates. 1924. V. 140. P. 1–7.
- Pap P.L., Osvath G., Daubner T. et al. Down feather morphology reflects adaptation to habitat and thermal conditions across the avian phylogeny // Evolution. 2020. V. 74 (10). P. 2365–2376.

- Perremans K.* Diversity of featherprints in the Charadriiformes and Anseriformes // Bird Strike Committee Europe 21, WP22. Jerusalem, 1992. P. 199–212.
- Prast W., Roselaar C.S., Schalk P.H., Wattel J.* A computer based bird remains identification system // Proc. 22-nd Meeting Bird Strike Comm. Europe (Vienna, 2 september 1992). 1992. P. 523–525.
- Prast W., Shamoun J., Bierhuizen B. et al.* BRIS: a computer based bird remains identification system. Further developments // Birds of Europe. Amsterdam: ETI, 1996. CD-ROM.
- Prast W., Blok M., Roselaar C.S., Schalk P.H.* Digital feathers. Extension of BRIS with macroscopic feather characters // Inter. Bird Strike Comm. 1998. V. 24. P. 125–131.
- Reporting Wildlife Aircraft Strikes AC 150/5200-32B / Federal Aviation Administration, 2013. [electronic resource, URL: https://www.faa.gov/airports/resources/advisory_circulars/index.cfm/go/document.current/documentNumber/150_5200-32]. Date of request 17.05.2021.
- Rijke A.M., Jesser W.A., Schaal St.F.K.* Can the substructure of fossil feathers provide taxonomic information? // J. Ornithol. 2013. V. 154. P. 663–670.
- Ruxton G., Persons W.S., Currie Ph.J.* A continued role for signaling functions in the early evolution of feathers // Evolution. 2017. V. 71. P. 797–799.
- Shamoun-Baranes J.* Bird remains identification system (BRIS) – from a bi-national to a global database. 2021.
- Shamoun J., Yom-Tov Y.* Five years of feather identification for the Israeli Air Force // Proc. 23rd Meeting Bird Strike Comm. Europe (London, 13–17 May 1996). 1996. P. 189–195.
- Stettenheim R.R.* Structural adaptations in feathers // Proc. 16th Int. Ornithol. Cong. (Canberra, 12–17 august 1974). Canberra: Aust. Acad. Sci., 1976. P. 385–401.
- Stettenheim R.R.* The integumentary morphology of modern birds – an overview // Am. Zool. 2000. V. 40. № 4. P. 461–477.
- Weger M., Wagner H.* Distribution of the characteristics of barbs and barbules on barn owl wing features // J. Anat. 2017. V. 230. P. 734–742.
- Wolf B., Walsberg G.E.* The role of the plumage in heat transfer processes of birds // Integr. Comp. Biol. 2000. V. 40. № 4. P. 575–584.
- Yan X., Wang Y.* A feather and down category recognition system based on GA and SVM // Proc. Int. Conf. on Educ. Tech. and Comp. (Singapore, 17–20 April 2009). Washington: IEEE Computer Society, 2009. P. 128–132.
- Yildiz D., Bozkurt E.U., Akturks S.H.* determination of goose feather morphology by using SEM // J. Anim. Veterin. Adv. 2009. № 8 (12). P. 2650–2654.
- Ziswiler V.* Die Afterfeder der Vögel. Untersuchungen zur Morphogenese und Phylogenese des sogenannten Afterschaftes // Zool. Jahrb. Abt. Anat. 1962. Bd. 80. S. 245–308.

The Current State of Identification Ptilology in Russia

O. L. Silaeva^{a, *} and O. F. Chernova^{a, **}

^a*Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Moscow, Russia*

**e-mail: sevinbirdstrike@yandex.ru*

***e-mail: chernova@sevin.ru*

The review article is devoted to topical applied and fundamental issues of ptilology – the science of bird feather cover, in particular, the problem of identifying birds by whole feathers and their microscopic remains. Identificational ptilology is developing in close cooperation with aviation ornithology. The article considers, respectively, the influence of identificational ptilology on aviation ornithology, the development of applied, organizational and strategic issues of the latter. The article contains an analysis of foreign and domestic literature of both directions. A system of diagnostic features of a single feather has been developed, several new feather elements have been described, and information on known feather structures has been supplemented. Using mathematical methods (clustering based on morphometric data of feather microstructural compartments), the phylogenetic relationships between higher and middle rank taxa were determined. Specific examples of taxonomic identification of feathers by micro- and macrostructure are given, and the role of some features of the microscopic structure of feathers for examination and phylogenetic constructions is determined. The role of bird collections and bird identification systems based on macro – and microstructure of feathers for identification studies of feather material is determined. The applied and scientific ways of solving the problems of airfield ecology, namely, the protection of aircraft from biological damages caused by birds, are considered. The need to identify species involved in collisions with aircraft is noted. A project on physical, geographical and climatic zoning was started. The aim of the project is to identify the most dangerous bird species for aviation flights in the areas and territories of airports in different seasons of the year. Complex systems of bird species identification based on feather remains have been developed for aviation ornithology, which includes analysis of feather structure material, ecological-geographical and molecular genetic analyses. The method allows processing large data sets exclusively on the structure of feathers groups, a single feather or its fragments.

Keywords: aviation ornithology, identifying feather remains, feather microstructure, ptilology

УДК 633.111.1:575.113.2

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ ХЛЕБОПЕКАРНЫХ КАЧЕСТВ ЗЕРНА И АЛЛЕЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ *waxy*-ГЕНОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

© 2021 г. А. А. Галимова¹, *, Б. Р. Кулуев¹

¹Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия

*e-mail: aiz.galimova@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.12.2020 г.

После доработки 22.03.2021 г.

Принята к публикации 22.03.2021 г.

Мягкая пшеница является наиболее востребованной пищевой культурой в мире и занимает огромные посевные площади. Хлебопекарные качества данной культуры определяют пищевую и коммерческую ценности ее сортов. Улучшение качества зерна по хлебопекарным показателям – важнейший приоритет как для классической, так и для маркер-ориентированной селекции мягкой пшеницы. Данные качества определяются большим числом генов и к тому же подвержены влиянию агроэкологических факторов. Средовые условия, усиливая либо ослабляя наследственный компонент, часто затрудняют выделение генетического фактора по конкретному признаку. Однако средовая изменчивость нивелируется при наличии какого-либо лимитирующего фактора (продолжительные низкие и высокие температуры, засуха, обилие осадков, недостаток минерального питания и т.д.), при котором раскрывается генетический потенциал признака и определяет генетические факторы в качестве основных детерминант развития признака. В начале обзора вкратце описаны некоторые гены, вовлеченные в реализацию хлебопекарных качеств зерна мягкой пшеницы, которые в большинстве своем зависят от белкового и углеводного компонентов, ферментного состава. Основная часть статьи посвящена генам углеводного компонента, а именно *waxy*-генам, определяющим амилозо-амилопектиновый состав зерна мягкой пшеницы, который, в свою очередь, является одним из важных факторов высоких хлебопекарных качеств зерна. В обзоре описаны аллели генов *waxy*, обуславливающие соотношение амилозы и амилопектина в крахмале зерна мягкой пшеницы. Для наиболее известных аллелей гена *waxy* приведены функциональные SNP-маркеры (single nucleotide polymorphism) с подобранными к ним праймерами и эндонуклеазами рестрикции. Эти данные будут полезны при маркер-ориентированной селекции, поскольку селекционерам весьма трудно контролировать хлебопекарные качества мягкой пшеницы без применения современных методов молекулярной генетики. Вследствие чего при классической селекции некоторые сорта пшеницы могут терять свои высокие хлебопекарные качества. Это определяет актуальность работ по поиску и изучению SNP-маркеров хлебопекарных качеств мягкой пшеницы в генах *waxy*, в том числе по уже известным функциональным маркерам хлебопекарных качеств.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, SNP-маркеры, функциональные ДНК-маркеры, маркер-ориентированная селекция

DOI: 10.31857/S004213242106003X

ВВЕДЕНИЕ

Хлебопекарные качества зерна являются важнейшими хозяйственно-ценными признаками мягкой пшеницы и зависят от функционирования большого числа генов. Геном мягкой пшеницы, несмотря на то, что это одна из самых востребованных продовольственных культур, до сих пор остается малоизученным. Трудоемкость геномных исследований мягкой пшеницы обусловлена сложностью ее генома, состоящего из геномов трех разных организмов (BBAADD). Аллогексаплоидный геном пшеницы образован в ходе естественной гибридизации трех геномов близкородственных видов трибы пшеницевых Triticeae.

Triticum urartu Thum. – донор субгенома А; *Aegilops tauschii* Coss. – донор субгенома D. Наиболее вероятным донором субгенома В является *Aegilops speltoides* Tausch (Marcussen et al., 2014). Таким образом, доноры субгеномов А, В и D – родственные виды, что обуславливает присутствие большинства генов в геноме мягкой пшеницы в виде так называемых гомеологичных копий. Многокопийность генов, большой размер и сложная организация генома пшеницы значительно затрудняют как полногеномное секвенирование, так и идентификацию нуклеотидных последовательностей отдельных генов. На настоящий момент большинство работ по исследованию генома пшеницы посвя-

щены функциональному описанию секвенированных нуклеотидных последовательностей, составлению физических и генетических карт хромосом диплоидных и полиплоидных видов пшениц, изучению филогенетики и составлению родословных (Yan et al., 2000; Zhang et al., 2004; Zimin et al., 2017). Как результат, аннотированы многие важнейшие гены пшеницы, в том числе потенциально вовлеченные в реализацию хлебопекарных качеств; в целом накоплен большой объем знаний по данной тематике. Известно, что наибольший вклад в обеспечение высоких хлебопекарных качеств зерна мягкой пшеницы вносят гены белков клейковины – глиадинов и глютенинов (Чеботарь и др., 2012; Обухова, Шумный, 2018; Wang et al., 2017). Наряду с генами запасных белков немаловажными являются гены, определяющие качественный состав крахмала. Проведено множество исследовательских работ, в которых выявлены различные аллельные состояния генов *waxy*, определяющих качество крахмала (Guzmán, Alvarez, 2012; Yamamori, Guzmán, 2013; Ayala et al., 2015). Вместе с тем, обзорные работы, охватывающие весь объем имеющихся в настоящее время знаний по генам *waxy*, отсутствуют. Имеется лишь одна работа 2016 г. (Guzmán, Alvarez, 2016). Но с тех пор уже было получено множество новых результатов в этой области. Поэтому главной целью обзора стала систематизация накопленных знаний по генам *waxy*, а также описание известных функциональных SNP-маркеров генов *waxy* разных субгеномов.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СОСТАВЛЯЮЩАЯ ХЛЕБОПЕКАРНЫХ СВОЙСТВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Для успешной маркер-ориентированной селекции мягкой пшеницы по хлебопекарным качествам необходимы знания о соответствующих генах, аллелях и мутациях в генах. В обеспечении хлебопекарных качеств зерна мягкой пшеницы среди множества факторов наибольшее значение имеют гены белкового компонента (гены *gli-1*, *gli-2*, *glu-1*, *glu-3* и др.), гены углеводного компонента (*waxy*-гены и др.) и гены комплекса ферментов амилаз (гены α -*amy-1*, α -*amy-2*, β -*amy-1*, β -*amy-2* и др.) (табл. 1).

Клейковина белкового компонента состоит в основном из двух белков – глиадина и глютенина. Деление на эти группы основано на их способности растворяться в спирте (Gupta, Shepherd, 1990): глиадины – спирторастворимые соединения, простые, мономерные белки с молекулярной массой 30–78 кДа; глютенины – не растворимые в спирте высокомолекулярные белки с массой до нескольких десятков миллионов дальтон (D’Ovidio, Masci, 2004). Глиадины подразделяют на α -, β -, γ - и ω -глиадины в соответствии с их электро-

форетической подвижностью, глютенины – на высокомолекулярные HMW (high molecular weight) и низкомолекулярные LMW (low molecular weight) (Shewry, Halford, 2002). Глиадины кодируются мультигенным семейством генов в трех гомологичных локусах хромосомы 1 – *gli-A1*, *gli-B1*, *gli-D1* и хромосомы 6 – *gli-A2*, *gli-B2*, *gli-D2* (Ozuna et al., 2015). Гены глютенинов располагаются на хромосомах первой гомеологичной группы. При этом гены высокомолекулярных глютенинов обозначаются как *glu-1* (*glu-A1*, *glu-B1*, *glu-D1*), а гены низкомолекулярных – как *glu-3* (*glu-A3*, *glu-B3*, *glu-D3*) (Zhang et al., 2004). Для генов глиадинов и глютенинов характерны аллели, определяющие высокие и низкие показатели продуктивности, качества зерна, адаптивного потенциала (Конарев и др., 2000).

Крахмал – базовая составляющая углеводного компонента – состоит из амилозы и амилопектина, соотношение которых в составе зерна влияет на хлебопекарные качества муки. Ключевой фермент синтеза амилозы эндосперма – гранулосвязанная крахмальная синтаза GBSS (granule-bound starch synthase) – кодируется генами, получившими название *waxy*. Аллогексаплоидная природа мягкой пшеницы обуславливает наличие трех изоформ *waxy*-белка (*wx-A1*, *wx-B1*, *wx-D1*) (Nakamura et al., 1993). Данные изоформы кодируются гомеологичными генами *wx-A1*, *wx-B1*, *wx-D1*, расположенными на коротком плече седьмой хромосомы субгенома А (7AS), на длинном плече четвертой хромосомы субгенома А (4AL) и на коротком плече седьмой хромосомы субгенома D (7DS) соответственно (Nakamura et al., 1993, 1995). Гены *wx-A1*, *wx-B1*, *wx-D1* имеют аллели, кодирующие функционально активные *wx*-белки, и нуль-аллели, блокирующие синтез *wx*-белка (Delwiche, Graybosch, 2002). Крахмал *waxy*-мутантных пшениц, имеющих нуль-аллели по всем трем *waxy*-генам, полностью состоит из амилопектина.

Для этих мутантных растений характерно снижение показателя качества хлеба – числа падения, или индекса Хагберга, а также чрезмерная повреждаемость крахмальных гранул, что приводит к снижению выхода муки при размоле (Yasui et al., 1997).

Амилолитические ферменты относят к группе белков с высокой степенью полиморфизма. Известно, что α -амилаза контролируется локусами, расположенными в шести и семи хромосомах всех гомеологичных групп (Mrva, Mares, 1999). При этом гены, находящиеся в шести хромосомах соответствующих геномов, обозначают символами α -*amy-A1*, α -*amy-B1*, α -*amy-D1*, а локусы семи хромосом – α -*amy-A2*, α -*amy-B2*, α -*amy-D2* (Gale et al., 1983). Синтез β -амилазы кодируется тремя локусами (Рыбалка, Созинов, 1980), которые от-

Таблица 1. Основные гены, вовлеченные в реализацию хлебопекарных качеств зерна мягкой пшеницы

Ген	Локализация	Белок	Функция	Источник
<i>waxy</i>	7AS (<i>wx-A1</i>) 4AL (<i>wx-B1</i>) 7DS (<i>wx-D1</i>)	waxy-белок	Синтез амилозы	Nakamura et al., 1993
<i>gli-1</i>	1AS (<i>gli-A1</i>) 1BS (<i>gli-B1</i>) 1DS (<i>gli-D1</i>)	γ-, δ- и ω-глиадины	Входит в состав клейковины	Anderson et al., 2012
<i>gli-2</i>	6AS (<i>gli-A2</i>) 6BS (<i>gli-B2</i>) 6DS (<i>gli-D2</i>)	α-глиадины		Li et al., 2013
<i>glu-1</i>	1AL (<i>glu-A1</i>) 1BL (<i>glu-B1</i>) 1DL (<i>glu-D1</i>)	Высокомолекулярные глутенины		Zhang et al., 2004
<i>glu-3</i>	1AS (<i>glu-A3</i>) 1BS (<i>glu-B3</i>) 1DS (<i>glu-D3</i>)	Низкомолекулярные глутенины		
<i>α-amy-1</i>	6AL (<i>α-amy-A1</i>) 6BL (<i>α-amy-B1</i>) 6DL (<i>α-amy-D1</i>)	Ферменты группы α-амилаз	Расщепление крахмала до декстринов	Mrva, Mares, 1999; Gale et al., 1983
<i>α-amy-2</i>	7AL (<i>α-amy-A2</i>) 7BL (<i>α-amy-B2</i>) 7DL (<i>α-amy-D2</i>)			
<i>β-amy-1</i>	4AL (<i>β-amy-A1</i>) 4DL (<i>β-amy-D1</i>)	Ферменты группы β-амилаз	Расщепление амилозы до мальтозы	Ainsworth et al., 1985
<i>β-amy-2</i>	5AL (<i>β-amyA2</i>)			

несены в две группы и обозначены как *β-amy-1* и *β-amy-2*. Лocus *β-amy-1* расположен в хромосомах 4A (*β-amy-A1*) и 4D (*β-amy-D1*); locus *β-amy-2* – в хромосоме 5A (*β-amy-A2*). Для каждого локуса идентифицированы по несколько аллелей (Ainsworth et al., 1983).

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АЛЛЕЛИ *waxy*-ГЕНОВ

Качество крахмала, фракция которого составляет около 70% от общего количества сухого вещества зерна, определяется соотношением амилозы и амилопектина – двух его основных макромолекул. Присутствие полимеров в пшенице варьирует в пределах: 22–35% для амилозы и 68–75% для амилопектина. Крахмал синтезируется внутри амилопласта и хранится в гранулах, в которых обнаружено несколько белков, называемых белками крахмальных гранул SGP (starch granule protein). Было описано десять SGP: пять поверхностных SGP с молекулярной массой 5–30 кДа и пять интегральных SGP с молекулярной массой 59–149 кДа (Schofield, Greenwell, 1987). Основные ферменты синтеза крахмала относятся ко второй

группе: гранулосвязанная крахмальная синтаза I (GBSSI, или *waxy*), крахмальная синтаза I (SSI, или SGP-3), крахмальная синтаза II (SSII, или SGP-1) и фермент, разветвляющий крахмал I (SBEI, starch-branching enzymes, или SGP-2). В синтезе амилопектина задействованы, по меньшей мере, три крахмал-синтазы (SSI, SSII, SSIII), несколько ферментов, увеличивающих и уменьшающих ветвление. Напротив, синтез амилозы в эндосперме пшеницы осуществляется только с помощью GBSSI, или *waxy*-белка, что продемонстрировано при создании первых не содержащих амилозу форм пшениц (*waxy*-пшениц), или содержащих ее в очень низких количествах (менее 3%) (Nakamura et al., 1995). Первое исследование гена *waxy* проведено на кукурузе, в которой обнаружены его нуль-аллели, произошедшие из-за вставки мобильных генетических элементов внутрь гена (Shure et al., 1983). Позднее исследованы гены *waxy* других видов культурных растений: ячменя (Rohde et al., 1988), картофеля (Visser et al., 1989), гороха посевного (Dry et al., 1992). В первых исследованиях данного гена у пшеницы (Clark et al., 1991) определена последовательность кДНК *waxy*-гена, однако принадлежность

изученного гена к определенному субгеному *T. aestivum* в то время не была установлена. Позднее удалось осуществить дифференциацию и характеристику трех *waxy*-генов (Murai et al., 1999), сходство нуклеотидных последовательностей между тремя гомеологичными генами *wx-A1*, *wx-B1* и *wx-D1* составило 95.6–96.3%, каждый из этих генов состоит из 12 экзонов и 11 интронов (Yan et al., 2000). Каждый из *waxy*-генов имеет несколько аллелей: аллель (*a*), кодирующий синтез активного белка *waxy*; нуль-аллель (*b*), при котором синтез функционального белка *waxy* отсутствует; аллели, кодирующие наработку белков *waxy* с разной степенью ферментативной активности. В табл. 2 приведен перечень наиболее известных аллелей генов *waxy*, праймеры и рестриктазы для их идентификации на основе SNP-маркеров.

При наличии мутации *waxy* в одном из гомеологичных генов, оставшиеся функциональные гены частично компенсируют дисфункцию мутантного нулевого аллеля. Хотя *waxy*-нулевые аллели вызывают относительно небольшое снижение амилозы крахмала (при наличии одного нуль-аллеля *waxy*-гена доля амилозы в составе крахмала снижается до 22.2–23.6%, при наличии двух нуль-аллелей – до 17.0–18.5%), их наличие приводит к заметным различиям в степени набухания крахмальных гранул и склеивания крахмала и к изменениям других физических и реологических свойств (Graybosch, 1998; Morris et al., 2020).

К настоящему времени наибольшее количество аллелей найдено для гена *wx-A1* (табл. 2). За аллель дикого типа принят аллель *wx-A1a*, который кодирует синтез функционально активного *waxy*-белка. Нуль-аллель *wx-A1b* содержит делецию 23 п.н. в первом экзон-интронном переходе (Vrinten et al., 1999) и приводит к отсутствию белка *wx-A1*. Для идентификации аллелей *wx-A1a* и *wx-A1b* часто используют пару праймеров, подбирая один из праймеров таким образом, чтобы он был комплементарен делетированному участку и не отжигался на матричной ДНК. В результате, в случае аллеля *wx-A1a* целевой продукт ПЦР нарабатывается, а в случае аллеля *wx-A1b* – отсутствует. В популяциях мексиканских сортов хлебной пшеницы был выявлен еще один нуль-аллель гена *wx-A1*, при котором имеется делеция 738 п.н. Данный аллель был каталогизирован с предварительным названием *wx-A1o* (Guzmán et al., 2015). Приведенная в табл. 2 пара праймеров для выявления аллеля *wx-A1o* способна образовывать продукты реакции двух размеров: ампликон размером 709 п.н. соответствует искомому аллелю *wx-A1o*, ампликон размером 1447 п.н. – аллелю дикого типа *wx-A1a*. В исследованиях, проводимых на популяциях турецкой хлебной пшеницы, обнаружено наличие вставки из 173 п.н. в четвертом экзоне гена *wx-A1*. Данная вставка приводит к наруше-

нию рамки считывания, генерирует преждевременный стоп-кодон и, вероятно, приводит к образованию усеченного белка. Этот аллель известен как *wx-A1f* (Saito et al., 2004). Аллель, каталогизированный как *wx-A1h*, обнаружен в геноме твердой пшеницы *Triticum durum*. Он приводит к отсутствию белка *wx-A1* и связан с делецией одного нуклеотида, которая приводит к сдвигу рамки считывания и появлению преждевременного стоп-кодона (Vanzetti et al., 2010). Идентификация аллеля *wx-A1h* возможна с использованием пары праймеров *Wx-A2L/Wx-A2R* (табл. 2). В ходе ПЦР образуются ампликоны размером 489 п.н., что характерно как для аллеля *wx-A1h*, так и для аллеля *wx-A1a*. Точное выявление аллеля возможно посредством обработки рестриктазой *Sau96I*: аллель *wx-A1h* не расщепляется данной рестриктазой, в случае аллеля *wx-A1a* образуются фрагменты размером 252 и 238 п.н. Описанные аллели *wx-A1b*, *wx-A1f*, *wx-A1h* и *wx-A1o* являются нуль-аллелями, приводящими к отсутствию *waxy*-белка.

В случае аллелей *wx-A1b*, *wx-A1h* и *wx-A1o* это связано с делецией участка гена, в случае аллеля *wx-A1f* – со вставкой нуклеотидной последовательности. Данная вставка имеет характеристики мобильных генетических элементов, которые могут повлиять на посттранскрипционное созревание генов и, следовательно, на их экспрессию (Cai et al., 1998). Описан (Caballero et al., 2008) аллель гена *wx-A1* с пониженной экспрессией и низким уровнем белка *wx-A1*, каталогизированный как *wx-A1g* и имеющий вставку длиной 160 п.н. Выявление данного аллеля возможно с использованием праймеров *wx-A1 DiagF/wx-A1 DiagR* с последующей обработкой рестриктазой *ApoI* (табл. 2). Фенотипическое проявление данного аллеля выражается в уменьшении конечного количества белка *wx-A1* в зерне. Предполагается, что вставка влияет на созревание первичных транскриптов из-за абберантного сплайсинга. Относительно недавно охарактеризованный аллель *wx-A1i* также связан с наличием транспонируемых элементов. Однако необходимо отметить, что в случае этого аллеля вставка длиной 376 п.н. находится в 3'-нетранслируемой области и, возможно, приводит к снижению экспрессии гена *wx-A1*. Пара праймеров 3'FR2/3'FR1 для идентификации аллеля *wx-A1i* дает продукты ПЦР двух размеров, включая как искомую аллель, так и *wx-A1a* (табл. 2). Аллель *wx-A1c* характеризуется наличием двух SNP: первая SNP – в положении 1804 восьмого экзона, вторая SNP – в позиции 2042 девятого экзона. Данные изменения могут быть связаны с пониженной ферментативной активностью белка *wx-A1* (Yamamoto, Guzmán, 2013). Выявление аллеля *wx-A1c* также возможно с помощью рестриктазного анализа при помощи фермента *BseRI*: в случае искомого аллеля *wx-A1c* образуются 4

Таблица 2. Аллели генов *wx*, праймеры и рестриктазы для их идентификации

Аллель	№ доступа GenBank	Праймеры, 5' → 3'	Длина ампликона, п.н.	Рестриктаза (размеры фрагментов, п.н.)	Источник
<i>wx-A1a</i>	AB019622 (<i>T. aestivum</i>)	Wx-7A-F1 GTAAGCTTGGCCSACTGC Wx-7A-R1a GGATGCAGAATGCCACCTA	950	—	Huang, Brútlé-Babel, 2010
<i>wx-A1b</i>	AF113843 (<i>T. aestivum</i>)	Wx-7A-F1 GTAAGCTTGGCCSACTGC Wx-7A-R1a GGATGCAGAATGCCACCTA	0	—	
<i>wx-A1c</i>	AB737981 (<i>T. aestivum</i>)	Wx-7A-F2 CGCTCTGCATATCAATTTTGC Wx-7A-R2a ATATGCAAAAGGAGTGAGGAAC	1038	BseRI (291, 395, 166, 187)	
<i>wx-A1d</i>	AB737982 (<i>T. dicoccum</i>)	Wx-7A-F2 CGCTCTGCATATCAATTTTGC Wx-7A-R2a ATATGCAAAAGGAGTGAGGAAC	1038	BspHI (665 и 373)	Huang, Brútlé-Babel, 2010; Yamamori, Guzmán, 2013
<i>wx-A1e</i>	AB737983 (<i>T. durum</i>)	Wx-7A-F2 CGCTCTGCATATCAATTTTGC Wx-7A-R2a ATATGCAAAAGGAGTGAGGAAC	1038	TaqI (120, 48, 9, 138, 390, 74, 259)	
<i>wx-A1f</i>	AY376310 (<i>T. aestivum</i>)	Wx-A1 DiagF GTAAGCTTGGCCSACTGCCT Wx-A1 DiagR TGTGCCAGTCGTTGCCACSA	943	ApoI	
<i>wx-A1g</i>	HQ625382 (<i>T. spelta</i>)	Wx-A1 DiagF GTAAGCTTGGCCSACTGCCT Wx-A1 DiagR TGTGCCAGTCGTTGCCACSA	930	Не расщепляется ApoI	Guzmán et al., 2012
<i>wx-A1h</i>	GQ120523 (<i>T. durum</i>)	Wx-A2L CGCAGGGGAAGACGTTGGT Wx-A2R CGTTGACCGATGCCGGTGATC	489	Не расщепляется Sau96I	Игнатьева и др., 2009
<i>wx-A1i</i>	AB737984 (<i>T. durum</i>)	3'FR2 GCGGGCTCGTGACACTATC 3'FR1 TACCACACCAAAATGCAAGCAC	1226 850 (<i>wx-A1a</i>)*	—	Yamamori, Guzmán, 2013
<i>wx-A1j</i>	AB737985 (<i>T. aestivum</i>)	Информация по праймерам отсутствует	—	—	
<i>wx-A1n</i>	JN935600 (<i>T. dicoccum</i>)	Информация по праймерам отсутствует	—	—	Guzmán, Alvarez, 2016
<i>wx-A1o</i>	KF861807 (<i>T. aestivum</i>)	Wx-3Fwa GGCATCGTCAACGGCATGGA SUN1RbATAGGCACAACCCCTAAC	709 1447 (<i>wx-A1a</i>)*	—	Guzmán et al., 2015; Guzmán, Alvarez, 2012
<i>wx-B1a</i>	AB019623 (<i>T. aestivum</i>)	Wx-4A-F2 TCAACAACACCCAGCAGCTA Wx-4A-R2 GGTTGGGTCGATGACGTA	943	—	Huang, Brútlé-Babel, 2010
<i>wx-B1b</i>	— (<i>T. aestivum</i>)	Wx-4A-F2 TCAACAACACCCAGCAGCTA Wx-4A-R2 GGTTGGGTCGATGACGTA	0	—	Vrinten et al., 1999
<i>wx-B1c</i>	LC379880 (<i>T. aestivum</i>)	Информация по праймерам отсутствует	—	—	Yamamori, 2009
<i>wx-B1d</i>	LC379884 (<i>T. durum</i>)	Информация по праймерам отсутствует	—	—	
<i>wx-B1e</i> [<i>B1c'</i>]	CQ205418 (<i>T. durum</i>)	Wx-B1L CGCAGGGGAAGACGTTGGT Wx-B1R CGTTGACCGATGCCGGTGATG	495 461 (<i>wx-B1a</i>)*	—	Yanzetti et al., 2009

Таблица 2. Окончание

Аллель	№ доступа GenBank	Праймеры, 5' → 3'	Длина ампликона, п.н.	Рестриктаза (размеры фрагментов, п.н.)	Источник
wx-Blg	GQ205417 (<i>T. dicoccum</i>)	Wx-VT1F CATCGTCAACGGCATGGACGTTCCAGC Wx-VTR CCSAGAAGCAGCTCTCCSAGTTCTTG	1154 (wx-BI)* 1168 (wx-AI)*	BglIII (848 и 306)	Guzmán et al., 2011
wx-BIh [BIc*]	GQ205418 (<i>T. dicoccum</i>)	Информация по праймерам отсутствует	—	—	Guzmán et al., 2011
wx-BIi	HQ338721 (<i>T. spelta</i>)	Информация по праймерам отсутствует	—	—	Guzmán, Alvarez, 2016
wx-BIj	JN935595 (<i>T. spelta</i>)	Информация по праймерам отсутствует	—	—	Guzmán, Alvarez, 2016
wx-BIk	KP726909 (<i>T. aestivum</i>)	BDFL CTGGCCTGTACCTCAAGAGCAACT BRD CTGACGTCCATGCCGTTGACGA	429 425 (wx-BIa)*, 455 (wx-AI)*, 497 (wx-DI)*	—	Ayala et al., 2015
wx-BIl	KF861808 (<i>T. aestivum</i>)	Информация по праймерам отсутствует	—	—	Guzmán et al., 2015
wx-BIm	KP726910 (<i>T. aestivum</i>)	Wx-1FwTTGCTGCAGGTAGCCACACC Wx-1.3RvTAGCGCGGGGAGATGACCAT	488 492 (wx-BIa)*, 480 (wx-DIa)*, 472 (wx-AIa)*	—	Ayala et al., 2015
wx-DIa	AB019624 (<i>T. aestivum</i>)	Wx-7D-F3 CCAGATCGTTCTCTGGTACA Wx-7D-R3a CTCGCTCCCTCGACA	861	—	Murai et al., 1999
wx-DIb	AF113844 (<i>T. aestivum</i>)	Wx-7D-F3 CCAGATCGTTCTCTGGTACA Wx-7D-R3a CTCGCTCCCTCGACA	0	—	Vrinten et al., 1999
wx-DIc	LC373577 (<i>T. aestivum</i>)	Информация по праймерам отсутствует	—	—	Yanagisawa, 2001
wx-DId**	— (<i>T. aestivum</i>)	Forward1 GAAGGTGACSAAGTTCATGCTGTGGAGGGGGGCGGCAAGATCAACTGG Forward2GAAAGTCCGGAGTCAACGGATTGTGGAGGGGGCGGCAAGATCAACTGA Reverse1 CGCGTAGTAGGGGCTCACCGTCA	—	—	Yasui et al., 1997; Yi et al., 2017
wx-DIe (wx-DIf)***	— (<i>T. aestivum</i>)	Forward 1 GACGGCGGAGGAATTTGCTCTGG Forward 2 CTCTCTCTCGACGACTTCG dCAPS Reverse 2 GTCCGAGCTCGCAGCCACCCGG	208	AgeI (192 и 16)	Yanagisawa et al., 2003
wx-DIh	— (<i>T. aestivum</i>)	Wx-VT1FCATCGTCAACGGCATGGACGTCAGC Wx-VTR CCSAGAAGCAGCTCTCCSAGTTCTTG	701 1425 (wx-DIa)*	—	Monari et al., 2005; Guzmán, Alvarez, 2016

Примечание: * — для некоторых пар праймеров характерно образование нескольких продуктов реакции разных размеров. В скобках указаны аллели, для которых образуются нецелевые продукты реакции; ** — приведены праймеры для конкурентной аллель-специфической ПЦР; *** — приведены праймеры для dCAPS-анализа (derived cleaved amplified polymorphic sequence).

фрагмента (291, 395, 166, 187), а в случае аллеля *wx-A1a* – 5 фрагментов (291, 343, 52, 166 и 187 п.н.). Аллель *wx-A1d* несет SNP в позиции 1848 восьмого экзона. Предварительные исследования прогнозируют небольшое воздействие аллеля *wx-A1d* на содержание амилозы в зерне. В аллеле *wx-A1e* обнаружены четыре SNP в составе 5, 8, 9 и 12 экзонов. Среди них только одна (в позиции 2123 девятого экзона) приводит к замене глутаминовой кислоты на лизин в последовательности белка (Yamamoto, Guzmán, 2013). Выявление данного аллеля возможно с помощью праймеров Wx-7A-F2/Wx-7A-R2a и рестриктазы TaqI (табл. 2): ампликон расщепляется на 7 фрагментов в случае аллеля *wx-A1e* (120, 48, 9, 138, 390, 74, 259) и на 8 фрагментов в случае аллеля *wx-A1a* (120, 48, 9, 138, 390, 74, 160, 99 п.н.). Четыре SNP обнаружены в аллеле *wx-A1j*, два из них вызвали изменения в аминокислотной последовательности белка: SNP в положении 482 третьего экзона приводит к замене глутаминовой кислоты на лизин, SNP в положении 2042 девятого экзона идентичен SNP в аллеле *wx-A1c* (замена триптофана в положении 453 на аргинин). Предварительные исследования показали, что содержание амилозы в образцах с аллелем *wx-A1j* сходно с содержанием амилозы в диком типе (Yamamoto, Yamamoto, 2011). Кроме идентифицированных, охарактеризованных и каталогизированных аллелей гена *wx-A1* имеются ряд известных и описанных, но не каталогизированных аллелей, приводящих к отсутствию белка или выработке белка со сниженной ферментативной активностью. Таким образом, из описанных и каталогизированных аллельных вариантов гена *wx-A1* максимальное количество амилозы в зерне содержится в растениях дикого типа, то есть с генотипом *wx-A1a*; в растениях с нуль-аллельными генотипами *wx-A1b*, *wx-A1f*, *wx-A1h*, *wx-A1o* белок *wx-A1* отсутствует; снижение количества белка наблюдается в растениях с генотипами *wx-A1c*, *wx-A1e*, *wx-A1g*, *wx-A1i*; небольшое воздействие на количество амилозы в зерне имеют аллели *wx-A1d*, *wx-A1j*. Итак, приблизительное содержание амилозы в зернах растений с разными генотипами выглядит следующим образом: *wx-A1e* (2.9% = *wx-A1b*) << *wx-A1i* (8.0%) < *wx-A1c* (16.8%) < *wx-A1j* (22.6% = *wx-A1a*) (Yamamoto, Guzmán, 2013).

Для гена *wx-B1* охарактеризовано небольшое количество аллелей (табл. 2). В целом, необходимо отметить, что в настоящее время данные по этому гену только пополняются, и классификация его аллельных вариантов находится на начальной стадии формирования. Однако, несмотря на это, имеется мнение, что ген *wx-B1* оказывает большее влияние на содержание амилозы, чем два других гомеологичных гена *waxy* (Yamamoto, Quynh, 2000). Аллель *wx-B1a* этого гена принят за дикий тип, при котором показана наработка максимального количества амилозы в зерне. В

нуль-аллеле *wx-B1b* произошла делеция всего кодирующего участка, и, как следствие, в зернах растений с генотипом *wx-B1b* отсутствует белок *wx-B1* (Vrinten et al., 1999). Для аллеля *wx-B1c* известно, что он содержит четыре SNP в 3, 9 и 10 экзонах. Аллель *wx-B1d* характеризуется делецией трех нуклеотидов в восьмом экзоне, в результате которой происходит делеция одной аминокислоты в последовательности белка *wx-B1* (Yamamoto, 2009). Аллели *wx-B1e* и *wx-B1h* содержат по несколько SNP в экзонах и интронах и одну аминокислотную замену в последовательности белка (Guzmán et al., 2011). Аллель *wx-B1e* связан с более высоким содержанием амилозы в грануле крахмала (Nieto-Taladriz et al., 2000; Ortega et al., 2015). Его идентификация возможна посредством амплификации праймерами Wx-B1L/Wx-B1R (табл. 2). Аллель *wx-B1g* характеризуется некоторым снижением содержания амилозы, выявление которого возможно с помощью пары праймеров Wx-VT1F/WxVTR и рестриктазы BglII (табл. 2). Аллели *wx-B1i* и *wx-B1j* также имеют по несколько SNP в экзонах и интронах и приводят к заменам двух (аллель *wx-B1i*) и одной (аллель *wx-B1j*) аминокислоты в составе белка *wx-B1* (Guzmán, Alvarez, 2012). Обнаружены также нуль-аллели *wx-B1k*, *wx-B1l* и *wx-B1m*, которые, в отличие от аллеля *wx-B1b*, имеют делеции не полноразмерного гена, а нескольких нуклеотидов (Ayala et al., 2015; Guzmán et al., 2015). Идентификация аллеля *wx-B1k* возможна с помощью пары праймеров BDFL/BRD (табл. 2). При этом образуются продукты реакции разных размеров: 425 п.н. для аллеля дикого типа субгена B (*wx-B1a*), 455 п.н. для субгена A (*wx-A1*) и 497 п.н. для субгена D (*wx-D1*). Искомый аллель *wx-B1k* имеет более низкую подвижность, чем *wx-B1a*. Аллель *wx-B1m* выявляется с использованием праймеров Wx-1Fw/Wx-1.3Rv (табл. 2). При этом также образуется несколько продуктов реакции: 492 п.н. (*wx-B1a*), 480 п.н. (*wx-D1a*) и 472 п.н. (*wx-A1a*). Для искомого аллеля *wx-B1m* характерна более высокая подвижность по сравнению с *wx-B1a*.

Для гена *wx-D1* описано наименьшее число аллелей (табл. 2). Аллель *wx-D1a* является аллелем дикого типа (Murai et al., 1999). Нулевой *wx-D1b* аллель имеет делецию в 3'-кодируемой области длиной 588 п.н. (Vrinten et al., 1999). В аллеле *wx-D1c* имеются две SNP: трансверсия (C/G) внутри второго экзона и транзиция (A/G) в пределах третьего интрона (Yamamoto, 2009). Мутантную нулевую форму в *waxy*-линии K107Wx1 обозначили как *wx-D1d* (Yasui et al., 1997), в которой имеется замена G/A в шестом экзоне в положении 1484, в результате чего появляется преждевременный стоп-кодон (Yi et al., 2017). Для выявления данного аллеля был подобран комплект праймеров для dCAPS-анализа из двух аллель-специфических прямых праймеров, несущих

стандартные FAM-/HEX-меченые хвосты (F1 и F2) и общий обратный праймер (R1) (Yi et al., 2017) (табл. 2). Точечная мутация в аллеле *wx-D1e* (впоследствии названная *wx-D1f*) вызывает аминокислотную замену в зрелом белке *wx-D1* (McIntosh et al., 2013). Идентификацию данного аллеля проводили с использованием двух пар праймеров с помощью вложенной ПЦР (Yanagisawa et al., 2003) (табл. 2). В случае аллеля *wx-D1h* происходит делеция 724 п.н., охватывающая 7–10 экзоны и приводящая к отсутствию белка *wx-D1* (Monari et al., 2005; Guzmán, Alvarez, 2016).

Нулевые мутации генов *waxy* блокируют экспрессию функционального белка *waxy*, что приводит к снижению количества амилозы по отношению к амилопектину у частичных мутантов *waxy* (нулевые аллели в одном или двух локусах гена *waxy*) и полному отсутствию амилозы в составе крахмала у полных *waxy*-мутантов (нулевые аллели в трех локусах *waxy*). Исследования мировых коллекций пшеницы показали, что нуль-аллели по локусу *wx-A1* несут порядка 15% сортов корейской, японской, турецкой и аргентинской селекций; по локусу *wx-B1* – около 20% сортов индийской и австралийской селекций (Климушина и др., 2012); нуль-аллели по локусу *wx-D1* обнаруживаются крайне редко (сорта *Vai Hуо*, *Vai Hуо Mai*) (Nakamura et al., 1995). Выявлено, что только сочетание всех трех нуль-аллелей приводит к критически низкому содержанию амилозы. В случае присутствия в генотипе одиночных нуль-аллелей содержание амилозы крахмала различается для аллелей из разных субгеномов: наиболее мощным фактором снижения процента амилозы является наличие нуль-аллеля из субгенома В. На сегодня известен следующий регрессионный ряд содержания амилозы в составе крахмала: *wx-A1B1D1* > *wx-B1D1* > *wx-A1B1* > *wx-A1D1* > *wx-B1* > *wx-D1* > *wx-A1* (Климушина и др., 2012). Известно также, что разные комбинации аллелей *waxy* приводят к различным соотношениям амилозы и амилопектина. Это способствует появлению различий в химических и физических свойствах крахмала и, следовательно, влияет на качество потребляемого продукта (Guzmán, Alvarez, 2016; Zi et al., 2018). С целью исследования влияния разных комбинаций аллелей *waxy* на состав и свойства крахмала с помощью индуцированного мутагенеза (Lan et al., 2020; Li et al., 2020), многократных возвратных скрещиваний с частично мутантными формами (Davoyan et al., 2019; Graybosch et al., 2019; Morris et al., 2020) были искусственно созданы аллельные варианты генов *waxy* с разными эффектами в синтезе амилозы. Кроме того, различные комбинации аллелей генов *waxy* могут возникать в результате естественной изменчивости пшеницы и родственных ей видов (Guzmán et al., 2015; Klimushina et al., 2020).

Линии пшениц с идентифицированными в них аллелями гена *waxy* представляют интерес для селекционных программ, направленных на улучшение технологических качеств зерна и получение сортов мягкой пшеницы с новыми крахмальными свойствами. Так, линии пшениц, содержащие нулевой аллель *wx-B1b*, перспективны для производства специальных видов лапши, таких как удон или рамэн. Это связано с тем, что мука из пшениц с низким содержанием амилозы обладает высокой степенью вязкости теста и способностью к сильному набуханию. Свойства крахмала *waxy*-пшениц (несущие нулевые аллели *wx-A1b*, *wx-B1b* и *wx-D1b*) не подходят для производства лапши, но могут быть выгодно использованы в промышленных целях. Использование *waxy*-пшениц в обычных мучных смесях увеличивает выход массы продукта и объема выпеченного хлеба. Мука, полученная только из сортов *waxy*-пшениц, имеет низкий удельный объем, липкую структуру крошки и не подходит для выпечки хлебобулочных изделий. Максимальное содержание *waxy*-пшеничной муки без значительных отрицательных изменений качества хлебобулочной продукции составляет 30%. Однако при этом мука *waxy*-пшениц может служить улучшителем, так как способствует длительному хранению готовой продукции (Hayakawa et al., 2004).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сложность маркер-ориентированной селекции сортов мягкой пшеницы обусловлена большим размером, многокопийностью и сложной организацией генома пшеницы, что также значительно затрудняет как полногеномное секвенирование, так и идентификацию нуклеотидных последовательностей отдельных генов. Тем не менее, научное сообщество успешно исследует и локализует различные функциональные маркеры, которые имеют очевидные преимущества перед случайными ДНК-маркерами, так как они диагностируют желательный аллель признака и могут значительно облегчить селекцию этой культуры.

Для успешной маркер-ориентированной селекции мягкой пшеницы по хлебопекарным качествам необходимы знания о соответствующих генах, аллелях и мутациях в генах. Так, в обеспечении высоких хлебопекарных качеств зерна мягкой пшеницы наряду с генами глиадинов и глютеинов, важную роль играют гены, обуславливающие наработку достаточного количества амилозы в составе крахмала зерна, поскольку уменьшение процентного содержания амилозы приводит к ухудшению хлебопекарных качеств зерна. Кроме того, известно, что мутации в одних и тех же генах разных субгеномов мягкой пшеницы приводят к неоднозначным фенотипическим эффектам. Наиболее мощным фактором снижения процен-

та амилозы в зерне является наличие нуль-аллеля из субгенома В.

Описанные в обзоре функциональные SNP-маркеры мягкой пшеницы могут быть использованы при планировании работ по маркер-ориентированной селекции сортов мягкой пшеницы и по оценке мирового генофонда мягкой пшеницы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания № АААА-А19-119021190011-0 при поддержке грантов Президента РФ МД-2304.2020.4 и Минобрнауки РФ (соглашение № 075-15-2021-549).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Игнатъева Н.Г., Васюшкина Н.Е., Кравченко Н.С. и др.* Генетический полиморфизм амилолитических ферментов зерна пшеницы и генетика ферментов биосинтеза крахмала // *Зерн. хоз. России.* 2009. Т. 4. С. 23–27.
- Климушина М.В., Гладких Н.И., Дивашук М.Г. и др.* Распределение аллелей генов *wx* в коллекции мягкой пшеницы Краснодарского НИИСХ им. П.П. Лукьяненко // *Вавилов. журн. генет. селекц.* 2012. Т. 16 (1). С. 187–192.
- Конарев А.В., Конарев В.Г., Губарева Н.К., Пенева Т.И.* Белки семян как маркеры в решении проблем генетических ресурсов растений, селекции и семеноводства // *Цитол. генет.* 2000. Т. 34 (2). С. 91–104.
- Обухова Л.В., Шумный В.К.* Состав высокомолекулярных субъединиц глютеина у сортов и перспективных линий мягкой пшеницы // *Генетика.* 2018. Т. 54 (3). С. 316–325.
- Рыбалка А.И., Созинов А.А.* Генетический анализ β -амилазы зерна пшеницы // *Генетика.* 1980. Т. 16 (6). С. 1059–1067.
- Чеботарь С.В., Благодарова Е.М., Куракина Е.А. и др.* Генетический полиморфизм локусов, определяющих хлебопекарное качество украинских сортов пшеницы // *Вавилов. журн. генет. селекц.* 2012. Т. 16 (1). С. 87–98.
- Ainsworth C.C., Gale M.D., Baird S.* The genetics of β -amylase isozymes in wheat. 1. Allelic variation among hexaploid varieties and intrachromosomal gene locations // *Theor. Appl. Genet.* 1983. V. 66 (1). P. 39–49.
- Ainsworth C.C., Doherty P., Edwards K.G. et al.* Allelic variation at α -amylase loci in hexaploid wheat // *Theor. Appl. Genet.* 1985. V. 70 (4). P. 400–406.
- Anderson O.D., Dong L., Huo N., Gu Y.Q.* A new class of wheat gliadin genes and proteins // *PLoS One.* 2012. V. 7 (12). P. e52139.
- Ayala M., Alvarez J.B., Yamamori M., Guzmán C.* Molecular characterization of waxy alleles in three subspecies of hexaploid wheat and identification of two novel *wx-B1* alleles // *Theor. Appl. Genet.* 2015. V. 128 (12). P. 2427–2435.
- Caballero L., Bancel E., Branlard G., Debiton C.* Granule-bound starch synthase (GBSS) diversity of ancient wheat and related species // *Plant Breed.* 2008. V. 127 (6). P. 548–553.
- Cai X., Wang Z., Xing Y. et al.* Aberrant splicing of intron 1 leads to the heterogeneous 5'UTR and decreased expression of *waxy* gene in rice cultivars of intermediate amylose content // *Plant J.* 1998. V. 14 (4). P. 459–465.
- Clark J., Robertson M., Ainsworth C.C.* Nucleotide sequence of a wheat (*Triticum aestivum* L.) cDNA clone encoding the waxy protein // *Plant Mol. Biol.* 1991. V. 16 (6). P. 1099–1101.
- Davoyan E.R., Bespalova L.A., Davoyan R.O. et al.* Allelic variants for *waxy* genes in common wheat lines bred at the Lukyanenko National Grain Center // *Вавилов. журн. генет. селекц.* 2019. V. 23 (7). P. 910–915.
- Delwiche S., Graybosch R.* Identification of waxy wheat by near-infrared reflectance spectroscopy // *J. Cereal Sci.* 2002. V. 35 (1). P. 29–38.
- D'Ovidio R., Masci S.* The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten // *J. Cereal Sci.* 2004. V. 39 (3). P. 321–339.
- Dry I., Smith A., Edwards E. et al.* Characterisation of cDNAs encoding two isoforms of granule-bound starch synthase which show differential expression in developing storage organs of pea and potato // *Plant J.* 1992. V. 2 (2). P. 193–202.
- Gale M., Law C., Chojecky A., Kempton R.A.* Genetic control of α -amylase production in wheat // *Theor. Appl. Genet.* 1983. V. 64 (4). P. 309–316.
- Graybosch R.A.* Waxy wheats: origin, properties, and prospects // *Tr. Food Sci. Technol.* 1998. V. 9. P. 135–142.
- Graybosch R.A., Baenziger S.P., Santra D., Regassa T.* Registration of 'Matterhorn' hard white waxy winter wheat // *J. Plant Regist.* 2019. V. 13 (2). P. 207–211.
- Gupta R.B., Shepherd K.W.* Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin. 1. Variation and genetic control of the subunits in hexaploid wheats // *Theor. Appl. Genet.* 1990. V. 80 (1). P. 65–74.
- Guzmán C., Alvarez J.B.* Molecular characterization of a novel *waxy* allele (*wx-Au1a*) from *Triticum urartu* Thun. ex Gandil. // *Genet. Resour. Crop Evol.* 2012. V. 59 (6). P. 971–979.
- Guzmán C., Alvarez J.B.* Wheat waxy proteins: polymorphism, molecular characterization and effects on starch properties // *Theor. Appl. Genet.* 2016. V. 129 (1). P. 1–16.
- Guzmán C., Caballero L., Alvarez J.B.* Molecular characterization of the *wx-B1* allelic variants identified in cultivated emmer wheat and comparison with those of durum wheat // *Mol. Breed.* 2011. V. 28 (3). P. 403–411.
- Guzmán C., Caballero L., Yamamori M., Alvarez J.B.* Molecular characterization of a new *waxy* allele with partial

- expression in spelt wheat // *Planta*. 2012. V. 235 (6). P. 1331–1339.
- Guzmán C., Ortega R., Yamamori M., Peña R.J. Molecular characterization of two novel null *waxy* alleles in Mexican bread wheat landraces // *J. Cereal Sci.* 2015. V. 62. P. 8–14.
- Hayakawa K., Tanaka K., Nakamura T. et al. End use quality of waxy wheat flour in various grain-based foods // *Cereal Chem.* 2004. V. 81 (5). P. 666–672.
- Huang X., Brûlé-Babel A. Development of genome-specific primers for homoeologous genes in allopolyploid species: the *waxy* and starch synthase II genes in allohexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) as examples // *BMC Res. Notes*. 2010. V. 3 (1). P. 140.
- Klimushina M.V., Kroupin P.Y., Bazhenov M.S., Karlov G. *Waxy* gene-orthologs in Wheat × *Thinopyrum* amphidiploids // *Agron.* 2020. V. 10 (7). P. 963.
- Lan J., Li Y., Xu K., Zhang X. EMS induced SNP changes led to mutation of *wx* protein in common wheat // *Cereal Res. Commun.* 2020. V. 48. P. 233–238.
- Li J., Wang S., Cao M. et al. Cloning, expression, and evolutionary analysis of α -gliadin genes from *Triticum* and *Aegilops* genomes // *J. Appl. Genet.* 2013. V. 54 (2). P. 157–167.
- Li S., Zhong X., Zhang X. et al. Production of waxy tetraploid wheat (*Triticum turgidum durum* L.) by EMS mutagenesis // *Genet. Resour. Crop Evol.* 2020. V. 67 (2). P. 433–443.
- Marcussen T., Sandve S., Heier L. et al. Ancient hybridizations among the ancestral genomes of bread wheat // *Science*. 2014. V. 345 (6194). P. 1–4.
- McIntosh R., Yamazaki Y., Dubcovsky J. et al. Catalogue of gene symbols for wheat // *Proc. 12th Int. Wheat Genetics Symp.* (Yokohama, 8–13 september 2013). Yokohama, 2013. 31 p.
- Monari A., Simeone M., Urbano M. et al. Molecular characterization of new *waxy* mutants identified in bread and durum wheat // *Theor. Appl. Genet.* 2005. V. 110 (8). P. 1481–1489.
- Morris C.F., Kiszonas A.M., Beecher B.S., Peden G.L. Registration of six partial *waxy* near-isogenic hexaploid wheat genetic stock lines lacking one or two granule bound starch synthase I genes // *J. Plant Regist.* 2020. V. 14 (2). P. 217–220.
- Mrva K., Mares D. Regulation of high pI alpha-amylase synthesis in wheat aleurone by a gene(s) located on chromosome 6B // *Euphytica*. 1999. V. 109 (1). P. 17–23.
- Murai J., Taira T., Ohta D. Isolation and characterization of the three *waxy* genes encoding the granule-bound starch synthase in hexaploid wheat // *Gene*. 1999. V. 234 (1). P. 71–79.
- Nakamura T., Yamamori M., Hirano H., Hidaka S. Identification of three *wx* proteins in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Biochem. Genet.* 1993. V. 31 (1–2). P. 75–86.
- Nakamura T., Yamamori M., Hirano H. et al. Production of waxy (amylose-free) wheats // *Mol. Gen. Genet.* 1995. V. 248 (3). P. 253–259.
- Nieto-Taladriz M., Rodriguez-Quijano M., Carrillo J. Polymorphism of waxy proteins in Spanish durum wheats // *Plant Breed.* 2000. V. 119 (3). P. 277–279.
- Ortega R., Guzmán C., Alvarez J. Molecular characterization of several *Wx* alleles in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum* Desf.) // *Biol. Plant.* 2015. V. 59 (2). P. 220–226.
- Ozuna C.V., Jehisa J.C., Giménez M.J. et al. Diversification of the celiac disease α -gliadin complex in wheat: a 33-mer peptide with six overlapping epitopes, evolved following polyploidization // *Plant J.* 2015. V. 82 (5). P. 794–805.
- Rohde W., Becker D., Salamini F. Structural analysis of the *waxy* locus from *Hordeum vulgare* // *Nucl. Acids Res.* 1988. V. 16 (14B). P. 7185–7186.
- Saito M., Konda M., Vrinten P. et al. Molecular comparison of *waxy* null alleles in common wheat and identification of a unique null allele // *Theor. Appl. Genet.* 2004. V. 108 (7). P. 1205–1211.
- Schofield J.D., Greenwell P. Wheat starch granule proteins and their technological significance // *Cereal in a European context* / Ed. I.D. Morton. Chichester: Ellis Horwood, 1987. P. 407–420.
- Shewry P.R., Halford N.G. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization // *J. Exp. Bot.* 2002. V. 53 (370). P. 947–958.
- Shure M., Wessler S., Fedoroff N. Molecular identification and isolation of the *waxy* locus in maize // *Cell*. 1983. V. 35 (1). P. 225–233.
- Vanzetti L.S., Pflüger L.A., Rodríguez-Quijano M. et al. Genetic variability for *waxy* genes in Argentinean bread wheat germplasm // *Electr. J. Biotechnol.* 2009. V. 12 (1). P. 4–5.
- Vanzetti L.S., Pflüger L.A., Bainotti C., Jensen C. Identification of a null allele at the *wx-A1* locus in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum* Desf.) // *Plant Breed.* 2010. V. 129 (6). P. 718–720.
- Visser R., Hergersberg M., van der Leij F. et al. Molecular cloning and partial characterization of the gene for granule-bound starch synthase from a wildtype and an amylose-free potato (*Solanum tuberosum* L.) // *Plant Sci.* 1989. V. 64 (2). P. 185–192.
- Vrinten P., Nakamura T., Yamamori M. Molecular characterization of *waxy* mutations in wheat // *Mol. Gen. Genet.* 1999. V. 261 (3). P. 463–471.
- Wang D., Zhang K., Dong L. et al. Molecular genetic and genomic analysis of wheat milling and end-use traits in China: progress and perspectives // *Crop J.* 2017. V. 6. P. 68–81.
- Yamamori M. Amylose content and starch properties generated by five variant *wx* alleles for granule-bound starch synthase in common wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Euphytica*. 2009. V. 165. P. 607–614.
- Yamamori M., Quynh N. Differential effects of *wx-A1*, -B1 and -D1 protein deficiencies on apparent amylose content and starch pasting properties in common wheat // *Theor. Appl. Genet.* 2000. V. 100 (1). P. 32–38.
- Yamamori M., Yamamoto K. Effects of two novel *wx-A1* alleles of common wheat (*Triticum aestivum* L.) on amylose and starch properties // *J. Cereal Sci.* 2011. V. 54 (2). P. 229–235.
- Yamamori M., Guzmán C. SNPs and an insertion sequence in five *wx-A1* alleles as factors for variant *wx-A1* protein in wheat // *Euphytica*. 2013. V. 192 (3). P. 325–338.

- Yan L., Bhave M., Fairclough R. et al. The genes encoding granule-bound starch synthases at the *waxy* loci of the A, B, and D progenitors of common wheat // *Genome*. 2000. V. 43 (2). P. 264–272.
- Yanagisawa T., Kiribuchi-Otobe C., Yoshida H. An alanine to threonine change in the Wx-D1 protein reduces GBSS I activity in *waxy* mutant wheat // *Euphytica*. 2001. V. 121. P. 209–214.
- Yanagisawa T., Kiribuchi-Otobe C., Hirano H. et al. Detection of single nucleotide polymorphism (SNP) controlling the *waxy* character in wheat by using a derived cleaved amplified polymorphic sequence (dCAPS) marker // *Theor. Appl. Genet.* 2003. V. 107 (1). P. 84–88.
- Yasui T., Sasaki T., Matsuki J., Yamamori M. *Waxy* endosperm mutants of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and their starch properties // *Breed. Sci.* 1997. V. 47 (2). P. 161–163.
- Yi X., Jiang Z., Hu W., Zhao Y. Development of a competitive allele-specific PCR marker for selection of the mutated *wx-D1d* allele in wheat breeding // *Plant Breed.* 2017. V. 136 (4). P. 460–466.
- Zhang W., Gianibelli M., Rampling L., Gale K.R. Characterisation and marker development for low-molecular weight glutenin genes from *Glu-A3* alleles of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Theor. Appl. Genet.* 2004. V. 108 (7). P. 1409–1419.
- Zi Y., Ding J., Song J. et al. Grain yield, starch content and activities of key enzymes of *waxy* and non-*waxy* wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Sci. Rep.* 2018. V. 8 (1). P. 1–12.
- Zimin A.Z., Puiu D., Hall R. et al. The first near-complete assembly of the hexaploid bread wheat genome, *Triticum aestivum* // *GigaScience*. 2017. V. 6 (11). P. 1–7.

Genetic Determinants of Grain Baking Qualities and Allelic State of *waxy* Genes of Soft Wheat

A. A. Galimova^{a, *} and B. R. Kuluev^a

^a*Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia*

*e-mail: aiz.galimova@yandex.ru

Common wheat is the most demanded food crop in the world which occupies huge sown areas. The baking qualities of this culture determine the nutritional and commercial value of its varieties. Improving the baking quality of grain is an important priority for both classical and marker-oriented selection of common wheat. These qualities are determined by a large number of genes and also can be influenced by agroecological factors. The review discusses the main genes involved in the implementation of the baking qualities of common wheat grain, which mostly depend on the protein and carbohydrate components, the enzyme composition. Particular attention is paid to the genes of the carbohydrate component, namely, the *waxy* genes that determine the amylose-amylopectin composition of common wheat grain, which is one of the important factors of high grain baking parameters. This review describes the alleles of *waxy* genes that determine the ratio of amylose and amylopectin in starch of common wheat grain. Functional SNP markers (single nucleotide polymorphism) with primers and restriction endonucleases selected for them are shown for the most studied alleles of the *waxy* gene. These data will be useful in marker-oriented selection, since it is very difficult for breeders to control the baking qualities of common wheat without the use of modern methods of molecular genetics. As a result, during classical breeding, some wheat varieties may lose their high baking qualities, which determine the relevance of the search and study of SNP markers of baking qualities of common wheat, including the already known functional markers.

Keywords: *Triticum aestivum*, SNP markers, functional DNA markers, marker-oriented selection

РЕЦЕНЗИИ

УДК 57.01+573+575+576.7+611-013+611.018

Г.А. САВОСТЬЯНОВ. СТРУКТУРНЫЕ ОСНОВЫ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ И ТРЕХМЕРНОЙ ГИСТОЛОГИИ. НОВЫЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ КАНЦЕРОГЕНЕЗА. СПб.: Лема, 2020. 832 с.

© 2021 г. И. В. Змитрович*

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия

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

Поступила в редакцию 15.04.2021 г.

После доработки 24.05.2021 г.

Принята к публикации 24.05.2021 г.

DOI: 10.31857/S0042132421060119

Выход в свет монографии Г.А. Савостьянова – неординарное событие в отечественной биологии. Книга посвящена наименее изученному уровню организации многоклеточности, лежащему между индивидуальной клеткой и тканью. Автор четко формулирует то, к чему интуитивно приходили многие исследователи: элементарная единица многоклеточности – не клетка, а некий стереотипный модуль, являющийся результатом морфофункциональной дифференциации составляющих его клеток – гистион. Ткань в таком контексте – это регулярная клеточная решетка, возникающая в результате полимеризации гистионов и названная Г.А. Савостьяновым коннектомом.

Конечно, к развитию этой идеи монография, имеющая общий объем 832 страницы, не сводится. Фундаментальное значение книги связано с разработкой принципиально нового подхода к анализу морфогенеза, который можно называть теоретическим номогенезом. Этот подход открывает перспективу формализованного описания становления многоклеточности, разработки методов количественного анализа гистоархитектуры в норме и патологии, а также создает теоретическую базу для вычислительной трехмерной гистологии и тканевой инженерии.

Книга аккумулирует колоссальный труд по анализу литературы (557 источников), по математическому моделированию, связанному с теоретической реконструкцией гистионов и их систематизацией, а также по компьютерному моделированию тканевых мозаик. Впечатляет то, что автор провел всю эту работу сам, включая отнимающую много сил техническую рутину. Еще один важный аспект книги – ее междисциплинарный характер. В ходе анализа деления функций между клетками автор отсылает к экономическим и социологическим моделям и тео-

риям, при этом избегая крайностей схематизации и доктринерства.

Композиция книги позволяет читателю сначала углубиться в авторскую концепцию гистиона (глава 1 “Становление и развитие многоклеточных организмов на основе разделения труда между клетками. Теория гистионов – элементарных единиц многоклеточности”) и тканевой архитектуры (главы: 2 “Ткани как регулярные клеточные сети. Пространственная организация однослойных эпителиев”; 3 “Пространственная организация многорядных и многослойных эпителиев”; 4 “Дефекты тканевой структуры”; 5 “Изменения структуры тканей в развитии и патологии”), затем подняться на уровень важных общебиологических обобщений (глава 6 “О движущих силах становления и развития многоклеточности”) и, наконец, выйти в сферу практических рекомендаций в области медицины – здесь Г.А. Савостьянов раскрывает еще одну свою грань – опытного онколога (заключительные разделы главы 7 “Экономические итоги развития”; отчасти тема злокачественного роста поднимается и в 5-й главе, в очерке по моделированию патологического развития эпителиев).

Попытаемся хотя бы кратко законспектировать авторский посыл, раскрываемый в этих главах.

Г.А. Савостьянов считает, что становление многоклеточности со свойственным ему разделением функций между клетками возможно вследствие реализации трех элементарных актов: 1) подготовки клеток к специализации путем выбора и вычленения функций и придания им потенций к развитию, 2) актуализации приобретенной потенции – дифференцировки клетки в ходе развития, 3) функциональной интеграции – чтобы остаться в ходе полимеризации живой, каждая специализированная клетка стремится объединиться с комплементарными партнерами путем

осуществления метаболической кооперации. Гистион представляет собой морфофункциональный блок — автономный набор комплементарных специализированных клеток (своеобразную производственную бригаду), максимально адаптированных к выполняемой функции. Разработка этой идеи и введение ряда аксиом позволили автору построить множество различных гистионов и предложить параметры для их описания: L — число функций, подлежащих разделению; m — число функций, получивших потенции; n — число функций, реализовавших потенции. На основании этих параметров получена мера для количественной оценки развития гистионов, и показано, что оно характеризуется периодическим законом. На этой основе построена параметрическая система гистионов в виде периодической таблицы. Она учитывает два вида развития: прогрессивное и девиантное. Для периодов таблицы сформулирован закон сохранения потенций, объясняющий происхождение стволовых клеток. Для подтверждения моделей приведены структуры реальных гистионов, а также даны примеры количественной оценки развития различных организмов.

Архитектоника тканей может быть проанализирована, исходя из идеи автора, с точки зрения плотности “упаковки” и взаимного расположения клеток в регулярных двух- и трехмерных решетках, возникающих при полимеризации гистионов. В разделе 3.1.7 третьей главы автор знакомит с историей создания им с коллегами компьютерных программ “Гистоарх” (разработана совместно с А.В. Воробьевым) и “Гисторед” (надстройка, разработанная совместно с А.А. Налимовым), позволяющих пользователю-гистологу моделировать клеточные сети — коннекты и редактировать их. В ходе изложения материала автор показывает, как можно использовать его новый подход к реконструкции трехмерной структуры многорядных и многослойных клеточных пластов. Автор сравнивает полученные им топологические и геометрические модели с мозаиками и другими периодическими структурами реально существующих эпителиев в основном позвоночных животных и человека (сетчатки, слухового эпителия, эпителия протоков желез, зародышевой эктодермы и др.). Таким способом происходит проверка моделей, и читатель в конечном итоге убеждается, что гистион и решетка (коннектом) — это не только теоретический конструкт, но и до сих пор упускаемая из виду часть биологической реальности. Известные к настоящему времени элементарные единицы органов (нефроны, гепатоциты, ацинусы и т.д.) отличаются от гистионов тем, что состоят уже из тканей и расположены на другом уровне (между уровнями тканей и органов). На повестку дня, вероятно, встает распро-

странение подобного моделирования на ткани мезенхимального происхождения.

Движущие силы развития многоклеточности рассматриваются автором с точки зрения теории игр (каждая клетка в адаптивном плане выигрывает в клеточном ансамбле, который, в свою очередь, в сравнении с одноклеточным организмом, имеет больший адаптивный потенциал). Автор выделяет *экономичный тип* многоклеточности, характеризующийся легкостью распада функционально дифференцированной группы клеток в ответ на стрессорные воздействия среды, и *надежный тип*, характеризующийся перепроизводством и полимеризацией одинаковых клеток. Второй тип многоклеточности — более архаичный — максимально реализуется прокариотной формой жизни. Первый же открыт для эволюции: для все более плотной упаковки гистионов, создающей предпосылки относительной автономии клеточного консорциума.

В какой-то мере последняя глава (“Экономические итоги развития”) обобщает идеи предыдущей с акцентом на закономерностях распределения метаболитов между различными функционально дифференцирующимися блоками многоклеточного организма. Автор достаточно убедительно показывает, что неравномерность распределения метаболитов в многоклеточном консорциуме является движущей силой развития как в онтогенезе, так и в филогенезе; возникающие системы интеграции/регуляции функций многоклеточного животного организма, согласно выводам автора, — продукт и основа воспроизводства такой неравномерности, а рак — реализация основной клеточной интенции, так или иначе сдерживаемой клеточным консорциумом, — получения бесконтрольного доступа к метаболитам.

Прочтение этой книги не оставит равнодушными, вероятно, самых разных специалистов. В области, более близкой рецензенту, вспоминается предтеча идей Г.А. Савостьянова — французский криптогамист М. Шадфо. Он впервые попытался проанализировать структуру дифференцированных паренхиматических растений с точки зрения предположения о том, что видимые ткани (паренхима, эпидермис, проводящие структуры) представляют продукт плотной упаковки стереотипных нитчатых структур — кладомов (осевые) и плевридиев (придаточные). С уходом Шадфо эти идеи оказались забытыми, хотя анализ структуры и развития различных групп низших растений в свете концепции гистиона Г.А. Савостьянова представляется перспективным.

Трактовка Г.А. Савостьяновым канцерогенеза переносит акцент с клеток и стохастических изменений их геномов на гистионы и коннекты, закономерная перестройка которых и лежит в основе малигнизации. При этом не явно, но опре-

деленно в центр дискуссии ставится изменение и перераспределение потенциалов, а также адаптивные интенции клетки в составе многоклеточного консорциума. Есть ли среди них нечто более важное, чем “получение бесконтрольного доступа к метаболитам”? В качестве альтернатив здесь можно рассмотреть выживание (survival, блокировка путей апоптоза в ответ на стрессорные воздействия) и раскрытие пролиферативного потенциала.

Помимо насыщенных разноплановым фактологическим и иллюстративным материалом глав, большую роль в композиции книги играют структурирующие и резюмирующие разделы: аннотация, предисловие, основные итоги, заключение.

Предисловие знакомит читателя как с замыслом этой книги, родившимся у автора еще в 1970 г. в НИИ онкологии им. профессора Н.Н. Петрова, так и с именами коллег, оказавших в разное время

влияние на становление и развитие его концепции. Завершает этот раздел собственная оценка автором его труда: “Окидывая общим взором приготовленную рукопись, я вижу ее неполноту и прочие недостатки, уныло глядящие на меня... Но мой личный фактор времени диктует мне, что пора остановиться. Хочется надеяться, что читателю будет ясно главное: эта работа — лишь начало нового направления в биологии развития и гистологии” (с. 15). Такие скромные (но и важные) слова относит автор к своему фундаментальному труду, который можно было бы без колебаний поставить в один ряд с работами Э. Бауэра, А.А. Богданова, С.В. Мейена; труду, сочетающему новаторство и энциклопедизм и адресованному широкому кругу биологов — морфологам, гистологам, эмбриологам, онкологами и эволюционистам.

И.В. Змитрович

G.A. Savostyanov. Structural Bases of Developmental Biology and 3D Histology. New Approach to Carcinogenesis Studies. St. Petersburg: Lema, 2020. 832 p.

I. V. Zmitrovich*

Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, @, Russia

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

The article gives a review of the book: G.A. Savostyanov. Structural bases of developmental biology and 3D histology. New approach to carcinogenesis studies. SPb: Lema, 2020. 832 p.

Keywords: specialization and integration, multicellularity, development, histions, polymerization, modeling, cell sheets, histoarchitecture, cell mosaic, morphogenesis, tissue engineering, malignant growth