

СОДЕРЖАНИЕ

Том 82, номер 3, 2021

(Воспроизводится в журнале “Current Contents”)

Экология города: ретроспектива и перспективы изучения <i>Т. Н. Карманова, Н. Ю. Феоктистова, Е.-Е. А. Фетисова, А. А. Мосалов, А. В. Суров</i>	163
Полифазный подход в таксономии грибов <i>Ф. Б. Ганнибал</i>	175
Влияние <i>Dreissena polymorpha</i> на эффективность передачи углерода, жирных кислот, азота и фосфора от фитопланктона к зоопланктону <i>Е. Г. Сахарова, М. Карнович, М. И. Гладышев, Н. Н. Сущик, З. И. Горельшева, И. Ю. Фенева</i>	188
Рибосомная РНК мечниковеллид в транскриптомах грегарин и рДНК микроспоридий <i>sensu lato</i> в метагеномах <i>К. В. Михайлов, Е. С. Насонова, Е. А. Шишкин, Г. Г. Паскерова, Т. Г. Симдянов, В. А. Юдина, А. В. Смирнов, Я. Янушковец, В. В. Алешин</i>	201
Светопреломляющий, светочувствительный и светоизолирующий аппарат камерных глаз <i>И. П. Шепелева</i>	229

Contents

Vol. 82, No. 3, 2021

(Indexed in “Current Contents”)

Urban ecology: Retrospective and study prospects <i>T. N. Karmanova, N. Yu. Feoktistova, E.-E. A. Fetisova, A. A. Mosalov, A. V. Surov</i>	163
Polyphasic approach in fungal taxonomy <i>Ph. B. Gannibal</i>	175
Effects of <i>Dreissena polymorpha</i> on the transfer efficiency of carbon, fatty acids, nitrogen, and phosphorus from phytoplankton to zooplankton <i>E. G. Sakharova, M. Karpowicz, M. I. Gladyshev, N. N. Sushchik, Z. I. Gorelysheva, I. Yu. Feniova</i>	188
Ribosomal RNA of the metchnikovellids in gregarine transcriptomes and rDNA of the microsporidia <i>sensu lato</i> in environmental metagenomes <i>K. V. Mikhailov, E. S. Nassonova, Y. A. Shishkin, G. G. Paskerova, T. G. Simdyanov, V. A. Yudina, A. V. Smirnov, J. Janouškovec, V. V. Aleoshin</i>	201
Light-refracting, light-sensitive, and light-insulating apparatus of the camera-like eyes <i>I. P. Shepeleva</i>	229

УДК 574.22;574.24

ЭКОЛОГИЯ ГОРОДА: РЕТРОСПЕКТИВА И ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ

© 2021 г. Т. Н. Карманова^{1, *}, Н. Ю. Феоктистова^{1, **}, Е.-Е. А. Фетисова^{1, ***},
А. А. Мосалов^{1, 2, ****}, А. В. Суков^{1, *****}

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН
Ленинский просп., 33, Москва, 119071 Россия

²Московский педагогический государственный университет
ул. Кибальчича, 6, Москва, 129164 Россия

*E-mail: karmanovs95@mail.ru

**E-mail: feoktistovanyu@gmail.com

***E-mail: e3004e@gmail.com

****E-mail: rallus@yandex.ru

*****E-mail: surov@sevin.ru

Поступила в редакцию 27.11.2020 г.

После доработки 22.01.2021 г.

Принята к публикации 24.02.2021 г.

В первом десятилетии XXI в. население Земли преимущественно стало городским, а к 2050 г. предполагается, что оно будет составлять уже 68% от общего населения мира. В России к настоящему времени в городах уже проживает 74% населения страны. Однако высокая концентрация населения — это лишь внешнее проявление процесса урбанизации. Ее сопровождают многие глобальные экологические проблемы: нарушение биогеохимических циклов, климата, утрата биоразнообразия, биологические инвазии и пр. Из этого следует особая значимость городов в формировании условий жизни не только для большей части человечества, но и для всех живых существ на планете. Стремительное распространение городских экосистем на планете можно рассматривать как качественно новый этап развития жизни на Земле. Хотя долгое время городская среда считалась недостойной научных исследований в силу своей “искусственности”, сейчас ученые рассматривают города как естественные лаборатории, где можно и нужно решать не только прикладные сугубо градостроительные, но и фундаментальные экологические задачи. В начале 1990-х гг. городская экология приобрела статус самостоятельной науки. В России на актуальность проблем городской экологии ученые обратили внимание еще в 60–70-е годы XX века, но до сих пор ею занимаются лишь единичные исследователи. Обзор посвящен истории формирования городской экологии как биологической науки, адаптациям животных разных таксонов к городским условиям: а) к загрязнению тяжелыми металлами, шуму, свету и т.д.; б) к дефрагментации мест обитания; в) к кормам антропогенного происхождения. В заключении сформулированы фундаментальные проблемы, которые необходимо решать при изучении урбоценозов, включая оценку скорости эволюции животных и растений в городских условиях.

DOI: 10.31857/S0044459621030039

В первом десятилетии XXI в. произошел коренной перелом в соотношении сельского и городского населения Земли — городское стало преобладать над сельским, а к 2050 г. (по данным ООН) будет уже в 2 раза его превышать (United Nations..., 2018). Характерно, что в российских городах, по данным Росстата от 24.01.2020 (<https://rosstat.gov.ru/folder/12781>), уже сейчас проживает 74% населения страны, при этом особенно быстрыми темпами растет население мегаполисов (рис. 1). Однако высокая концентрация населения — это лишь внешнее проявление процесса урбанизации. Ее сопровождают многие глобальные экологические изменения: нарушение биогеохимических циклов, климата, утрата биоразнообразия, биологические инвазии и т.д.,

влияние которых распространяется далеко за границы самих городов (Lippe et al., 2005). Поэтому стремительное распространение городских экосистем на планете можно рассматривать как качественно новый этап развития жизни на Земле (Schilthuizen, 2018). Хотя долгое время городская среда считалась недостойной научных исследований в силу своей “искусственности”, сейчас ученые рассматривают ее как естественную лабораторию, где можно и нужно решать не только прикладные сугубо градостроительные, но и фундаментальные экологические задачи (Lahr et al., 2018). Это, например, влияние фрагментации местообитаний (что типично для городской среды) на генетическую структуру видов, ночного освещения на циркадные ритмы людей и животных, зеленых

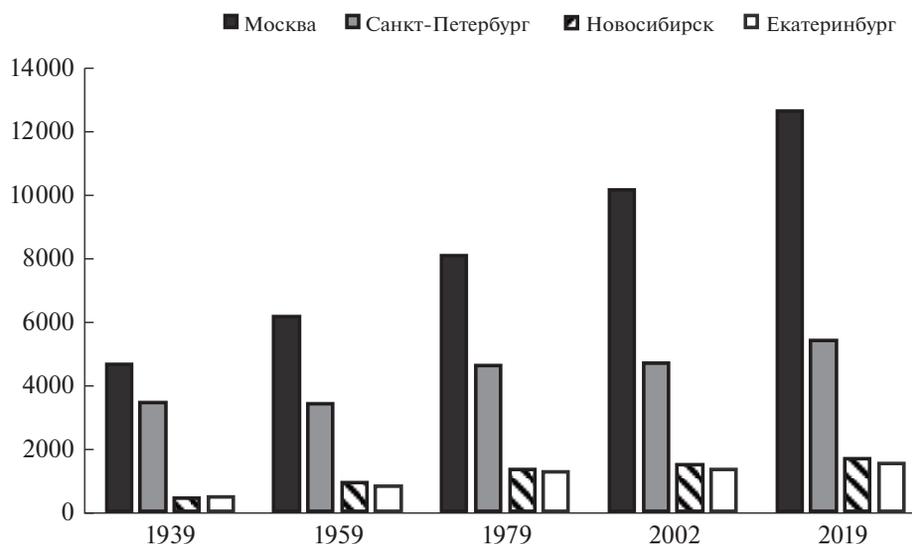


Рис. 1. Динамика численности населения крупнейших городов России (тыс. чел.).

насаждений на здоровье человека, функционирование новых “сугубо городских” сообществ животных и растений, не имеющих естественных аналогов, и многие другие (Dornelas et al., 2014). Таким образом, урбанизацию можно назвать одним из самых глобальных и непреднамеренных экспериментов, который поставило человечество и который позволяет предсказать, как виды будут реагировать на изменения антропогенного характера в масштабах не только городов, но и всей планеты (включая изменения климата) (Lahr et al., 2018).

В начале 1990-х гг. “городская экология” уже приобрела статус самостоятельной науки (Collins et al., 2000; O’Brien, 2012). Ранее городские экосистемы довольно редко становились предметом исследования. Однако в последние десятилетия прослеживается явная тенденция к осознанию городской среды не как к нарушенной, а как к самодостаточной и полноценно функционирующей, где активно протекают эко-эволюционные процессы. Свидетельством того является стремительный рост публикаций на эту тему (с 20 статей в год в 1990-м до 1000 – в 2016–2017 гг.) (Johnson, Munshi-South, 2017; Rivkin et al., 2019a), появление специализированных журналов (“Environment and Urbanization”, “Journal of Urban Ecology”, “Urban Ecosystems”, “Urban Habitats” и др.), обзорных монографий, ежегодно растущее число научных конференций.

Проведенный нами анализ тематик статей по городской экологии, вышедших в период с 1995 по 2020 год, по базе Web of Science Core Collection (рис. 2) показал, что в отечественной литературе исследований, посвященных этой проблеме очень мало, а работы по эволюции и глобальной экологии единичны, в отличие от зарубежных публикаций. Стоит обратить внимание, что са-

мые ранние работы в области городской экологии были в основном посвящены городскому ландшафту и ботаническим исследованиям. В последнее десятилетие интерес к этим темам сохранился, но также появились статьи, освещающие проблемы глобальной экологии и эволюции (рис. 2а).

В СССР, а затем и в России, формирование научного интереса к городской экологии связано прежде всего с орнитологическими исследованиями, в частности с изучением врановых. Многие виды этого семейства обитают в урбанизированных ландшафтах, поэтому они оказались удобной моделью для рассмотрения динамики процессов проникновения птиц в города. Подобные работы начались еще в 1960-х гг. и стали основой деятельности Рабочей группы по изучению врановых птиц при Всесоюзном, а затем Мензбирском орнитологическом обществе (Константинов, 2008). Однако следует признать, что, несмотря на активный рост научного интереса к этой теме в мире, в России проблема экологии города получила еще недостаточное освещение в научной литературе – нет ни одного специализированного журнала, в свет выходит мало монографий, посвященных этому вопросу, и, как правило, исследования касаются конкретных городов или таксонов, а не фундаментальных научных проблем. Это подтверждает и анализ публикационной активности отечественных ученых по базе Web of Science (рис. 2б).

Цель данного обзора – привлечь внимание, главным образом отечественных исследователей, к таким проблемам городской экологии, как адаптации растений и животных к существованию в новой экологической нише – городской среде, инвазиям чужеродных видов, эволюционным процессам в условиях города, географии городской среды и др.

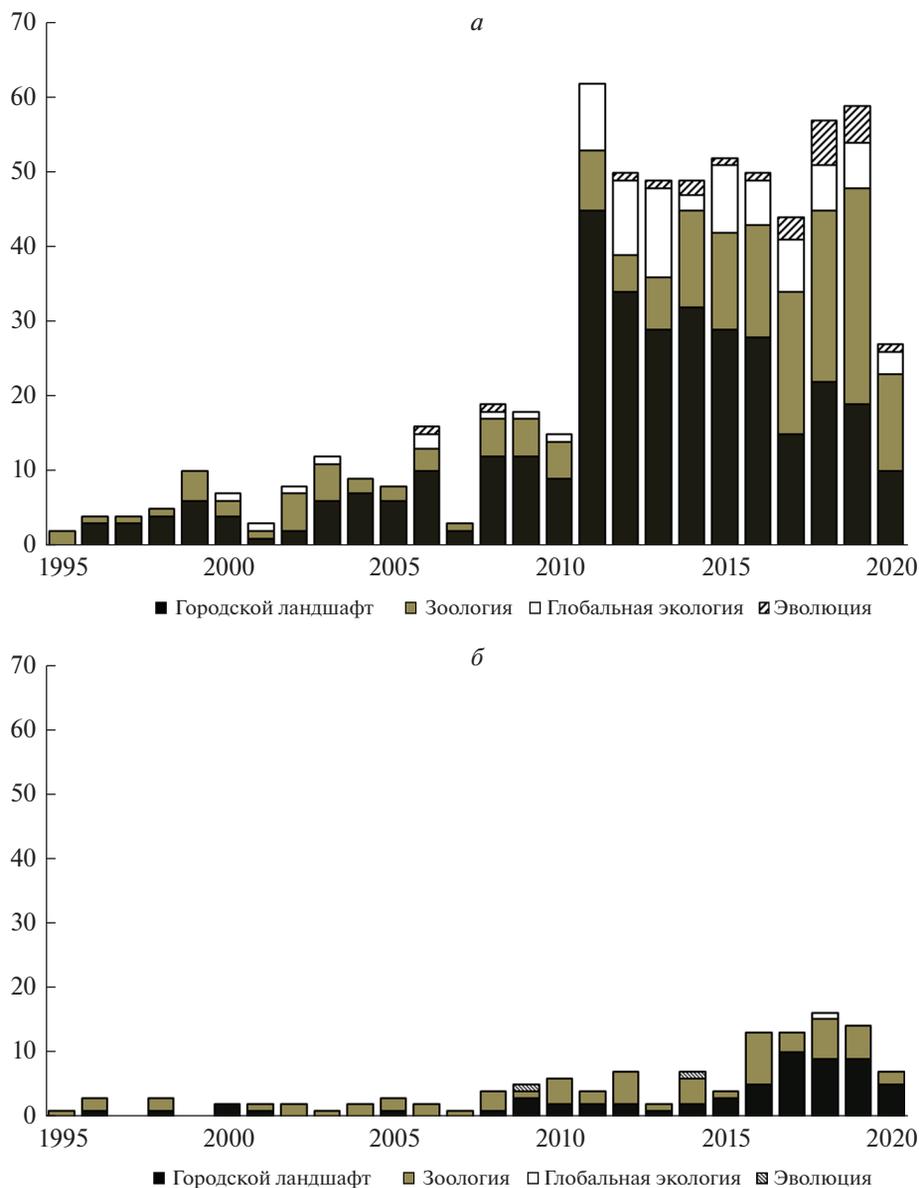


Рис. 2. Распределение по тематикам зарубежных (а) и отечественных (б) статей, относящихся к разделу “городская экология”, выходявших в 1995–2020 гг., по базе Web of Science Core Collection.

ГОРОД КАК НОВАЯ ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ НИША ДЛЯ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ

Для многих видов животных города стали привлекательным местом обитания, так как, несмотря на определенные недостатки, город имеет и преимущества перед естественной средой обитания. Это, например, более мягкие климатические условия, свободные пространства и укрытия, дополнительные (по сравнению с природными) кормовые ресурсы, в том числе за счет насекомых, которых привлекает городское освещение. Считается, что численность насекомых в городах в разы выше, чем в пригороде и в сельской местности (Hall et al., 2017). Экстремальные климатические параметры (температура, влажность) в го-

родах буферизируются, и амплитуды сезонных колебаний сглаживаются. Таким образом, периоды цветения растений и сезоны размножения животных в городах аридной и умеренной зон, как в “псевдотропических пузырьках”, растягиваются (Neil, Wu, 2006). Снижение интенсивности ветра и повышение температуры, особенно в зимнее время, также ведет к повышению биологической продуктивности (Faeth et al., 2011). Большая доступность ограничивающих ресурсов (таких как источники воды в городах аридной зоны) увеличивает и стабилизирует первичную продуктивность, создавая дополнительные ресурсы. Эксперимент, проведенный на сообществах растений в г. Балтиморе (США), показал, что через год после

перемещения в городские условия повышается биологическая продуктивность растений, а через пять лет многолетние растения начинают доминировать и вытеснять однолетники (Ziska et al., 2004; George et al., 2009).

Организмы реагируют на урбанизацию на разных уровнях: поведенческом, физиологическом, морфологическом (Le Gros et al., 2016). Фенологическая реакция выражается в более раннем начале цветения, по сравнению с естественной средой обитания, что зафиксировано по крайней мере в 10 городах Европы (Roetzer et al., 2000). Физиологические реакции выражаются в изменении интенсивности фотосинтеза и скорости роста у растений, в изменении численности и устойчивости к высоким температурам у насекомых (Youngsteadt et al., 2015), в сокращении продолжительности спячки у зимоспящих видов животных и т.д. (Surov et al., 2019). В городах меняется динамика численности животных-синурбистов¹ — становятся менее выраженными годовые и сезонные пики численности (Тихонова и др., 2012).

Усиление репродуктивных процессов является адаптивной реакцией мелких млекопитающих на увеличение смертности в городе. Так, при общем снижении численности полевки-экономки (*Microtus oeconomus*) в Сургуте в ответ на застройку естественных местообитаний, отмечено увеличение ее плодовитости (Морозкина, Стариков, 2013). Сходные данные были получены в Оренбурге на домовую мышь (*Mus musculus*), обыкновенной полевке (*Microtus arvalis*) и полевой мыши (*Apodemus agrarius*). Более того, на урбанизированных территориях в размножении начинают участвовать особи более раннего возраста (Шевлюк и др., 2014). Эти данные могут свидетельствовать о популяционном ответе видов на лимитирующие условия городской среды.

Более мягкие климатические условия города формируют некоторые изменения фенологии шмелей. Самки *Bombus terrestris*, *B. pascuorum* и *B. lapidarius* раньше выходят после зимовки по сравнению с загородными популяциями (Попов, 2013).

Изменения условий освещенности трансформируют поведенческие стереотипы у видов-синурбистов. В северных городах Европейской России при длительных зимних ночах серые воробьи (*Corvus cornix*) используют для поиска корма электрическое освещение улиц. В Москве включение света служит сигналом для массового пролета врановых птиц на ночевку (Константинов, 2015).

Интересно, что животные-синурбисты активно используют “городской материал”, приспособивая его к своим потребностям. Так, в г. Мехико (Мексика) домовые воробьи (*Passer domesticus*) и мексиканские чечевицы (*Haemorrhous mexicanus*)

используют для гнездостроения окурки. Можно предположить, что таким образом птицы борются с гнездовыми паразитами (Suárez-Rodríguez et al., 2013). Серые вороны в качестве строительного материала для гнезд часто используют предметы хозяйственной деятельности человека. Например, в Архангельске в гнездах ворон находили полиэтиленовую пленку, нитки, стекловату, куски проводов, алюминиевую проволоку, бумагу (Асоскова, Амосов, 2002). Многолетнее гнездо серой вороны высотой около 1 м, снятое с опоры ЛЭП в Москве в 1984 г., в основном было сделано из алюминиевой проволоки. Гнезда сорок, расположенные вблизи радиозавода в Перми, за исключением глиняной чаши состояли из небольших алюминиевых уголков (Константинов, 2015). Похожую картину наблюдали в черте Львова, где сороки использовали для строительства гнезд куски алюминиевой и медной проволоки длиной 20–50 см (Бокотей, Потапенко, 1990).

Исследуя гнездовой материал в норах обыкновенного хомяка (*Cricetus cricetus*) в Симферополе, мы также регулярно обнаруживали полиэтиленовые пакеты, елочную мишуру, нетканые салфетки, аккуратно нарезанные животными на ленты и подготовленные для использования в качестве гнездовой подстилки.

Даже эти немногочисленные примеры свидетельствуют о том, что город формирует принципиально новые условия существования, которые не только выявляют скрытые адаптационные возможности вида, но и обуславливают протекание эволюционных процессов, о чем подробнее будет сказано ниже. Таким образом, история городов — это также история новых типов экосистем (Сукорр, 2003), а критическое воздействие урбанистических факторов на климат, гидрологию и почвы в конечном итоге приводит к формированию новых моделей биоразнообразия (Lippe et al., 2005).

ИНВАЗИИ КАК ФАКТОР РАЗВИТИЯ ГОРОДСКИХ ЭКОСИСТЕМ

В последние десятилетия крупные города были признаны очагами фиторазнообразия: флора городов обычно богаче, чем окружающие территории (Рыšek, 1993; McKinney, 2006). Это связано главным образом с увеличением доли адвентивных видов растений, которая в городах Центральной Европы может достигать 40–50% (Рыšek, 1998; Kühn et al., 2004; Kowarik, 2020) как за счет активного вселения в города инвазивных видов растений (например, с транспортом), так и декоративного озеленения. С другой стороны, большая неоднородность антропогенной среды, особенности городского климата, почв, гидрологии сами по себе способствуют распространению таких видов (Lippe et al., 2005). Было обнаружено, что количество автохтонных видов уменьшается от окраин к городским центрам. Например, в Мехико наблюдалось линейное снижение числа ви-

¹ Видами-синурбистами мы называем организмы, которые приспособиваются к существованию в городской среде. Термин является производным от “синурбанизация”, предложенного Анджеевским с соавт. (Andrzejewski et al., 1978).

дов растений с 30–80 видов на гектар в пригородах до 3–10 в центре города. Полосы отчуждения железнодорожных путей и автомагистралей усиливают присутствие чужеродных видов в городах (Pickett et al., 2011).

Урбанизация приводит к тому, что большая часть аборигенных видов растений заменяется относительно небольшим числом широко распространенных и агрессивных видов, часто не встречающихся в пригородах. Международный научный консорциум под названием GLUSEEN (Глобальная сеть экологии и образования почв города) провел исследования ДНК почвенных микроорганизмов в городах и природных зонах Африки, Северной Америки и Европы и обнаружил, что видовой состав городских почв на этих континентах практически идентичен. По крайней мере, сообщества 12000 видов грибов и 3700 видов архей в городах гораздо более сходен, чем в окружающих их биотопах.

В городах Америки (например, в Балтиморе) около 80% высших растений, обитающих около корней уличных деревьев, были идентичны тем, которые встречаются в европейских городах. Все это означает, что урбоценозы по всему миру становятся все более похожими; сообщества растений и животных, грибов, одноклеточных организмов и вирусов постепенно приближаются к единому глобализированному городскому биоразнообразию. Этот процесс носит название биотической гомогенизации (McKinney, 2006; Olden, Rooney, 2006). В дальнейшем адвентивные виды начинают проникать из центра на окраины, вытесняя автохтонные виды уже и в пригородах. Таким образом, города сами становятся источниками распространения инвазивных видов растений (Müller, Werner, 2010).

Несмотря на увеличивающееся видовое богатство и разнообразие, происходящее за счет сосуществования адвентивных и аборигенных видов, флора разных городов становится все более и более сходной.

Естественно, что урбанизация отражается и на биоразнообразии городской фауны. Так, распространение тротуарных муравьев (*Tetramorium caespitum*) в Северной Америке является классическим примером успешной натурализации в городах. Около 200 лет назад этот вид был завезен в Соединенные Штаты с почвой, которая использовалась в качестве балласта на торговых судах. В настоящее время он является одним из самых распространенных видов муравьев в городах и пригородах вдоль побережья Атлантического океана от Канады до Флориды (King, Green, 1995).

Ожереловые попугаи Крамера (*Psittacula krameri*) были завезены в Европу и США из Африки и Азии в качестве домашних питомцев. В течение последних десятилетий они, покидая клетки, создавали колонии в городах Старого и Нового Света. Уже из городов попугаи начали расселяться в сельские районы, становясь серьезными вредите-

лями зерновых культур. Более того, одичавшие птицы негативно влияли на гнездование аборигенных видов – удонов, сычей (Butler, 2005; Strubbe, Matthysen, 2007).

Домовый воробей, вероятно, возник на Ближнем Востоке (в настоящее время “дикие” популяции этого вида неизвестны) и распространился вместе с сельским хозяйством по большей части Евразии и в некоторых частях Северной Африки. С середины XIX в. он захватил большую часть мира. Космополитизм этого вида объясняется множеством факторов, включая крупный размер мозга, большое количество поведенческих адаптаций, комменсализм по отношению к человеку и т.д. (Garber, 1998). Воробьи не только адаптировались к жизни в городах, но и стали серьезной проблемой для местной орнитофауны. Споры о ценности этого вида, допустимости его сохранения и вреде, наносимом им, часто выходили за рамки научных дискуссий и стали известны как “война воробьев”. В метафорическом смысле стоял вопрос даже о том, можно ли переносить проблему воробьев-вселенцев на мигрантов в широком смысле (Fine, Christoforides, 1991).

Подобно домовому воробью, есть и другие виды, которые настолько широко распространились по городам мира, что без них уже практически невозможно представить себе городской ландшафт. Это, например, сизые голуби (*Columba livia domestica*), которых начали одомашнивать как минимум 3–4 тыс. лет назад. Проводилось их селекционное разведение для улучшения отдельных экстерьерных признаков, и выводились породы для практического использования (Kelcey, Rheinwald, 2005). Одомашненные голуби преданмерно выпускались или сами покидали клетки и распространились в городах по всему миру. Сейчас в центрах многих городов биомасса диких голубей на порядки выше, чем в естественных местообитаниях (Nuorteva, 1971). Среди положительных аспектов можно выделить то, что голуби подьедают остатки пищи человека и тем самым очищают улицы города от болезнетворных организмов. Однако в помете этих птиц было найдено более 60 возбудителей болезней, хотя случаи заражения от голубей человека единичны.

Чайки, как и голуби, за последние десятилетия все активнее осваивают города, но в отличие от последних, они в основном концентрируются на городских свалках. Однако случаи гнездования чаек непосредственно в урбанизированной среде были крайне редки. Но в 1998–1999 гг. В.А. Зубакин обнаружил гнезда чаек вдали от водоемов и на изначально сухих местах – на залитой гидронном крыше прядильно-ниточной фабрики на берегу р. Клязьмы недалеко от центра Ногинска (Зубакин, 2001). Таким образом, чайки также демонстрируют склонность к синурбанизации.

На протяжении последних 50 лет сохраняется тенденция к увеличению количества и размеров популяций серой вороны в Москве. Интенсивное

заселение городов этим видом произошло во второй половине XX в. и охватило многие города Европейской России (Константинов, 2008).

В 1820-х гг. отмечено появление и гнездование черных дроздов (*Turdus merula*) в Риме. 200 лет назад этот вид являлся исключительно лесным, но с начала XIX в. его ареал начал расширяться из европейских лесных массивов и они начали колонизировать растущие города (Luniak et al., 1990). К концу XIX в. эти птицы стали обычными в городах Центральной Европы, а в XX в. достигли Лондона, городов Исландии и Северной Скандинавии. В течение всего этого периода распространение городских популяций происходило со средней скоростью 8 км в год. В городах этот вид приобрел ряд новых черт: птицы перестали совершать сезонные миграции и стали размножаться на месяц раньше, чем вне городов. Черные дрозды стали столь обычными в городах, что их предложили называть “городскими черными птицами” (Schilthuisen, 2018).

Таким образом, можно сказать, что у городской фауны и флоры прослеживаются сходные тенденции – происходит увеличение биоразнообразия по сравнению с естественными биотопами.

Безусловно, накопление подобных фактов поможет проследить формирование биологического разнообразия городов и проанализировать связи в сообществах растений и животных. Это даст возможность прогнозировать возможные изменения в городских экосистемах, когда урбанизация будет все больше захватывать пригородные территории и сильнее влиять на сложившиеся местные экосистемы.

ЭВОЛЮЦИЯ В ГОРОДЕ

Как дисциплина, городская экология не может рассматриваться в отрыве от эволюционных процессов, происходящих в урбоценозах. Очевидно, что фрагментация и деградация естественных биотопов в городах ведут к уменьшению размеров и усилению изоляции аборигенных популяций, подобно “островному эффекту” (Faeth, Kane, 1978; Haddad et al., 2015; Феоктистова и др., 2016, 2019). Урбанизация или, точнее, синурбанизация влияет на адаптивные (естественный и половой отбор) и неадаптивные (дрейф генов и перенос генов) эволюционные процессы (Johnson, Munshi-South, 2017). Изменения в биотической и абиотической среде, происходящие по градиенту урбанизации, могут существенно ускорять естественный отбор и стимулировать городскую адаптивную эволюцию (Hendry et al., 2008; Donihue, Lambert, 2015; Alberti et al., 2017; Schilthuisen, 2018; Rivkin et al., 2019b). Фактически города можно рассматривать как глобальные экспериментальные площадки для изучения эволюции, заметной здесь практически невооруженным глазом. По образному выражению голландского исследова-

теля Шильхузена, города являются “скороварками эволюции” (Schilthuisen, 2018).

Классическим примером городской эволюции, который попал во все учебники экологии, является промышленный меланизм березовой пяденицы (*Biston betularia*), обнаруженный в городах Англии в конце XIX в. (Tutt, 1896; Kettlewell, 1955). При сильном загрязнении копотью березовых стволов всего за 100 лет черная морфа березовой пяденицы сильно потеснила ранее гораздо более широко распространенную белую. Однако после принятия законодательства по ограничению загрязнения воздуха в 1950-х гг. процесс быстро пошел в обратную сторону, и к настоящему времени белые морфы *Biston betularia* снова преобладают (Cook, Saccheri, 2013). Интересно, что меланизм березовой пяденицы обеспечивается одной мутацией, обусловленной переходом 22000 н.п. из одной хромосомы в другую (Van't Hof et al., 2016).

Похожее явление формирования меланизма может быть рассмотрено на примере сизого голубя в Москве. По мере роста численности птиц в городе наблюдалась тенденция к увеличению доли меланистических форм и вытеснению светлоокрашенных и пестрых птиц из популяций. Адаптивный характер подобного явления заключается в том, что темные морфы оказались более приспособленными к существованию в больших скоплениях – их гнезда располагались ближе друг к другу, чем у светлых форм (Обухова, 2016). Исследования, проведенные на сизом голубе в ряде европейских стран, показали, что в перьях темных голубей содержание цинка на 25% больше, чем у светлоокрашенных. Предполагается, что городские голуби эволюционируют в сторону более темного оперения, благодаря детоксикационным свойствам перьев, наполненных меланином (Chatelain et al., 2016). Но, возможно, история сложнее, потому что гены, вырабатывающие меланин, также участвуют в регуляции гормона стресса и иммунной системы (Schilthuisen, 2018). Таким образом, окраска птиц и содержание тяжелых металлов в окружающей среде могут быть частью более сложной системы, в которой задействованы иммунная и гормональная регуляция.

В то же время у других видов-синурбистов подобные тенденции не отмечены. Так, не выявлена зависимость между частотой проявления лейкоизма (частичная утрата пигментации) у серых ворон и уровнем загрязнения на урбанизированных территориях Москвы. Однако частота встречаемости птиц с лейкоизмом возрастает с повышением плотности населения птиц и в период вылета молодых особей из гнезда (Фетисова, Мосалов, 2019).

Загрязнения могут быть не только промышленными, но и просто связанными со специфической городской средой. К ним относятся шумовое, световое, тепловое и другие загрязнения. Очевидно, что к их присутствию животным-синурбистам тоже необходимо приспосабливаться.

Так, например, большая синица (*Parus major*) в Европе, китайский настоящий бюльбюль (*Pycnonotus sinensis*) в Азии, рыжеошейниковая овсянка (*Zonotrichia capensis*) в Южной Америке, серебряная белоглазка (*Zosterops lateralis*) в Австралии и многие другие в городе стали петь громче и на более высокой частоте по сравнению с загородными популяциями, что связывают с необходимостью сохранения функциональности песен в условиях высокого уровня городского шума (Slabbekoorn, Peet, 2003). И такой эффект отмечен не только у птиц, но, например, у австралийской квакши (бурой литории *Litoria ewingii*) (Parris et al., 2009) и кузнечика *Chorthippus biguttulus* (Lampe et al., 2014). Более того, отмечено, что птицы в городах начинают петь по утрам в среднем на 50 мин раньше, чем за городом, пока еще не достигнут высокий уровень шума. Считается, что этот показатель связан еще и со световым загрязнением (Nemeth et al., 2013).

Постоянное освещение является одним из серьезных факторов, оказывающих негативное влияние на животных в городе. Однако некоторые виды смогли использовать и этот фактор в “своих интересах”. Например, взрослые самки мостовых пауков (*Larinioides sclopetarius*) предпочитают искусственно освещенные участки (под фонарями) для строительства ловчих сетей неосвещенным территориям. Пауки в искусственно освещенной “среде обитания” ловили в свою паутину в 4 раза больше добычи, чем те, которые строили ее в темных местах. И такое поведение предопределено генетически: выращенные в лаборатории потомки от самок, отловленных в городе, предпочитали искусственное освещение естественному (Heiling, 1999). А горностаевая моль (*Yponomeuta cagnagella*) из городских популяций, подвергающихся сильному световому загрязнению в течение поколений, реже летела на свет, чем ее деревенские сородичи. То есть обитающая в городе горностаевая моль развила способность не привлекаться светом, что пока является уникальным примером подобной адаптации для насекомых (Altermatt, Ebert, 2016).

Кроме светового и шумового загрязнений для городов характерно химическое загрязнение, в том числе загрязнение полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ), полихлорированными дифенилами (ПХБ), которые “прилипают” к белку АНР, действующему как регулятор программы развития эмбрионов. ПХБ и ПАУ постоянно вмешиваются в работу АНР, так что программы или включаются слишком рано или вовремя не выключаются. В таких условиях некоторые виды рыб, в частности небольшая хищная рыбка из семейства фундуловых — фундулус гетероклитус (*Fundulus heteroclitus*), распространенная вдоль Атлантического побережья и в водоемах США, Канады и на Бермудских островах, приспособились выживать в воде с концентрацией этих опасных веществ в 8000 раз превышающих ПДК для других видов рыб (Frederick

et al., 2007; Whitehead et al., 2011). Оказалось, что у рыб, обитающих в загрязненных водоемах Нью-Бедфордской гавани в Массачусетсе и в Бриджпорте (США), возникли мутации в генах белков АНР, которые выключили работу участка гена таким образом, что рыбки больше не реагируют на отравляющие вещества. Интересно, что эти мутации варьировали в разных популяциях фундулов в зависимости от особенностей загрязненных участков. Это может означать, что эволюция неоднократно приводила к формированию устойчивости к ПХБ. Пример с *F. heteroclitus* стал классическим для демонстрации устойчивости живых организмов к ПХБ и ПАУ, сформировавшейся всего за два десятка поколений (Reid et al., 2016). Другой пример устойчивости к загрязнению вод ПХБ демонстрирует атлантический томкод (*Micropogonias undulatus*). Показано, что 25% особей имеют патологии печени — неопластические узелки и гепатоцеллюлярную карциному, но тем не менее продолжают существовать в условиях загрязнения (Wirgin et al., 2011).

Группа ученых из Норвегии, Ирана и Казахстана провела анализ генов, отвечающих за расщепление крахмала у домового воробья. Было показано, что этот вид в течение примерно 6 тыс. лет сформировал адаптации к существованию в антропогенной среде. В числе прочего, это экспрессия гена *AMY2A*, который отвечает за усвоение кормов с высоким содержанием крахмала, т.е., по сути, питание обработанными человеком продуктами (хлебом) (Ravinet et al., 2018).

И это не единственный пример адаптаций, возникших у животных, питающихся в городах не типичной для них пищей. У мексиканской чечевицы, обитающей в г. Тусон (США) и питающейся семенами подсолнечника на кормушках для птиц, шел отбор по морфологии клюва — городские особи имели более широкие клювы, чем деревенские птицы, что обеспечивало им необходимую силу сжатия при обработке семян (Badyaev et al., 2008).

В 2017 г. в журнале “Proceedings of the National Academy of Sciences” группа авторов опубликовала глобальный анализ более 1600 случаев “фенотипических” изменений различных организмов и показала, что в городах они происходят быстрее, чем вне городов, и что наиболее сильными движущими силами эволюции являются столкновения второго рода (взаимодействия с самим человеком или с другими организмами, привнесенными им в город) (Schilthuizen, 2018).

Вопросы об эволюционных механизмах, действующих в антропогенно нарушенной среде, требуют более детального обсуждения, а также серьезного изучения на большем количестве видов.

ТРАНСФОРМАЦИЯ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ СТЕРЕОТИПОВ В ГОРОДАХ

Существование в городах множества видов-синантропов с устойчивыми поведенческими и экологическими характеристиками, позволяющими им жить рядом с человеком тысячи лет (крысы, мыши, клопы, тараканы и пр.), указывает на то, что эволюция этих видов в городской среде уже произошла (Johnson, Munshi-South, 2017; Thompson et al., 2018). Урбанизация требует разрушения имеющихся поведенческих стереотипов животных. Особенно это касается таких поведенческих характеристик, как толерантность к присутствию человека, внутривидовая агрессия, исследовательское поведение, добывание пищи и др. (Luniak, 2004).

На 42 видах птиц Австралии было показано, что дистанция испугивания при приближении человека у всех исследованных видов в городе меньше, чем в деревенских биотопах. При этом чем дольше птицы жили в городах, тем сильнее была выражена толерантность к человеку. Например, галки (*Corvus monedula*), которые колонизировали города еще в 1880-х гг., взлетают при приближении человека с 8 м в условиях города и с 30 м — в сельской местности. С другой стороны, большие пестрые дятлы (*Dendrocopos major*) начали заселять города с 1970-х гг., и разницы в дистанции испугивания у них практически одинаковые в городе и в деревне (Symonds et al., 2016). При этом выраженность этого параметра пропорциональна времени с начала освоения видом городских ландшафтов (Minias, Janiszewski, 2016).

На многих видах птиц показано, что за счет повышения плотности населения в городах растет внутривидовая агрессивность. Так, лысухи (*Fulica atra*) в условиях города становятся агрессивнее друг к другу, охраняя гнезда от сородичей. Подобное отмечалось и у певчего воробья (*Melospiza melodia*) (Scales et al., 2011). У самцов (но не самок) водяных ящериц (*Intellagama lesueurii*) агрессивность в городе также была выше, чем в сельской местности, однако сила укуса не увеличивалась, как это обычно бывает у ящериц в условиях высокой плотности (Baxter-Gilbert et al., 2019).

В городе может меняться и стратегия охотничьего поведения. Популяции ястреба-тетеревятника (*Accipiter gentilis*) начали заселять города СССР с 1980-х гг. Эти птицы в городе начали проявлять нетипичные способы охоты, например, добывая жертвы на чердаках, в сумерках, “мышкованием” среди травы (Еремкин, Очагов, 1998; Матус, 2003).

Особые условия кормообеспеченности в урбаноценозах требуют формирования специфических поведенческих адаптаций. Так, черные вороны (*Corvus corone*) в городах Японии употребляют в пищу широко распространенный здесь японский орех (*Juglans ailantifolia*), отличающийся особо твердой скорлупой. Чтобы добраться до ядра пти-

цы научились бросать целые орехи под колеса автомобилей, стоящих на светофорах. Впервые этот факт был установлен в 1975 г. в городе Сендай, а затем и во многих других городах Японии. Анализ множества таких случаев привел к заключению, что такое поведение является преднамеренным, и птицы способны обучаться этому навыку друг от друга (“культурные традиции”) (Nihey, 1995).

Другим, ставшим уже харизматическим примером поведенческой адаптации к городским условиям являются обыкновенные лазоревки (*Cyanistes caeruleus*). В 1930-х гг. в ряде английских городов птицы научились расклеивать крышки на бутылках с молоком и поедать отстоявшиеся сверху сливки (Hinde, Fisher, 1951).

ГОРОДСКАЯ ГЕОГРАФИЯ

Отдельного внимания заслуживает влияние особенностей урбанизированного ландшафта на экологию города. Фрагментация города создает условия, которые изолируют популяции и препятствуют перемещению животных между ними. Теория островной биогеографии использовалась для объяснения изменений биоразнообразия в городах в связи с размерами, сложностью, расстоянием до исходных популяций. Небольшие и удаленные друг от друга демы включают меньше особей из-за ограничения миграции и недостаточности ресурсов для поддержания минимальной численности, что в конечном счете может привести к вымиранию местных популяций (Müller, Werner, 2010).

На городских популяциях животных нередко можно наблюдать “эффект бутылочного горлышка” и “эффект основателя”. Исследование обыкновенного хомяка в Симферополе показало, что, несмотря на то, что единичные особи могут перемещаться по городу на большие расстояния, городская популяция представлена отдельными демами с высокой степенью генетической обособленности и сниженным по сравнению с установленным для города в целом генетическим разнообразием (Феоктистова и др., 2016, 2019).

Фрагментация городской среды приводит к снижению генетического разнообразия и большей генетической дифференциации среди городских популяций белого хомьяка (*Peromyscus leucopus*) (Munshi-South et al., 2016) и льнянки обыкновенной (*Linaria vulgaris*) (Bartlewicz et al., 2015) по сравнению с загородными популяциями.

Преградой для перемещения особей обыкновенной стенной ящерицы (*Podarcis muralis*) в г. Трире (Германия) является р. Мозель. Здания и дороги обеспечивают ограничение потока генов через город, тогда как городские виноградники и каменистые субстраты, напротив, облегчают его (Beninde et al., 2016).

Отдельные популяции темных (*Desmognathus fuscus*) в г. Нью-Йорке (Lourenço et al., 2017), краснопинных (*Plethodon cinereus*) в г. Монреале (Ка-

нада; Munshi-South et al., 2013) и огненных (*Salamandra salamandra*) в г. Овьедо (Испания; Noë et al., 2007) саламандры демонстрируют более низкое генетическое разнообразие, чем в менее урбанизированных районах (Johnson, Munshi-South, 2017).

Нередко из-за сильной гетерогенности ландшафта в городах можно встретить и изолированные от антропогенного воздействия территории, которые также испытывают влияние изоляции. Яркий пример — Бобровый остров, образовавшийся в конце 1960-х гг. в Нагатинской пойме р. Москвы (Пчелкина и др., 2013). Для посетителей он доступен только зимой, когда река замерзает, в остальное время это практически изолированная территория. Здесь, всего в нескольких километрах от Кремля, успешно сосуществуют бобры, ласки, ондатра и многие другие виды млекопитающих и птиц. Такое уникальное место, безусловно, перспективно для разнообразных научных работ.

В некоторых случаях городские парки выступают в качестве источников генетического разнообразия для окружающих территорий. Так, например, популяция большой синицы (*Parus major*), обитающей в Барселоне (Испания), содержит больше генетических линий в городских парках, чем в близлежащих лесах, и поток генов из городских в пригородные популяции интенсивнее, чем в обратном направлении (Björklund et al., 2010). Лесопарки, расположенные в черте города, являются оазисами для животных, обитающих в загородных лесных массивах, но посещающих город в поисках пропитания. В первую очередь это относится к птицам, так как они более мобильны. Организмы меньших размеров и со слабыми способностями к расселению, вероятно, острее испытывают потерю генетического разнообразия.

Поток генов может поддерживать генетическое разнообразие и уменьшать генетическую дифференциацию между городскими популяциями, но может также замедлять формирование адаптаций к существованию в городе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Считается, что городские экосистемы отличаются от своих “естественных” аналогов только степенью влияния человека (Walbridge, 1997). Однако многие экологические процессы в городской среде выражены даже ярче, чем в природе (Niemela, 1999). Города представляют собой уменьшенные модели глобальных экосистем, и благодаря этому глобальное потепление оказывает влияние на городские организмы в более сжатые сроки. Исследование влияния климатических изменений на экосистемы именно в городах позволит в мировом масштабе сохранить ресурсы и время для решения выявленных проблем (Lahr et al., 2018). Так, в городах создаются условия, в которых, вероятно, в будущем будет существовать

биосфера. Это, например, повышение содержания диоксида углерода, более высокие температуры, засуха, загрязнения почв. Таким образом, изучение влияния процессов урбанизации на экосистемы городов должно помочь прогнозировать возможные сценарии развития жизни на Земле.

Представляют интерес наблюдения за городскими сообществами растений и животных для оценки влияния климатических изменений в целом на трофические сети. Кроме этого, изучение городских экосистем позволит прогнозировать возможные изменения ареалов некоторых видов животных по мере изменения климатических условий. Так, например, изучение фауны городов Западной Сибири показало, что на юге идет замещение сухолюбивых видов млекопитающих на влаголюбивые в результате развития гидрологической сети в южных городах. На севере наблюдается обратная ситуация в связи с аридизацией местообитаний (Гашев, 2000).

Плохо изучена степень влияния адвентивных видов на эндемичные экосистемы и возможные последствия инвазий для мирового биоразнообразия. Не ясно, являются ли адаптации, возникающие у живых организмов в городской среде прямым или опосредованным следствием обитания в данных условиях. Не установлена связь ограничения потока генов и скорости эволюции в городах и экосистемах в целом.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук № АААА-А18-118042690110-1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Асоскова Н.И., Амосов П.Н., 2002. Изменение поведения серой вороны в урбанизированных ландшафтах севера таежной зоны Архангельской области // Экология врановых птиц в антропогенных ландшафтах. Мат-лы VI науч.-практ. конф. по врановым. Саранск. С. 9–13.
- Бокотей А., Потапенко В., 1990. О гнездовании сорок в металлических гнездах в черте г. Львова // Орнитология. Т. 24. С. 123.
- Гашев С.Н., 2000. Млекопитающие в системе экологического мониторинга (на примере Тюменской области). Тюмень: ТюмГУ. 220 с.
- Еремкин Г., Очагов Д., 1998. О тенденциях в изменении численности птиц Москвы и ближнего Подмосковья // Природа Москвы. М.: Биоинформсервис. С. 170–176.
- Зубакин В.А., 2001. Необычное гнездование чайковых птиц в Московской области в 1998 и 1999 годах // Орнитология. Т. 29. С. 291–293.
- Константинов В.М., 2008. Краткая история исследования врановых птиц // Рус. орнитол. журн. Т. 17. № 407. С. 415–425.
- Константинов В.М., 2015. Особенности синантропизации и урбанизации врановых птиц // Рус. орнитол. журн. Т. 24. № 1177. С. 2892–2901.

- Матус А., 2003. Ястреб-тетеревятник в Киеве // Беркут. Т. 12. № 1–2. С. 66–70.
- Морозкина А., Стариков В., 2013. Особенности экологии полевки-экономки города Сургута // Мир науки, культуры, образования. № 5 (42). С. 450–453.
- Обухова Н.Ю., 2016. Городские голуби: полиморфизм и стратегии выживания // Природа. № 9. С. 42–50.
- Попов И.Б., 2013. Фенологические стратегии шмелей (Hymenoptera, Apidae, *Vombus* Latr.) в условиях различных экосистем Северо-Западного Кавказа // Тр. Рус. энтомол. об-ва. Т. 84. С. 116–122.
- Пчелкина Т.А., Кухта А.Е., Пчелкин А.В., 2013. Формирование биоты на островах кварталов мегаполиса Москвы // Общество. Среда. Развитие (Тerra Humana). Т. 2. № 27. С. 243–250.
- Тихонова Г.Н., Тихонов И.А., Суров А.В., Богомолов П.Л., Котенкова Е.В., 2012. Экологические аспекты формирования фауны мелких млекопитающих урбанистических территорий Средней полосы России. М.: КМК. 373 с.
- Феоктистова Н.Ю., Мещерский И.Г., Суров А.В., Богомолов П.Л., Товпинец Н.Н., Поплавская Н.С., 2016. Генетическая структура городской популяции обыкновенного хомяка (*Cricetus cricetus*) // Генетика. Т. 52. № 2. С. 221–230.
- Феоктистова Н.Ю., Мещерский И.Г., Богомолов П.Л., Мещерский С.И., Поплавская Н.С. и др., 2019. Обыкновенный хомяк (*Cricetus cricetus*) в Предкавказье: генетическая структура городских и пригородных популяций // Генетика. Т. 55. № 3. С. 337–348.
- Фетисова Е.-Е.А., Мосалов А.А., 2019. Проявление лейкозизма в популяции серой вороны (*Corvus cornix* L.) в г. Москве // Экология урбанистических территорий Евразии. Мат-лы XII Всерос. конф. с междунар. участием. Кисловодск, 26–28 сентября 2019 г. Казань: ООО «Олитех». С. 164–166.
- Шевлюк Н.Н., Блинова Е.В., Боков Д.А., Обухова Н.В., Сивожелезова Н.А. и др., 2014. Морфофункциональные особенности размножения мелких млекопитающих в условиях урбанизированной среды обитания на примере г. Оренбурга // Изв. ОГАУ. Т. 46. № 2. С. 201–203.
- Alberti M., Correa C., Marzluff J.M., Hendry A.P., Palkovacs E.P. et al., 2017. Global urban signatures of phenotypic change in animal and plant populations // Proc. Natl. Acad. Sci. V. 114. № 34. P. 8951–8956.
- Altermatt F., Ebert D., 2016. Reduced flight-to-light behaviour of moth populations exposed to long-term urban light pollution // Biol. Lett. V. 12. № 4. Art. 20160111.
- Andrzejewski R., Babińska-Werka J., Gliwicz J., Goszczyński J., 1978. Synurbization processes in an urban population of *Apodemus agrarius*. I. Characteristics of population in urbanization gradient // Acta Theriol. V. 23. P. 341–358.
- Badyaev A.V., Young R.L., Oh K.P., Addison C., 2008. Evolution on a local scale: Developmental, functional, and genetic bases of divergence in bill form and associated changes in song structure between adjacent habitats // Evolution. V. 62. № 8. P. 1951–1964.
- Bartlewicz J., Vandepitte K., Jacquemyn H., Honnay O., 2015. Population genetic diversity of the clonal self-incompatible herbaceous plant *Linaria vulgaris* along an urbanization gradient // Biol. J. Linn. Soc. V. 116. № 3. P. 603–613.
- Baxter-Gilbert J., Riley J.L., Whiting M.J., 2019. Bold New World: Urbanization promotes an innate behavioral trait in a lizard // Behav. Ecol. Sociobiol. V. 73. № 8. P. 105.
- Beninde J., Feldmeier S., Werner M., Peroverde D., Schulte U. et al., 2016. Cityscape genetics: Structural vs. functional connectivity of an urban lizard population // Mol. Ecol. V. 25. № 20. P. 4984–5000.
- Björklund M., Ruiz I., Senar J.C., 2010. Genetic differentiation in the urban habitat: The great tits (*Parus major*) of the parks of Barcelona city // Biol. J. Linn. Soc. V. 99. № 1. P. 9–19.
- Butler C.J., 2005. Feral parrots in the continental United States and United Kingdom: past, present, and future // J. Avian Med. Surg. V. 19. № 2. P. 142–149.
- Chatelain M., Gasparini J., Frantz A., Chatelain J., 2016. Do trace metals select for darker birds in urban areas? An experimental exposure to lead and zinc // Glob. Change Biol. V. 22. P. 2380–2391.
- Collins J., Kinzig A., Grimm N., Fagan W., Hope D. et al., 2000. A new urban ecology // Am. Sci. V. 88. № 5. P. 416–425.
- Cook L., Saccheri I., 2013. The peppered moth and industrial melanism: Evolution of a natural selection case study // Heredity. V. 110. № 3. P. 207–212.
- Donihue C.M., Lambert M.R., 2015. Adaptive evolution in urban ecosystems // Ambio. V. 44. № 3. P. 194–203.
- Dornelas M., Gotelli N.J., McGill B., Shimadzu H., Moyes F. et al., 2014. Assemblage time series reveal biodiversity change but not systematic loss // Science. V. 344. № 6181. P. 296–299.
- Faeth S.H., Kane T.C., 1978. Urban biogeography – city parks as islands for Diptera and Coleoptera // Oecologia. V. 32. № 1. P. 127–133.
- Faeth S.H., Bang C., Saari S., 2011. Urban biodiversity: Patterns and mechanisms // Ann. NY Acad. Sci. V. 1223. № 1. P. 69–81.
- Fine G.A., Christoforides L., 1991. Dirty birds, filthy immigrants, and the English sparrow war – metaphoric linkage in constructing social problems // Symb. Interact. V. 14. № 4. P. 375–393.
- Frederick L.A., Veld P.A., van, Rice C.D., 2007. Bioindicators of immune function in creosote-adapted estuarine killifish, *Fundulus heteroclitus* // J. Toxicol. Environ. Health A. V. 70. № 17. P. 1433–1442.
- Garber S.D., 1998. The Urban Naturalist. L.: Dover Publications. 256 p.
- George K., Ziska L.H., Bunce J.A., Quebedeaux B., Hom J.L. et al., 2009. Macroclimate associated with urbanization increases the rate of secondary succession from fallow soil // Oecologia. V. 159. № 3. P. 637–647.
- Haddad N.M., Brudvig L.A., Clobert J., Davies K.F., Gonzalez A. et al., 2015. Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems // Sci. Adv. V. 1. № 2. P. e1500052.
- Hall D.M., Camilo G.R., Tonietto R.K., Ollerton J., Ahrne K. et al., 2017. The city as a refuge for insect pollinators // Conserv. Biol. V. 31. № 1. P. 24–29.
- Heiling A.M., 1999. Why do nocturnal orb-web spiders (Araneidae) search for light? // Behav. Ecol. Sociobiol. V. 46. № 1. P. 43–49.
- Hendry A.P., Farrugia T.J., Kinnison M.T., 2008. Human influences on rates of phenotypic change in wild animal populations // Mol. Ecol. V. 17. № 1. P. 20–29.
- Hinde R.A., Fisher J., 1951. Further observations on the opening of milk bottles by birds // British Birds. V. 44. P. 393–396.

- Johnson M.T.J., Munshi-South J., 2017. Evolution of life in urban environments // *Science*. V. 358. № 6363. P. eaam8327.
- Kelcey J.G., Rheinwald G., 2005. Birds in European Cities. St. Katharinen: Ginster Verlag. 450 p.
- Kettlewell H.B.D., 1955. Selection experiments on industrial melanism in the Lepidoptera // *Heredity*. V. 9. № 3. P. 323–342.
- King T., Green S., 1995. Factors affecting the distribution of pavement ants (Hymenoptera: Formicidae) in Atlantic Coast urban fields // *Entomol. News*. V. 106. № 5. P. 224–228.
- Kowarik I., 2020. Herbert Sukopp – an inspiring pioneer in the field of urban ecology // *Urban Ecosyst*. V. 23. № 3. P. 445–455.
- Kühn I., Brandl R., Klotz S., 2004. The flora of German cities is naturally species rich // *Evol. Ecol. Res*. V. 6. P. 749–764.
- Lahr E.C., Dunn R.R., Frank S.D., 2018. Getting ahead of the curve: Cities as surrogates for global change // *Proc. Biol. Sci*. V. 285. № 1882. P. 20180643.
- Lampe U., Reinhold K., Schmoll T., 2014. How grasshoppers respond to road noise: Developmental plasticity and population differentiation in acoustic signalling // *Funct. Ecol*. V. 28. № 3. P. 660–668.
- Le Gros A., Samadi S., Zuccon D., Cornette R., Braun M.P. et al., 2016. Rapid morphological changes, admixture and invasive success in populations of Ring-necked parakeets (*Psittacula krameri*) established in Europe // *Biol. Invasions*. V. 18. № 6. P. 1581–1598.
- Lippe M., von der Saumel I., Kowarik I., 2005. Cities as drivers for biological invasions—the role of urban climate and traffic // *Die Erde*. V. 136. № 2. P. 123–143.
- Lourenço A., Álvarez D., Wang I.J., Velo-Antón G., 2017. Trapped within the city: Integrating demography, time since isolation and population specific traits to assess the genetic effects of urbanization // *Mol. Ecol*. V. 26. № 6. P. 1498–1514.
- Luniak M., 2004. Synurbization – adaptation of animal wildlife to urban development // 4th Int. Urban Wildlife Symp. Tucson: Univ. Arizona. P. 50–55.
- Luniak M., Mulsow R., Walasz K., 1990. Urbanization of the European Blackbird expansion and adaptations of urban population // *Urban Ecological Studies in Central and Eastern Europe* / Ed. Luniak M. Wrocław: Ossolineum. P. 87–199.
- McKinney M.L., 2006. Urbanization as a major cause of biotic homogenization // *Biol. Conserv*. V. 127. № 3. P. 247–260.
- Minias P., Janiszewski T., 2016. Territory selection in the city: Can birds reliably judge territory quality in a novel urban environment? // *J. Zool*. V. 300. № 2. P. 120–126.
- Müller N., Werner P., 2010. Urban biodiversity and the case for implementing the convention on biological diversity in towns and cities // *Urban Biodiversity and Design* / Eds Müller N., Werner P., Kelcey J.G. Oxford: Wiley-Blackwell. P. 3–34.
- Munshi-South J., Zak Y., Pehek E., 2013. Conservation genetics of extremely isolated urban populations of the northern dusky salamander (*Desmognathus fuscus*) in New York City // *PeerJ*. V. 1. P. e64.
- Munshi-South J., Zolnik C.P., Harris S.E., 2016. Population genomics of the Anthropocene: Urbanization is negatively associated with genome-wide variation in white-footed mouse populations // *Evol. Appl*. V. 9. № 4. P. 546–564.
- Neil K., Wu J., 2006. Effects of urbanization on plant flowering phenology: A review // *Urban Ecosyst*. V. 9. № 3. P. 243–257.
- Nemeth E., Pieretti N., Zollinger S.A., Geberzahn N., Partecke J. et al., 2013. Bird song and anthropogenic noise: Vocal constraints may explain why birds sing higher-frequency songs in cities // *Proc. Biol. Sci*. V. 280. № 1754. P. 20122798.
- Niemela J., 1999. Ecology and urban planning // *Biodivers. Conserv*. V. 8. № 1. P. 119–131.
- Nihey Y., 1995. Variations of behaviour of carrion crows *Corvus corone* using automobiles as nutcrackers // *Jap. J. Ornithol*. V. 44. № 1. P. 21–35.
- Noël S., Ouellet M., Galois P., Lapointe F.-J., 2007. Impact of urban fragmentation on the genetic structure of the eastern red-backed salamander // *Conserv. Genet*. V. 8. № 3. P. 599–606.
- Nuorteva P., 1971. The synanthropy of birds as an expression of the ecological cycle disorder caused by urbanization // *Ann. Zool. Fennici*. № 8. P. 547–553.
- O'Brien K., 2012. Global environmental change II: From adaptation to deliberate transformation // *Prog. Hum. Geogr*. V. 36. P. 667–676.
- Olden J.D., Rooney T.P., 2006. On defining and quantifying biotic homogenization // *Glob. Ecol. Biogeogr*. V. 15. № 2. P. 113–120.
- Parris K.M., Velik-Lord M., North J.M.A., 2009. Frogs call at a higher pitch in traffic noise // *Ecol. Soc*. V. 14. № 1. P. 24.
- Pickett S.T.A., Cadenasso M.L., Grove J.M., Boone C.G., Groffman P.M. et al., 2011. Urban ecological systems: Scientific foundations and a decade of progress // *J. Environ. Manag*. V. 92. № 3. P. 331–362.
- Pyšek P., 1993. Factors affecting the diversity of flora and vegetation in central European settlements // *Vegetatio*. V. 106. № 1. P. 89–100.
- Pyšek P., 1998. Is there a taxonomic pattern to plant invasions? // *Oikos*. V. 82. № 2. P. 282–294.
- Ravinet M., Elgvin T.O., Trier C., Aliabadian M., Gavrillov A., Sætre G.-P., 2018. Signatures of human-commensalism in the house sparrow genome // *Proc. Roy. Soc. B*. V. 285. № 1884. P. 20181246.
- Reid N.M., Proestou D.A., Clark B.W., Warren W.C., Colbourne J.K. et al., 2016. The genomic landscape of rapid repeated evolutionary adaptation to toxic pollution in wild fish // *Science*. V. 354. № 6317. P. 1305–1308.
- Rivkin L., Santangelo J., Alberti M., Aronson M., Keyzer C., de, et al., 2019a. A roadmap for urban evolutionary ecology // *Evol. Appl*. V. 12. № 3. P. 384–398.
- Rivkin L.R., Santangelo J.S., Alberti M., Aronson M.F.J., Keyzer C.W., de, et al., 2019b. A roadmap for urban evolutionary ecology // *Evol. Appl*. V. 12. № 3. P. 384–398.
- Roetzer T., Wittenzeller M., Haeckel H., Nekovar J., 2000. Phenology in central Europe – differences and trends of spring phenophases in urban and rural areas // *Int. J. Biometeorol*. V. 44. № 2. P. 60–66.
- Scales J., Hyman J., Hughes M., 2011. Behavioral syndromes break down in urban song sparrow populations // *Ethology*. V. 117. № 10. P. 887–895.
- Schilthuizen M., 2018. Darwin Comes to Towns. How the Urban Jungle Drives Evolution. L.: Quercus Edition Ltd. 344 p.

- Slabbekoorn H., Peet M.*, 2003. Ecology: Birds sing at a higher pitch in urban noise – Great tits hit the high notes to ensure that their mating calls are heard above the city's din // *Nature*. V. 424. № 6946. P. 267.
- Strubbe D., Matthysen E.*, 2007. Invasive ring-necked parakeets *Psittacula krameri* in Belgium: Habitat selection and impact on native birds // *Ecography*. V. 30. № 4. P. 578–588.
- Suárez-Rodríguez M., López-Rull I., Macías García C.*, 2013. Incorporation of cigarette butts into nests reduces nest ectoparasite load in urban birds: New ingredients for an old recipe? // *Biol. Lett.* V. 9. № 1. P. 20120931.
- Sukopp H.*, 2003. Flora and vegetation reflecting the urban history of Berlin // *Die Erde*. V. 134. № 3. P. 295–316.
- Surov A.V., Zaytseva E.A., Kuptsov A.V., Katzman E.A., Bogomolov P.L. et al.*, 2019. Circle of life: The common hamster (*Cricetus cricetus*) adaptations to the urban environment // *Integr. Zool.* V. 14. № 4. P. 383–395.
- Symonds M.R., Weston M.A., Dongen W.F., van, Lill A., Robinson R.W., Guay P.-J.*, 2016. Time since urbanization but not encephalisation is associated with increased tolerance of human proximity in birds // *Front. Ecol. Evol.* V. 4. <https://doi.org/10.3389/fevo.2016.00117>
- Thompson K.A., Rieseberg L.H., Schluter D.*, 2018. Speciation and the City // *Trends Ecol. Evol.* V. 33. № 11. P. 815–826.
- Tutt J.W.*, 1896. *British Moths*. L.: G. Routledge and Sons. 368 p.
- United Nations World Urbanization Prospects: The 2018 Revision, 2018. <https://www.un.org/en/desa/products/publications>
- Van't Hof A.E., Campagne P., Rigden D.J., Yung C.J., Lingley J. et al.*, 2016. The industrial melanism mutation in British peppered moths is a transposable element // *Nature*. V. 534. № 7605. P. 102–105.
- Walbridge M.*, 1997. Urban ecosystems // *Urban Ecosyst.* V. 1. № 1. P. 1–2.
- Whitehead A., Galvez F., Zhang S.J., Williams L.M., Oleksiak M.F.*, 2011. Functional genomics of physiological plasticity and local adaptation in killifish // *J. Heredity*. V. 102. № 5. P. 499–511.
- Wirgin I., Roy N.K., Loftus M., Chambers R.C., Franks D.G., Hahn M.E.*, 2011. Mechanistic basis of resistance to PCBs and dioxin in Atlantic tomcod from the Hudson River // *Science*. V. 331. № 6022. P. 1322–1325.
- Youngsteadt E., Dale A.G., Terando A.J., Dunn R.R., Frank S.D.*, 2015. Do cities simulate climate change? A comparison of herbivore response to urban and global warming // *Glob. Change Biol.* V. 21. № 1. P. 97–105.
- Ziska L.H., Bunce J.A., Goins E.W.*, 2004. Characterization of an urban-rural CO₂/temperature gradient and associated changes in initial plant productivity during secondary succession // *Oecologia*. V. 139. № 3. P. 454–458.

Urban ecology: Retrospective and study prospects

T. N. Karmanova^{a, *}, N. Yu. Feoktistova^{a, **}, E.-E. A. Fetisova^{a, ***},
A. A. Mosalov^{a, b, ****}, A. V. Surov^{a, *****}

^a*Institute of Ecology and Evolution, RAS
Leninsky prosp., 33, Moscow, 119071 Russia*

^b*Moscow State Pedagogical University
Kibalchicha str., 6, Moscow, 129164 Russia*

*e-mail: karmanovs95@mail.ru

**e-mail: feoktistovanyu@gmail.com

***e-mail: e3004e@gmail.com

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

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

In the first decade of the XXI century, the world's population has become predominantly urban, and it is assumed that by 2050 it will account for 68% of the total world population. In Russia to date, 74% of the country's population already lives in cities. However, the high concentration of the population is only an outward manifestation of urbanization. Many global environmental problems accompany it: disruption of biogeochemical cycles, climate change, loss of biodiversity, biological invasions, etc. This means, therefore, the special importance of cities in the formation of living conditions not only for most of humanity but also for all creatures on the planet. One day, urban ecosystems might be the dominant form of nature on our urbanized planet. So, as the urban environment expands its reach, it will become more and more an ecosystem in its own right, with its own evolutionary rules and running at its own evolutionary pace. Although for a long time the urban environment was considered unworthy of scientific research due to its "artificiality", scientists now believe cities to be natural laboratories, where applied purely urban planning and fundamental environmental problems not only can, but must be solved. In the early 1990s, urban ecology has acquired an independent status. In Russia, scientists have drawn attention to the urgency of urban ecology problems since 1960–70s, but so far, only a few researchers are engaged in it. The review is devoted to the history of the formation of urban ecology as a science, the adaptations of animals of different taxa to urban conditions: a) to pollution by heavy metals, noise, light, etc.; b) defragmentation of habitats; c) to forage of anthropogenic origin. Fundamental problems are formulated that need to be addressed in the study of urban communities, including assessing the rate of evolution of animals and plants in urban conditions.

УДК 57.065

ПОЛИФАЗНЫЙ ПОДХОД В ТАКСОНОМИИ ГРИБОВ

© 2021 г. Ф. Б. Ганнибал*

*Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений
ш. Подбельского, 3, Санкт-Петербург, 196608 Россия*

**E-mail: fgannibal@vizr.spb.ru*

Поступила в редакцию 12.10.2020 г.

После доработки 26.11.2020 г.

Принята к публикации 17.12.2020 г.

Систематика микроскопических грибов всегда испытывала ряд специфических трудностей. Для систематики грибов важным достижением двух последних десятилетий явилось развитие молекулярной филогении. Использование мультилокусного секвенирования в связке с филогенетическим анализом технически наиболее удобно и методологически оправдано для определения границ видов в рамках эволюционной концепции вида, которая в настоящее время является наиболее популярной у микологов и, очевидно, будет оставаться таковой в ближайшем будущем. Наиболее подходящий инструмент для делимитации видов – филогенетическое распознавание. Однако этот уже хорошо отработанный подход не всегда дает возможность однозначно структурировать биоразнообразие и впоследствии с легкостью проводить идентификацию таксонов. Возникшая в 1970-е годы в среде бактериологов так называемая полифазная таксономия с конца 2000-х приобрела некоторую популярность и среди микологов. В настоящее время под ней подразумевают консенсусную таксономию – выделение таксономических групп в результате сравнительного анализа всевозможных доступных признаков. В статье рассмотрен процесс формирования полифазного подхода и практика его применения в современной микологии. Отдельный раздел обзора посвящен разнообразию признаков, доступных для миколога, и целесообразности их использования в таксономии, в частности в рамках полифазного подхода. Сделано заключение, что полифазный подход необходим в случаях, когда филогенетическое распознавание не дает удовлетворительного результата. Например, при небольшом количестве секвенированных генов или при анализе недавно дивергировавших видов. Кроме того, рассматриваемый подход пригоден для формирования таксономических гипотез, которые будут проверены филогенетическими методами и, опираясь на которые, могут быть сделаны подходящие выборки штаммов (образцов).

DOI: 10.31857/S0044459621020032

Идеологический и методический багаж биологической систематики весьма богат и разнообразен. Свой след в биологии оставил большой ряд таксономических практик, каждая из которых прошла через серию стадий преобразования: рождение, формирование, популярность и порой забвение. Постепенно менялся тип используемых данных (признаков), методы их получения (наблюдения) и представления о разрешенных способах их интерпретации (концепции).

Систематика микроорганизмов, и в том числе микроскопических грибов, всегда испытывала особые трудности как теоретического, так и практического толка. Основными причинами являются, пожалуй, две. Во-первых, дефицит легко наблюдаемых стабильных признаков, в первую очередь из-за морфологической бедности микроорганизмов. Большинство же концепций формировалось с расчетом на более сложные многоклеточные организмы. Во-вторых, для многих мик-

роорганизмов, включая значительную часть видов грибов, характерно отсутствие полового размножения, самооплодотворение или технические трудности при изучении полового процесса, что делает биологическую концепцию вида (Dobzhansky, 1937; Mayr, 1963) для них неприменимой либо непродуктивной.

Для систематики грибов важным достижением двух последних десятилетий явилось развитие молекулярной филогении – дисциплины, позволяющей генерировать большое количество данных о молекулярных маркерах (признаках) и проводить их компьютерную обработку, нацеленную на реконструкцию филогенеза. Возможность оперировать большими объемами данных и свести к минимуму субъективность их интерпретации была сразу оценена микологами.

Молекулярная систематика (систематика, в основе которой лежит анализ молекулярной филогении) внесла и продолжает вносить колос-

сальный вклад в развитие знаний о таксономическом разнообразии грибов. Количество работ, вышедших с конца 1990-х годов и посвященных молекулярной систематике отдельных групп грибов, не поддается подсчету. Однако и этот подход быстро показал, что не представляет собой панацею, не всегда давая возможность однозначно структурировать биоразнообразие и впоследствии с легкостью проводить идентификацию таксонов.

Возникшая в 1970-е годы (Colwell, 1970) в среде бактериологов так называемая полифазная таксономия с конца 2000-х приобрела некоторую популярность и среди микологов. В последние полтора десятилетия появилось несколько десятков работ по таксономии грибов, апеллирующих к полифазному подходу. Наиболее интересные из них будут рассмотрены ниже. Многие работы по полифазной систематике грибов предваряются молекулярно-филогенетическим анализом и оканчиваются его надстройкой.

В данном обзоре предпринята попытка разобраться в сути полифазного подхода, рассмотреть уже имеющийся опыт его применения для систематики микроскопических грибов и оценить таксономическую ценность признаков, которые в настоящий момент могут быть использованы микологами.

ФОРМИРОВАНИЕ ПОЛИФАЗНОГО ПОДХОДА

Автор термина “полифазная таксономия” (polyphasic taxonomy) — американский микробиолог Рита Колвелл, которая ввела его в своей работе, посвященной нумерической таксономии бактерий р. *Vibrio* (Colwell, 1970). Первоначально термин использовался микробиологами (бактериологами) в значении, сходном с фенетической систематикой. Отличием являлось то, что полифазная таксономия стремилась объединить много уровней информации, от молекулярного до экологического. Всем дискретным признакам придавался примерно равный вес и равное значение при построении системы.

Впоследствии понятие полифазной таксономии приобрело несколько иной смысл. С определенных пор под ним подразумевают консенсусную таксономию — выделение таксономических групп в результате сравнительного анализа всевозможных доступных признаков (Vandamme et al., 1996). Суть подхода заключается в независимом анализе множества признаков и свойств у большого числа штаммов, по возможности полно представляющих изучаемую группу (например, род). По результатам анализа каждого признака строятся частные таксономические системы, которые затем сравниваются, и выделяются таксо-

ны, статус которых в большинстве частных систем оказался одинаков. Для штаммов с дискуссионным статусом продолжается анализ на основе новых признаков.

Методология использования данного подхода в таксономии и набор признаков, рекомендуемый для обязательного изучения, в бактериологии достаточно хорошо отработаны (Vandamme et al., 1996; Gillis et al., 2001; Prakash et al., 2007). В микологической литературе чаще аккуратно говорится не о полифазной таксономии, а о полифазном подходе к характеристике (Aveskamp et al., 2010), изучению (Cai et al., 2009) или идентификации (Frisvad, 2011) того или иного таксона. В некоторых работах (Schmidt et al., 2004, p. 341) авторы наряду с полифазной таксономией используют термин “интегрированная таксономия” (“integrated taxonomic study... based on the use of composite datasets”), подчеркивая комплексность подхода и разнообразие используемых данных.

В макросистематике полифазный подход не используется. Основной точкой приложения полифазного подхода является род с целью распознавания в нем отдельных видов. В связи с этим необходимо обратить внимание на важный семантический нюанс. Отмечают путаницу между понятием концепции вида, т.е. описанием типа сущности, представляющей собой вид, и понятием критериев вида, которые ограничивают отдельный вид, т.е. практическими стандартами распознавания принадлежности индивидуума к тому или иному виду (Cai et al., 2011). Ранее указывалось, что под многими видовыми концепциями на самом деле скрываются видовые критерии (Taylor et al., 2000; Hey, 2006; Queiroz, 2007). Несмотря на существующий плюрализм мнений относительно концепции вида, большинство биологов пользуются эволюционной концепцией (Cai et al., 2011), представляющей вид как сегмент эволюционной линии, который развивается независимо от других (Queiroz, 1998). Биологическая концепция тоже обладает популярностью, но из-за определенных сложностей, уже упомянутых выше, применение данной концепции в микологии сильно ограничено (Taylor et al., 2000). Тем более что предлагается ее рассматривать не как самостоятельную, а как один из способов распознавания видов в рамках эволюционной концепции (Avice, Wollenberg, 1997; Mayden, 1997), хотя эта позиция и дискуссионная.

Таким образом, на наш взгляд, имеет смысл говорить не о полифазной таксономии, а о полифазном подходе к определению критериев вида. Сутью подхода является практика использования всей имеющейся информации (филогенетической, гено- и фенотипической) для выделения консенсусных таксономических групп. Базовым принципом, апеллирующим к эволюционной

концепции вида, остается то, что деление на таксоны не должно противоречить филогении. Виды должны оставаться монофилетическими.

Если для построения филограмм при распознавании видов бактерий и архей с 1990-х годов неизменно используются в основном гены рибосомальной РНК (Ludwig, Schleifer, 1994; Maidak et al., 1996), то для грибов информативность анализа этого участка зачастую недостаточна. Секвенирование генов большой и малой субъединиц РНК часто и успешно выполняется для дифференциации на уровне родов и семейств, реже — групп видов. Секвенирование межгенных спейсеров ITS1 и ITS2 крайне популярно для исследований на видовом уровне. Недавно они были признаны основным баркодом для грибов (Seifert, 2009; Schoch et al., 2012).

Немало было сказано о том, что для надежной реконструкции филогении и идентификации необходим анализ нуклеотидных последовательностей нескольких генов, поскольку генеалогия любого одного гена может значительно отличаться от истории организма в целом, что справедливо для любых групп организмов (Nichols, 2001).

Для делимитации видов с использованием мультилокусной филогении применяют два основных метода (Matute, Sepúlveda, 2019). Наиболее распространен среди микологов метод, основанный на генеалогической согласованности — *genealogical concordance phylogenetic species recognition*, GCPSR (Taylor et al., 2000), или *strict genealogical concordance*, SGC (Matute, Sepúlveda, 2019). При его использовании необходимо реконструировать серию генных генеалогий и оценить их совпадение. Точка, выше которой на филогенетическом дереве не будет наблюдаться согласованности генеалогий отдельных генов, должна быть отмечена как граница вида. Второй подход — коалесцентная делимитация (*coalescent-based delimitation*, CBD; Fujita et al., 2012) — использует группу методов для вероятностно-математического моделирования генеалогической истории индивидуумов (штаммов) назад к общему предку и также позволяет выявить эволюционно независимые линии.

Ряд авторов рассматривают возможность описания видов исключительно на основании сравнения сиквенсов (*sequence-based classification and identification*, SBCI), по крайней мере в будущем (Hibbett et al., 2016). Особенно это актуально для изучения некультивируемых и труднокультивируемых видов и для исследования сложных сообществ микроорганизмов, таких как почвенные, когда выделить в чистую культуру абсолютно все, даже только культивируемые виды, часто не представляется возможным. На настоящий момент этот подход не практикуется и не узаконен

международным кодексом номенклатуры водорослей, грибов и растений (ICN).

Использование общепризнанных баркодов или мультигенной филогении с GCPSR не дает полной гарантии получения надежного дерева с возможностью его непротиворечивого членения. Гомоплазия, неполнота выборки, гибридизация и горизонтальный перенос генов способны приводить к трудно интерпретируемым результатам и ошибочным выводам. Для разрешения дискуссионных вопросов необходимо применение альтернативных подходов или модификация существующих.

Один из возможных вариантов усовершенствования мультигенной филогении — геномная филогения. Бурное развитие технологий полногеномного секвенирования и методов биоинформатической обработки геномов не оставляет сомнений в том, что сравнение полных геномов через какое-то время станет рутиной для систематиков. Но исследователям придется решить ряд концептуальных вопросов, связанных с разной филогенетической информативностью разных частей генома. Но уже сейчас сравнительный анализ геномов позволяет усовершенствовать мультигенную филогению.

До момента расцвета полногеномного анализа (если таковой произойдет) для решения таксономических вопросов, оставшихся после реконструкции филогении, имеет смысл использовать полифазный подход. С его помощью могут быть получены дополнительные основания для установления видовых границ или определены границы для эволюционно молодых, недавно дивергировавших видов. В первую очередь помощь могут оказать признаки, подверженные влиянию естественного отбора либо сцепленные с таковыми.

Но еще раз необходимо подчеркнуть, что построение консенсусной таксономической системы в рамках полифазного подхода должно согласовываться с филогенией. То есть полифазный подход в его современном виде характеризуется комплексностью (разнотипностью рассматриваемых признаков), принципом консенсусности и ориентированностью на филогению.

Идея комплексного подхода, интегрирующего данные разных типов, для систематики грибов сама по себе не нова. Подобные идеи выдвигались еще с начала прошлого века, допуская возможность одновременного использования морфологических, физиологических, цитологических, биохимических, анатомических, серологических, экологических признаков, особенностей жизненного цикла и т.д. (Ячевский, 1927; Хохряков, 1955). Причем призывы к разностороннему экспериментальному исследованию грибов в целях систематики подкреплялись ссылками на микологов XIX в. — А. де Бари и М.С. Воронина (Хох-

ряков, 1951). Однако данный подход не часто нашел широкое применение и не всегда оказывался продуктивным, главным образом из-за инструментальной ограниченности проводимых тогда исследований. На наш взгляд, в последние годы можно наблюдать более перспективную попытку создания такой комплексной методологии, благодаря объединению филогенетических течений в систематику с полифазным подходом и использованием развитых молекулярных, биохимических и биоинформатических методов.

Существование полифазной таксономии не ограничивается микробиологией. Некоторыми систематиками-зоологами пропагандируется аналогичный подход, получивший название интегративной таксономии (*integrative taxonomy*) (Dayrat, 2005; Schlick-Steiner et al., 2010). Подход предполагает при выявлении границ видов объединение данных филогеографии, морфологии, популяционной генетики, экологии, онтогенетических и поведенческих характеристик. Использование разноплановых признаков можно обнаружить и в работах по систематике растений, но ботаники чаще не обозначают такой подход как-то специальным термином, иногда все же упоминая интегративную таксономию (Rouhan, Gaudeul, 2014; Erst et al., 2020).

УСПЕХИ ПОЛИФАЗНОЙ СИСТЕМАТИКИ ГРИБОВ

Первыми среди микологов полифазный подход стали использовать специалисты по базидиомицетным дрожжам. Сравнение филогении, реконструированной по сиквенсам двух локусов, ДНК-фингерпринтов, морфологических и физиологических признаков и свойств изолятов *Rhodotorula glutinis* привело к описанию нового вида — *Rhodosporidium azoricum* (Gadanhó et al., 2001). Впоследствии сходный набор данных (ДНК-фингерпринты, сиквенсы 26S и ITS областей рДНК, информация о типах спаривания, морфологические и физиологические характеристики) был использован для анализа более сотни изолятов предварительно идентифицированных как *Rh. glutinis* (Gadanhó, Samraio, 2002). Изоляты были переопределены, и часть из них оказалась представителями трех видов *Rhodosporidium*. Для вида *Rh. glutinis* были предложены новые критерии.

Одно из первых упоминаний полифазного подхода в исследованиях мицелиальных грибов было сделано Лю с соавторами (Liou et al., 2007), изучавшими комплекс *Rhizopus stolonifer*. Филогения, реконструированная с использованием одного локуса, была сравнена лишь с долей G + C в геноме и несколькими традиционными морфологическими признаками.

Работы по полифазной таксономии были успешно выполнены для ревизии подрода *Penicillium* рода *Penicillium* (Frisvad, Samson, 2004; Козловский и др., 2009). Были использованы микро- и макроморфологические признаки, рост при разной температуре, рост на питательных средах с высокими концентрациями хлорида натрия, сахарозы и пропионовой кислоты, рост на средах с мочевиной, нитритами и креатином, спектр вторичных метаболитов. При аналогичных ревизиях р. *Aspergillus* секций *Usti* (Houbraken et al., 2007) и *Sparsi* (Varga et al., 2010), помимо молекулярной филогении, учитывали морфологические признаки, рост при разных температурах на нескольких средах и профили вторичных метаболитов.

Наиболее основательным образом полифазный подход был применен для исследования р. *Colletotrichum* (Cai et al., 2009). Был составлен обзор различных подходов к изучению видовых комплексов этого рода, включая морфологию, патогенность, физиологию, культуральные свойства, вторичные метаболиты и филогению. Авторы убедились, что в идеале систематика *Colletotrichum* должна основываться на мультигенной филогении, а хорошо обособленные филогенетические линии должны совпадать с какими-либо другими наблюдаемыми характеристиками. Достоинства полифазного подхода в случае данного таксона были хорошо продемонстрированы, и он был рекомендован для дальнейших исследований. Следуя рекомендациям, данным Цаем с соавторами (Cai et al., 2009), было успешно выполнено более 10 работ по систематике *Colletotrichum* (Sharma, Shenoy, 2016).

В ходе исследований одной полиморфной видовой группы р. *Alternaria* (комплекс *A. infectoria*, ныне выделенный в секцию *Infectoriae*) было проведено сравнение структуры биоразнообразия с помощью разных методов и типов данных: молекулярной филогении, классического анализа морфологии и анализа метаболитных профилей (Andersen et al., 2009). Изучив 51 штамм, авторы пришли к заключению, что все три вида анализа подтверждают разделение выборки штаммов максимум на две группы. Надежных генетических, морфологических и хемотаксономических маркеров для распознавания видов выявлено не было. Также был сделан неутешительный вывод, что для данной группы грибов филогения не может быть инструментом для предсказания патогенности, субстратной специфичности и способности к синтезу тех или иных микотоксинов. Несмотря на другие работы (Gannibal, Yli-Mattila, 2007; Poursafar et al., 2018), посвященных этой группе, также продемонстрировали невозможность построения дерева с надежной топологией, что, очевидно, указывает на принадлежность всех исследованных штаммов к одному полиморфному виду,

который, вероятно, находится в состоянии дивергенции.

Другим коллективом (Stadler et al., 2014) была построена политегическая система для базидиомицетного р. *Daldinia*. Была показана сильная степень консенсуса между морфологическими признаками, в том числе выявленными при помощи сканирующей электронной микроскопии, и хемотаксономическими маркерами, изученными методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Исключение составили только пигменты, экстрагированные с участием КОН. Полноценный молекулярно-филогенетический анализ не был проведен. При помощи секвенирования ITS-областей удалось только дискриминировать род в целом и некоторые группы видов.

В одной из работ, посвященной внутривидовому разнообразию *Fusarium verticillioides* (Chang et al., 2016), был проведен одновременно классический морфологический анализ, ПЦР с видоспецифичными праймерами, анализ микросателлитных ISSR-профилей и белковых профилей, полученных посредством матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI-TOF).

РАЗНООБРАЗИЕ ПРИЗНАКОВ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Признаки и свойства организма, используемые в классификационных целях, разнообразны и разнородны. Традиционным является объединение их в две группы: фено- и генотипические. Фенотипические маркеры (морфологические, биохимические, экологические, “биологические”, т.е. связанные с особенностями жизненного цикла, и т.д.) составляют наиболее обширную и привычную группу. Априори считается, что фенотипические признаки связаны с приспособленностью организма к условиям окружающей среды, т.е. испытывают давление естественного отбора. Однако для большинства признаков, используемых в систематике микроскопических грибов, этот аспект не изучался и не является очевидным. Также чаще всего неизвестна генетическая детерминация признака. Признаки, считающиеся равновеликими, могут кодироваться разным количеством генов, что сказывается на их изменчивости и, соответственно, на уровне таксономической значимости такой информации. Фенотипические признаки могут быть простыми либо комплексным (составными), потенциально делимыми на несколько более простых признаков. Целесообразно учитывать именно простые признаки, если известно, что наследуются они независимо.

Из числа генотипических признаков в микологии наиболее популярны молекулярно-генетиче-

ские маркеры, которые чаще всего используются аналогично фенотипическим. При их обработке учитывается изменение структуры молекулы ДНК без учета особенностей информации, кодируемой полиморфным участком. Используемые для целей реконструкции филогении и таксономии молекулярно-генетические признаки (маркеры) зачастую являются нейтральными. Они отражают полиморфизм нуклеотидной последовательности ДНК в некодирующих областях, таких как интроны и сателлитная ДНК, или представляют собой синонимичные замены, которые не влияют на аминокислотную последовательность белков. Поэтому первичную структуру ДНК вполне можно рассматривать не как информационный (генетический) сигнал, а как фенотипический биохимический признак. Отличием этого типа маркеров от иных биохимических оказывается именно их селективная нейтральность. Они не участвуют во взаимодействиях организма с окружающей средой и не сказываются на жизнеспособности. Эти признаки, используемые как молекулярные часы, идеальны для филогенетических исследований. Они подходят для нумерической таксономии и идентификации на основе идеи ДНК-штрихкодирования, но неинтересны для типологической систематики.

Характер наследования молекулярных маркеров очевиден. Напротив, тип наследования большинства фенотипических признаков грибов неясен. Множество признаков и свойств грибов, для которых описаны генетические детерминанты, систематиками не учитываются и имеют значение для внутривидовой дифференциации. Более того, похоже, что многие фенотипические признаки также селективно нейтральны. Понимание степени влияния признака на адаптированность организма, информация о количестве генов, отвечающих за проявление признаков, связь этих генов с другими жизненно важными признаками (плейотропия), принадлежность к универсальной (коровой) или вариабельной частям генома могли бы дать объективные данные для определения ценности и веса того или иного признака.

Хорошим примером таксономически ценного генетического признака может служить MAT-локус — фактор, содержащий гены, ответственные за спаривание. Описаны случаи, когда близкие виды аскомицетов представлены штаммами как с первой, так и со второй идиоморфой MAT-локуса или только штаммами, у которых участки MAT1-1 и MAT1-2 спаяны. В первом случае вид гетероталличен, во втором — гомоталличен, что обуславливает изоляцию и разные репродуктивные стратегии. Стоит упомянуть пару видов — *Dendryphion penicillatum* и *D. papaveris* (Inderbitzin et al., 2006), а также виды р. *Stemphylium* (Inderbitzin et al., 2005), у которых этот признак был удачно использован в целях таксономии.

В целом случаи использования фенотипических признаков с известной генетической детерминацией в систематике очень немногочисленны. В ближайшем будущем будут становиться более частыми и основательными попытки дифференциации видов на основе сравнительной геномики, каковые начались еще с прошлого десятилетия (Rokas et al., 2007). В этом случае, помимо простого увеличения массива данных, можно было бы “свести” ряд генотипических и фенотипических признаков. Но идеология и методология сравнительно-геномной систематики только начинают разрабатываться. На данный момент при сравнении геномов разных организмов используют традиционный мультилокусный (гиперлокусный) филогенетический анализ и относительно простые, сугубо статистические показатели: среднее нуклеотидное сходство (average nucleotide identity, ANI) (Figueras et al., 2014) и попарное сравнение частот k -меров (различных последовательностей с длиной k) (Hibbett et al., 2016; Cserhati et al., 2019).

Для реконструкции кладогенеза более интересны нейтральные маркеры, расположенные в той части генома, которая универсальна для крупной таксономической единицы. Для анализа анагенеза и очерчивания границ видов ценность приобретают другие признаки и другие части генома. Справится ли геномика в одиночку с определением значимости геномных маркеров для систематики или потребуются совместная работа молекулярных биологов и биоинформатиков со специалистами по морфологии, биохимии и экологии грибов — пока неясно. Очевидно, до полноценного применения геномного анализа в систематике предстоят серьезные дискуссии.

Фенотипические признаки

Морфологические признаки наиболее популярны для целей таксономии. К таковым относятся строение органов спороношения, внешний вид колоний при культивировании *in vitro* и иные признаки. Будучи использованы отдельно от других признаков и филогенетических реконструкций, они не предоставляют возможности получить непротиворечивую систему для многих групп грибов, особенно микромицетов. Тем не менее они остаются самыми важными и широко используемыми. Проблема заключается в недостаточном количестве таких признаков, относительной трудности их наблюдения и их нестабильности. Для наблюдения в чистой культуре часто используют разные питательные среды и условия культивирования. На примере многих родов было показано, что состав среды (субстрат), температура и другие параметры существенно влияют на морфологические признаки и культуральные свойства. Поэтому для микроми-

цетов предпочтительнее изучение морфологии в условиях чистой культуры по сравнению с полевыми гербарными образцами. При этом крайне необходима унификация условий проведения исследований, по крайней мере для видов одного рода. Подобные стандарты предложены для родов *Penicillium* (Frisvad, Samson, 2004), *Alternaria* (Simmons, 2007), *Colletotrichum* (Cai et al., 2009) и др.

Биохимические и физиологические признаки у микромицетов имеют большее адаптивное значение, чем морфологические, и поэтому потенциально должны реже приводить к выделению парии и полифилетических таксонов. Неоднократно совершались попытки найти надежные стабильные хемотаксономические маркеры, которые позволили бы разделить виды и впоследствии проводить идентификацию. В качестве возможных хемотаксономических признаков был предложен состав полисахаридов клеточной стенки (Leal et al., 2010), жирных кислот и стеролов (Müller et al., 1994; Weete et al., 2010). Образование лактонов похонинов было основанием для выделения р. *Pochonia* из р. *Verticillium* (Stadler et al., 2003). Микотоксины были использованы в систематике родов *Fusarium* (Ichinoe et al., 1983) и *Aspergillus* (Frisvad et al., 2007).

Метаболитные профили, включающие данные сразу о многих экзометаболических, полученные с помощью хроматографии (преимущественно ВЭЖХ), видятся наиболее простым способом получения объемных данных, которые можно использовать для целей таксономии грибов (Smedsgaard, Nielsen, 2005). Профили метаболитов неоднократно использовали в таксономии *Fusarium* (Schmidt et al., 2004), *Alternaria* (Andersen et al., 2005, 2008, 2009), *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* (Frisvad et al., 2007; Frisvad, 2015) и других грибов.

Проблема заключается в том, что синтез многих вторичных метаболитов, среди которых стоит искать видоспецифичные особенности, нестабилен. Появление одного метаболита зависит от нескольких генов, экспрессия которых может индуцироваться или модулироваться внешними факторами (Smedsgaard, Nielsen, 2005). Наблюдаемая в итоге сильная модификационная изменчивость не дает преимуществ метаболитным маркерам перед другими признаками, используемыми в систематике. Поиск отдельных стабильных хемотаксономических маркеров трудозатратен при невысокой информативности. Для выявления таких признаков необходимо провести сравнение большого количества штаммов разной степени родства, причем используя недешевые методы в надежде найти один или несколько маркеров без гарантии на успех.

Ряд таксономических микологических работ в 1990–2000-х гг. был выполнен на основе анализа состава жирных кислот методами газовой или га-

зожидкостной хроматографии. Несмотря на сообщения о потенциальной продуктивности данного подхода (например, Shiosaki et al., 2001; Fraga et al., 2008), он не стал популярным. Одной из сложностей является изменчивость жирнокислотного состава в зависимости от условий культивирования и возраста культуры (Stahl, Klug, 1996). При сравнении разных биохимических подходов, например, нескольких видов р. *Fusarium*, данный подход показал себя не самым информативным в сравнении с анализами профиля вторичных метаболитов и аминокислотного состава (Zain, 2010).

Более успешно используют протеомное профилирование, проводя сравнение микроорганизмов по белковым фингерпринтам с помощью матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с времяпролетной масс-спектрометрией (MALDI-TOF MS). Данный метод предоставляет возможность получить специфичные для конкретного штамма масс-спектры, что создает основу для его использования в целях идентификации и внутривидового типирования микроорганизмов (Aebersold, 2003; Domon, Aebersold, 2006; Pinel et al., 2011). В качестве достоинств метода отмечают простоту препаративных процедур, краткое время анализа (несколько минут) и невысокую стоимость (Dickinson et al., 2004). Проблемным моментом остается воспроизводимость результатов и, соответственно, их надежность. Данный метод используется преимущественно медицинскими микологами (Ranque et al., 2014), в том числе в нашей стране (Евстигнева и др., 2015; Шаров и др., 2018), для идентификации изолятов клинических мицелиальных и дрожжеподобных грибов. Метод позволяет давать правильное определение до уровня вида примерно для 90% изолятов (Putignani et al., 2011; Ranque et al., 2014). Единичные работы касаются фитопатогенных микромицетов (Santos et al., 2010). Широкого распространения метод не получает, так как требует создания базы данных со спектрами (библиотеки), что в отношении не клинических грибов сложно сделать из-за их большого видового разнообразия, а также из-за того, что пока не достигнута достаточная надежность и разрешающая способность. Так, при исследовании четырех видов р. *Alternaria* изоляты только одного вида оказалось возможным надежно идентифицировать (Brun et al., 2013).

К протеомным методам, используемым для внутривидовой дифференциации, также относят мультилокусный энзим-электрофорез (МЭЭ). На основании анализа электрофоретической подвижности аллелимов можно не только охарактеризовать фенотип, но и сделать предположение об особенностях наследования этих признаков. Метод использовался, например, для идентификации клинических дрожжеподобных грибов

р. *Candida* (Caugant, Sandven, 1993; Rosa et al., 2000).

Примерно полвека назад одним из инструментов систематики и популяционной генетики грибов стал изоферментный анализ (Micales et al., 1992). Метод основан на определении ферментов, кодируемых разными аллелями, по электрофоретической подвижности. Появление разных форм фермента связано с изменениями нуклеотидной последовательности в кодирующей части соответствующего гена. С массовым введением в лабораторную практику секвенирования изоферментный анализ утратил актуальность как сравнительно малоинформативный.

Помимо синтезируемых веществ, грибы могут быть дифференцированы по потребляемым источникам углеводов. Этот признак был использован для таксономии *Penicillium* (Bridge, 1985) и *Colletotrichum* (Waller et al., 1993; Prihastuti et al., 2009). Например, вид *C. kahawae* может быть идентифицирован по неспособности усваивать соли лимонной и винной кислот, в отличие от других видов *Colletotrichum*, паразитирующих на кофе.

Цвет колоний — стандартный признак, обычно используемый как морфологический, хотя в той же мере его можно считать и биохимическим. Колонии некоторых грибов имеют характерный запах, который может помочь при идентификации. Наиболее известными примерами являются грибы р. *Trichoderma* из клады *T. viride*, которые обладают запахом кокоса (Gams, Bissett, 2002), и фруктовый аромат *Fusarium poae* (Schmidt et al., 2004). Во многих случаях варибельность этих признаков оказывается высокой, поэтому ценность их не должна завышаться.

Для целей полифазной систематики могут быть использованы и физиологические параметры, несмотря на часто наблюдаемую их вариативность от штамма к штамму. Относительная скорость роста в культуре оказалась полезным критерием, например, для дифференциации отдельных видов *Alternaria* (Andersen et al., 2005), *Aspergillus* (Samson, Varga, 2007) и *Colletotrichum* (Sutton, 1992; Prihastuti et al., 2009).

Паразитизм. Патогенность, агрессивность и специализация — характеристики, которым, безусловно, всегда уделяют большое внимание при работе с фитопатогенными грибами. Ранее субстратное происхождение сильно переоценивалось. Многие грибы получили видовые эпитеты по названиям растений, на которых они были впервые обнаружены и, соответственно, подразумевалось, что такое видовое название гриба достоверно отражает субстратную приуроченность. Впоследствии у специалистов, проводящих идентификацию, подсознательно возникал соблазн считать информацию о субстрате ключевой и до-

статочной для идентификации. Например, вид гриба, обнаруженный на картофеле, мог быть идентифицирован как "*X. solani*", с яблони – как "*X. mali*" (при существовании в роде "*X*" видов с этими эпитетами) без тщательного анализа морфологии. Такое заблуждение стало причиной появления в литературе, в том числе отечественной, большого количества неверных данных по географии и экологии фитопатогенных микромицетов.

Тем не менее немалое число видов, в первую очередь биотрофных, имеет действительно относительно узкую специализацию. Поэтому патогенность вообще и специализация в частности могут быть пригодны для разграничения близкородственных видов. Субстратная (филогенетическая) и органотропная специализации могут отражать начальный этап дивергенции видов. Зачастую у некротрофных и гембиотрофных грибов такая специализация не является очень строгой. Поэтому эксперименты по изучению патогенных свойств грибов должны ставиться с большой аккуратностью.

Способность к скрещиванию. Тестирование штаммов на способность давать половое потомство потенциально могло бы быть идеальным для определения границ видов в рамках биологической концепции. Но практическая ценность этого способа делимитации в микологии, как уже упоминалось, низка из-за технической сложности выполнения этой задачи или отсутствия способности к половому размножению в принципе.

Генотипические признаки

ДНК-маркеры. В настоящее время для изучения биоразнообразия используется множество генетических маркеров, отличающихся информативностью. Для их изучения отсутствует необходимость наличия у исследователя специфических навыков, которыми обладают опытные классические систематики. ДНК-маркеры можно поделить на моно- и мультилокусные, на исследуемые с помощью блот-гибридизации, ПЦР и ДНК-чипов (Хлёткина, 2013). Полный перечень подходов и методов достаточно велик, чтобы его перечислять в данной статье. Ранее для дифференциации таксонов микроорганизмов, для характеристики которых недостаточно морфологически признаков, широко использовали методы, ставшие классикой: полиморфизм длин рестриционных фрагментов (RFLP), случайно (произвольно) амплифицируемую полиморфную ДНК (RAPD), полиморфизм длин амплифицированных фрагментов (AFLP-PCR) и ДНК-фингер-принтинг. К настоящему моменту методический арсенал еще более расширился и стало очевидным, что многие методы хорошо подходят для изучения внутривидового разнообразия и популяционной биологии, но не эффективны для це-

лей систематики. Для разделения таксонов на уровне видов в последние годы не без успеха применяют AFLP и, несколько реже, другие методы. Данные, полученные с помощью AFLP, могут нести филогенетический сигнал, но только при анализе близкородственных видов (Bakkeren et al., 2000; Koopman, 2005).

Нуклеотидные последовательности

Как упоминалось выше, для дифференциации видов грибов и ДНК-баркодинга наиболее популярно секвенирование межгенных спейсеров ITS1 и ITS2 (Seifert, 2009; Schoch et al., 2012). Благодаря мультикопийности этот участок легко амплифицируется, а сравнительно высокая изменчивость делает его ценным и удобным источником информации. Накоплено много данных по последовательностям ITS-областей генома грибов, депонированных в базе данных GenBank, что предоставляет богатый материал для сравнительного анализа и делает наиболее привлекательным секвенирование этих же областей у всех новых объектов исследований. Однако при использовании рДНК как единственного источника филогенетической информации для грибов, полученные филогенетические деревья часто не имеют достаточного разрешения, характеризуются низкой бутстреп-поддержкой или политоимией, что было продемонстрировано еще более 20 лет назад (Verbee, 1996; Landvik et al., 1997; Silva-Hanlin, Hanlin, 1999). Убедительно было показано, что использование белок-кодирующих генов может существенно увеличить разрешение филогенетических реконструкций для грибов и усилить поддержку топологии для деревьев, полученных с использованием рДНК (Matheny et al., 2002; Tanabe et al., 2004; Cai et al., 2009). По этой причине в настоящее время нормальной практикой для распознавания видов и популяций грибов считается мультигенный филогенетический анализ, или мультилокусное секвенирование-типирование (multilocus sequence typing, MLST) (Taylor, Fisher, 2003). Для ряда таксонов ITS или другие области рДНК теперь не считаются основным филогенетическим маркером (Hibbett et al., 2016), а используются только в предварительных исследованиях и для приблизительной идентификации.

Любопытно и очень важно, что иногда, например, для грибов р. *Fusarium* (Schmidt et al., 2004), самые часто используемые наборы признаков – фенотипические признаки и сиквенсы ITS-областей – оказались наименее конгруэнтны остальным типам маркеров и абсолютно не согласовывались друг с другом (табл. 1). Но в данном случае набор фенотипических признаков был небольшим и включал только характеристики, которые

Таблица 1. Анализ согласованности дендрограмм, полученных с использованием разных наборов данных для 109 изолятов трех близкородственных видов *Fusarium* (по: Schmidt et al., 2004)

Наборы признаков	Степень сходства топологий дендрограмм, %						
	Все признаки	AFLP	Tub	Tef	IGS	Хром.	ITS
AFLP	74						
Tub	63	56					
Tef	74	60	96				
IGS	68	52	88	78			
Хром.	56	47	73	48	64		
ITS	14	34	55	23	43	38	
Фенотип	57	1	16	29	14	8	0

Примечание. AFLP – AFLP-фингерпринты, включающие 20 фрагментов. Tub, Tef, IGS и ITS – сиквенсы генов бета-тубулина и фактора элонгации трансляции 1-альфа, IGS и ITS-областей рибосомальной ДНК соответственно. Хром. – метаболитные профили, включающие 18 вторичных метаболитов, определенных методами ВЭЖХ и газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС). Фенотип – восемь качественных бинарных признаков (форма микроконидий, наличие/отсутствие макроконидий, монофалид, хламидоспор, мучнистых колоний, быстрого роста колоний, высокого воздушного мицелия и фруктового запаха).

могли быть зафиксированы в бинарной форме (+/–).

Еще одной важной проблемой является присутствие в GenBank некоторой доли сиквенсов неверно идентифицированных видов. Это касается любых участков генома, но в первую очередь наиболее популярных ITS-областей, которые секвенируются огромным количеством коллективов с разной квалификацией. Для отдельных таксономических групп процент ошибочно этикетированных последовательностей может быть очень большим. Например, по мнению Цая и соавторов (Cai et al., 2009) большинство сиквенсов р. *Colletotrichum* принадлежат неверно определенным видам. Поэтому в любых таксономических и филогенетических исследованиях предпочтительно использовать сиквенсы эталонных (желательно ex-tуре) штаммов, а ITS-области при идентификации посредством сравнения с сиквенсами Генбанка в норме пригодны для определения рода и лишь предварительного определения вида (Hibbett et al., 2016).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Очевидно, в ближайшее время наиболее востребованной концепцией вида у грибов останется эволюционная. Использование мультилокусного секвенирования в связке с филогенетическим анализом технически наиболее удобно и методологически оправдано для определения границ видов в рамках упомянутой концепции. Скорее всего, в среднесрочной перспективе анализ отдельных нуклеотидных последовательностей будет вытеснен полногеномным секвенированием. Для полноценного использования последнего необходимо значительно более детальное по сравне-

нию с тем, что существует сейчас, представление о структуре и эволюции генома грибов: понимание состава корового генома и его вариативной части, представление о скорости изменения разных частей генома и о границе внутри- и межвидового полиморфизма по признакам, связанным со структурой генома.

Наиболее подходящий инструмент для делимитации филовидов – филогенетическое распознавание с применением методов наложения генеалогий и коалесценции, поскольку последние имеют относительно четкие правила и математический аппарат для проведения формальной процедуры. Однако далеко не всегда филогенетическое распознавание дает удовлетворительный результат. Например, при небольшом количестве секвенированных генов или при анализе недавно дивергировавших видов. Именно в этих случаях целесообразно применение полифазного подхода. Кроме того, полифазный подход пригоден для формирования таксономических гипотез, которые будут проверены филогенетическими методами, и опираясь на которые, могут быть сделаны подходящие выборки штаммов (образцов).

В отдельных случаях полифазный подход может оказаться продуктивным для таксономических исследований на уровне рода, но это требует использования несколько иного спектра признаков.

Полифазный подход может занять свое место и в практике идентификации. Есть основания надеяться, что будут найдены признаки и технологии, которые позволят проводить определение видов быстрее и дешевле по сравнению с секвенированием ДНК или которые послужат хотя бы хорошим дополнением к определению генетического баркода. Но для этого необходимо продол-

жение масштабной скрупулезной работы по подбору информативных, надежных и удобных признаков, которые генетически закреплены и не связаны с онтогенетической, модификационной и комбинативной изменчивостью. Широкому использованию хроматографических и масс-спектрометрических методов в микологической систематике препятствует в первую очередь высокий уровень внутривидовых (штаммовых) отличий, сильное влияние среды и недостаточная изученность этого влияния. Классические морфологические признаки в этом плане остаются по-прежнему весьма востребованными, несмотря на недостаточно объективное отражение ими эволюционных событий.

В любом случае можно согласиться с тем мнением (Лухтанов, 2019), что для правильной интерпретации данных любого сорта и принятия обоснованного таксономического решения, как и раньше, необходим практикующий систематик, хорошо знающий свою группу.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект РНФ № 14-26-00067).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Евстигнеева Н.П., Аминова П.Г., Герасимова Н.А., Зильберберг Н.В., Кунгуров Н.В., 2015. Микробиота урогенетального тракта пациенток репродуктивного возраста, идентифицированная на основе масс-спектров рибосомальных белков // Успехи соврем. естествознания. № 2. С. 34–39.
- Козловский А.Г., Желифонова В.П., Антипова Т.В., 2009. Вторичные метаболиты в таксономии грибов под рода *Penicillium* // Микробиология. Т. 78. № 5. С. 684–689.
- Лухтанов В.А., 2019. Делимитация видов и анализ криптического видового разнообразия в XXI веке // Энтомол. обозрение. Т. 98. № 2. С. 358–370.
- Хлёткина Е.К., 2013. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и селекции // Вавиловский журн. генетики и селекции. Т. 17. № 4/2. С. 1044–1054.
- Хохряков М.К., 1951. Некоторые вопросы систематики грибов // Тр. ВИЗР. Вып. 3. С. 222–234.
- Хохряков М.К., 1955. О виде у грибов // Бот. журн. Т. 40. № 1. С. 33–45.
- Шаров Т.Н., Маркин А.М., Липницкий А.В., Викторов Д.В., Топорков А.В., 2018. Особенности масс-спектров культур *Coccidioides immitis* и *Coccidioides posadasii* // Проблемы мед. микологии. Т. 20. № 2. С. 128.
- Ячевский А.А., 1927. К филогенетике грибов, Юбилейный сборник, посвященный И.П. Бородину. Л.: Изд. Гос. русск. бот. об-ва. С. 142–179.
- Aebersold R., 2003. A mass spectrometric journey into protein and proteome research // J. Am. Soc. Mass. Spectrom. V. 14. № 685. P. 93–95.
- Andersen B., Hansen M.E., Smedsgaard J., 2005. Automated and unbiased image analyses as tools in phenotypic classification of small-spored *Alternaria* spp. // Phytopathology. V. 95. № 9. P. 1021–1029.
- Andersen B., Dongo A., Pryor B.M., 2008. Secondary metabolite profiling of *Alternaria dauci*, *A. porri*, *A. solani*, and *A. tomatophila* // Mycol. Res. V. 112. № 2. P. 241–250.
- Andersen B., Sørensen J.L., Nielsen K.F., Gerrits Van Den Ende B., Hoog S., de, 2009. A polyphasic approach to the taxonomy of the *Alternaria infectoria* species-group // Fungal Genet. Biol. V. 46. № 9. P. 642–656.
- Aveskamp M.M., Gruyter J., de, Woudenberg J.H.C., Verkley G.J.M., Crous P.W., 2010. Highlights of the Didymellaceae: A polyphasic approach to characterize *Phoma* and related pleosporalean genera // Stud. Mycol. V. 65. P. 1–60.
- Avise J.C., Wollenberg K., 1997. Phylogenetics and the origin of species // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 94. № 15. P. 7748–7755.
- Bakkeren G., Kronstad J.W., Lévesque C.A., 2000. Comparison of AFLP fingerprints and ITS sequences as phylogenetic markers in Ustilaginomycetes // Mycologia. V. 92. № 3. P. 510–521.
- Berbee M.L., 1996. Loculoascomycete origin and evolution of filamentous ascomycete morphology based on 18S rRNA gene sequence data // Mol. Biol. Evol. V. 13. № 3. P. 462–470.
- Bridge P.D., 1985. An evaluation of some physiological and biochemical methods as an aid to the characterization of species of *Penicillium* subsection *Fasciculata* // J. Gen. Microbiol. V. 131. № 8. P. 1887–1895.
- Brun S., Madrid H., Gerrits Van Den Ende B., Andersen B., Marinach-Patrice C. et al., 2013. Multilocus phylogeny and MALDI-TOF analysis of the plant pathogenic species *Alternaria dauci* and relatives // Fungal Biol. V. 117. № 1. P. 32–40.
- Cai L., Hyde K.D., Taylor P.W.J., Weir B., Waller J. et al., 2009. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum* // Fungal Divers. V. 39. P. 183–204.
- Cai L., Giraud T., Zhang N., Begerow D., Cai G., Shivas R.G., 2011. The evolution of species concepts and species recognition criteria in plant pathogenic fungi // Fungal Divers. V. 50. № 1. P. 121–133.
- Caugant D.A., Sandven P., 1993. Epidemiological analysis of *Candida albicans* strains by multilocus enzyme electrophoresis // J. Clin. Microbiol. V. 31. № 2. P. 215–220.
- Chang S., Carneiro-Leão M.P., Oliveira B.F., de, Souza-Motta C., Lima N. et al., 2016. Polyphasic approach including MALDI-TOF MS/MS analysis for identification and characterisation of *Fusarium verticillioides* in Brazilian corn kernels // Toxins. V. 8. № 3. P. 54.
- Colwell R.R., 1970. Polyphasic Taxonomy of the genus *Vibrio*: Numerical taxonomy of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, and related *Vibrio* species // J. Bacteriol. V. 104. № 1. P. 410–433.
- Cserhati M., Xiao P., Guda C., 2019. K-mer-based motif analysis in insect species across *Anopheles*, *Drosophila*, and *Glossina* genera and its application to species classification // Comput. Math. Methods Med. V. 2019. P. 4259479.
- Dayrat B., 2005. Towards integrative taxonomy // Biol. J. Linn. Soc. V. 85. P. 407–415.

- Dickinson D.N., La Duc M.T., Satomi M., Winefordner J.D., Powell D.H., Venkateswaran K., 2004. MALDI-TOFMS compared with other polyphasic taxonomy approaches for the identification and classification of *Bacillus pumilus* spores // J. Microbiol. Methods. V. 58. № 1. P. 1–12.
- Dobzhansky T., 1937. Genetics and the Origin of Species. N.-Y.: Columbia Univ. Press. 364 p.
- Domon B., Aebersold R., 2006. Mass spectrometry and protein analysis // Science. V. 312. № 5771. P. 212–217.
- Erst A.S., Sukhorukov A.P., Mitrenina E.Yu., Skaptsov M.V. et al., 2020. An integrative taxonomic approach reveals a new species of *Eranthis* (Ranunculaceae) in North Asia // PhytoKeys. V. 140. P. 75–100.
- Figueras M.J., Beaz-Hidalgo R., Hossain M.J., Liles M.R., 2014. Taxonomic affiliation of new genomes should be verified using average nucleotide identity and multilocus phylogenetic analysis // Genome Announc. V. 2. № 6. P. e00927-14.
- Fraga M.E., Santana D.M.N., Gatti M.J., Direito G.M., Cavaglieri L.R., Rosa C.A.R., 2008. Characterization of *Aspergillus* species based on fatty acid profiles // Mem. Inst. Oswaldo Cruz. V. 103. № 6. P. 540–544.
- Frisvad J., 2011. Rationale for a polyphasic approach in the identification of mycotoxigenic fungi // Determining Mycotoxins and Mycotoxigenic Fungi in Food and Feed / Ed. De Saeger S. Oxford: Woodhead Publishing. P. 279–297.
- Frisvad J., 2015. Taxonomy, chemodiversity, and chemocconsistency of *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Talaromyces* species // Front. Microbiol. V. 5. P. 773.
- Frisvad J.C., Samson R.A., 2004. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins // Stud. Mycol. V. 49. P. 1–174.
- Frisvad J.C., Larsen T.O., Vries R., de Meijer M., Houbraken J. et al., 2007. Secondary metabolite profiling, growth profiles and other tools for species recognition and important *Aspergillus* mycotoxins // Stud. Mycol. V. 59. P. 31–37.
- Fujita M.K., Leaché A.D., Burbrink F.T., McGuire J.A., Moritz C., 2012. Coalescent based species delimitation in an integrative taxonomy // Trends Ecol. Evol. V. 27. № 9. P. 480–488.
- Gadanhó M., Sampaio J.P., 2002. Polyphasic taxonomy of the basidiomycetous yeast genus *Rhodotorula*: *Rh. glutinis* sensu stricto and *Rh. dairenensis* comb. nov. // FEMS Yeast Res. V. 2. № 1. P. 47–58.
- Gadanhó M., Sampaio J.P., Spencer-Martins I., 2001. Polyphasic taxonomy of the basidiomycetous yeast genus *Rhodosporeidium*: *R. azoricum* sp. nov. // Can. J. Microbiol. V. 47. № 3. P. 213–221.
- Gams W., Bissett J., 2002. Morphology and identification of *Trichoderma* // *Trichoderma* and *Gliocladium*. V. 1. Basic Biology, Taxonomy and Genetics / Eds Christian P.K., Gary E.H. L.: Taylor and Francis. P. 3–31.
- Gannibal Ph.B., Yli-Mattila T., 2007. Morphological and UP-PCR analyses and design of a PCR assay for differentiation of *Alternaria infectoria* species-group // Микол. и фитопатол. Т. 41. № 4. С. 313–322.
- Gillis M., Vandamme P., Vos P., de Swings J., Kersters K., 2001. Polyphasic taxonomy // Bergey's Manual of Systematic Bacteriology / Eds Boone D.R., Castenholz R.W., Garrity G.M. N.-Y.: Springer. P. 43–48.
- Hey J., 2006. On the failure of modern species concepts // Trends Ecol. Evol. V. 21. № 8. P. 447–450.
- Hibbett D., Abarenkov K., Kõljalg U., Öpik M., Chai B. et al., 2016. Sequence-based classification and identification of Fungi // Mycologia. V. 108. № 6. P. 1049–1068.
- Houbraken J., Due M., Varga J., Meijer M., Frisvad J.C., Samson R.A., 2007. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Usti* // Stud. Mycol. V. 59. P. 107–128.
- Ichinoe M., Kurata H., Sugiura Y., Ueno Y., 1983. Chemotaxonomy of *Gibberella zeae* with special reference to production of trichothecenes and zearalenone // Appl. Environ. Microbiol. V. 46. № 6. P. 1364–1369.
- Inderbitzin P., Harkness J., Turgeon B.J., Berbee M.L., 2005. Lateral transfer of mating system in *Stemphylium* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 102. № 32. P. 11390–11395.
- Inderbitzin P., Shoemaker R.A., O'Neil N.R., Turgeon B.G., Berbee M.L., 2006. Systematics and mating systems of two fungal pathogens of opium poppy: The heterothallic *Crivellia papaveracea* with a *Brachycladium penicillatum* asexual state and homothallic species with a *Brachycladium papaveris* asexual state // Can. J. Bot. V. 84. № 8. P. 1304–1326.
- Koopman W.J.M., 2005. Phylogenetic signal in AFLP data sets // Syst. Biol. V. 54. № 2. P. 197–217.
- Landvik S., Egger K.N., Schumacher T., 1997. Towards a subordinal classification of the Pezizales (Ascomycota): Phylogenetic analysis of SSU rDNA sequences // Nord. J. Bot. V. 17. № 4. P. 403–418.
- Leal J.A., Prieto A., Bernabé M., Hawksworth D.L., 2010. An assessment of fungal wall heteromannans as a phylogenetically informative character in ascomycetes // FEMS Microbiol. Rev. V. 34. № 6. P. 986–1014.
- Liou G.-Y., Chen S.-R., Wei Y.-H., Lee F.-L., Fu H.-M. et al., 2007. Polyphasic approach to the taxonomy of the *Rhizopus stolonifer* group // Mycol. Res. V. 111. № 2. P. 196–203.
- Ludwig W., Schleifer K.H., 1994. Bacterial phylogeny based on 16S and 23S rRNA sequence analysis // FEMS Microbiol. Rev. V. 15. № 2–3. P. 155–173.
- Maidak B.L., Olsen G.J., Larsen N., Overbeek R., McCaughey M.J., Woese C.R., 1996. The Ribosomal Database Project (RDP) // Nucleic Acids Res. V. 24. № 1. P. 82–85.
- Matheny P.B., Liu Y.J., Ammirati J.F., Hall B.D., 2002. Using RPBI sequences to improve phylogenetic inference among mushrooms (Inocybe, Agaricales) // Am. J. Bot. V. 89. № 4. P. 688–698.
- Matute D.R., Sepúlveda V.E., 2019. Fungal species boundaries in the genomics era // Fungal Genet. Biol. V. 131. P. 103249.
- Mayden R.L., 1997. A hierarchy of species concepts: The denouement in the saga of the species problem // Species: The Units of Biodiversity / Eds Claridge M.F., Dawah H.A., Wilson M.R. L.: Chapman and Hall. P. 381–424.
- Mayr E., 1963. Animal Species and Evolution. Cambridge: Harvard Univ. Press. 797 p.

- Micales J.A., Bonde M.R., Peterson G.L., 1992. Isozyme analysis in fungal taxonomy and molecular genetics // Handbook of Applied Mycology. V. 4: Fungal Biotechnology / Eds Arora D.K., Elander R.P., Mukerji K.G. N.-Y.: Marcel Dekker Inc. P. 57–79.
- Müller M.M., Kantola R., Kitunen V., 1994. Combining sterol and fatty acid profiles for the characterization of fungi // Mycol. Res. V. 98. № 6. P. 593–603.
- Nichols R., 2001. Gene trees and species trees are not the same // Trends Ecol. Evol. V. 16. № 7. P. 358–364.
- Pinel C., Arlotto M., Issartel J.-P., Berger F., Pelloux H. et al., 2011. Comparative proteomic profiles of *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus lentulus* strains by surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (SELDI-TOF-MS) // BMC Microbiol. V. 11. P. 172.
- Poursafar A., Ghosta Y., Orina A.S., Gannibal Ph.B., Javan-Nikkhah M., Lawrence D.P., 2018. Taxonomic study on *Alternaria* sections *Infectoriae* and *Pseudoalternaria* associated with black (sooty) head mold of wheat and barley in Iran // Mycol. Prog. V. 17. № 3. P. 343–356.
- Prakash O., Verma M., Sharma P., Kumar M., Kumari K. et al., 2007. Polyphasic approach of bacterial classification – An overview of recent advances // Indian J. Microbiol. V. 47. № 2. P. 98–108.
- Prihastuti H., Cai L., Chen H., McKenzie E.H.C., Hyde K.D., 2009. Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in Chiang Mai, Thailand // Fungal Divers. V. 39. P. 89–109.
- Putignani L., Del Chierico F., Onori M., Mancinelli L., Argentieri M. et al., 2011. MALDI-TOF mass spectrometry proteomic phenotyping of clinically relevant fungi // Mol. Biosyst. V. 7. № 3. P. 620–629.
- Queiroz K., de, 1998. The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: A conceptual unification and terminological recommendations // Endless Forms: Species and Speciation / Eds Howard D.J., Berlocher S.H. N.-Y.: Oxford Univ. Press. P. 57–75.
- Queiroz K., de, 2007. Species concepts and species delimitation // Syst. Biol. V. 56. № 6. P. 879–886.
- Ranque S., Normand A.-C., Cassagne C., Murat J.-B., Bourgeois N. et al., 2014. MALDI-TOF mass spectrometry identification of filamentous fungi in the clinical laboratory // Mycoses. V. 57. № 3. P. 135–140.
- Rokas A., Payne G., Fedorova N.D., Baker S.E., Machida M. et al., 2007. What can comparative genomics tell us about species concepts in the genus *Aspergillus*? // Stud. Mycol. V. 59. P. 11–17.
- Rosa E.A., Pereira C.V., Rosa R.T., Höfling J.F., 2000. Grouping oral *Candida* species by multilocus enzyme electrophoresis // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. V. 50. № 3. P. 1343–1349.
- Rouhan G., Gaudeul M., 2014. Plant taxonomy: A historical perspective, current challenges, and perspectives // Molecular Plant Taxonomy. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols). V. 1115 / Ed. Besse P. Totowa: Humana Press. P. 1–37.
- Samson R.A., Varga J., 2007. *Aspergillus* systematics in the genomic era // Stud. Mycol. V. 59. P. 1–203.
- Santos C., Paterson R.R., Venâncio A., Lima N., 2010. Filamentous fungal characterizations by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry // J. Appl. Microbiol. V. 108. № 2. P. 375–385.
- Schlick-Steiner B.C., Steiner F.M., Seifert B., Stauffer C., Christian E., Crozier R.H., 2010. Integrative taxonomy: A multisource approach to exploring biodiversity // Annu. Rev. Entomol. V. 55. P. 421–438.
- Schmidt H., Adler A., Holst-Jensen A., Klemsdal S.S., Logrieco A. et al., 2004. An integrated taxonomic study of *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae* and *Fusarium sporotrichioides* based on the use of composite datasets // Int. J. Food Microbiol. V. 95. № 3. P. 341–349.
- Schoch C.L., Seifert K.A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J.L. et al., 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 109. № 16. P. 6241–6246.
- Seifert K.A., 2009. Progress towards DNA barcoding of fungi // Mol. Ecol. Resour. V. 9. № s1. P. 83–89.
- Sharma G., Shenoy B.D., 2016. *Colletotrichum* systematics: Past, present and prospects // Mycosphere. V. 7. № 8. P. 1093–1102.
- Shiosaki R.K., Okada K., Gusmão N.B., de, Nigam P., Falcão P.S. et al., 2001. Biochemical markers in taxonomy of the genus *Cunninghamella* // Rev. Iberoam. Micol. V. 18. P. 123–127.
- Silva-Hanlin D.M.W., Hanlin R.T., 1999. Small subunit ribosomal RNA gene phylogeny of several loculoascomycetes and its taxonomic implications // Mycol. Res. V. 103. № 2. P. 153–160.
- Simmons E.G., 2007. *Alternaria*: An Identification Manual. Ser. 6. Utrecht: CBS Biodiversity. 775 p.
- Smedsgaard J., Nielsen J., 2005. Metabolite profiling of fungi and yeast: From phenotype to metabolome by MS and informatics // J. Exp. Bot. V. 56. № 410. P. 273–286.
- Stadler M., Tichy H.-V., Katsiou E., Hellwig V., 2003. Chemotaxonomy of *Pochonia* and other conidial fungi with *Verticillium*-like anamorphs // Mycol. Prog. V. 2. № 2. P. 95–122.
- Stadler M., Læssøe T., Fournier J., Decock C., Schmieschek B. et al., 2014. A polyphasic taxonomy of *Daldinia* (Xylariaceae) // Stud. Mycol. V. 77. P. 1–143.
- Stahl P.D., Klug M.J., 1996. Characterization and differentiation of filamentous fungi based on fatty acid composition // Appl. Environ. Microbiol. V. 62. № 11. P. 4136–4146.
- Sutton B.C., 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum* // *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control / Eds Bailey J.A., Jeger M.J. Wallingford: CAB International. P. 1–26.
- Tanabe Y., Saikawa M., Watanabe M.M., Sugiyama J., 2004. Molecular phylogeny of Zygomycota based on EF-1 α and RPB1 sequences: Limitations and utility of alternative markers to rDNA // Mol. Phylogenet. Evol. V. 30. P. 438–449.
- Taylor J.W., Fisher M.C., 2003. Fungal multilocus sequence typing – it's not just for bacteria // Curr. Opin. Microbiol. V. 6. № 4. P. 351–356.
- Taylor J.W., Jacobson D.J., Kroken S., Kasuga T., Geiser D.M. et al., 2000. Phylogenetic species recognition and spe-

- cies concepts in fungi // *Fungal Genet. Biol.* V. 31. № 1. P. 21–32.
- Vandamme P., Pot B., Gillis M., Vos P., de Kersters K., Swings J., 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics // *Microbiol. Rev.* V. 60. № 2. P. 407–438.
- Varga J., Frisvad J.C., Samson R.A., 2010. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Sparsi* // *IMA Fungus*. V. 1. № 2. P. 187–195.
- Waller J.M., Bridge P.D., Black B., Hakiza G., 1993. Characterization of the coffee berry disease pathogen, *Colletotrichum kahawae* sp. nov. // *Mycol. Res.* V. 97. № 8. P. 989–994.
- Weete J.D., Abril M., Blackwell M., 2010. Phylogenetic distribution of fungal sterols // *PLoS One*. V. 5. № 5. P. e10899.
- Zain M.E., 2010. Biochemical markers in taxonomy of the genus *Fusarium* // *Res. J. Agric. Biol. Sci.* V. 6. № 1. P. 1–7.

Polyphasic approach in fungal taxonomy

Ph. B. Gannibal*

All-Russian Institute of Plant Protection
Podbelskogo, 3, Saint Petersburg, 196608 Russia

*e-mail: fgannibal@vizr.spb.ru

Taxonomy of micromycetes continuously experienced a number of specific difficulties. Advances in molecular phylogeny were an important achievement for fungal taxonomy during the last two decades. Usage of multilocus sequencing in combination with phylogenetic analysis is technically convenient and methodologically reasonable for species delimitation. They work within the frames of evolutionary species concept which is the most popular in mycology now and obviously will save popularity in the nearest future. The most proper tool to define species boundaries is phylogenetic species recognition. However, this well-developed approach sometimes gives no opportunity to clearly recover biodiversity structure and then perform easy taxa identification. Arising in the 1970th in bacteriology, polyphasic taxonomy became in 2000th fairly popular in mycology. Nowadays it is comprehended as consensus taxonomy performing definition of taxa extension based on comparative analysis of all available characters. This approach is not absolutely new. Similar concepts have been utilized in mycology and other biological disciplines earlier. In the article we review the modern practice of polyphasic approach application in the mycology. A special part of the review is dedicated to diversity of features available for a mycologist and to appropriateness of their usage in taxonomy in particular within the scope of the polyphasic approach. This approach is reasonable to apply when phylogenetic recognition gives no satisfactory results, for instance, in case of insufficient number of sequenced loci or in case of analysis of recently diverged species. Furthermore, polyphasic approach is proper for making the taxonomic hypotheses to test them with phylogenetic methods and to create appropriate sample strain sets.

УДК 574.583:574.34

ВЛИЯНИЕ *DREISSENA POLYMORPHA* НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЕРЕДАЧИ УГЛЕРОДА, ЖИРНЫХ КИСЛОТ, АЗОТА И ФОСФОРА ОТ ФИТОПЛАНКТОНА К ЗООПЛАНКТОНУ

© 2021 г. Е. Г. Сахарова^{1,*}, М. Карпович², М. И. Гладышев^{3,4}, Н. Н. Сущик^{3,4},
З. И. Горельшева⁵, И. Ю. Фенева⁶

¹Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
пос. Борок, Ярославская обл., 152742 Россия

²Белостокский университет, Институт Биологии, Отделение Гидробиологии
ул. Циалковского, 1J, Белосток, 15-245 Польша

³Федеральный исследовательский центр Красноярский научный центр СО РАН
Академгородок, 50, Красноярск, 660036 Россия

⁴Сибирский федеральный университет
просп. Свободный, 79, Красноярск, 660041 Россия

⁵НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам
ул. Академическая, 27, Минск, 220072 Республика Беларусь

⁶Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН
Ленинский просп., 33, Москва, 119071 Россия

*E-mail: katya.sah@mail.ru

Поступила в редакцию 26.10.2020 г.

После доработки 20.01.2021 г.

Принята к публикации 27.01.2021 г.

Эффективность передачи физиологически ценных веществ, включающих полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), азот и фосфор, от фитопланктона к зоопланктону важна для функционирования пресноводных экосистем. Двусторчатый моллюск *Dreissena polymorpha* может существенно влиять на функционирование планктонных сообществ. Однако работ по оценке эффективности передачи физиологически ценных веществ от фитопланктона к зоопланктону под воздействием дрейссены до сих пор не проводилось. Целью работы было оценить влияние дрейссены на эффективность переноса углерода, жирных кислот, азота и фосфора от фитопланктона к зоопланктону. В экспериментальных мезокосмах, наполненных водой из мезотрофного озера с содержащимся в ней фито- и зоопланктоном, мы манипулировали фактором присутствия/отсутствия дрейссены. Установлено, что дрейссена уменьшала эффективность переноса углерода, ПНЖК, азота и фосфора от фитопланктона к зоопланктону, понижая таким образом качество зоопланктона как ресурса для вышестоящих трофических уровней. Однако в зоопланктоне увеличивалось содержание указанных веществ относительно их содержания в потребляемых ресурсах. Это позволяет отчасти противодействовать негативному влиянию дрейссены на качество зоопланктона как биологического ресурса.

DOI: 10.31857/S0044459621030052

Эффективность передачи вещества и энергии от фитопланктона к зоопланктону во многом определяет функционирование пресноводных экосистем. Принято считать, что эффективность передачи углерода на следующий трофический уровень составляет 10% (Lindeman, 1942). Однако эффективность передачи углерода от фитопланктона к зоопланктону сильно варьирует в зависимости от факторов среды. Например, в эвтрофных водоемах она ниже, чем в олиготрофных (5–7% и 30% соответственно) (Lacroix, 1999).

Помимо углерода (С), от фитопланктона к зоопланктону передаются и другие вещества, имеющие различную физиологическую ценность, к ним относятся азот (N), фосфор (P) и полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), включая эйкозапентаеновую кислоту (ЭПК) и докозагексаеновую кислоту (ДГК). Если углерод выполняет энергетическую и структурную функции, то азот и фосфор влияют на синтез липидов, протеинов и нуклеиновых кислот у водных беспозвоночных (Wagner et al., 2015). Недостаток ЭПК и ДГК приводит к снижению скоро-

сти соматического роста, репродукционного потенциала и выживаемости животных, а также к сокращению их продукции (Loladze et al., 2000; Frost et al., 2005). Указанные ПНЖК являются незаменимыми, так как не синтезируются животными *de novo*, а создаются рядом микроводорослей (Brett, Müller-Navarra, 1997). Недостаток ПНЖК в пище рыб способствует развитию патологий в работе внутренних органов, снижению репродуктивного потенциала и увеличению смертности (Sargent et al., 2002; Glencross, 2009). Таким образом, эффективность передачи ПНЖК, азота и фосфора от фитопланктона к зоопланктону определяет состояние вышестоящих трофических уровней.

Содержание рассматриваемых веществ в фитопланктоне и зоопланктоне — это показатель их ценности как ресурса для последующих звеньев пищевой сети. Общее их содержание в планктонных сообществах зависит от видовой структуры сообщества. Например, в цианобактериях содержание ПНЖК крайне низкое, тогда как в диатомовых, криптофитовых и динофитовых водорослях, наоборот, высокое (Müller-Navarra, 1995; Gulati, DeMott, 1997). Поскольку зоопланктон потребляет не весь спектр пищевых частиц, на высшие трофические уровни переходит лишь часть содержащихся в водорослях физиологически ценных веществ. Например, ракообразные-фильтраторы, составляющие основу зоопланктона пресноводных водоемов, потребляют частицы размером меньше 30 мкм (Sommer U., Sommer F., 2006). Кроме того, видовая структура зоопланктона влияет и на общее содержание ПНЖК и биогенных веществ в зоопланктоне. Так, ветвистоусые ракообразные характеризуются более высоким содержанием ЭПК и фосфора, тогда как веслоногие ракообразные обладают более высоким содержанием ДГК и азота (Elser, Urabe, 1999; Sterner, Elser, 2002).

Одним из факторов, оказывающих сильное воздействие на структуру фито- и зоопланктонных сообществ, является присутствие двустворчатого моллюска *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771). Дрейссена может избирательно влиять на отдельные таксономические группы фитопланктона за счет фильтрационной активности (Baker et al., 1998; Karatayev et al., 2002), а также за счет выделения биогенных веществ (Wilson, 2003; Wojtal-Frankiewicz, Frankiewicz, 2011; Sarnelle et al., 2012). В результате выделения азота и фосфора в воду дрейссеной, избирательного выедания ею мелких планктонных водорослей возрастает биомасса крупноклеточных видов зеленых водорослей, труднодоступных для потребления зоопланктоном (Davies, Hecky, 2005; Dzialowski, Jessie, 2009; Wojtal-Frankiewicz, Frankiewicz, 2011; Feneva et al., 2020). Показано также, что дрейссена избирательно потребляет пищевые частицы, обогащен-

ные ЭПК, в результате чего снижается пищевая ценность фитопланктона (Makhutova et al., 2013). Кроме того, дрейссена влияет на таксономическую структуру зоопланктона. Например, в присутствии дрейссены в составе зоопланктона увеличивается доля крупных дафний (Feniova et al., 2015). Мы предполагаем, что дрейссена может оказывать сильное влияние на эффективность передачи физиологически ценных веществ от фитопланктона к зоопланктону.

Дрейссена может оказывать позитивное влияние на пресноводные водоемы. Во-первых, она увеличивает прозрачность воды, отфильтровывая мелкие пищевые частицы (Zhu et al., 2006). Во-вторых, дрейссена способна уменьшать биомассу фитопланктона (Vanni, 2002; Congroy, Culver, 2005), в частности, может снижать количество цианобактерий, в том числе и токсичных (Smith et al., 1998; Сахарова и др., 2018). Однако есть данные, свидетельствующие о негативном влиянии дрейссены на пресноводные экосистемы. Такое влияние связано с увеличением концентрации биогенных элементов в результате их повышенной экскреции моллюсками (Vanderploeg et al., 2017), вследствие чего увеличивается биомасса фитопланктона, включая цианобактерии (Makarewicz et al., 1999; Pillsbury et al., 2002). Такие противоречивые эффекты, вызываемые вселением дрейссены, исследователи связывают с трофическим статусом водоема и концентрацией фосфора в воде. Например, показано, что в эвтрофных условиях дрейссена может подавлять развитие цианобактерий, а в условиях меньшей трофности, наоборот, стимулировать их развитие (Raikow et al., 2004). В экспериментальных условиях (Sarnelle et al., 2005) был отмечен рост биомассы цианобактерий при низких концентрациях фосфора в воде и его снижение при повышенной фосфорной нагрузке в присутствии дрейссены. Влияние дрейссены на потоки вещества и энергии в пресноводных экосистемах практически не исследовано. Особый интерес к дрейссене как фактору, влияющему на планктонные сообщества, связан с тем, что она активно распространяется по водоемам и внесена в реестр важнейших инвазивных видов мира и России (Самые опасные..., 2018).

Целью работы было оценить влияние дрейссены на эффективность переноса углерода, общих жирных кислот (ЖК), ПНЖК (ЭПК и ДГК), азота и фосфора от фитопланктона к зоопланктону в мезотрофных условиях. Для этого в экспериментальных мезокосмах, наполненных водой из мезотрофного озера с содержащимися в ней фито- и зоопланктоном, мы манипулировали фактором присутствия/отсутствия дрейссены. Мы предполагали, что дрейссена приведет к увеличению доли труднодоступных для зоопланктона крупноклеточных водорослей и, как следствие этого, к сни-

жению эффективности передачи физиологически ценных веществ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проводили в пластиковых аквариумах объемом 300 л ($0.94 \times 0.64 \times 0.50$ м), заполненных содержащей естественный фитопланктон и зоопланктон водой из мезотрофного оз. Майч (Северо-Восточная Польша, площадь — 163.5 га, максимальная глубина — 16.4 м, средняя глубина — 6 м) (Gliwicz et al., 1981). Продолжительность эксперимента составляла 30 сут. Пробы брали в первый и 30-й дни опыта. В середине эксперимента пробы не отбирали, чтобы не нарушить ход эксперимента изъятием больших объемов воды с планктоном. Эксперимент включал два варианта — вода с естественным фитопланктоном и зоопланктоном (К) и вода с естественным фитопланктоном и зоопланктоном с добавлением моллюсков (М). В экспериментальные аквариумы помещали дрейссену в количестве 250 г/м^2 , что соответствовало примерно 200 экз. на мезокосм (такая плотность моллюсков характерна для озер Польши; Sinicyna, Zdanowski, 2007). Каждый вариант опыта состоял из трех повторностей.

Концентрацию хлорофилла (мг/л) определяли спектрофотометрическим методом с помощью спектрофотометра FluoroProbe (BBE-Moldaenke, Германия). Биомассу фитопланктона, выраженную в единицах углерода (мг С/л), рассчитывали по концентрации хлорофилла с использованием коэффициента, предложенного Якоби и Зохари (Yacobi, Zohary, 2010). Фитопланктон отбирали с помощью однолитрового стакана, тщательно перемешивая водную толщу. Пробы концентрировали осадочным методом (Кузьмин, 1975) и фиксировали раствором Утермеля с добавлением формалина. Идентификацию, измерение и учет клеток водорослей осуществляли под световым микроскопом (NikonOptiphot 2). Биомассу фитопланктона (мг/л) рассчитывали с помощью счетно-объемного метода (Mikheeva, 1989). Водоросли разделяли на три размерные фракции: <30 , $30-80$ и >80 мкм. Первичную продукцию фитопланктона ($\text{мг С/л} \times \text{сут}$) определяли методом полихроматической диурон-индуцированной флуоресценции (DCMU-fluorescence) с помощью флуориметра FluoroProbe (Gaevsky et al., 2000). Первичную продукцию фитопланктона разных размерных фракций рассчитывали по пропорции, исходя из вклада водорослей разных размеров в общую биомассу и значений общей первичной продукции всего фитопланктона.

Пробы зоопланктона отбирали 2.6-литровым батометром и фиксировали 4%-ным раствором формальдегида. Зоопланктон определяли до вида. Сырой вес зоопланктона (мг/л) оценивали, используя зависимости массы особей планктонных

ракообразных от их средней длины (Błędzki, Rybak, 2016). Пересчет биомассы зоопланктона на единицу углерода (мг С/л) осуществляли с помощью коэффициента, предложенного А.Ф. Алимовым (1989), который равен $1/2.3$. Для расчета вторичной продукции ($\text{мг С/л} \times \text{сут}$) использовали регрессионные модели Стоквелла и Йоханссона (Stockwell, Johannsson, 1997).

Для анализа содержания общих ЖК, ЭПК, ДГК, углерода, фосфора и азота в сестоне воду ($5-10$ л), взятую из мезокосмов, предварительно пропускали через газ 110 мкм , а затем фильтровали через стекловолоконные фильтры GF/F (Whatman) до их интенсивного окрашивания. Далее фильтры на определение ЖК подсушивали и помещали в стеклянный контейнер, в который добавляли 3 мл смеси хлороформа с метанолом ($2:1$) и затем хранили при температуре -20°C . Фильтры на углерод, азот и фосфор высушивали при температуре 75°C в течение суток и хранили в эксикаторе для дальнейшего анализа.

Для определения содержания общих ЖК, ЭПК, ДГК, углерода, фосфора и азота в зоопланктоне из мезокосмов брали $40-50$ л воды, которую пропускали через газ 110 мкм . Далее зоопланктон на сите высушивали с помощью фильтровальной бумаги. Пробы зоопланктона на содержание общих ЖК и ПНЖК взвешивали и помещали в 3 мл контейнеры с раствором хлороформа с метанолом, которые хранили при температуре -20°C . Пробы на углерод, азот и фосфор взвешивали и высушивали при температуре 75°C в течение суток, затем хранили в эксикаторе для последующего анализа.

Состав жирных кислот фито- и зоопланктона определяли на газовом хроматографе с масс-спектрометрическим детектором (модель 6890/5975С, Agilent, США) (Gladyshev et al., 2011). Содержание углерода и азота измеряли с помощью элементного анализатора Flash EA 1112 NC Soil/MAS 200 (ThermoQuest, Милан, Италия) (Gladyshev et al., 2007). Содержание фосфора оценивали фотоколориметрическим методом (Murphy, Riley, 1962). Содержание всех веществ выражали в единицах массы на грамм углерода (мг/г С).

Продукцию физиологически ценных веществ в литре определяли, умножив содержание каждого вещества в фитопланктоне или зоопланктоне на первичную или вторичную продукцию углерода соответственно. Основу сестона составляли водоросли и цианобактерии, поэтому далее мы говорим об эффективности передачи веществ от фитопланктона к зоопланктону. Эффективность передачи углерода, общих ЖК, ПНЖК, азота и фосфора от фито- к зоопланктону оценивали как отношение продукции каждого из веществ в зоопланктоне к продукции этого же вещества в фи-

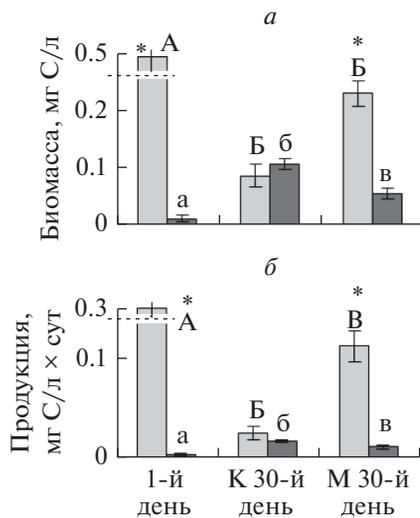


Рис. 1. Биомасса (а) и продукция (б) фитопланктона (светлые столбцы) и зоопланктона (темные столбцы). Достоверные различия ($p \leq 0.05$) в параметрах между первым днем эксперимента, контролем (К) и вариантом (М) с дрейссеной на 30-й день для фитопланктона обозначены разными прописными буквами, а для зоопланктона – разными строчными буквами; * обозначает статистически значимые различия ($p \leq 0.05$) между фитопланктоном и зоопланктоном. Статистические параметры представлены в табл. 1.

топланктоне и выражали это отношение в процентах (Gladyshev et al., 2011).

Статистический анализ данных выполнен в программе Past 3.20. Проверку данных на нормальность распределения проводили с помощью теста Шапиро–Уилка. Биомассы фитопланктона и зоопланктона, а также содержание веществ в гидробионтах, продукции углерода и физиологически ценных веществ в фитопланктоне и зоопланктоне и эффективности их передачи сравнивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA, F тест Фишера). Для сравнения вышеуказанных параметров между фитопланктоном и зоопланктоном, а также сравнения продук-

ции фитопланктона разных размерных фракций и эффективности передачи физиологически ценных веществ между вариантами опыта использовали t -тест Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Биомасса и продукция фитопланктона были достоверно выше в первый день эксперимента, чем на 30-й день, а биомасса и продукция зоопланктона были, наоборот, ниже в первый день. Это объясняется тем, что в мезокосмах отсутствовало хищничество со стороны планктоноядных рыб. Продукция фитопланктона была значимо выше в варианте с дрейссеной, чем в контроле на 30-й день. Биомасса и продукция зоопланктона была, наоборот, ниже в варианте с дрейссеной (рис. 1, табл. 1).

В конце эксперимента продукция водорослей размером <30 мкм была достоверно ниже в варианте с дрейссеной, чем в контроле ($t = 4.3$, $p = 0.01$). Продукция водорослей в диапазоне размеров клетки 30–80 мкм была сходной в обоих вариантах опыта, а продукция водорослей размером >80 мкм была достоверно выше в варианте с дрейссеной, чем в контроле ($t = 10.1$, $p \leq 0.01$) (рис. 2).

Диатомовые, криптофитовые и динофитовые водоросли доминировали по биомассе в обоих вариантах опыта (табл. 2). На 30-й день в варианте с дрейссеной преобладали крупноклеточные нитчатые зеленые водоросли *Mougeotia* sp. и *Oedogonium* sp., тогда как в контроле доминировали мелкие виды из родов *Scenedesmus* и *Schroederia*. Состав доминирующих видов зоопланктона не различался между контролем и вариантом с дрейссеной (табл. 2).

Содержание ЭПК и ДГК в фитопланктоне в первый день было значимо выше, чем в конце эксперимента. Содержание ЭПК и ДГК в зоопланктоне не менялось во времени. Содержание общих ЖК как в фитопланктоне, так и в зоопланктоне не изменилось в течение эксперимента. Содержание азота в зоопланктоне не менялось

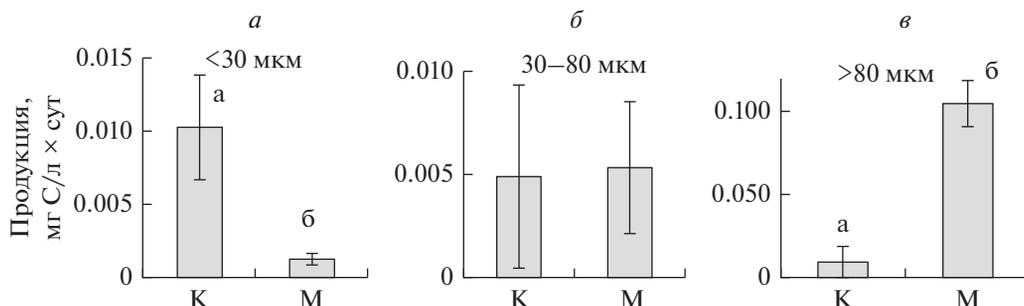


Рис. 2. Продукция разных фракций фитопланктона: а – <30 мкм, б – 30–80 мкм, в – >80 мкм в контроле (К) и варианте с дрейссеной (М) на 30-й день эксперимента.

Таблица 1. Сравнение продукционных параметров по углероду и физиологически ценным веществам в фитопланктоне и зоопланктоне

Показатель	1-й день	30-й день К	30-й день М	<i>F, p</i>
Биомасса, мг С/л				
Фитопланктон	0.48 ± 0.14 ^{A, *}	0.08 ± 0.02 ^B	0.23 ± 0.02 ^{B, *}	<i>F</i> = 16.9, <i>p</i> ≤ 0.01
Зоопланктон	0.01 ± 0.01 ^{A, *}	0.10 ± 0.01 ^B	0.05 ± 0.01 ^{B, *}	<i>F</i> = 107.9, <i>p</i> ≤ 0.01
<i>t, p</i>	<i>t</i> = 5.7, <i>p</i> ≤ 0.01	<i>t</i> = 1.6, <i>p</i> = 0.19	<i>t</i> = 12.3, <i>p</i> ≤ 0.01	
Продукция, мг С/л × сут				
Фитопланктон	0.29 ± 0.05 ^{A, *}	0.02 ± 0.01 ^B	0.11 ± 0.02 ^{B, *}	<i>F</i> = 68.2, <i>p</i> ≤ 0.01
Зоопланктон	0.003 ± 0.00 ^{A, *}	0.02 ± 0.00 ^B	0.01 ± 0.00 ^{B, *}	<i>F</i> = 43.4, <i>p</i> ≤ 0.01
<i>t, p</i>	<i>t</i> = 10.7, <i>p</i> ≤ 0.01	<i>t</i> = 2.1, <i>p</i> = 0.10	<i>t</i> = 11.1, <i>p</i> ≤ 0.01	
ЭПК : С, мг/г				
Фитопланктон	5.28 ± 0.52 ^{A, *}	3.14 ± 0.86 ^{B, *}	2.25 ± 0.48 ^{B, *}	<i>F</i> = 17.7, <i>p</i> ≤ 0.01
Зоопланктон	15.41 ± 2.77 [*]	10.92 ± 3.23 [*]	10.18 ± 3.32 [*]	<i>F</i> = 2.5, <i>p</i> = 0.17
<i>t, p</i>	<i>t</i> = 6.2, <i>p</i> ≤ 0.01	<i>t</i> = 4.0, <i>p</i> = 0.02	<i>t</i> = 4.1, <i>p</i> = 0.01	
ДГК : С, мг/г				
Фитопланктон	2.78 ± 0.32 ^{A, *}	0.64 ± 0.27 ^B	0.99 ± 0.13 ^{B, *}	<i>F</i> = 62.4, <i>p</i> ≤ 0.01
Зоопланктон	9.44 ± 3.52 [*]	5.33 ± 3.91	9.53 ± 4.38 [*]	<i>F</i> = 1.1, <i>p</i> = 0.39
<i>t, p</i>	<i>t</i> = 3.3, <i>p</i> = 0.03	<i>t</i> = 2.1, <i>p</i> = 0.10	<i>t</i> = 3.4, <i>p</i> = 0.03	
ЖК : С, мг/г				
Фитопланктон	120.94 ± 21.09 [*]	141.86 ± 21.69	92.47 ± 19.43	<i>F</i> = 4.3, <i>p</i> = 0.07
Зоопланктон	201.95 ± 44.55 [*]	122.27 ± 36.37	115.79 ± 42.29	<i>F</i> = 4.1, <i>p</i> = 0.07
<i>t, p</i>	<i>t</i> = 2.8, <i>p</i> = 0.05	<i>t</i> = 0.8, <i>p</i> = 0.47	<i>t</i> = 0.9, <i>p</i> = 0.43	
N : С, мг/г				
Фитопланктон	172.86 ± 6.89 ^A	149.62 ± 1.72 ^{B, *}	159.99 ± 10.92 ^{AB, *}	<i>F</i> = 7.2, <i>p</i> = 0.03
Зоопланктон	204.16 ± 41.67	217.13 ± 5.33 [*]	221.82 ± 0.85 [*]	<i>F</i> = 0.4, <i>p</i> = 0.67
<i>t, p</i>	<i>t</i> = 1.3, <i>p</i> = 0.27	<i>t</i> = 20.9, <i>p</i> ≤ 0.01	<i>t</i> = 9.8, <i>p</i> ≤ 0.01	
P : С, мг/г				
Фитопланктон	9.12 ± 0.97	7.47 ± 3.51 [*]	11.46 ± 0.44 [*]	<i>F</i> = 2.7, <i>p</i> = 0.15
Зоопланктон	12.26 ± 2.82 ^A	25.46 ± 2.81 ^{B, *}	26.05 ± 0.61 ^{B, *}	<i>F</i> = 33.8, <i>p</i> ≤ 0.01
<i>t, p</i>	<i>t</i> = 1.8, <i>p</i> = 0.14	<i>t</i> = 6.9, <i>p</i> ≤ 0.01	<i>t</i> = 33.8, <i>p</i> ≤ 0.01	
Продукция ЭПК, ЭПК : С (мг/г) × (мг С/л × сут)				
Фитопланктон	1.54 ± 0.05 ^{A, *}	0.08 ± 0.03 ^B	0.26 ± 0.09 ^{B, *}	<i>F</i> = 358, <i>p</i> ≤ 0.01
Зоопланктон	0.04 ± 0.01 ^{A, *}	0.18 ± 0.07 ^B	0.11 ± 0.02 ^{AB, *}	<i>F</i> = 8.2, <i>p</i> = 0.02
<i>t, p</i>	<i>t</i> = 29.7, <i>p</i> ≤ 0.01	<i>t</i> = 2.4, <i>p</i> = 0.07	<i>t</i> = 2.9, <i>p</i> = 0.04	
Продукция ДГК, ДГК : С (мг/г) × (мг С/л × сут)				
Фитопланктон	0.81 ± 0.05 ^{A, *}	0.01 ± 0.00 ^B	0.11 ± 0.00 ^B	<i>F</i> = 215, <i>p</i> ≤ 0.01
Зоопланктон	0.03 ± 0.01 [*]	0.09 ± 0.07	0.10 ± 0.03	<i>F</i> = 2.1, <i>p</i> = 0.21
<i>t, p</i>	<i>t</i> = 15.1, <i>p</i> ≤ 0.01	<i>t</i> = 1.8, <i>p</i> = 0.15	<i>t</i> = 0.7, <i>p</i> = 0.50	
Продукция ЖК, ЖК : С (мг/г) × (мг С/л × сут)				
Фитопланктон	34.99 ± 0.83 ^{A, *}	3.54 ± 1.40 ^B	10.03 ± 0.73 ^{B, *}	<i>F</i> = 547, <i>p</i> ≤ 0.01
Зоопланктон	0.57 ± 0.12 ^{A, *}	2.01 ± 0.76 ^B	1.19 ± 0.23 ^{AB, *}	<i>F</i> = 6.9, <i>p</i> = 0.03
<i>t, p</i>	<i>t</i> = 41.2, <i>p</i> ≤ 0.01	<i>t</i> = 1.7, <i>p</i> = 0.17	<i>t</i> = 20.1, <i>p</i> ≤ 0.01	

Таблица 1. Окончание

Показатель	1-й день	30-й день К	30-й день М	F, p
Продукция азота, N : C (мг/г) × (мг С/л × сут)				
Фитопланктон	51.13 ± 5.82 ^{A,*}	3.64 ± 0.94 ^B	18.06 ± 3.72 ^{B,*}	F = 45.8, p ≤ 0.01
Зоопланктон	0.57 ± 0.12 ^{A,*}	3.52 ± 0.37 ^B	2.44 ± 0.43 ^{B,*}	F = 53.4, p ≤ 0.01
t, p	t = 8.7, p ≤ 0.01	t = 0.2, p = 0.85	t = 7.2, p ≤ 0.01	
Продукция фосфора, P : C (мг/г) × (мг С/л × сут)				
Фитопланктон	2.66 ± 0.07 ^{A,*}	0.19 ± 0.11 ^{B,*}	1.29 ± 0.23 ^{B,*}	F = 172.7, p ≤ 0.01
Зоопланктон	0.03 ± 0.01 ^{A,*}	0.41 ± 0.08 ^{B,*}	0.29 ± 0.06 ^{B,*}	F = 33.8, p ≤ 0.01
t, p	t = 38.0, p ≤ 0.01	t = 2.8, p = 0.05	t = 7.3, p ≤ 0.01	

Примечание. Достоверные различия в параметрах между первым днем эксперимента, контролем (К) и вариантом (М) с дрейссеной на 30-й день обозначены разными буквами (А, В, В). * обозначает статистически значимые различия в параметрах между фитопланктоном и зоопланктоном.

Таблица 2. Список доминирующих видов (>10% от общей биомассы) фитопланктона и планктонных ракообразных в первый день эксперимента, в контроле (К) и варианте (М) с дрейссеной на 30-й день, где “+” – присутствие вида, “–” – отсутствие вида

Таксон	1-й день	30-й день К	30-й день М
Фитопланктон			
Диатомовые			
<i>Achnanthes</i> sp.	–	+	–
<i>Cyclotella kuetzingiana</i> Thwaites	+	–	–
<i>Cyclotella</i> sp.	+	+	+
<i>Fragilaria capucina</i> Desmazières	–	+	+
<i>F. construens</i> (Ehrenberg) Grunow	–	–	+
<i>Navicula radiosa</i> Kützing	–	+	–
<i>Rhizosolenia longiseta</i> O.Zacharias	+	–	–
<i>Stephanodiscus hantzschii</i> Grunow	+	+	–
Криптофитовые			
<i>Rhodomonas acuta</i> (Butcher) Erata & Chihara	+	+	+
Динофитовые			
<i>Ceratium hirundinella</i> (O.F.Müller) Dujardin	–	+	–
<i>Peridinium</i> sp.	–	–	+
Зеленые			
<i>Mougeotia</i> sp.	–	–	+
<i>Oedogonium</i> sp.	–	–	+
<i>Scenedesmus bijugatus</i> Kützing	–	+	–
<i>Schroederia setigera</i> (Schröder) Lemmermann	–	+	–
Планктонные ракообразные			
Ветвистоусые			
<i>Bosmina</i> spp.	+	–	–
<i>Ceriodaphnia pulchella</i> Sars, 1862	+	+	+
<i>Daphnia magna</i> Straus, 1826	–	+	+
<i>D. pulicaria</i> Forbes, 1893	+	+	+
<i>Scapholeberis mucronata</i> O. F. Müller, 1776	–	+	+
Веслоногие			
<i>Mesocyclops leuckarti</i> Claus, 1857	–	+	+
<i>Thermocyclops oithonoides</i> Sars G.O., 1863	+	–	–

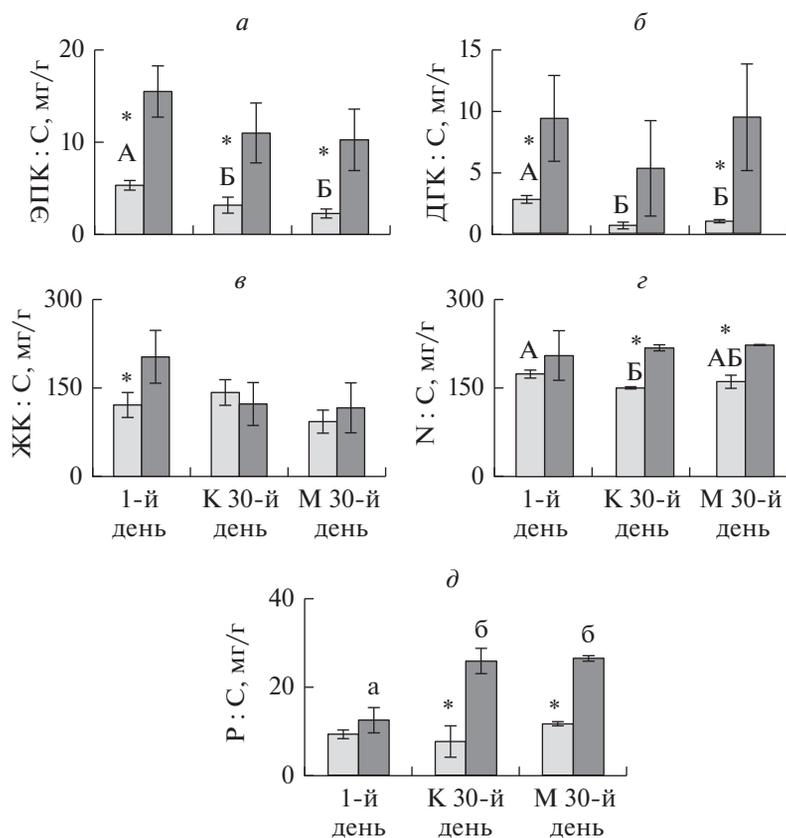


Рис. 3. Содержание физиологически ценных веществ в фитопланктоне (светлые столбцы) и зоопланктоне (темные столбцы), где *a* – содержание ЭПК, *б* – ДГК, *в* – ЖК, *г* – азота, *д* – фосфора. Достоверные различия ($p \leq 0.05$) в параметрах между первым днем эксперимента, контролем (К) и вариантом (М) с дрейссеной на 30-й день в фитопланктоне обозначены разными прописными буквами, а в зоопланктоне – разными строчными буквами; * обозначает статистически значимые различия ($p \leq 0.05$) в содержании физиологически ценных веществ между фитопланктоном и зоопланктоном. Статистические параметры представлены в табл. 1.

со временем. В фитопланктоне содержание азота понизилось к концу эксперимента только в контроле относительно первого дня. Содержание фосфора в зоопланктоне повысилось к 30-му дню, в то время как в фитопланктоне этот параметр не изменился (рис. 3, табл. 1). Содержание ПНЖК, общих ЖК, азота и фосфора в фитопланктоне и зоопланктоне не различалось между контролем и вариантом с дрейссеной (рис. 3, табл. 1).

Продукция ЭПК, ДГК, общих ЖК, азота и фосфора в фитопланктоне достоверно понизилась к 30-му дню в обоих вариантах опыта, а в зоопланктоне продукция ЭПК и общих ЖК в контроле, азота и фосфора в обоих вариантах опыта, наоборот, повысилась к концу эксперимента (рис. 4, табл. 1). Продукция ЭПК, общих ЖК и фосфора в фитопланктоне была достоверно выше в варианте с дрейссеной, чем в контроле. Продукция этих веществ в зоопланктоне не различалась между вариантами опыта за исключением азота, продукция которого в зоопланктоне в варианте с

дрейссеной была значимо ниже, чем в контроле (рис. 4, табл. 1).

Мы провели также сравнение исследуемых параметров между фитопланктоном и зоопланктоном. В варианте с дрейссеной биомасса и продукция фитопланктона была достоверно выше, чем биомасса и продукция зоопланктона соответственно (рис. 1, табл. 1). Содержание ЭПК, азота и фосфора в обоих вариантах опыта и содержание ДГК в варианте с дрейссеной были значимо выше в зоопланктоне, чем в фитопланктоне (рис. 3, табл. 1). Продукция ЭПК, общих ЖК, азота и фосфора была достоверно выше в фитопланктоне, чем в зоопланктоне, в варианте с дрейссеной. В контроле продукция фосфора в зоопланктоне была значимо выше, чем в фитопланктоне (рис. 4, табл. 1). В остальных случаях достоверных различий в значениях продукции между фитопланктоном и зоопланктоном не обнаружено.

ЭПК передавалась от фитопланктона к зоопланктону в среднем в 3 и в 5 раз эффективнее, чем углерод, в контроле и в варианте с дрейссеной

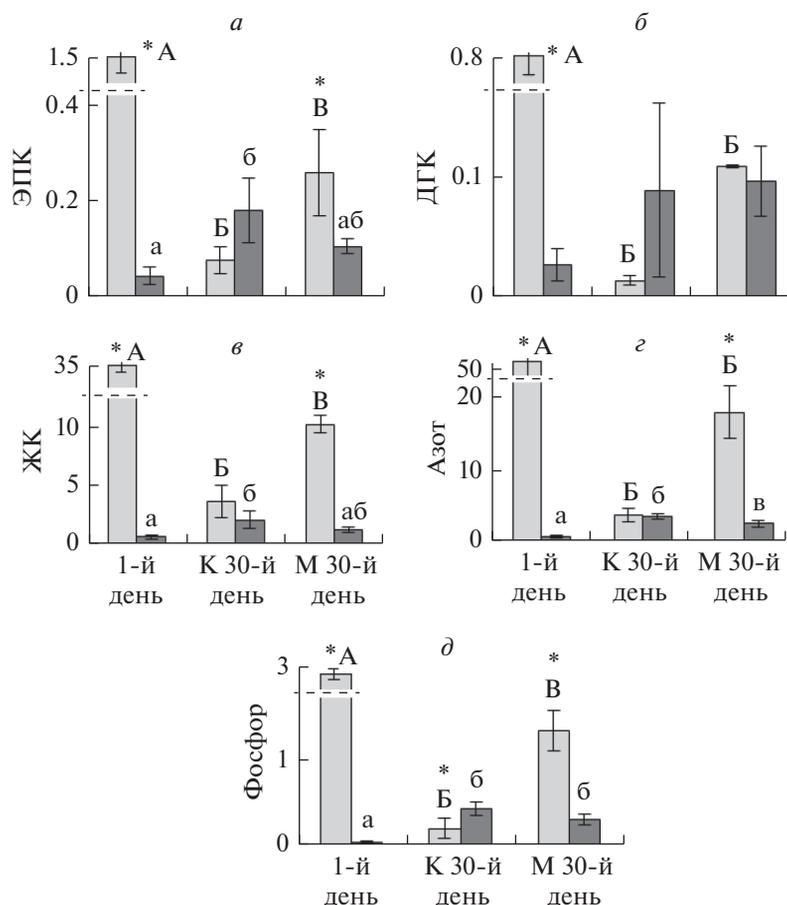


Рис. 4. Продукция физиологически ценных веществ ((мг/г) × (мг С/л × сут)) в фитопланктоне (светлые столбцы) и зоопланктоне (темные столбцы), где а – продукция ЭПК, б – ДГК, в – ЖК, г – азота, д – фосфора. Достоверные различия ($p \leq 0.05$) в продукции между первым днем эксперимента, контролем (К) и вариантом (М) с дрейссеной на 30-й день в фитопланктоне обозначены разными прописными буквами, а в зоопланктоне – разными строчными буквами; * обозначает статистически значимые различия ($p \leq 0.05$) в продукции между фитопланктоном и зоопланктоном. Статистические параметры представлены в табл. 1.

соответственно (в контроле $F = 36.0$, $p \ll 0.01$; в варианте с дрейссеной $F = 13.5$, $p \ll 0.01$) (рис. 5а, б). ДГК передавалась в 6 и в 9 раз эффективнее, чем углерод, в контроле и в варианте с дрейссеной соответственно. В контроле фосфор передавался в 3 раза эффективнее, чем углерод. В варианте с дрейссеной эффективность передачи фосфора не отличалась от эффективности передачи углерода (рис. 5а, б). Общие ЖК и азот в обоих вариантах передавались с такой же эффективностью, как и углерод. Как результат влияния дрейссены на продукцию физиологически ценных веществ в фитопланктоне и зоопланктоне, дрейссена снижала эффективность передачи углерода в 6 раз ($t = 6.6$, $p \ll 0.01$), ЭПК – в 3 раза ($t = 7.3$, $p \ll 0.01$), ДГК – в 4 раза ($t = 6.6$, $p \ll 0.01$), общих ЖК – в 3 раза ($t = 3.6$, $p = 0.02$), азота – в 6 раз ($t = 6.3$, $p \ll 0.01$) и фосфора – в 7 раз ($t = 5.7$, $p \ll 0.01$) по сравнению с контролем (рис. 5в).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В наших исследованиях дрейссена способствовала росту первичной продукции фитопланктона. Такое повышение происходило за счет увеличения продукции крупноклеточных водорослей (>80 мкм) в варианте с дрейссеной. Результаты подтверждаются данными множества других экспериментальных работ (Wojtal-Frankiewicz, Frankiewicz, 2011; Dzialowski, 2013, и др.) и полевых наблюдений (Davies, Hecky, 2005; Zhu et al., 2006; Vanderploeg et al., 2017; McEachran et al., 2019). Например, в оз. Гурон стали преобладать зеленые крупноклеточные водоросли *Spirogyra* sp., *Stigeoclonium* sp., *Cladophora* sp. и *Mougeotia* sp. вскоре после появления в нем дрейссены (Pillsbury et al., 2002). Результаты наших предыдущих экспериментальных работ показали, что дрейссена способствовала доминированию перифитонных и бентосных форм водорослей из родов *Mougeotia*, *Zygnema* и *Oedogonium* (Feneva et al., 2020). Они бо-

лее конкурентоспособны, чем пелагический фитопланктон (Schindler, 1975; Carrick, Lowe, 1989), благодаря своей способности образовывать плотные заросли с большими поглощающими поверхностями (Simons, 1994; Gerrath, 2003; John, 2003).

В то время как первичная продукция крупноклеточных водорослей в вариантах с дрейссеной повышалась относительно контроля, первичная продукция водорослей размером менее 30 мкм, наоборот, снижалась. Это объясняется тем, что дрейссена, хотя и потребляет клетки в широком размерном диапазоне (0.7–80 мкм), максимально эффективно усваивает частицы диаметром 5–35 мкм (Sprung, Rose, 1988; White, Sarnelle, 2014). Известно, что зоопланктон потребляет также преимущественно частицы размером меньше 30 мкм (Sommer U., Sommer F., 2006). Таким образом, дрейссена способствовала снижению концентрации водорослей, доступных для планктонных ракообразных. Как следствие такой конкуренции, мы наблюдали уменьшение биомассы и продукции зоопланктона.

Дрейссена способна также непосредственно влиять на зоопланктон через его потребление. Снижение биомассы и продукции зоопланктона в вариантах с дрейссеной можно объяснить потреблением ею мелких видов зоопланктона. В экспериментальной работе Торпа и Каспера (Thorp, Casper, 2003) наблюдалось снижение численности коловраток за счет их потребления дрейссеной. Сокращение биомассы мелких видов зоопланктона в результате вселения дрейссены наблюдалось и в природе. Например, после ее вселения в р. Гудзон снизилась биомасса микрозоопланктона (Pace et al., 1998). Уменьшение численности мелких видов планктонных животных после появления дрейссены было отмечено и в р. Огайо (Jack, Thorp, 2000). В литорали восточной части Финского залива в придонном слое воды отмечалась отрицательная корреляция биомассы коловраток с биомассой дрейссены (Телеш, Орлова, 2004), что, по мнению авторов, было связано как с конкурентным вытеснением коловраток дрейссеной, так и с их потреблением моллюсками.

Наши исследования показали, что содержание ПНЖК, азота и фосфора в зоопланктоне было выше, чем в фитопланктоне. Это согласуется с данными предыдущих исследований, которые отмечали, что зоопланктон может аккумулировать важные для физиологической деятельности вещества (Hudson et al., 1999). Экспериментальные работы Карповича и соавторов (Karłowicz et al., 2019) также показали, что зоопланктон может накапливать фосфор, вследствие чего его содержание в зоопланктоне было выше, чем в фитопланктоне. В исследованиях Феневои с соавторами (Feniova et al., 2019) в мезотрофных и эвтрофных

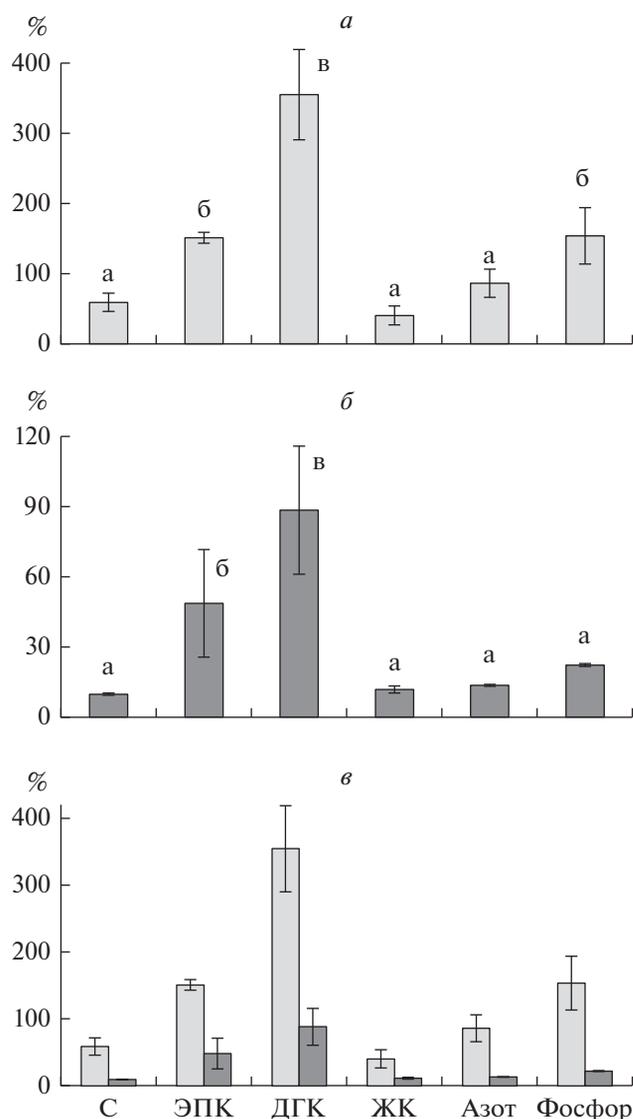


Рис. 5. Эффективность передачи физиологически ценных веществ от фитопланктона к зоопланктону: *a* – контроль, *б* – вариант с дрейссеной, *в* – сравнение эффективностей между контролем (светлые столбцы) и вариантом с дрейссеной (темные столбцы). Различия в эффективности между контролем и вариантом с дрейссеной статистически значимы ($p \leq 0.05$).

условиях содержание азота и фосфора в зоопланктоне превышало содержание этих веществ в фитопланктоне. Повышенное содержание ПНЖК в зоопланктоне по сравнению с фитопланктоном было показано в водохранилище Бугач Гладышевским и соавт. (Gladyshev et al., 2011). Важно отметить, что ракообразные могут накапливать физиологически ценные вещества, если их недостаточно (Sternier, 1993, 1997; Sternier et al., 1998; Sternier, Elser, 2002). Это свидетельствует о способности планктонных ракообразных выполнять роль резервуара для накопления биогенных элементов и ПНЖК.

Существует несколько механизмов накопления ЖК и ПНЖК зоопланктоном. Ракообразные могут синтезировать ПНЖК, трансформируя ЖК из одной формы в другую посредством удлинения молекул (Brett, Müller-Navarra, 1997). Например, Cyclopoidea могут синтезировать ДГК (Desvillettes et al., 1997), в то время как Diaptomidae способны преобразовывать ЭПК в ДГК (Ravet et al., 2010). Таким образом, более высокое содержание ПНЖК в зоопланктоне по сравнению с фитопланктоном в наших экспериментах может быть связано с трансформацией некоторых форм ЖК в ПНЖК зоопланктоном.

Другим механизмом повышенного содержания ПНЖК, азота и фосфора в зоопланктоне относительно их содержания в пищевых ресурсах является избирательное потребление пищевых ресурсов ракообразными. Они могут по-разному накапливать или ассимилировать пищевые частицы. Показано, что значения $\delta^{13}\text{C}$ у ветвистоусых ракообразных коррелировали со значениями $\delta^{13}\text{C}$ отдельных таксономических групп фитопланктона, но не коррелировали с общим содержанием $\delta^{13}\text{C}$ в фитопланктоне (Taipale et al., 2016). Селективное питание дафний, предпочитающих более ценные водоросли цианобактериям, экспериментально продемонстрировано М.И. Гладышевым с соавт. (Гладышев и др., 2000). Селективность потребления, скорее всего, связана с различной усвояемостью разных таксонов водорослей, а не с активным выбором пищевых частиц зоопланктоном (Feniova et al., 2018).

Как результат накопления физиологически ценных веществ зоопланктоном (ПНЖК и фосфора), эффективность их передачи от фитопланктона к зоопланктону была выше, чем для углерода и общих ЖК. Наш результат согласуется с данными Гладышева и соавторов (Gladyshev et al., 2011), которые впервые показали, что ПНЖК передаются более эффективно, чем углерод. Наши результаты показали, что и фосфор, как ценный элемент для физиологических процессов, также передается эффективнее, чем углерод. Общие ЖК передавались с такой же эффективностью, что и углерод. Это объясняется тем, что они, в отличие от длинноцепочечных ПНЖК, обычно используются как энергетический ресурс и поэтому не накапливаются в зоопланктоне (Brett, Müller-Navarra, 1997; Desvillettes et al., 1997; Kainz et al., 2004).

Эффективная передача ЭПК и ДГК от фитопланктона к зоопланктону делает зоопланктон более качественным пищевым ресурсом для планктоноядных рыб. В нашем эксперименте ДГК передавалась эффективнее, чем ЭПК. Обогащение зоопланктона ДГК очень полезно для мальков рыб, поскольку рыбам требуется боль-

шое количество ДГК для соматического роста (Vizcaino-Ochoa et al., 2010).

Дрейссена негативно влияла на эффективность передачи физиологически ценных веществ от фитопланктона к зоопланктону в результате повышения первичной продукции за счет недоступных для зоопланктона крупных водорослей и снижения вторичной продукции. В результате дрейссена способствовала снижению биомассы зоопланктона. Она уменьшала эффективность переноса углерода, ЖК, ПНЖК, азота и фосфора от фитопланктона к зоопланктону, таким образом понижая качество зоопланктона как ресурса для более высоких трофических уровней. Поскольку все эти вещества передавались от фитопланктона к зоопланктону с разной эффективностью, то дрейссена по-разному влияла на эффективность переноса физиологически ценных веществ. Так, дрейссена снижала эффективность передачи углерода в 6 раз, ЭПК – в 3 раза, ДГК – в 4 раза, общих ЖК – в 3 раза, азота – в 6 раз и фосфора – в 7 раз по сравнению с контролем.

Таким образом, дрейссена представляет серьезную угрозу пресноводным водоемам. В результате ее вселения происходит не просто смена таксономического состава фито- и зоопланктона, но и сокращение потока физиологически ценных веществ на высшие трофические уровни. Это приводит к снижению качества биологических ресурсов. Мы считаем, что механизм накопления физиологически ценных веществ зоопланктоном позволяет отчасти противодействовать негативному влиянию дрейссены на качество зоопланктона как ресурса для последующих трофических уровней.

Проведение экспериментов и сбор биологического материала выполнены при поддержке Национального центра науки Польши (UMO-506 2016/21/B/NZ8/00434). Статистическая обработка и анализ данных проводились в рамках государственного задания № АААА-А18-118012690096-1. Интерпретация полученных результатов, обзор литературы и подготовка материалов для публикации выполнены за счет гранта Российского научного фонда (проект № 21-14-00123).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алимов А.Ф., 1989. Введение в продукционную гидробиологию. Л.: Гидрометеоиздат. 152 с.
- Гладышев М.И., Колмаков В.И., Дубовская О.П., Иванова Е.В., 2000. Изучение микроводорослевого спектра питания *Daphnia longispina* в периоды цветения евтрофного водоема // ДАН. Т. 371. С. 556–558.
- Кузьмин Г.В., 1975. Фитопланктон // Методика изучения биогеоценоза внутренних водоемов. М.: Наука. С. 73–87.

- Самые опасные инвазионные виды России (ТОП-100), 2018 / Под ред. Дгебуадзе Ю.Ю., Петросян В.Г., Хляп Л.А. М.: Т-во науч. изд. КМК. 688 с.
- Сахарова Е.Г., Крылов А.В., Петросян В.Г., Селезнев Д.Г., Костиевска-Шлаковска И. и др., 2018. Экспериментальное исследование влияния двустворчатых моллюсков *Dreissena polymorpha* на фитопланктон в эвтрофных условиях // Экология. № 5. С. 376–381.
- Телеш И.В., Орлова М.И., 2004. Взаимоотношения между видом вселенцем *Dreissena polymorpha* (Pallas) и микрозоопланктоном в прибрежных водах эстуария реки Невы (Финский залив Балтийского моря) // Биологические инвазии в водных и наземных экосистемах. М.: Т-во науч. изд. КМК. С. 268–275.
- Baker S.M., Levinton J.S., Kurdziel J.P., Shumway S.E., 1998. Selective feeding and biodeposition by zebra mussels and their relation to changes in phytoplankton composition and seston load // J. Shellfish Res. V. 17. № 4. P. 1207–1213.
- Błędzki L.A., Rybak J.I., 2016. Freshwater Crustacean Zooplankton of Europe. Basel: Springer. 918 p.
- Brett M., Müller-Navarra D., 1997. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes // Freshwat. Biol. V. 38. P. 483–499.
- Carrick H.J., Lowe R.L., 1989. Benthic algal response to N and P enrichment along a pH gradient // Hydrobiologia. V. 179. P. 119–127.
- Conroy J.D., Culver D.A., 2005. Do dreissenids affect Lake Erie ecosystem stability processes? // Am. Midl. Nat. V. 153. P. 20–32.
- Davies J.M., Hecky R.E., 2005. Initial measurements of benthic photosynthesis and respiration in Lake Erie // J. Great Lakes Res. V. 31. P. 195–207.
- Desvillettes C., Bourdier G., Amblard C., Barth B., 1997. Use of fatty acids for the assessment of zooplankton grazing on bacteria, protozoans and microalgae // Freshwat. Biol. V. 38. P. 629–637.
- Działowski A.R., 2013. Invasive zebra mussels alter zooplankton responses to nutrient enrichment // Freshw. Sci. V. 32. P. 462–470.
- Działowski A.R., Jessie W., 2009. Zebra mussels negate or mask the increasing effects of nutrient enrichment on algal biomass: A preliminary mesocosm study // J. Plankton Res. V. 31. P. 1437–1440.
- Elser J.J., Urabe J., 1999. The stoichiometry of consumer-driven nutrient recycling: Theory, observations, and consequences // Ecology. V. 80. P. 735–751.
- Feneva I.Y., Sakharova E.G., Gorelysheva Z.I., Karpowicz M., Andrzej G. et al., 2020. Effects of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) on phytoplankton community structure under eutrophic conditions // Aquat. Invasions. V. 15. № 3. P. 435–454.
- Feniova I., Dawidowicz P., Gladyshev M.I., Kostrzewska-Szlakowska I., Rzepecki M. et al., 2015. Experimental effects of large-bodied *Daphnia*, fish and zebra mussels on cladoceran community and size structure // J. Plankton Res. V. 37. P. 611–625.
- Feniova I., Dawidowicz P., Ejsmont-Karabin J., Gladyshev M., Kalinowska K. et al., 2018. Effects of zebra mussels on cladoceran communities under eutrophic conditions // Hydrobiologia. V. 822. № 1. P. 37–54.
- Feniova I., Sakharova E., Karpowicz M., Gladyshev M.I., Sushchik N.N. et al., 2019. Direct and indirect impacts of fish on crustacean zooplankton in experimental mesocosms // Water. V. 11. № 10. P. 2090.
- Frost P.C., Evans-White M.A., Finkel Z.V., Jensen T.C., Matzek V., 2005. Are you what you eat? Physiological constraints on organismal stoichiometry in an elementally imbalanced world // Oikos. V. 109. P. 18–28.
- Gaevsky N.A., Kolmakov V.I., Popelnitsky V.A., Gold V.M., Dubovskaya O.P., 2000. Evaluation of the effect of light intensity on the measurement of the photosynthetic rate in plankton microalgae by the chlorophyll fluorescence method // Russ. J. Plant Physiol. V. 47. P. 820–825.
- Gerrath J.F., 2003. Conjugating green algae and desmids // Freshwater Algae of North America. Ecology and Classification / Eds Wehr J., Sheath R., Kociolek J.P. San Diego: Elsevier Science, Academic Press. P. 353–381.
- Gladyshev M.I., Sushchik N.N., Kolmakova A.A., Kalachova G.S., Kravchuk E.S. et al., 2007. Seasonal correlations of elemental and ν -3 PUFA composition of seston and dominant phytoplankton species in a eutrophic Siberian Reservoir // Aquat. Ecol. V. 41. P. 9–23.
- Gladyshev M.I., Sushchik N.N., Anishchenko O.V., Makhutova O.N., Kolmakov V.I. et al., 2011. Efficiency of transfer of essential polyunsaturated fatty acids versus organic carbon from producers to consumers in a eutrophic reservoir // Oecologia. V. 165. P. 521–531.
- Glencross B.E., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species // Rev. Aquacult. V. 1. № 2. P. 71–124.
- Gliwicz Z.M., Ghilarov A., Pijanowska J., 1981. Food and predation as major factors limiting two natural populations of *Daphnia cucullata* Sars. // Hydrobiologia. V. 80. P. 205–218.
- Gulati R.D., DeMott W.R., 1997. The role of food quality for zooplankton: Remarks on the state-of-the-art, perspectives and priorities // Freshwat. Biol. V. 38. № 3. P. 753–768.
- Hudson J.J., Taylor W.D., Schindler D.W., 1999. Planktonic nutrient regeneration and cycling efficiency in temperate lakes // Nature. V. 400. P. 659–661.
- Jack J.D., Thorp J.H., 2000. Field experiments on regulation of potamoplankton in a large river by a benthic suspension-feeding mussel, *Dreissena polymorpha* // Freshwat. Biol. V. 44. P. 569–579.
- John D.M., 2003. Filamentous and plantlike Green algae // Freshwater Algae of North America. Ecology and Classification / Eds Wehr J., Sheath R., Kociolek J.P. San Diego: Elsevier Science, Academic Press. P. 311–352.
- Kainz M., Arts M.T., Mazumder A., 2004. Essential fatty acids in the planktonic food web and their ecological role for higher trophic levels // Limnol. Oceanogr. V. 49. P. 1784–1793.
- Karatayev A.Y., Burlakova L.E., Padilla D.K., 2002. Impacts of zebra mussels on aquatic communities and their role as ecosystem engineers // Invasive Aquatic Species of Europe. Distribution, Impacts and Management. Dordrecht: Springer. P. 433–446.
- Karpowicz M., Feniova I., Gladyshev M.I., Ejsmont-Karabin J., Górnica A. et al., 2019. The stoichiometric ratios (C:N:P)

- in a pelagic food web under experimental conditions // *Limnologica*. V. 77. P. 125690.
- Lacroix G., 1999. Biomass and production of plankton in shallow and deep lakes: Are there general patterns? // *Ann. Limnol. Int. J. Lim.* V. 35. № 2. P. 111–122.
- Lindeman R.L., 1942. The trophic-dynamic aspect of ecology // *Ecology*. V. 23. P. 399–418.
- Loladze I., Kuang Y., Elser J.J., 2000. Stoichiometry in producer–grazer systems: Linking energy flow with element cycling // *Bull. Math. Biol.* V. 62. № 6. P. 1137–1162.
- Makarewicz J.C., Lewis T.W., Bertram P., 1999. Phytoplankton composition and biomass in the offshore waters of Lake Erie: Pre- and post-*Dreissena* introduction (1983–1993) // *J. Great Lakes Res.* V. 25. P. 135–148.
- Makhutova O.N., Protasov A.A., Gladyshev M., Sylaitieva A.A., Sushchik N.N. et al., 2013. Feeding spectra of bivalve mollusks *Unio* and *Dreissena* from Kanevskoe Reservoir, Ukraine: Are they food competitors or not? // *Zool. Stud.* V. 52. P. 56.
- McEachran M.C., Trapp R.S., Zimmer K.D., Herwig B., Hegedus C.E. et al., 2019. Stable isotopes indicate that zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) increase dependence of lake food webs on littoral energy sources // *Freshwat. Biol.* V. 64. P. 183–196.
- Mikheeva T.M., 1989. Methods of quantitative estimates of nanophytoplankton (review) // *Hydrobiol. J.* V. 25. P. 3–21.
- Müller-Navarra D.C., 1995. Biochemical versus mineral limitation in *Daphnia* // *Limnol. Oceanogr.* V. 40. P. 1209–1214.
- Murphy J., Riley J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters // *Anal. Chim. Acta.* V. 27. P. 31–36.
- Pace M.L., Findlay S.E.G., Fischer D., 1998. Effects of an invasive bivalve on the zooplankton community of the Hudson River // *Freshwat. Biol.* V. 39. P. 103–116.
- Pillsbury R.W., Lowe R.L., Pan Y.D., Greenwood J.L., 2002. Changes in the benthic algal community and nutrient limitation in Saginaw Bay, Lake Huron, during the invasion of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) // *J. North Am. Benthol. Soc.* V. 21. P. 238–252.
- Raikow D.F., Sarnelle O., Wilson A.E., Hamilton S.K., 2004. Dominance of the noxious cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in low-nutrient lakes is associated with exotic zebra mussels // *Limnol. Oceanogr.* V. 49. № 2. P. 482–487.
- Ravet J.L., Brett M.T., Arhonditsis G.B., 2010. The effects of seston lipids on zooplankton fatty acid composition in Lake Washington, Washington, USA // *Ecology*. V. 91. P. 180–190.
- Sargent J.R., Tocher D.R., Bell J.G., 2002. The lipids // *Fish Nutrition*. 3rd edn / Eds Halver E., Hardy R.W. San Diego: Academic Press. P. 181–257.
- Sarnelle O., White J.D., Horst G.P., Hamilton S.K., 2012. Phosphorus addition reverses the positive effect of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) on the toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa* // *Water Res.* V. 46. № 11. P. 3471–3478.
- Sarnelle O., Wilson A.E., Hamilton S.K., Knoll L.B., Raikow D.F., 2005. Complex interactions between the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, and the harmful phytoplankton, *Microcystis aeruginosa* // *Limnol. Oceanogr.* V. 50. P. 896–904.
- Schindler D.W., 1975. Whole-lake eutrophication experiments with phosphorus, nitrogen, and carbon // *Verh. Internat. Verein Limnol.* V. 19. P. 3221–3231.
- Simons J., 1994. Field ecology of freshwater macroalgae in pools and ditches, with special attention to eutrophication // *Neth. J. Aquat. Ecol.* V. 28. P. 25–33.
- Sinicynna O.O., Zdanowski B., 2007. Development of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha* (Pall.), population in a heated lakes ecosystem. II. Life strategy // *Arch. Pol. Fisheries.* V. 15. P. 387–400.
- Smith T.E., Stevenson R.J., Caraco N.F., Cole J.J., 1998. Changes in phytoplankton community structure during the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) invasion of the Hudson River (New York) // *J. Plankton Res.* V. 20. P. 1567–1579.
- Sommer U., Sommer F., 2006. Cladocerans versus copepods: The cause of contrasting top-down controls on freshwater and marine phytoplankton // *Oecologia*. V. 147. P. 183–194.
- Sprung M., Rose U., 1988. Influence of food size and food quantity on the feeding of the mussel *Dreissena polymorpha* // *Oecologia*. V. 77. P. 526–532.
- Sterner R.W., 1993. *Daphnia* growth on varying quality of Scenedesmus: Mineral limitation of zooplankton // *Ecology*. V. 74. P. 2351–2360.
- Sterner R.W., 1997. Modelling interactions of food quality and quantity in homeostatic consumers // *Freshwat. Biol.* V. 38. P. 473–481.
- Sterner R.W., Elser J.J., 2002. *Ecological Stoichiometry: The Biology of Elements from Molecules to the Biosphere*. Princeton: Princeton Univ. Press. 464 p.
- Sterner R.W., Clasen J., Lampert W., Weisse T., 1998. Carbon: Phosphorus stoichiometry and food chain production // *Ecol. Lett.* V. 1. P. 146–150.
- Stockwell J.D., Johannsson O.E., 1997. Temperature-dependent allometric models to estimate zooplankton production in temperate freshwater lakes // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* V. 54. P. 2350–2360.
- Taipale S.J., Vuorio K., Brett M.T., Peltomaa E., Hiltunen M., Kankaala P., 2016. Lake zooplankton $\delta^{13}\text{C}$ values are strongly correlated with the $\delta^{13}\text{C}$ values of distinct phytoplankton taxa // *Ecosphere*. V. 7. P. e01392.
- Thorpe J.H., Casper A.F., 2003. Importance of biotic interactions in large rivers: An experiment with planktivorous fish, dreissenid mussels, and zooplankton in the St. Lawrence // *River Res. Appl.* V. 19. P. 265–279.
- Vanderploeg H.A., Sarnelle O., Liebig J.R., Morehead N.R., Robinson S.D. et al., 2017. Seston quality drives feeding, stoichiometry and excretion of zebra mussels // *Freshwat. Biol.* V. 62. P. 664–680.
- Vanni M.J., 2002. Nutrient cycling by animals in freshwater ecosystems // *Annu. Rev. Ecol. Syst.* V. 33. P. 341–370.
- Vizcaino-Ochoa V., Lazo J.P., Baron-Sevilla B., Drawbridge M.A., 2010. The effect of dietary docosahexaenoic acid (DHA) on growth, survival and pigmentation of California halibut *Paralichthys californicus* larvae (Ayres, 1810) // *Aquaculture*. V. 302. P. 228–234.
- Wagner N.D., Lankadurai B.P., Simpson M.J., Simpson A.J., Frost P.C., 2015. Metabolomic differentiation of nutri-

- tional stress in an aquatic invertebrate // *Physiol. Biochem. Zool.* V. 88. № 1. P. 43–52.
- White J.D., Sarnelle O., 2014. Size-structured vulnerability of the colonial cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*, to grazing by zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) // *Freshwat. Biol.* V. 59. P. 514–525.
- Wilson A.E., 2003. Effects of zebra mussels on phytoplankton and ciliates: A field mesocosm experiment // *J. Plankton Res.* V. 25. P. 905–915.
- Wojtal-Frankiewicz A., Frankiewicz P., 2011. The impact of pelagic (*Daphnia longispina*) and benthic (*Dreissena polymorpha*) filter feeders on chlorophyll and nutrient concentration // *Limnologia.* V. 41. P. 191–200.
- Yacobi Y.Z., Zohary T., 2010. Carbon: Chlorophyll a ratio, assimilation numbers and turnover times of Lake Kinneret phytoplankton // *Hydrobiologia.* V. 639. № 1. P. 185–196.
- Zhu B., Fitzgerald D.G., Mayer C.M., Rudstam L.G., Mills E.L., 2006. Alteration of ecosystem function by zebra mussels in Oneida Lake: Impacts on submerged macrophytes // *Ecosystems.* V. 9. P. 1017–1028.

Effects of *Dreissena polymorpha* on the transfer efficiency of carbon, fatty acids, nitrogen, and phosphorus from phytoplankton to zooplankton

E. G. Sakharova^{a, *}, M. Karpowicz^b, M. I. Gladyshev^{c, d}, N. N. Sushchik^{c, d},
Z. I. Gorelysheva^e, I. Yu. Feniova^f

^aPapanin Institute for Biology of Inland Waters, RAS
pos. Borok, Yaroslavl Region, 152742 Russia

^bUniversity of Białystok, Institute of Biology, Department of Hydrobiology
ul. Ciołkowskiego, 1J, Białystok, 15-245 Poland

^cInstitute of Biophysics, Federal Research Centre, Krasnoyarsk Science Centre, SB RAS
Akademgorodok, 50, Krasnoyarsk, 660036 Russia

^dSiberian Federal University
av. Svobodny, 79, Krasnoyarsk, 660041 Russia

^eThe Scientific and Practical Center for Bioresources, National Academy of Sciences of Belarus
st. Akademicheskaya, 27, Minsk, 220072 Republic of Belarus

^fInstitute of Ecology and Evolution, RAS
Leninsky prosp., 33, Moscow, 119071 Russia

*e-mail: katya.sah@mail.ru

The efficiency of the transfer of physiologically valuable substances including polyunsaturated fatty acids (PUFA), nitrogen, and phosphorus from phytoplankton to zooplankton is extremely important for the functioning of the whole food web. The bivalve mollusk *Dreissena polymorpha* has a great impact on planktonic communities. However, its effects on the efficiency of transfer of physiologically valuable substances from phytoplankton to zooplankton have not been assessed so far. The goal of our study was to assess the effect of zebra mussels on the transfer efficiency of carbon, fatty acids including PUFA, nitrogen, and phosphorus from phytoplankton to zooplankton under mesotrophic conditions. In the experimental mesocosms filled with water from a mesotrophic lake containing phyto- and zooplankton, we manipulated the presence/absence of zebra mussels. The experiments showed that zebra mussels decreased the efficiency of the transfer of carbon, PUFA, nitrogen, and phosphorus from phytoplankton to zooplankton, thus reducing the quality of zooplankton as a food resource for higher trophic levels. However, zooplankton revealed the ability to increase the content of physiologically valuable substances in their tissues relative to their contents in the diet. We believe that the mechanism of accumulation of physiologically valuable substances by zooplankton enables to at least partially resist the negative influence of zebra mussels on the quality of zooplankton as a food resource.

УДК 593.195;593.191;577.214.5;575.86

РИБОСОМНАЯ РНК МЕЧНИКОВЕЛЛИД В ТРАНСКРИПТОМАХ ГРЕГАРИН И рДНК МИКРОСПОРИДИЙ *SENSU LATO* В МЕТАГЕНОМАХ

© 2021 г. К. В. Михайлов^{1,2}, Е. С. Насонова^{3,4}, Е. А. Шишкин³, Г. Г. Паскерова³, Т. Г. Симдянов⁵, В. А. Юдина⁵, А. В. Смирнов³, Я. Янушковец⁶, В. В. Алешин^{1,2,*}

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского
Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

²Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН
Большой Каретный пер., 19, стр. 1, Москва, 127051 Россия

³Санкт-Петербургский государственный университет, биологический факультет, кафедра зоологии беспозвоночных
Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, 199034 Россия

⁴Институт цитологии РАН
Тихорецкий пр., 4, Санкт-Петербург, 194064 Россия

⁵Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра зоологии беспозвоночных
Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

⁶Институт микробиологии Чешской академии наук, Центр Algatech, лаборатория фотосинтеза
Oratovický mlýn, Тршебонь, 37981 Чешская Республика

*E-mail: aleshin@genebee.msu.su

Поступила в редакцию 04.11.2020 г.

После доработки 10.02.2021 г.

Принята к публикации 01.03.2021 г.

В метагеномах, транскриптомах и библиотеках ампликонов, используемых для меташтрихкодирования, присутствуют многочисленные нуклеотидные последовательности микроспорициев *sensu lato*, главным образом относящихся к “Cruptomycota” (Rozellida, Rozellomycota, Rozellosporidia, рассматриваемых здесь как синонимы). В настоящем сообщении мы описываем найденные в транскриптомах одноклеточных из группы Apicomplexa (Alveolata) последовательности рДНК, принадлежащие гиперпаразитическим микроспорициевым мечниковеллидам. Обнаружено, что транскриптом эугрегарины *Polyrhaddina* sp. (GenBank SRX6640468) загрязнен кДНК *Metchnikovella incurvata*, транскриптом архигрегарины *Selenidium pygospionis* (GenBank SRX6640459) загрязнен кДНК *Metchnikovella dogieli*, а в транскриптоме бластогегарины *Siedleckia* cf. *nematoides* (GenBank SRX6640464) найдены кДНК, происходящие от вида из неопisanного семейства мечниковеллид. С учетом ковариационных нуклеотидных замен смоделирована вторичная структура области “ITS2” идентифицированных и неидентифицированных мечниковеллид. На основе предсказанной вторичной структуры рРНК, картирования чтений из библиотек кДНК, отсутствия эндорибонуклеазы Las1 (PF04031) сделан вывод об отсутствии процессинга ITS2 и наличии ковалентной связи зрелых “5,8S”- и “28S”-подобной (LSU) рРНК мечниковеллид так же, как это известно в отношении других представителей группы типичных микроспорициев. Рассмотрено несколько предложенных ранее (*Chytridiopsis typographi*, VAQA065) и новых кандидатов на роль сестринской группы микроспорициев *sensu stricto*. Обсуждается вероятный вклад нейтральных и селективных процессов в эволюцию сверхмалых генов рРНК микроспорициев и сверхдлинных генов рРНК с интронами группы I паразитических и лишайниковых грибов.

DOI: 10.31857/S0044459621030040

Поток молекулярно-генетических данных об эукариотических микроорганизмах, интересных с точки зрения филогенетики, поступает по нескольким направлениям. Наиболее важные све-

дения доставляет геномика и транскриптомика при выведении новых штаммов в культуру и методом “single cell” при отборе микроманипулятором отдельных клеток некультивируемых видов

Дополнительные сведения об авторах: К.В. Михайлов ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0457-9625>; Е.С. Насонова ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2013-0748>; Г.Г. Паскерова ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1026-4216>; Т.Г. Симдянов ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2478-9301>; А.В. Смирнов ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9844-5344>; Я. Янушковец ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6547-749X>; В.В. Алешин ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3299-9950>.

(Seenivasan et al., 2013; Burki et al., 2013, 2016; Janoušková et al., 2017; Gawryluk et al., 2019; Strasser et al., 2019; Tikhonenkov et al., 2020a, b, и др.). Но есть и другие источники данных. При исследовании маркерных генов в ДНК, выделенной из проб планктона, почвы, донных осадков и других субстратов (Семенов, 2019), встречаются нуклеотидные последовательности, которые не удается отнести к известным типам (царствам). Согласно эмпирическому правилу (Kim et al., 2016), такие филогенетически изолированные группы представлены видами, редкими в природе. Это доказывается малым числом прочтений в библиотеках и редкостью повторных находок в независимо сконструированных библиотеках. Как выглядят организмы, гены которых нельзя отнести к определенным типам (царствам), неизвестно, поэтому надежды на их скорое выведение в культуру или поимку микроманипулятором для применения “single cell” геномики не так велики. Источником сведений о них остаются данные метагеномики и меташтрихкодирования, а также анализ загрязнений геномов и транскриптомов симбионтами и паразитами (Borner, Burmester, 2017) – то есть тоже, по сути, метагеномов.

В библиотеках ампликонов, получаемых из природных проб, разнообразие нуклеотидных последовательностей превосходит разнообразие, видимое в микроскоп. В природных экосистемах присутствует как бы “темная материя жизни” – некультивируемые в лабораторных условиях микроорганизмы (Filée et al., 2005; Margy et al., 2007). Значительная часть, иногда более 50% скрытого эукариотического разнообразия – это одноклеточные паразиты и паразитоиды (Lefèvre et al., 2007, 2008; Lepère et al., 2008; Mahé et al., 2017), если судить по немногочисленным идентифицированным родственникам. Так, в пикопланктоне Мирового океана, судя по преобладанию рДНК в ампликонах, от поверхности до абиссали доминируют группы паразитоидов (López-García et al., 2001; Moon-van der Staay et al., 2001; Christaki et al., 2017), названные Marine Alveolata (MALV) Groups I и II (Guillou et al., 2008), которые были идентифицированы как ихтиодиниевые и синдиниевые динофлагелляты, разнообразие и экологическая роль которых до того недооценивались. В библиотеках, полученных из пресноводных и почвенных проб, обычно преобладают гены рРНК грибов и их родственников – других Holomycota (Lepère et al., 2006; Monchy et al., 2011; Nakai et al., 2012; Ishida et al., 2015; Rojas-Jimenez et al., 2019). Изначально самая массовая группа родственников грибов была названа LKM11 (Hannen et al., 1999; Lara et al., 2010), а затем – “скрытыми грибами”, Cryptomycota (Jones et al., 2011a, b). Постепенно выяснилась принадлежность к LKM11 (“криптомикотам”) представителей известного с XIX в. рода *Rozella* Cornu

1872, включающего внутриклеточных паразитов грибов, оомицетов и одноклеточных водорослей (Gleason et al., 2014; Letcher, Powell, 2018), незадолго до этого на основании молекулярных данных выведенного из состава хитридиевых грибов и сближенного с микроспоридиями (James et al., 2006). Другие известные “криптомикоты” – внутриклеточные и цитоплазматические паразиты лобозных амёб, водорослей, членистоногих (дафний, насекомых). Примечательно, что питающиеся клетки видов *Rozella*, находясь в цитоплазме хозяина, фагоцитируют ее как амёбоидные организмы, тогда как их зооспоры похожи на зооспоры хитридиевых (тем, что не питаются, и тем, что несут единственный задний жгутик с прилегающей к базальному телу второй центриолью). К грибам относят мицелиальные и дрожжеподобные формы, питающиеся осмотрфно, и если включать в состав того же таксона представителей *Rozella*, питающихся фагоцитозом, то таксон “грибы” лишается любых немолекулярных диагностических признаков. Другая группа первоначально неидентифицированных последовательностей рДНК была отнесена к афелидам (Karpov et al., 2013; Letcher et al., 2013), также известным с XIX в. и также незадолго до этого перенесенных из хитридиевых грибов (в этом случае к “корневожкам”, “Rhizopoda”) с присвоением ранга класса (Громов, 2000). Афелиды – внутриклеточные паразитоиды, похожие на *Rozella*: с трофическими стадиями, питающимися путем фагоцитоза, и непитающимися одножгутиковыми или амёбоидными зооспорами (Karpov, Paskerova, 2020). Сходный образ жизни и облик ближайших родственников грибов (афелид и розеллид) поднимает вопрос, насколько на них были похожи предки настоящих грибов, в том числе были ли они паразитами или паразитоидами наземных одноклеточных водорослей (Алешин и др., 2015).

В электронных базах данных за два десятилетия меташтрихкодирования собраны фрагменты маркерных генов (рДНК) тысяч неидентифицированных “криптомикот”, на порядок меньшего числа афелид, и еще на порядок меньшего числа Holomycota, таксономическая привязка которых на сегодня отсутствует (например, представителей клады GS01 (Tedersoo et al., 2017)). Зооспоровые грибы (хитридиевые, бластокладиевые и др.), “криптомикоты”, афелиды и другие микроскопические родственники грибов оказываются на сегодня не учитываемой “темной материей” в наземных сообществах (Grossart et al., 2016). Только для считанного числа “криптомикот”, помимо *Rozella*, молекулярные данные сочетаются с таксономическим описанием: для возрожденного рода *Nucleophaga* Dangeard 1895 (Corsaro et al., 2014a), новых родов *Mitosporidium*, *Paramicrosporidium* и *Morellospora* (Haag et al., 2014; Corsaro et al.,

2014b, 2020). Все охарактеризованные “криптомикоты” – внутриклеточные паразиты.

Микроспоридии в традиционном понимании (Исси, Воронин, 2007; Исси, 2020; Wadi, Reinke, 2020) – облигатные внутриклеточные паразиты позвоночных и беспозвоночных животных и различных одноклеточных (инфузорий, грегариин, парамиксид). Эта богатая видами группа (описано 1500 видов, и это небольшая часть разнообразия), она, как раньше казалось, ясно выделяется по морфологическим и ультраструктурным признакам: утрата жгутиков и центриолей, канонических митохондрий, видоизменение аппарата Гольджи на цитологическом и биохимическом уровне (утрата везикулярного и клатринового транспорта), наличие спор, снабженных сложным аппаратом для заражения хозяина. После исключения из “споровиков” в старом понимании (объединявшем микроспоридий, миксоспоридий, гаглоспоридий и частично современных *Apicomplexa*) микроспоридий рассматривали как тип (Sprague, 1977; Weiser, 1977), о родственных связях которого выдвигали самые разные предположения. Высказанная на основе филогенетического анализа шести генов гипотеза о родстве типа микроспоридий и р. *Rozella* (James et al., 2006) в настоящее время получила убедительную поддержку. Более того, установлено, что многие “криптомикоты” филогенетически еще ближе к микроспоридиям, чем *Rozella* spp. Таким образом, “криптомикоты” парафилетичны относительно микроспоридий. Если исключить из рассмотрения афелид, то сестринской по отношению к грибам окажется клада, объединяющая микроспоридий с “криптомикотами”. После нескольких взаимоисключающих инициатив по таксономии, пытавшихся уравновесить “царство” грибов, “тип” микроспоридий, р. *Rozella* и другие роды “криптомикот”, было предложено расширить объем микроспоридий на всех “криптомикот”, за исключением р. *Rozella* и других филогенетически ранних линий (Bass et al., 2018). Тедерсоо и соавторы (Tedersoo et al., 2018) пошли дальше и в недавней ревизии системы грибов предложили общее название для группы, объединяющей микроспоридий и розеллид (подцарство *Rozellomyceta*). Проблема наименования подобных филогенетически единых, но структурно гетерогенных крупных групп требует отдельного рассмотрения. В частности, присоединение всех “криптомикот” к микроспоридиям дает общее имя большой монофилетической группе, но и одновременно издержку в виде утраты диагноза таксоном микроспоридий в новом понимании, поскольку он объединяет плезиоморфные жгутиковые и фаготрофные формы, переходные формы и высокоспециализированных типичных микроспоридий. Применение названия “*Rozellomyceta*” имеет издержку в виде утраты диагноза грибам.

Общая проблема плезиоморфных и специализированных видов в одной кладе сформулирована Хеннигом (Hennig, 1966) в “правиле девиации” и В.С. Чуповым (2002) в концепции скрытородственных (криптаффинных) таксонов и неизбежна в рамках филогенетической системы. В рамках нашей работы мы рассматриваем группу, содержащую микроспоридий *sensu lato* вместе с *Rozella*, NCLC1 и кладой XI (Lazarus, James, 2015), а наименование “криптомикоты” будем использовать в качестве обиходного для нерангового парафилетического остатка после выделения монофилетической группы типичных микроспоридий.

Для описания истории специализации типичных микроспоридий (*sensu stricto*) нужно ранжировать скрытородственных (криптаффинных) им “криптомикот” по степени родства. В настоящее время кандидатом на место ближайшего родственника типичных микроспоридий считают *Chytridiopsida* (Corsaro et al., 2019). Раньше *Chytridiopsida* относили к типичным микроспоридиям, иногда в составе класса *Metchnikovellidea* (Weiser, 1977). Другим, дополнительным подходом является изучение наименее специализированных из типичных микроспоридий, к которым относят мечниковеллид (Исси, Воронин, 2007) – гиперпаразитов, известных из грегариин, паразитирующих в полихетах. Мечниковеллиды описаны в конце XIX в., но их принадлежность к микроспоридиям была доказана только с помощью электронной микроскопии (Vivier, 1965), и с тех пор они считаются примитивными представителями микроспоридий в ранге класса *Rudimicrosporea* (Sprague, 1977) или *Metchnikovellidea* (Weiser, 1977). От других типичных микроспоридий их отличают менее специализированные споры с короткой полярной трубкой, без полярнопласта, якорного диска и задней вакуоли; их жизненный цикл включает, помимо спорогонии, ведущей к свободным спорам, также продукцию спор, лежащих в цистах (эти свойства они разделяют с *Chytridiopsida*). Гипотеза о начальном расхождении микроспоридий *sensu stricto* на мечниковеллид и всех остальных подтверждена геномными данными (Mikhailov et al., 2017; Galindo et al., 2018; Nassonova et al., 2021). Описаны, однако, и другие микроспоридии, считающиеся примитивными: *Vuxtehudea*, *Jiroveciana*, *Burkea*, *Hessea* (Исси, Воронин, 2007; Larsson, 2014). По ним не имеется молекулярных данных, и далее мы их не обсуждаем, поскольку основной целью нашего обзора являются неидентифицированные и загрязняющие гены рРНК микроспоридий из разных источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Базы данных и процедура поиска. Нуклеотидные последовательности извлекали из баз данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Помимо

базы *nr* (non-redundant, GenBank; Benson et al., 2013), использовали оригинальные транскриптомные данные (Janouškovec et al., 2019), базы SRA (The Sequence Read Archive) (ERX2404075–ERX2404077), содержащие длинные контиги, собранные по результатам высокопроизводительного секвенирования ампликонов (Jamy et al., 2019), и метагеномные данные из *wgs* (Whole Genome Shotgun), содержащие длинные контиги (Mitchell et al., 2018; Sanchez, Cao, 2019; Cotto et al., 2020; Sharrar et al., 2020; Thornton et al., 2020). Для поиска целевых последовательностей использовали инструменты BLAST (Altschul et al., 1997), в виде входного запроса использовали последовательности 18S рРНК представителей основных групп “криптомикот”, выявленных предыдущими исследованиями.

Филогенетический анализ. Нуклеотидные последовательности рРНК добавляли к подготовленному ранее выравниванию как к профилю, используя MUSCLE (Edgar, 2004). Участки, выравнивание которых проблематично, перед построением дерева удаляли вручную. Байесовы деревья строили с помощью MrBayes 3.2.5 (Ronquist et al., 2012), используя модель нуклеотидных замен GTR (General Time-Reversible) (Tavaré, 1986) с учетом неравномерности сайтов по скорости эволюции согласно гамма-распределению, аппроксимируемому 10, 12 или 16 категориями, с использованием ковариационной модели эволюции или без таковой. Число независимых запусков, число Марковских цепей Монте-Карло (MCMC) в каждом запуске и число генераций варьировали. Деревья визуализировали с помощью FigTree (Rambaut, 2010) и MEGA (Kumar et al., 2016).

Структурный анализ. Картирование сырых чтений для измерения покрытия вдоль транскриптов мечниковеллид выполнено Bowtie 2 (Langmead, Salzberg, 2012) с параметрами “–end-to-end –no-mixed –no-discordant”. Данные покрытия извлечены из bam файлов выравниваний чтений при помощи BEDTools (Quinlan, Hall, 2010) с параметрами “–pc” для расчета общего покрытия по фрагментам (т.е. от прямого и до обратного чтения) и “–5 -strand +” для подсчета точек начала фрагментов. В контрольном опыте библиотеку SRA: SRR10440982 картировали на оперон рРНК *Saccharomyces cerevisiae* S288C (NC_001144.5: 451786–457732). В моделях вторичной структуры рРНК большой и малой субчастиц использовали известную номенклатуру (Wuyts et al., 2001); структуру спиралей 19–21 корректировали по модельным видам: инфузории *Tetrahymena thermophila* и дрожжам *S. cerevisiae* (Lee, Gutell, 2012). Неканонические пары, в том числе подтвержденные рентгено-структурным анализом и криоэлектронной микроскопией рибосом модельных видов, не учитывали; напротив, комплементарные

пары на концах спиралей включали в предсказанные спирали, даже если такое расширение спиралей не характерно для большинства видов. Локальное сворачивание РНК предсказывали с помощью сервера Mfold (Zuker, 2003) с параметром учета субоптимальных структур (15%). Использовали как текущую версию, предсказывающую структуру при 37°C, так и версию 2.3 с возможностью выбора температуры (в этом случае выбирали 15°C). В предсказании структуры ITS2 использовали, насколько это было возможно, модель “четырёх доменов” с характерными элементами в спиралах II и III (Joseph et al., 1999; Schultz et al., 2005; Coleman, 2007, 2015). В случае анализа региона, соответствующего редуцированному ITS2 у мечниковеллид, использовали программу RNAalifold (Bernhart et al., 2008) в составе ViennaRNA web-сервиса (Gruber et al., 2015), учитывая информацию о выравнивании первичных структур. Визуализировали модели с помощью RnaViz 2 (Rijk et al., 2003).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Мечниковеллиды. При анализе результатов высокопроизводительного секвенирования кДНК эугрегариин, архигрегариин и бластогрегариин (Janouškovec et al., 2019) в трех библиотеках обнаружены последовательности, принадлежащие микроспоридиям – мечниковеллидам. Здесь мы описываем контиги рРНК, хотя многие белок-кодирующие транскрипты мечниковеллид также могут быть собраны из этих библиотек. Мечниковеллиды из эугрегарины *Polyrhhabdina* sp. на основании сходства нуклеотидных последовательностей (GenBank QXFS01001040, QXFS01000707; Galindo et al., 2018) отнесены к виду *Metchnikovella incurvata* Cautlery et Mesnil 1914, известному из этого хозяина (Sokolova et al., 2013; Rotari et al., 2015). Мечниковеллиды из архигрегарины *Selenidium pygospionis* на основании сходства нуклеотидных последовательностей отнесены к виду *Metchnikovella dogieli* Paskerova et al., 2016 – обычному паразиту *S. pygospionis* (GenBank MT969020; Paskerova et al., 2016, 2018; Nasonova et al., 2021). В бластогрегариинах мечниковеллид ранее не находили; нуклеотидные последовательности, найденные в библиотеке кДНК (GenBank GHVV01457926, GHVV01457913, GHVV01457924) – первая такая находка. РНК для синтеза кДНК была выделена из нескольких десятков клеток бластогрегариин, извлеченных из кишечника морских политет *Scoloplos* cf. *armiger* и формально определенных как *Siedleckia nematoides*. Однако полиморфизм белок-кодирующих транскриптов в библиотеке говорит в пользу того, что выборка клеток бластогрегариин представлена смесью видов-двойников. Если это так, то на сегодня хозяина правильнее обозначить *Siedleckia* cf. *nematoides*. Близкого сходства рРНК мечнико-

веллиды из *S. cf. nematoides* с какими-либо известными нуклеотидными последовательностями не обнаружено (ее принадлежность мечниковеллиде обосновывается построенным филогенетическим деревом). В библиотеках из природных субстратов не найдено последовательностей рРНК мечниковеллид (за исключением контаминанта, номер в GenBank KX214678). С другой стороны, в трех видах грегариин из пяти, исследованных методом высокопроизводительного секвенирования (Janoušková et al., 2019), обнаружены мечниковеллиды. По-видимому, разнообразие и распространенность мечниковеллид недооцениваются, в том числе и при анализе ампликонов рДНК, получаемых из проб морских осадков.

Мечниковеллиды образуют на филогенетическом дереве РНК малой субчастицы рибосом монофилетическую группу, сестринскую остальным типичным микроспоридиям (рис. 1). Этот результат повторяет ранее опубликованные (Mikhailov et al., 2017; Bass et al., 2018; Galindo et al., 2018; Corsaro et al., 2019, 2020; Nasonova et al., 2021). Виды *Amphiacantha* обособлены от *Metchnikovella* spp. и *Amphiamblys* spp. (*p*-дистанции, вычисленные для выравниваемых участков рРНК, — около 0.3), на основании чего можно принять выделение для них двух отдельных семейств: Amphiacanthidae и Metchnikovellidae (Larsson, 2000, 2014). Паразит бластогрегариин образует на филогенетическом дереве третью ветвь мечниковеллид, обособленную от Amphiacanthidae и Metchnikovellidae.

Одна из особенностей микроспоридий *sensu stricto* — соединение в единую молекулу зрелых 5,8S- и 28S-подобных рРНК (отсутствие самостоятельной 5,8S рРНК, так же как у прокариот) (Vossbrinck, Woese, 1986). У типичных микроспоридий нет консервативных элементов ITS2, считающихся важными для процессинга (Coleman, 2015). У других эукариот с ITS2 граничат шпильки В7 и В8 — консервативные элементы 5,8S рРНК. Шпильки В7 и В8 отсутствуют у типичных микроспоридий, а у некоторых отсутствует и шпилька В6 (рис. 2) (Rijk et al., 1998; Peyretailade et al., 1998; Van de Peer et al., 2000). У мечниковеллид мы предсказываем шпильку В6 и не находим шпилек В7 и В8, тогда как Корсаро и соавторы (Corsaro et al., 2019, fig. 5) гомологизируют спирали В6 *Amphiamblys* sp. и В8 *Chytridiopsis typographi*, называя их “GC-богатым стеблем” (GC-rich stem). Возникает вопрос: каким реконструкциям больше доверять? Возможность альтернативных, при этом близких по значениям свободной энергии образования вариантов делают предсказания для отдельных видов сомнительными, а варибельность рассматриваемой области затрудняет привлечение удаленных видов для выявления совпадающих элементов. Но для мечниковеллид в целом можно заметить три пары компенсаторных нуклеотидных замен в стебле В4 относительно *Vairi-*

morpha apis и две пары компенсаторных замен в стебле В9 у *Metchnikovella incurvata* относительно *M. dogieli* и *Amphiamblys* spp. (рис. 2, четырехугольник). Эти компенсаторные замены позволяют определить положение спиралей В4 и В9. У мечниковеллиды из бластогрегариин стебель В9 оканчивается простой петлей, так же как у других типичных микроспоридий. У остальных мечниковеллид это место “ITS2” занято специфическими структурными элементами, не вписывающимися, однако, в модель “четырёх доменов”. Инструмент RNAalifold способен подогнать предсказанные структуры трех видов к общей для них модели в виде “огородного пугала” (рис. 2), а для *M. incurvata* можно предполагать экспансию в это место нуклеотидных последовательностей, как и во многие другие места рДНК этого вида. Не ясно, как модель, сгенерированная RNAalifold, соотносится с моделью “четырёх доменов” и насколько она окажется устойчивой к новым данным.

Мечниковеллиды сохраняют в модифицированном виде консервативный мотив gguguyugttt-GAGtrtcg вблизи 3'-границы 5,8S рДНК (рис. 3). Обычно этот участок комплементарен 5'-концевой области 28S рРНК, и вместе они составляют основание спирали В9. Но у мечниковеллид ему просто нет комплементарных нуклеотидов в ближайшей окрестности. И в модели “огородного пугала”, и в модели Корсаро и соавторов (рис. 2) консервативная последовательность мечниковеллид, гомологичная 3'-концу 5,8S рРНК, предсказана не в составе спирали, как у других видов, а частично в виде одноцепочечной петли. Помимо мечниковеллид, рассматриваемый участок, как кажется, занимает нестандартное положение во вторичной структуре рРНК и некоторых других видов, например *Chytridiopsis typographi*. По-видимому, функция 3'-концевого участка 5,8S рРНК не ограничивается связыванием с 28S рРНК для образования спирали В9, но также предполагает связывание и с альтернативным (неизвестным) лигандом. Иначе парные компенсаторные замены постепенно разрушили бы консервативный мотив, оставив за счет компенсаторных замен только комплементарность нитей В9 подобно тому, как это наблюдается в переменных спиральных ITS2. У других типичных микроспоридий утрачивается и эта (неизвестная) функция вместе с соответствующей нуклеотидной последовательностью. Вероятно, двойственная природа свойственна многим спиральям рРНК, попеременно выступающим либо как двойная спираль, либо как специфическая последовательность нуклеотидов, что обеспечивает в эволюции не только компенсаторные замены, но и длительное сохранение первичных структур.

Возникает вопрос, обеспечивают ли своеобразные элементы на месте соединения 5,8S и остальной части РНК большой субчастицы ри-

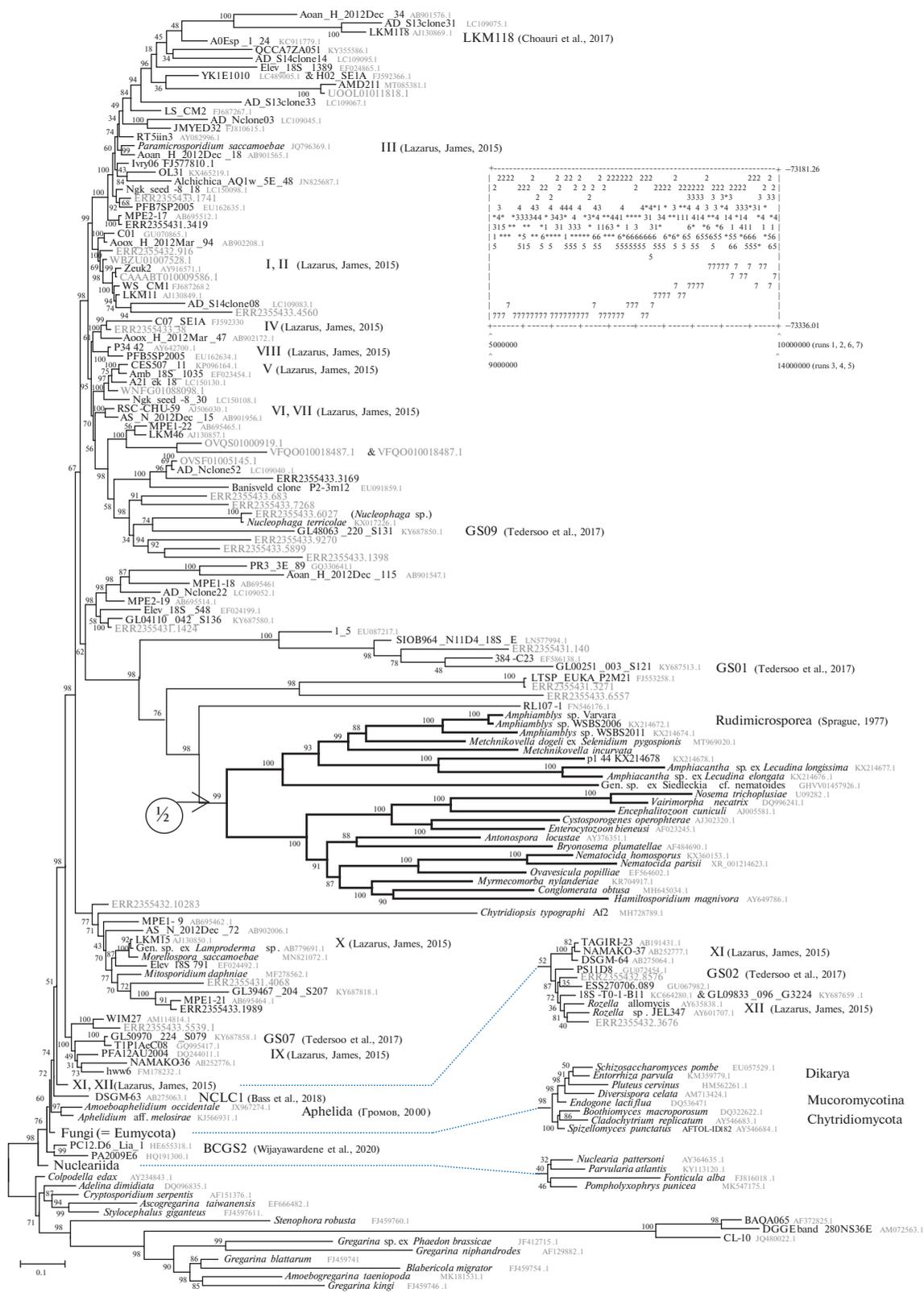


Рис. 1. Байесово дерево РНК малой субчастицы рибосом микроспоридий. Представлен результат лучшего запуска “run2” (ngen = 10000000, nchains = 8, nst = 6, ngammacat = 10, covarion = yes). На диаграмме рассеяния представлены значения логарифма правдоподобия в семи лучших запусках (из 14). Длина ветвей в поддереве типичных микроспоридий сокращена вдвое (широкие линии). Апостериорные вероятности даны в процентах. Сходимость топологий не достигнута, в частности, некоторые клады с высокой апостериорной вероятностью в независимых запусках отсутствуют в настоящем дереве, и наоборот. Вероятные артефакты положения клад ВАQА065 и GS01 обсуждаются в тексте.

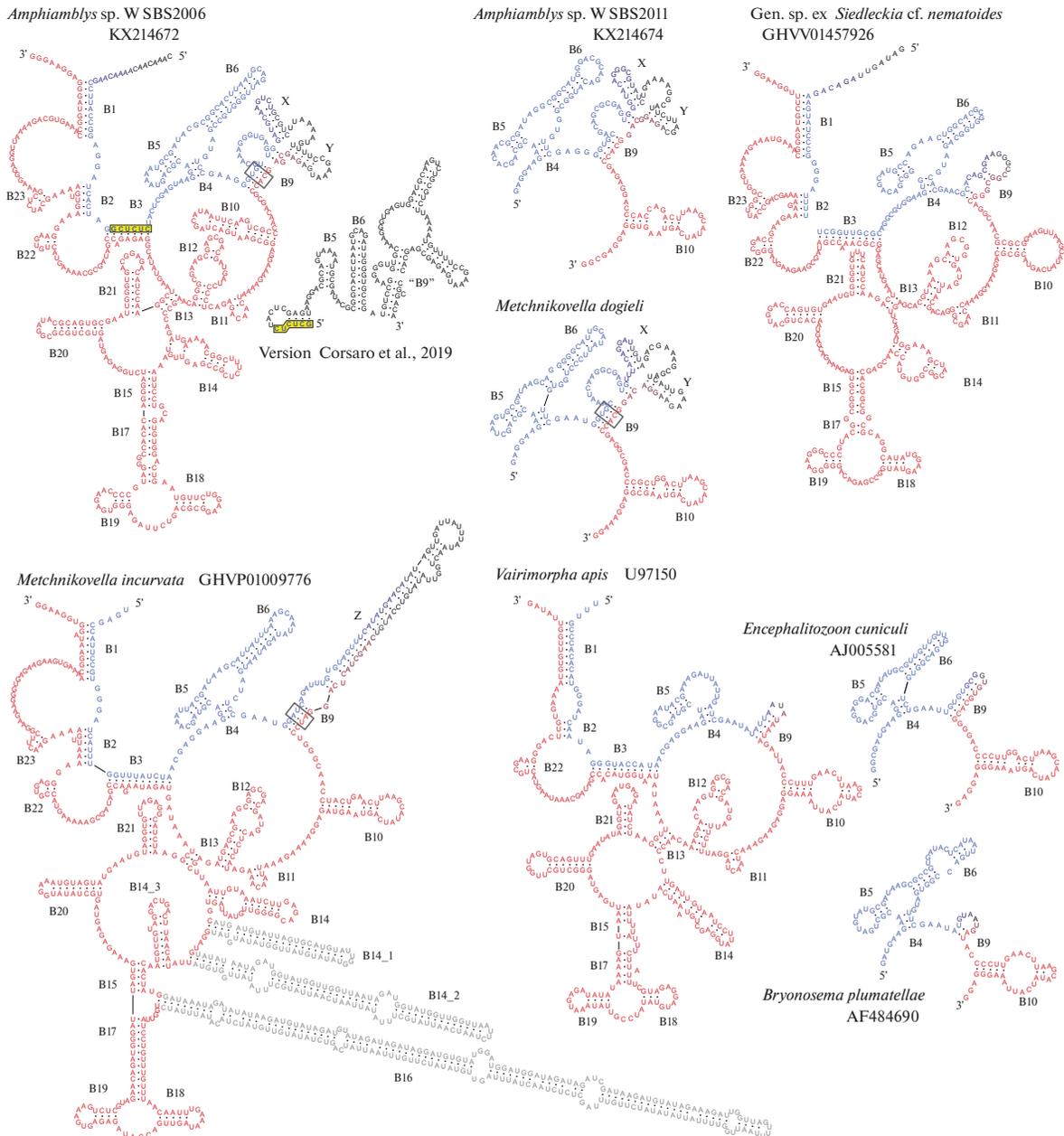


Рис. 2. Предсказанная вторичная структура слитных “5,8S”- и “28S”-подобной рРНК типичных микроспоридий. Участки последовательностей, гомологичные 5,8S рРНК, отмечены синим, 28S рРНК — красным; границы 5,8S и 28S рРНК приходятся на участок спирали В9, и неопределенность положения границ отмечена градиентом цвета. Специфические для мечниковеллид спирали обозначены x, y, z. Две пары компенсаторных замен в В9 между *Metchnikovella incurvata*, *M. dogieli* и *Amphiblybs* spp. выделены серым прямоугольником. Часть контакта спирали В3, отнесенная Корсаро и соавт. (Corsaro et al., 2019, fig. 5) к внутримолекулярной спирали в пределах 5,8S рРНК, выделена желтым; обозначения спиралей В5, В6 и “В9” на модели Корсаро и соавторов добавлены нами. Структура для *Encephalitozoon cuniculi* и *Vairimorpha apis* (родовое название согласно последней ревизии (Токарев et al., 2020)) приведена по ранним моделям (Peuretaillade et al., 1998; Rijk et al., 1998; Van de Peer et al., 2000) с незначительными изменениями. Номенклатура спиралей рРНК по: Wuyts et al., 2001.

босом процессинг пре-рРНК у мечниковеллид. Область “ITS2” трех видов мечниковеллид, для которых доступны библиотеки кДНК, покрыта отдельными чтениями на уровне, близком к покрытию соседних структурных элементов, тогда

как при процессинге ITS2 наблюдается снижение количества кДНК и числа чтений в этой области, как видно на примере контроля — библиотеки кДНК дрожжей (рис. 4). У мечниковеллид не видно признаков конца матриц в области “ITS2”, то-

Saccharomyces cerevisiae (J01353)
Schizosaccharomyces pombe (Z19578)
Rozella allomyces (AY635838)
Rozella sp. JEL 347 (DQ273766)
Mitosporidium daphniae (JMKJ01000175)
Chytridiopsis typographi (MH728789)
Paramicrosporidium saccamoebae (JQ796369)
Morellospora saccamoebae (MN821072)
 WS_CM1 (FJ687268.2)
 WS_CM2 (FJ687265)
 GS02: GL09833_096_S189 (KY687657)
 GS03: GL04110_042_S136 (KY687580)
 GS04: GL03020_035_G2839 (KY687566)
 GS05: GL06927_070_S132 (KY687622)
 GS06: GL19521_135_G2819 (KY687716)
 GS07: GL50970_224_S079 (KY687858)
 GS08: GL51158_226_G2819 (KY687859)
 GS09: GL48063_220_S131 (KY687850)
 GS10: GL31339_184_S082 (KY687784)
 GS11: GL23025_150_S206 (KY687737)
 ERR2355433.6557
 ERR2355431.3271
 Gen. sp. ex *Siedleckia cf. nematoides*
Metchnikovella incurvata
Metchnikovella dogieli
Amphiamblys sp. WSBS2006 (KX214672)
Amphiamblys sp. WSBS2011 (KX214674)



Рис. 3. Выравнивание нуклеотидных последовательностей, образующих основание спирали B9. Пропущенные нуклеотиды ITS2 и дистальной части B9 заменены многоточием. Комплементарные нуклеотиды спирали B9 дрожжей и *Amphiamblys* sp. соединены пунктирными дугами. Невыравниваемая область дана на сером фоне.

гда как на месте стыка ITS1 и 5,8S такие признаки видны по резкому изменению уровня покрытия на границе (рис. 4) и по нуклеотидным последовательностям — адаптерам — в значительной доле чтений (рис. 5). У мечниковеллиды *Amphiamblys* sp. не обнаружен ген эндорибонуклеазы Las1 (PF04031), участвующей в процессинге ITS2. Этого гена нет в известных геномах микроспоридий *sensu stricto*, но он имеется в геномах “криптомикот” с протяженной областью ITS2 — *Mitosporidium daphniae* и *Paramicrosporidium saccamoebae*. Таким образом, совокупность косвенных данных свидетельствует об отсутствии процессинга “ITS2” у мечниковеллид и о том, что у них “5,8S”- и “28S”-подобная рРНК слиты в зрелом состоянии в единую молекулу подобно тому, как это имеет место у других микроспоридий *sensu stricto*.

Проблема *Chytridiopsis typographi*. Род *Chytridiopsis* Schneider, 1884 известен с XIX в. и включает паразитов кишечного эпителия насекомых (жуков, ручейников). Традиционно его рассматривали в составе микроспоридий, а в некоторых системах сближали с мечниковеллидами (Weiser, 1977; Larsson, 1993). Как и мечниковеллиды, *Chytridiopsida* отличаются спорами с короткой полярной трубкой (однако более длинной, нежели у мечниковеллид, формирующей несколько витков и покрытой соотвидной структурой) и нераз-

витым полярнопластом. В жизненном цикле два этапа спорогонии, приводящей либо к спорам, свободно лежащим в паразитофорной вакуоли, либо к спорам, заключенным в общую цисту.

Анализ нуклеотидных последовательностей 18S рРНК первого исследованного представителя рода, *Chytridiopsis typographi* (паразита жука-короеда *Ips typographi*), вывел его за пределы типичных микроспоридий (включая мечниковеллид), поставив сестринской группой (Corsaro et al., 2019). Однако по общей архитектуре 18S рРНК *C. typographi* больше похожа на типичную эукариотическую рРНК. Области V2, V3, V4, V7, V8, V9 в рРНК *C. typographi* не укорочены столь существенно, как у типичных микроспоридий (Varandun et al., 2019). У типичных микроспоридий даже в наименее редуцированном состоянии из области V4 утрачен участок комплементарности с областью V2 (спирали 23/e13 и 23/e14). В 18S рРНК *C. typographi* предсказывается (рис. 6) “эукариотический” контакт V2–V4 (Alkema, Nygård, 2003). Как и у большинства эукариот, первичная структура области V4 *C. typographi* допускает миграцию ветвей между спиралями 23/e13 и 23/e14 (Wuys et al., 2000). В зависимости от этой миграции, образование псевдоузла V2–V4 кажется скорее одной из возможностей (даже серией возможностей) “дышащей” структуры, нежели “за-

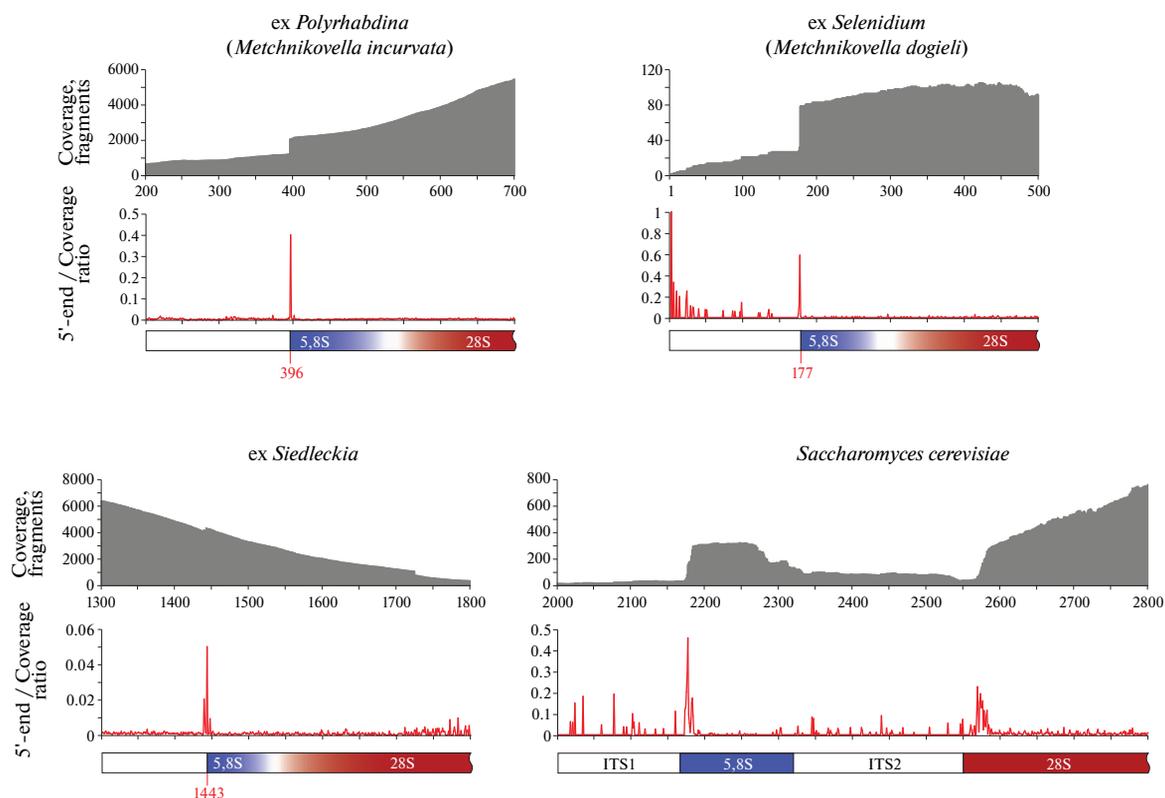


Рис. 4. Покрытие чтениями высокопроизводительного секвенирования кДНК области соединения “5,8S”- и “28S”- подобной рРНК микроспоридий-мечниковеллид и подвергаемых процессингу ITS1 и ITS2 дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Верхние диаграммы для каждого организма показывают покрытие чтениями из транскриптомных библиотек; нижние диаграммы показывают отношение точек начала чтений к общему покрытию; предсказанные области генов 5,8S (синяя) и 28S (красная) рРНК показаны цветом ниже диаграмм.



Рис. 5. Адаптеры на 5'-конце 5,8S рРНК микроспоридий-мечниковеллиды *Metchnikovella dogieli*. Адаптеры свидетельствуют об обрыве матрицы на 5'-конце 5,8S рРНК многих матриц (в результате процессинга ITS1). Видна вариабельность 5'-конца (AA, либо AAA, либо AAAA). Аналогичных массовых обрывов в месте соединения “5,8S”- и “28S”-подобной рРНК мечниковеллид не наблюдается, что свидетельствует об отсутствии процессинга ITS2.

мороженным” состоянием, которое можно предполагать из кристаллизованных рибосом или данных криоэлектронной микроскопии (Lee, Gutell, 2012; Petrov et al., 2014). Протяженная область несовершенной комплементарности между участками V2 и V4 (рис. 6, выделение шрифтом)

свидетельствует скорее в пользу перехода *in vivo* между несколькими (более чем двумя) альтернативными состояниями, чем исключительно kissing-loops между небольшими терминальными петлями двух стабильных шпилек “21es6d” и “9” (рис. 6, версия 4).

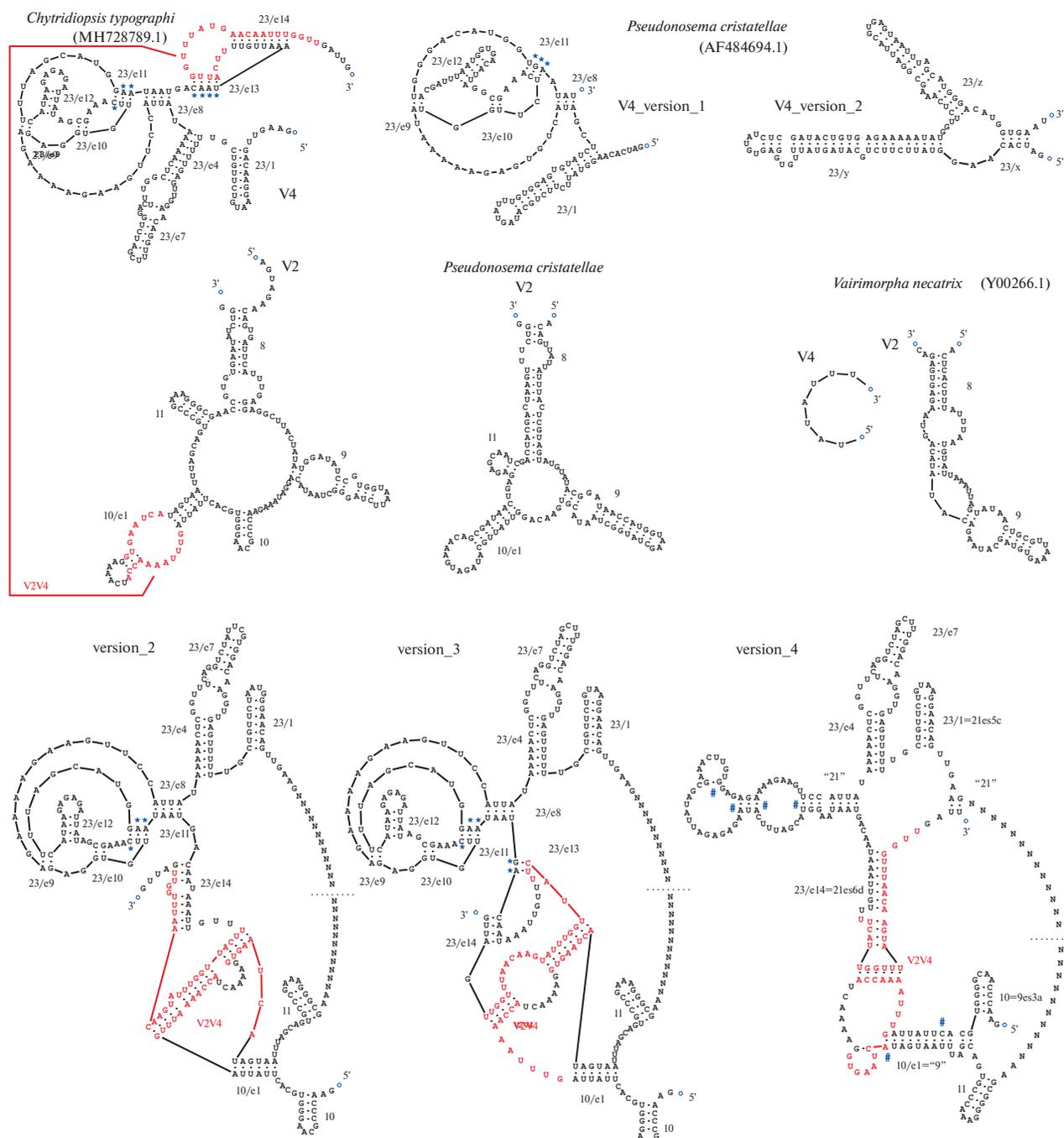


Рис. 6. Области V2 и V4 18S рРНК *Chytridiopsis typographyi* и двух типичных микроспоридий. Вероятная зона контакта V2–V4 (различные версии) выделена шрифтом. * – пары, предсказанные из ковариации, но не подтвержденные структурами модельных видов; # – неканонические пары, введенные для согласования с моделью (Lee, Gutell, 2012).

В отличие от типичных микроспоридий, у *C. typographyi* имеются шпильки V7 и V8 в 3'-области 5,8S рРНК, а размер и структура ITS2 близки к типичным. Из спектра предсказанных структур ITS2, близких по свободной энергии образования, можно подобрать структуру из трех шпилек, из них вторая (по порядку и по длине) имеет внутреннюю U-U-петлю, как положено

канонической шпильке II (разные версии см. на рис. 7 и у Корсаро и соавт. (Corsaro et al., 2019, fig. 5)). Шпилька IV отсутствует, так же как, по-видимому, у *Paramicrosporidium*. Отсутствие шпильки IV не мешает процессингу ITS2 у дрожжей *S. cerevisiae* (Coleman, 2015). Для верификации моделей вторичных структур ITS2 “криптомикот” необходимы сведения о близких видах и компенсатор-

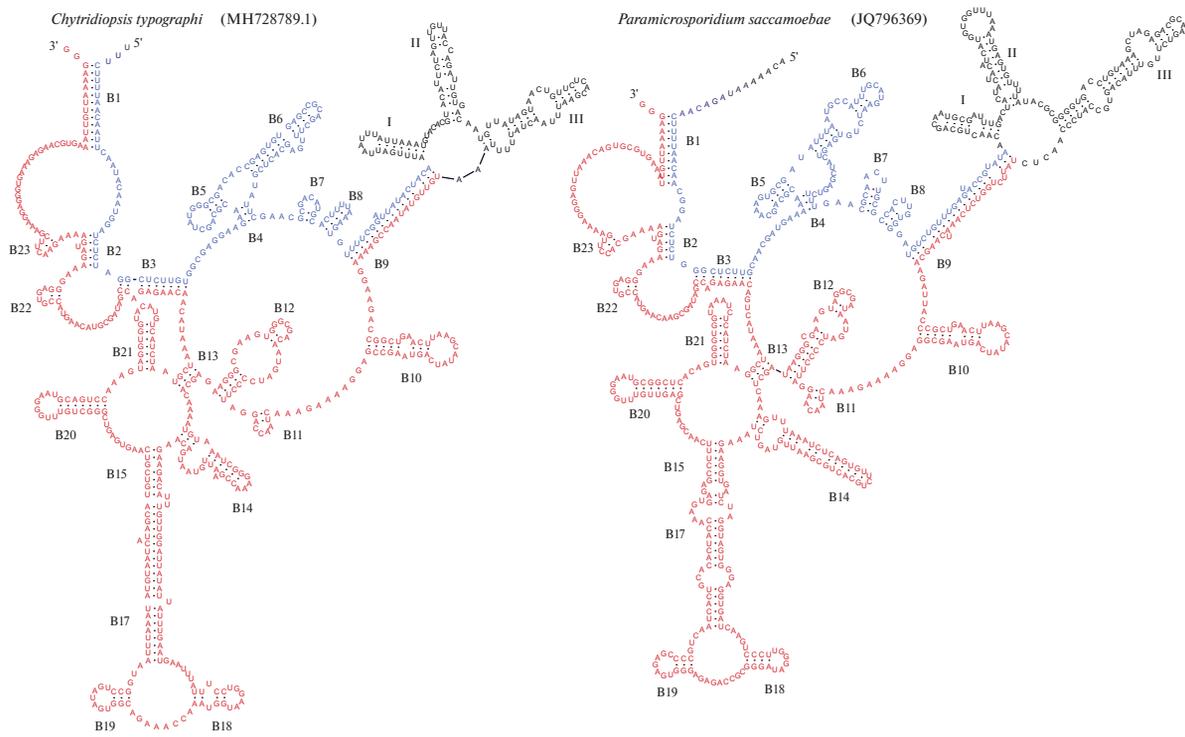


Рис. 7. Фрагмент пре-рРНК (5,8S–ITS2–В-домен 28S рРНК) двух видов “криптомикот”. Предсказанные шпильки I, II, III соответствуют спейсеру (ITS2).

ных заменах в ITS2. В целом можно предполагать у *C. typographi* близкую к типичной структуре ITS2, процессинг и вследствие этого отдельные 5,8S и 28S рРНК. Плезиоморфии *C. typographi* в 18S рРНК, 5,8S рРНК и ITS2 не отвергают гипотезу о сестринских отношениях с микроспоридиями *sensu stricto*, для обоснования которой необходимы свидетельства (синапоморфии), которые пока не предъявлены.

Не обнаружив в структуре рРНК на уровне петель и спиралей синапоморфий *C. typographi* с типичными микроспоридиями, мы отмечаем многочисленные аутопоморфии: делеции в областях спиралей 23, 24, 27, 28, 29 в 18S рРНК, частично указанные раньше (Corsaro et al., 2019). Часть из них затрагивает одну ветвь спирали (23, 24) при сохранении типичного размера и нуклеотидной последовательности другой ветви. Такие нарушения желательно подтвердить независимым исследованием других представителей Chytridiopsida. Помимо этого, в первичной структуре рРНК *C. typographi* фиксировано множество нуклеотидных замен, приводящих к тому, что ветвь *C. typographi* на дереве рРНК микроспоридий одна из длиннейших: следующая по длине после ветвей микроспоридий *sensu stricto*. В объединении длинных ветвей всегда можно подозревать артефакт притяжения длинных ветвей (Felsenstein, 1978; Hendy, Penny, 1989), и нужны веские основания, чтобы исключить такую возможность

в отношении *C. typographi* и микроспоридий *sensu stricto*. Мы не смогли добиться схождения цепей и стабильной топологии дерева рРНК микроспоридий. Только часть элементов дерева обнаруживала стабильную поддержку, и объединение *C. typographi* с типичными микроспоридиями не входило в их число. В отдельных цепях (МСМС) и даже отдельных целых запусках при построении байесового дерева 18S рРНК мы наблюдали включение *C. typographi* в кладу, ранее обозначенную номером X (Lazarus, James, 2015). Аналогичные результаты получены нами при анализе последовательностей гена 28S рРНК. В эту же группу X входит *Mitosporidium daphniae* и *Morellospora saccaeobae* – другие “криптомикоты” с неподвижными спорами с полярной трубкой и без жгутиковых зооспор в жизненном цикле. Включения *C. typographi* в другие группы с неподвижными спорами – III (*Paramicrosporidium*) и *Nucleophaga* spp. – мы не наблюдали. Таким образом, мы не нашли подтверждения сестринских отношений *C. typographi* и типичных микроспоридий и считаем этот вопрос подлежащим дальнейшему исследованию. Обостряется также вопрос о месте на филогенетическом дереве других родов (*Intexta*, *Nolleria*), относимых в настоящее время к Chytridiopsida, но пока не изученных молекулярно-генетическими методами.

Вид *Chytridiopsis typographi* традиционно включали в состав микроспоридий, но филогенетически

он входит в одну из клад грады “криптотомикот”, иллюстрируя проблематичность разграничения на уровне морфологических и ультраструктурных признаков микроспоридий *sensu stricto* и “криптотомикот”.

Проблема ВАQA065 (GenBank AF372825). В одной из первых работ по меташтрихкодированию (Dawson, Pace, 2002) была амплифицирована последовательность ВАQA065 из ДНК, выделенной из донного осадка мелководной солоноватоводной лагуны (Беркли, США). Согласно доступной на то время технике построения деревьев, ВАQA065 на сконструированном дереве оказалась между эукариотической “кроной” и длинными ветвями микроспоридий, диплоноад и трихомонад (“Archezoa”). За прошедшие 19 лет 5'-конец ВАQA065 верифицирован двумя независимыми находками похожего последовательности: в глубоких слоях прибрежного осадка Северного моря и в содовом озере в Индии (фрагмент DGGE band 280NS36E, GenBank AM072563 (Wilms et al., 2006) и CL-10, GenBank JQ480022 (Antony et al., 2013)); 3'-конец к настоящему времени не верифицирован, что согласуется с редкостью в библиотеках ампликонов генов рРНК, не идентифицированных до типа (царства) (Kim et al., 2016) (и, наверное, редкостью в природе несущих их клеток). В более поздних работах клада ВАQA065 представлялась сестринской типичным микроспоридиям (Mikhailov et al., 2017, fig. S1), более близкой, чем *Chytridiopsis typographi* (Corsaro et al., 2019, 2020; Nasonova et al., 2021). В отличие от *C. typographi*, рРНК малой субчастицы ВАQA065 имеет размер, близкий к “прокариотическому”, с мозаикой предковых признаков (не свойственных типичным микроспоридиям) и признаков типичных микроспоридий. К первым относится сохранение двух длинных шпилек (17 и 18) в области V3 и шпильки 46 в области V8. Общие с типичными микроспоридиями признаки – резко уменьшенные области V2, V4, V7 (рис. 8). Область V4 сокращена примерно вдвое по сравнению с типичной для эукариот. При отсутствии сходных последовательностей с компенсаторными заменами, нам не удалось восстановить такие предсказанные элементы области V4, как псевдоузлы (Wuys et al., 2000). Однако большое число альтернативных вариантов укладки свидетельствует в пользу того, что предсказанная для области V4 молекулярная динамика (Wuys et al., 2000) сохраняется в каком-то виде у ВАQA065. Например, “слабые” пары AU и GU составляют 50% на неоднозначно укладываемом участке спирали (рис. 8, варианты 1 и 2), тогда как на общем участке на “слабые” пары приходится 30%, а 70% – на “сильные” GC пары. Не исключено взаимодействие V2–V4, так как между ними имеется протяженный участок с частичной комплементарностью.

По первичной структуре консервативного участка в основании спирали 49 клон ВАQA065 похож не на *Opisthokonta* (Cavalier-Smith, Chao, 2003; Алешин и др., 2007), а на эугрегариин сем. Gregarinidae (рис. 9). Кроме Gregarinidae, такой же мотив имеется у представителя другого семейства эугрегариин, *Ascogregarina taiwanensis* (Actinosephalidae). Другие виды актиноцефалид не похожи на Gregarinidae. Этот пример показывает, что гомоплазия по рассматриваемой области – это явление хотя и редкое, но возможное. Таким образом, ВАQA065 сочетает альтернативные сигналы: “микроспоридий” (в виде общей апоморфной архитектуры рРНК) и “эугрегариин сем. Gregarinidae” (в виде короткого специфического мотива). В таксономических наборах без эугрегариин программы построения деревьев ставят ВАQA065 ближайшей к типичным микроспоридиям ветвью на сконструированных деревьях (Mikhailov et al., 2017; Corsaro et al., 2019, 2020; Nasonova et al., 2021). В присутствии Gregarinidae в независимых цепях ВАQA065 занимает альтернативные положения. Из шести независимых запусков (из четырех Марковских цепей Монте-Карло каждый), в двух запусках клада ВАQA065 группировалась с типичными микроспоридиями (апостериорная вероятность 0.8 и 0.94), а в четырех – с эугрегариинами сем. Gregarinidae (апостериорная вероятность от 0.91 до 1.0). Естественно, статистика независимых запусков не имеет значения для выбора истинного дерева, но она указывает на конфликт сигналов и ошибочную реконструкцию по крайней мере в некоторых запусках. В отсутствие ВАQA065 родственные короткие последовательности CL-10 и DGGE band 280NS36E, лишённые проблемного 3'-конца, занимают место сестринской группы типичных микроспоридий с апостериорной вероятностью, близкой к 1.0 (дерево не показано), и не группируются с эугрегариинами. Несмотря на прогресс в технике филогенетического анализа рРНК, положение ВАQA065 остается неопределённым. Нельзя исключить технической причины противоречий – химерности ВАQA065 (Verney et al., 2004). Как отмечено выше, проблемный 3'-конец ВАQA065 пока не верифицирован. Другая возможная причина – какой-то из вариантов молекулярной гомоплазии. Согласно одному варианту, эволюционно ранние микроспоридии *sensu stricto* – ВАQA065 – наряду с множеством других аутапоморфий изменили консервативный мотив в спирали 49. Этот вариант согласуется с положением на дереве CL-10 и DGGE band 280NS36E в отсутствие ВАQA065 вблизи микроспоридий *s. s.* и поднимает вопрос о причине эволюционной консервативности небольшого элемента в масштабе всех *Opisthokonta* и обстоятельствах прекращения этого состояния у отдельных видов (ВАQA065). Согласно другому варианту, сходные сокращения тех же самых ва-

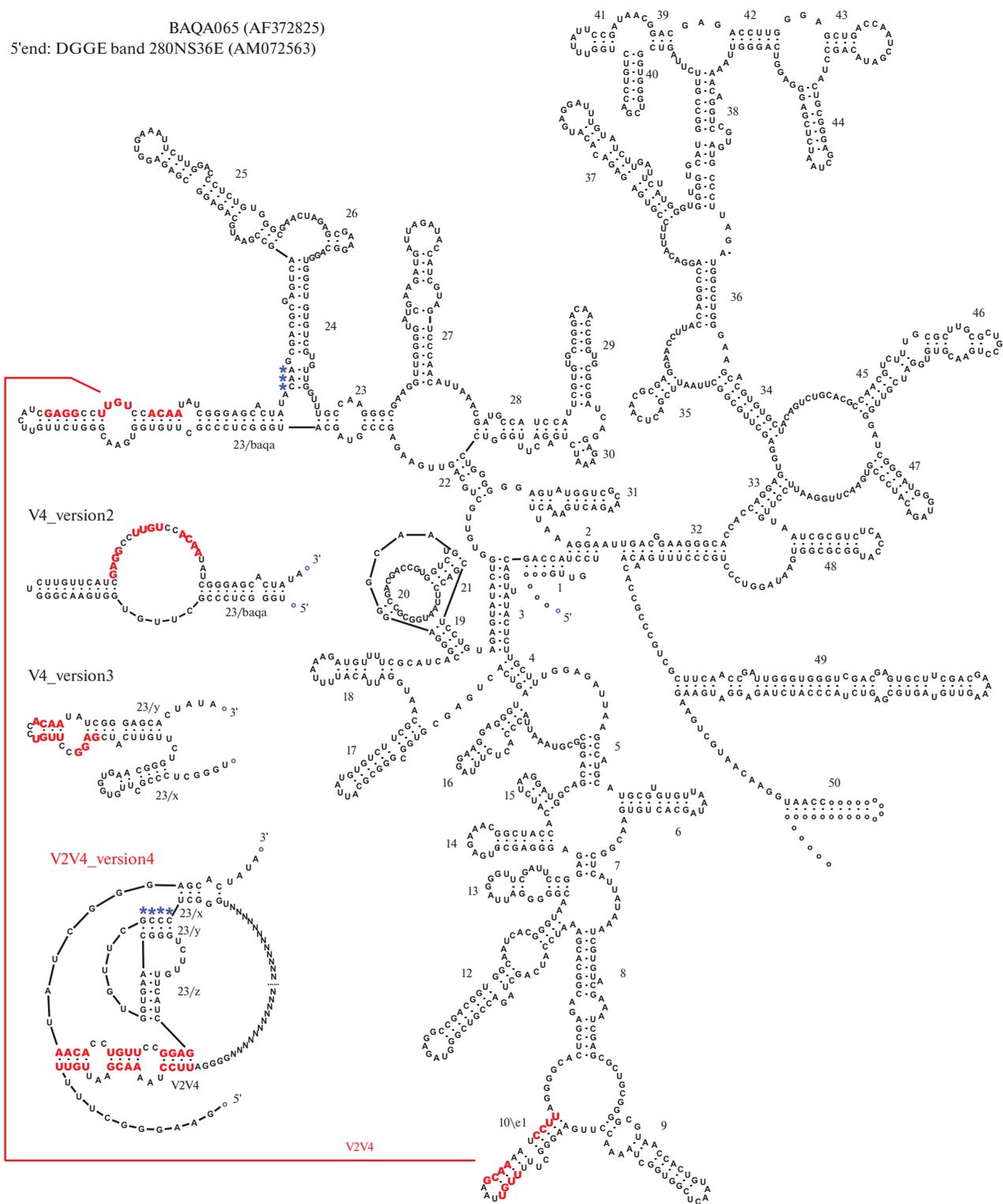


Рис. 8. Предсказанная структура рРНК малой субчастицы клона BAQA065. Отсутствующий 5'-конец дополнен за счет клона DGGE band 280NS36E, таким образом, спирали 2–6 гибридные. Вероятная зона контакта V2–V4 выделена шрифтом и соединена линиями, а также дублирована на врезке. * – пары, предсказанные из ковариации, но не подтвержденные структурами модельных видов (Lee, Gutell, 2012).

<i>Colpodella edax</i> (AY234843)	CCGTCGCTCCTACCGATT . . . AGAGGAAGGAGAAGT
<i>Adelina dimidiata</i> (DQ096835)	CCGTCGCTCCTACCGATT . . . AGAGGAAGGAGAAGT
<i>Cryptosporidium serpentis</i> (AF151376)	CCGTCGCTCCTACCGATT . . . AGAGGAAGGAGAAGT
<i>Stylocephalus giganteus</i> (FJ459761)	CCGTCGCTCCTACCGATT . . . AGAGGAAGGAGAAGT
<i>Ascogregarina taiwanensis</i> (EF666482)	CCGTCGCTTCAATCGACT . . . GAAGAATGAAAAAGT
<i>Gregarina niphandrodes</i> (AF129882)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Blabericola migrator</i> (FJ459754)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Amoebogregarina taeniopoda</i> (MK181531)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Gregarina ormierei</i> (KJ736741)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Enterocystis dorypterygis</i> (KY697695)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
BAQA065 (AF372825)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
RL107-1 (FN546176)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Metchnikovella dogieli</i>	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Amphiamblys</i> sp. WSBS2006 (KX214672)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Amphiacantha</i> sp. (KX214676)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Nematocida parisii</i> (GL501349)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Ovavesicula popilliae</i> (EF564602)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Antonospora locustae</i> (AY376351)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Hamiltosporidium magnivora</i> (AY649786)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Enterocytozoon bieneusi</i> (AF023245)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Vairimorpha necatrix</i> (DQ996241)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Chytridiopsis typographi</i> (MH728789.1)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Nucleophaga amoebae</i> (JQ288099)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Paramicrosporidium vannellae</i> (JQ796368)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Mitosporidium daphniae</i> (JMKJ01000175)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Rozella allomycis</i> (AY635838)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Cladochytrium replicatum</i> (AY546683)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Allomyces arbuscula</i> (AY552524)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Mucor hiemalis</i> (FJ605511)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (J01353)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Nuclearia simplex</i> (AF349566)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Monosiga brevicollis</i> (AF100940)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT
<i>Homo sapiens</i> (KY962518)	CCGTCGCTTCAACCGATT . . . AGAGGATGAAGAAGT

Рис. 9. Фрагмент выравнивания гена рНК малой субчастицы рибосом Opisthokonta (включая микроспоридий), споровиков (включая эугрегарин) и последовательностей BAQA065 и RL107-1. Специфическое для Opisthokonta состояние дано на сером фоне, специфическое для Gregarinidae – на черном фоне. Многоточие символизирует пропущенные нуклеотиды.

риабельных областей рРНК (V2, V4, V7) произошли у филогенетически неродственных эукариот: Holomycota (типичные микроспоридии) и Gregarinidae (BAQA065); и тут поднимается вопрос о функциональных особенностях рибосом без этих элементов. Необходимо отметить, что сильное сокращение областей V2, V4, V7, а нередко также V3 и V9, свойственно не только микроспоридиям, но и неродственным паразитическим видам: дипломонадам, парабазалиям, асетоспоридиям р. *Mikrocytos*, грибам р. *Neozygites* (рис. 10), а в рРНК некоторых других паразитических видов (в роде архигрегариин *Selenidium*, роде нематод *Pelodera*)

эти области слегка сокращены. У наиболее специализированных паразитов – митохондрий – рРНК сокращена максимально – у многоклеточных животных, кинетопластид, споровиков в 2–3 раза относительно микроспоридий. Рибосомы с такими рРНК способны к синтезу белка, но разнообразие мРНК, которые им приходится транслировать, в тысячи раз меньше, чем разнообразие мРНК в цитоплазме.

RL107-1 (GenBank: FN546176). Если не учитывать кладу BAQA065, то наиболее близкий родственник типичных микроспоридий – организм RL107-1 (рис. 1). Его ДНК добыта из сильно за-

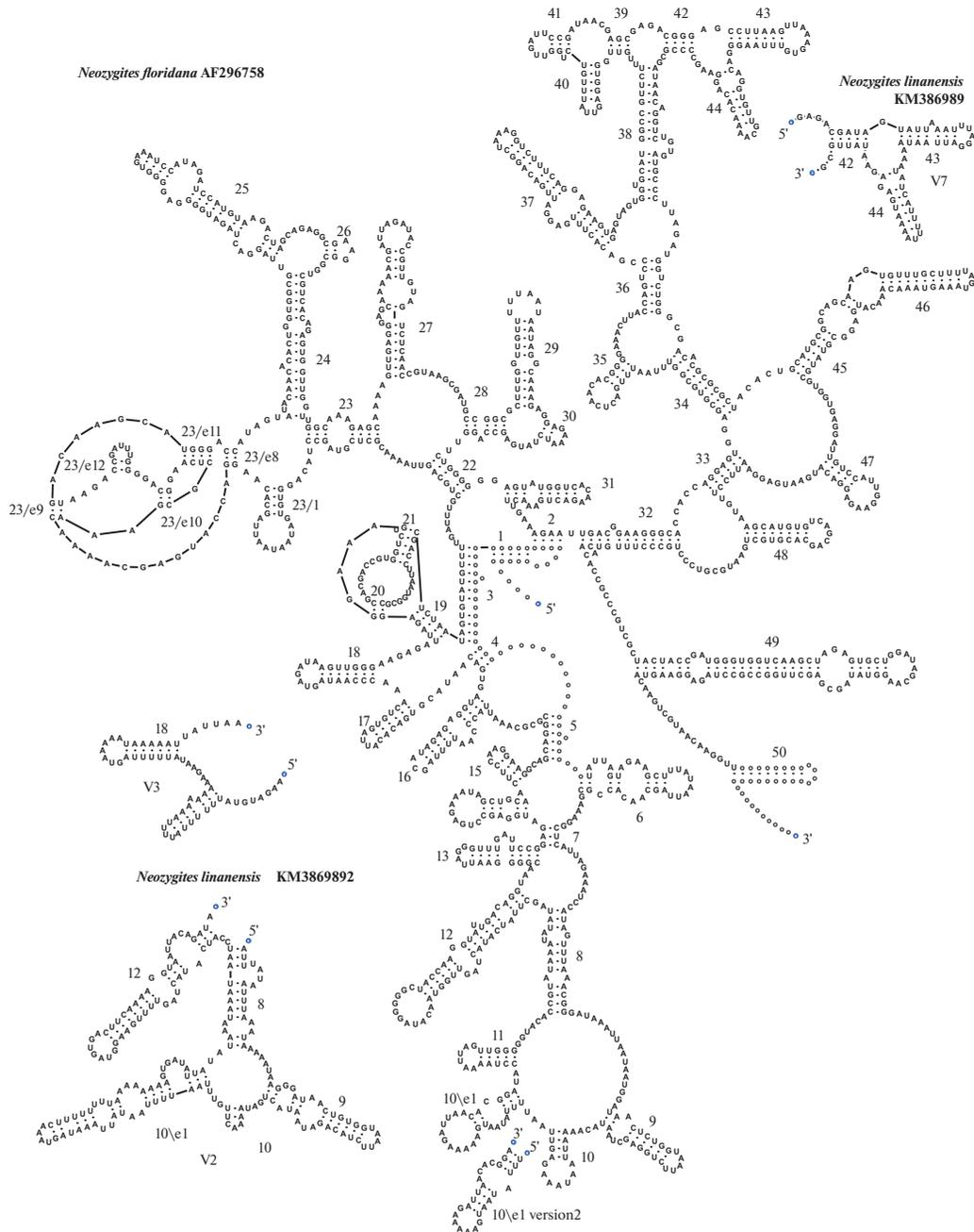


Рис. 10. Предсказанная структура рРНК малой субчастицы *Neozygites*. Паразитические грибы Neozygitomycetes (Entomorphothomycotina) не родственны микроспоридиям (White et al., 2006), но у тех и других происходит сходное (хотя и не идентичное) сокращение варибельных областей рРНК (Freimoser et al., 2000).

кисленной воды затопленного угольного карьера в Германии с очень бедным эукариотическим населением (Huss, Bauer, 2011). По размеру и другим признакам рРНК малой субчастицы рибосом RL107-1 оказывается промежуточной между типичными эукариотическими 18S рРНК и рРНК микроспоридий “прокариотического” типа. Спирали 46 и 17 имеются (последняя укороченная). Спираль 43 укороченная, в области V4 полностью утрачена спираль 23/e4–23/e7, а спираль 23/1 со-

крашена до 4 п. н. Несмотря на сокращение областей V2 и V4, возможность контакта между ними за счет участка комплементарности РНК у RL107-1, в отличие от типичных микроспоридий, сохраняется (рис. 11). Такой контакт, скорее всего, реализуется не на постоянной основе, а как один из вариантов внутримолекулярных перестроек рРНК (Wuyts et al., 2000), так же как и у других эукариот. Таким образом, RL107-1 ближе и филогенетиче-

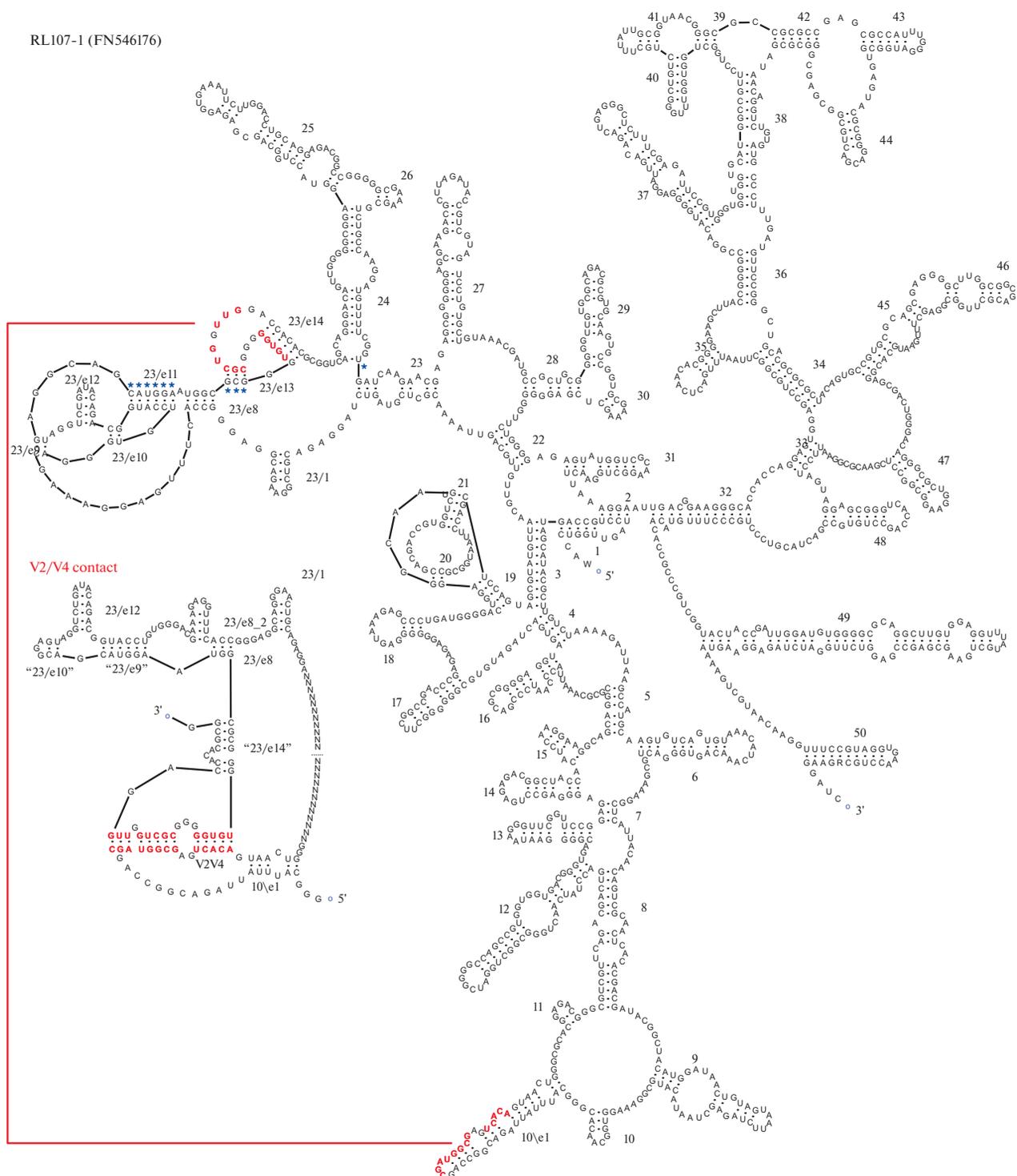


Рис. 11. Предсказанная структура рРНК малой субчастицы клона RL107-1. Вероятная зона контакта V2–V4 выделена шрифтом и соединена линиями, а также дублирована на врезке. * – пары, предсказанные из ковариации, но не подтвержденные структурами модельных видов (Lee, Gutell, 2012).

ски, и по структурным признакам рРНК к типичным микроспоридиям, чем *Chytridiopsis typographyi*.

Не имеется никаких сведений о строении и образе жизни RL107-1, а также о том, получена их ДНК из вегетирующих в кислотном озере или по-

коящихся (занесенных с берега) клеток. Неизвестно, происходит последовательность RL107-1 от неопisanного организма или принадлежит какому-то известному виду примитивных микроспоридий, для которого еще не определена нук-

леотидная последовательность рДНК. В библиотеках из других природных субстратов не найдено рДНК, похожих на RL107-1.

Другие вероятные родственники типичных микроспориций. Реконструкция филогенетического дерева микроспориций *sensu lato* находится на самой начальной стадии. Эта группа сестринская грибам, а значит, по возрасту столь же древняя, как царство грибов, и столь же, если не более, дифференцированная на уровне первичных структур. По гетерогенности скоростей молекулярной эволюции она охватывает, кажется, весь известный для эукариотической жизни диапазон, поскольку включает наиболее быстро эволюционирующих типичных микроспориций, рРНК которых столь видоизменена, что раньше ее выводили за пределы эукариотического типа (Vossbrinck et al., 1987). Однозначное выравнивание некоторых участков рРНК невозможно. Таксономическая выборка микроспориций крайне разрежена, что приводит к недооценке генетических расстояний и дополнительно усложняет задачу реконструкции. Для многих групп микроспориций высокого ранга известны только фрагменты генов рРНК – другие маркеры пока не доступны. Вряд ли генов рРНК будет достаточно для достоверной реконструкции всех узлов филогенетического дерева микроспориций, особенно при таких осложняющих обстоятельствах.

В составе “криптомикот” найдено до двух десятков клад (Lazarus, James, 2015; Chouari et al., 2017; Matsubayashi et al., 2017; Tedersoo et al., 2017), объединение которых в более крупные, за немногими исключениями, недостоверно. В частности, не известно, какие клады ближе к микроспорициям *sensu stricto*. На сконструированных деревьях, как правило, такими оказываются, в разных комбинациях, наиболее длинные ветви: *Chytridiopsis typographi*, *Nucleophaga* spp., *Paramicrosporidium* spp., LKM118, LKM15, MPE1-21, клада VIII, клон Banisveld P2-3m12, GS03 (клон GL48063.220.S131) и др. (Corsaro et al., 2016, 2019, 2020; Grossart et al., 2016; Stentiford et al., 2017; Tedersoo et al., 2017; Bass et al., 2018). На сконструированных нами деревьях большинство ранее намеченных кандидатов заняли близкое к типичным микроспорициям положение в отдельных запусках программы MrBayes. Однако в других, независимых запусках любой из кандидатов оказывался далеко от типичных микроспориций, причем альтернативные положения получали высокие значения апостериорной вероятности в конкретных запусках. Таким образом, в наших реконструкциях филогении по генам рРНК не была достигнута сходимость топологий, несмотря на большое число генераций МСМС (более 10 млн). Мы использовали большое число категорий (10, 16) и наборы

из более чем 150 операциональных таксономических единиц для учета гетерогенности сайтов рРНК по скорости эволюции. Большое число категорий создает опасность так называемой перепараметризации и плохой сходимости. Однако использование малого числа категорий приводило к низкому разрешению (низким значениям апостериорных вероятностей многих клад). Варьирование параметра “*temp*” (в диапазоне от 0.02 до 0.5) также не позволило достичь сходимости. По-видимому, для схождения топологии дерева 18S рРНК требуются многие десятки миллионов генераций МСМС.

В некоторых работах по меташтрихкодированию получены большие массивы данных (Mueller et al., 2014; Taylor et al., 2014; Timling et al., 2014) или единичные последовательности (Smith et al., 2007; Taylor et al., 2007, 2008; Eichorst, Kuske, 2012; McGuire et al., 2013; Lipson et al., 2014; Wurzbacher et al., 2014; Page, Flannery, 2018) ITS и фрагментов (менее 1 т. п. н.) гена 28S рРНК “криptomикот”. В байесовом дереве выбранных из них представителей (рис. 12) расположение крупных групп “криptomикот” во многом совпадает с таковым на дереве 18S рРНК, о чем можно судить по ампликонам, перекрывающим оба гена (Weber et al., 2009; Tedersoo et al., 2017; Jamy et al., 2019), или по длинным контигам из метагеномных сборок (Mitchell et al., 2018; Sanchez, Cao, 2019; Cotto et al., 2020; Sharrar et al., 2020; Thornton et al., 2020). При построении дерева 28S рРНК возникают проблемы со сходимостью топологии, подобно тому как и с 18S рРНК. Некоторые особенно длинные ветви не находят правильного положения. Например, одна из ранних клад Holomycota, GS01 (Tedersoo et al., 2017), на дереве 28S рРНК ответвляется вблизи корня типичных микроспориций (рис. 12) вместо того, чтобы группироваться с VCGS2, как наблюдается в некоторых наших запусках и на опубликованных деревьях (Wijayawardene et al., 2020). Положение GS01 можно отнести за счет артефакта притяжения длинных ветвей, который проявляется на деревьях 18S рРНК и 28S рРНК, однако некоторые другие различия между деревьями 18S рРНК и 28S рРНК, возможно, обусловлены дополнительным филогенетическим сигналом, позволяющим лучше разрешить некоторые узлы по 18S рРНК, а другие – по 28S рРНК.

Адаптация методик высокопроизводительного секвенирования для получения протяженных контигов и сборка метагеномов открывают новые перспективы меташтрихкодирования и филогенетического анализа благодаря более полному учету разнообразия и привлечению связанных данных по генам 18S рРНК и 28S рРНК без выделения лабораторных культур. В единичном исследовании с применением высокопроизводительно-

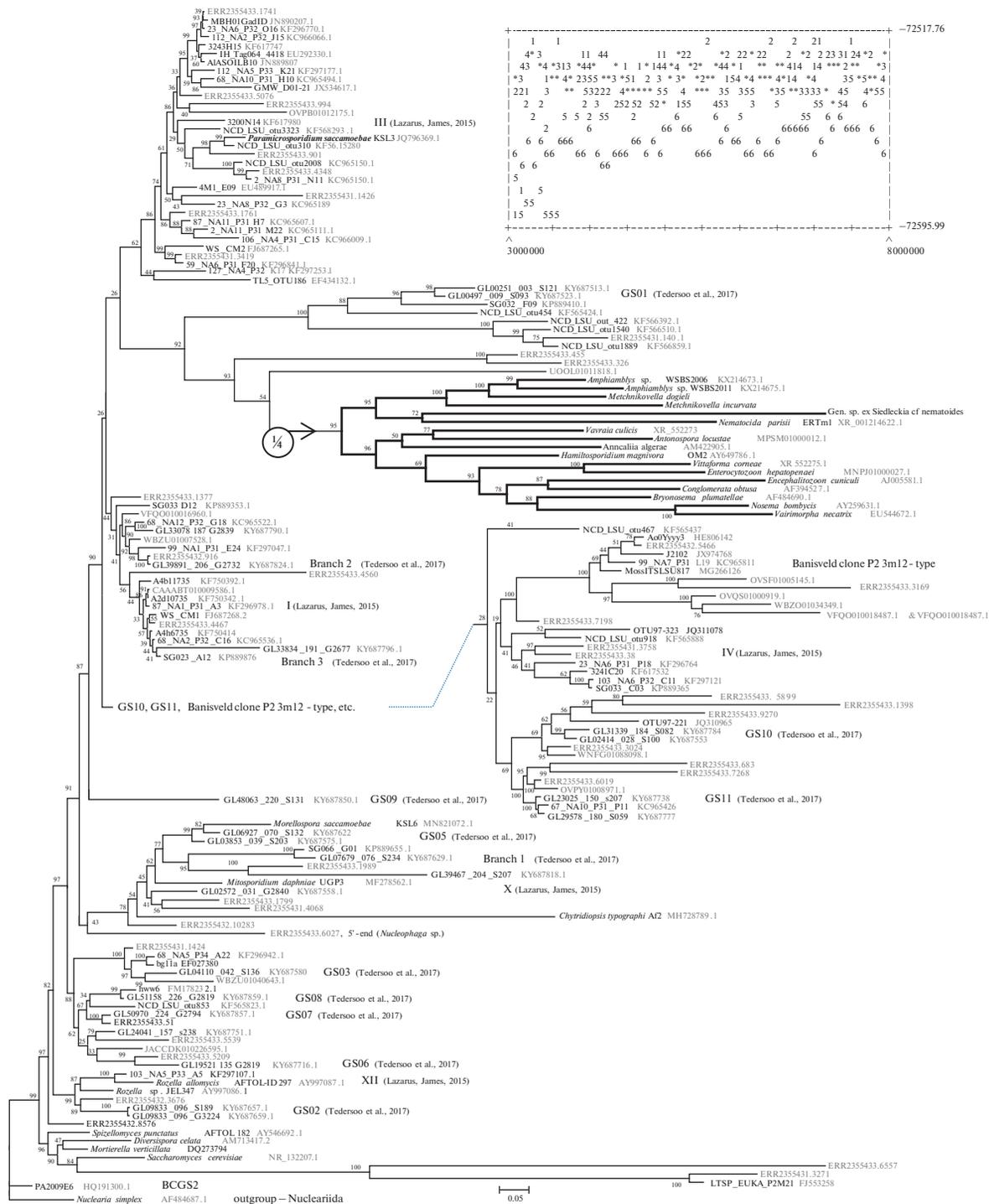


Рис. 12. Байесово дерево конкатенированных 5,8S и 28S рНК микроспоридий, включая “криптомикот” (консенсус из четырех лучших запусков, $nst = 6$, $ngammacat = 10$, $rates = invgamma$, $temp = 0.1$, $ngen = 800000$). На диаграмме расчленения значения логарифма правдоподобия в шести лучших запусках (из 12). Апостериорные вероятности выражены в процентах. Длины ветвей в поддереве типичных микроспоридий сокращены в 4 раза (широкие линии).

го секвенирования (Jamy et al., 2019) обнаружены десятки операциональных таксономических единиц “криптомикот”, представляющих большинство известных до того по рДНК клад, но также и

некоторые новые, не встреченные прежде. Часть новых клад представлена на дереве 18S рНК особо длинными ветвями, из которых ERR2355431.3271 и ERR2355433.6557 ближе к микроспоридиям *sen-*

su stricto, чем *Chytridiopsis typographi* и все другие ранее намеченные кандидаты (по результатам по крайней мере некоторых запусков программы MrBayes), но дальше, чем RL107-1 (рис. 1). Для одной из них, ERR2355431.3271, депонированы более ранние находки (номера в GenBank FJ553258.1, FJ553594.1) – внутренний транскрибируемый спейсер с небольшими флангами генов (Hartmann et al., 2009). По общим признакам рДНК (размер областей V2, V3, V4, V7 18S рРНК, шпильки В7 и В8 в 3'-области 5,8S рРНК, ITS2) эти организмы сохраняют плезиоморфное состояние. Они не разделяют аутапоморфий *C. typographi* в организации рДНК и не группируются с этим видом на дереве. Другой кандидат, представленный контигом UOOL01011818 из метабенома активного ила (Mitchell et al., 2018), проявляет большее тяготение к типичным микроспоридиям на дереве большей, нежели малой субчастицы (рис. 1, 12). Возможно, некоторые из нынешних кандидатов в самом деле близкие родственники микроспоридий *sensu stricto*, но необходима более придирчивая проверка этой гипотезы для каждого кандидата. Объединение данных по двум генам рРНК перспективно для филогенетики, но требует проверки депонированных контигов. Например, контиг ERR2355433.6027 на участке, соответствующем 18S рРНК, на 95% идентичен *Nucleophaga terricolae* КТt-1, и на 94% идентичен *N. amoebae* КТq-2, и доставляет, по-видимому, сведения о 5'-конце гена 28S рРНК *Nucleophaga* sp. (рис. 12). Однако примерно 1000 нуклеотидов гена 28S рРНК на 3'-конце контига происходят скорее всего от одного из видов тихоходок, с генами которых они сходны. Успешное выявление подобных химер ограничено недостатком сведений о нуклеотидных последовательностях гена 28S рРНК.

Проблема скоростей молекулярной эволюции. Рибосомы типичных микроспоридий сильно отличаются от рибосом других эукариот. Значительные отличия от “типичной” рРНК в первичной, а иногда и вторичной структуре обнаружены и в некоторых других таксонах (у многих или у всех исследованных представителей). Это экскаваты (*Giardia lamblia*, *Trichomonas vaginalis* и многие другие), асцитоспоридии (*Mikrocytos mackini*, *Marteilia* и др.), фораминиферы, некоторые Амёбозоа, гемоспоридии и некоторые другие споровики (*Plasmodium*, *Trichotokara*, *Trollidium*, *Cephaloidorphoidea* и др.), некоторые животные (микоспоридии, дициемиды, ортонектиды, веерокрылые насекомые, многие нематоды, из которых выделяются роды *Pelodera*, *Riouxgolvania*) и др. (Leipe et al., 1993; Smothers et al., 1994; Pawlowski et al., 1994, 1996; Chalwatzis et al., 1995; Fitch et al., 1995; Katiyar et al., 1995; Whiting et al., 1997;

Carnegie et al., 2003; Rueckert et al., 2011, 2013; Hasegawa et al., 2012; Wakeman, 2020). Не все, но многие из них – паразиты. Возникает вопрос, почему в этих группах сильно изменены рибосомы. Хотя рибосомы выполняют и некоторые специфические функции, все же синтез белка – их главная и универсальная функция, и трудно представить, чтобы естественный отбор сильно модифицировал рибосомы микроспоридий или других организмов для выполнения какой-то особой функции. Предположение об адаптивности массовых отличий в рРНК не вписывается в базовую концепцию о преобладающей роли нейтральных событий в молекулярной эволюции (Кимура, 1985). У видов с сильно измененными рРНК обычно сильно изменены и другие универсальные молекулярные машины – эволюционно консервативные структурные белки и ферменты (элементы цитоскелета, аппарата репликации ДНК, ферменты метаболизма и др.). Такая картина свидетельствует о повышенной скорости молекулярной эволюции не только рДНК, а большей части генома в некоторых группах родственных видов, и должна быть общей причина, ускоряющая их молекулярную эволюцию на протяжении длительного времени, которую хотелось бы узнать.

Внутриклеточные паразиты живут “на всем готовом”, забирают многие метаболиты у хозяина вместо самостоятельного их биосинтеза. Гены, ответственные за синтез этих веществ, освобождаются от отбора, под действием мутаций изменяются и в конце полностью утрачиваются из генома. Но это обстоятельство как будто не должно прямо сказаться на функции рибосом и скорость их эволюции. На паразитов действуют, однако, и другие общие факторы, например, снижающие эффективную численность (N_e): низкая численность, ограниченная численностью хозяина; периодические резкие спады численности согласно модели Лотки–Вольтерры; ограничение панмиксии из-за родственных скрещиваний в субпопуляциях в теле одного хозяина; распространенность бесполого размножения – адаптация паразита к низкой интенсивности инвазии. Нейтральный дрейф должен идти с одинаковой скоростью в малых и больших популяциях: быстрота фиксации в одних компенсируется пропорционально большим числом мутаций в других (Кимура, 1985). Но слабавредные (подверженные отбору) в больших популяциях мутации при сниженной эффективной численности (для коэффициента отбора s при достижении порога $|s| \leq 1/(2N_e)$) становятся эффективно нейтральными, т.е. фиксируются с динамикой нейтральных (Кимура, 1985). Они увеличивают пул “нейтральных” мутаций в малых популяциях. Снижение частоты полового

процесса за счет бесполого размножения у паразитов замедляет комбинирование, в том числе появление нескольких слабавредных мутаций у одного индивида, а значит, замедляет “очищающий” отбор против слабавредных мутаций и дополнительно повышает вероятность их фиксации. Микроспоридии представляются живым примером реализации “храповика Меллера”, постепенно и необратимо разрушающего их консервативные молекулярные структуры, в том числе рибосомы (Melnikov et al., 2018a), причем снижение эффективности трансляционного аппарата микроспоридий подтверждается экспериментально обнаруженным снижением точности трансляции (Melnikov et al., 2018b). Для исправления дефектных белков нужны дополнительные затраты на синтез новых молекул взамен или затраты АТФ на работу шаперонов. Хотя паразит черпает ресурсы из хозяина, кажется, что вместо того, чтобы исправлять за их счет ошибки трансляции, он мог бы направить эти ресурсы на приготовление нескольких дополнительных спор и повысить таким образом число потомков, т.е. повысить свою приспособленность и выиграть (при определенном соотношении s и N_e) у конкурентов с менее точным аппаратом трансляции.

Если причина высокой скорости эволюции микроспоридий в паразитизме, то поднимаются два других вопроса. Все известные микроспоридии *sensu lato* – внутриклеточные паразиты. Хотя бесспорная реконструкция образа жизни их ближайшего общего предка пока не выполнена, наиболее экономной (на основе имеющихся данных) кажется гипотеза, что он был внутриклеточным паразитом (Алешин и др., 2015). Но тогда почему за одно и то же время эволюции от общего предка “храповик Меллера” почти “разрушил” рибосомы типичных микроспоридий и мало повлиял на рибосомы *Rozella* и других “криптомикот”? На этот вопрос пока нет ответа. Второй вопрос: почему типичные микроспоридии с “оптимизированными”, почти разрушенными рибосомами находятся в состоянии биологического прогресса?

Сверхмалые и сверхдлинные гены рРНК. Типичные микроспоридии – обладатели сверхмалых рРНК. Среди дальних родственников микроспоридий – настоящих грибов – сильно укороченные и крайне дивергентные рРНК известны только у похожих на микроспоридий по образу жизни видов *Neozygites* (Entomophthoromycotina: Neozygitomycetes) – паразитов мелких членистоногих (рис. 10) (Freimoser et al., 2000; Delalibera et al., 2004; Zhou et al., 2017). Зато многие лишайниковые и паразитические грибы обладают сверхдлинными генами рРНК (DePriest, Been, 1992; Gargas et al., 1995). Удлинение генов происходит за счет самосплайсирующихся интронов

группы I. Для интронов группы I достоверно не известно о кодируемых ими микроРНК или других “полезных” для хозяина генах или регуляторных элементах, как это свойственно сплайсосомным интронам в мРНК (обзор: Chorev, Carmel, 2012). Интроны группы I внедряются только в консервативные участки рДНК, удаляются при созревании рРНК, в рибосому не попадают, и первичные структуры таких рРНК не отличаются чрезмерной скоростью эволюции. Интроны группы I встречаются у разных эукариот (Rogers, 2019), в том числе и свободноживущих, но интенсивность и экстенсивность заселения ими генов рРНК не одинаковая. Например, они обычны в генах рРНК лишайниковых водорослей. В отличие от лишайниковых грибов, многие водоросли живут как в лишайниковой ассоциации, так и в свободном состоянии. Высказана гипотеза о переносе интронов – взаимном перезаражении интронами паразитов и хозяев в составе ассоциации, но она в целом не получила поддержки, так как в большинстве водорослевых интронов похожи на другие водорослевые, а грибные – на другие грибные (Bhattacharya et al., 1996, 2002; Karpov et al., 2019). На рРНК приходится 50–80% всей транскрипции в клетке млекопитающих и дрожжей (Paule, 1998; Warner, 1999; Moss, Stefanovsky, 2002); уровень синтеза рРНК влияет на физиологию клетки, скорость роста (продолжительность клеточного цикла), деление и дифференцировку (Warner, 1999; Russell, Zomerdijk, 2005; Noack Watt et al., 2016). При этом уровень синтеза рРНК, как было многократно показано, лимитируется копийностью генов рРНК (Stevenson, Schmidt, 2004; Rogers, 2019, и др.), следовательно, можно ожидать, что из того же числа генов рРНК, “нагруженных” интронами, в единицу времени получится меньше зрелой рРНК (для интронов группы I нет наблюдений, что их наличие повышает уровень экспрессии, как это неоднократно сообщалось для сплайсосомных интронов в мРНК). У отдельных видов лишайниковых и паразитических грибов на интроны группы I приходится до половины длины генов рРНК (Gargas et al., 1995; Karpov et al., 2017), и, значит, на транскрипцию интронов уходит до 20–30% от всех затрат на транскрипцию. Возникает вопрос, значимы ли эти энергетические затраты и можно ли экспансию интронов группы I списать на случайный дрейф нейтрального признака. Пусть роскошь содержания интронов группы I перекладывается на хозяина, но почему бы паразиту не избавиться от транскрипции бесполезных участков ДНК, повысив вместо этого продукцию функциональных молекул, и в конечном итоге числа спор, т.е. числа потомков, что равносильно повышению приспособленности? В дрожжевой клетке *S. cerevisiae*

около 2×10^5 рибосом. При активном росте дрожжи делятся каждые полтора часа, таким образом, синтезируется не менее 33 копий рРНК в секунду на клетку (Wagner, 1999), и эта величина заниженная, так как не учитывает распада рибосом. Принимая цену синтеза рибонуклеотидтрифосфата в 12 макроэргических связей для клетки, анаэробно сбраживающей глюкозу на минимальной среде (Wagner, 2005), получаем цену транскрипции среднего интрона группы I в $12 \times 350 \times 33 = 1.4 \times 10^5$ макроэргов в секунду на клетку, или около $1.4 \times 10^5 / 1.34 \times 10^7 = 0.01$ от общих энергетических затрат клетки дрожжей на транскрипцию (Wagner, 2005), что с точностью до порядка совпадает с оценкой, получаемой просто из соотношения длин одного интрона к пре-рРНК и вклада рРНК в общую транскрипцию. Необходимо отнести эти затраты к общим энергетическим затратам клетки. По имеющимся оценкам, затраты на синтез РНК составляют от 5 до 10% затрат на синтез белка (Wagner, 2005), а вместе на синтез РНК и белка приходится до 76.6% от общего расхода АТФ клетки (Förster et al., 2003). Таким образом, на транскрипцию одного интрона группы I расходуется около 3.8×10^{-4} от энергетических затрат клетки дрожжей. В случаях, когда скорость роста лимитируется доступной энергией (питательными веществами), это приведет к замедлению скорости роста (производства потомков) на ту же величину 3.8×10^{-4} . Для диких видов *Saccharomyces* эффективная численность N_e оценивается в 1.36×10^7 (Wagner, 2005), следовательно, для гаплоидной популяции при превышении порогового значения коэффициента отбора $|s| = 0.73 \times 10^{-7}$ признак не может быть нейтральным, и его судьба в популяции будет определяться преимущественно отбором, а не случайным дрейфом. “Цена” даже одного интрона группы I превышает пороговое значение s для дрожжей примерно на три порядка, следовательно, существование интронов в рДНК нельзя объяснить дрейфом нейтрального признака, по крайней мере для частоты более чем 0.1%. Применительно к другим видам можно ожидать иных значений коэффициента отбора s . Например, паразиты, импортирующие нуклеотиды или их предшественники из цитоплазмы хозяина, могут вместо затрат АТФ на полный синтез обходиться затратами на работу переносчиков, снизив таким образом расходы на трансляцию на порядок, а это уже способно объяснить выживание обладателя одного интрона в рРНК за счет случайности у 1% видов при том же значении N_e . И, что еще важнее, рост и размножение паразита, да и вообще любого вида, может лимитироваться не питательными веществами, а каким-то отдельным метаболитом (витамином, незаменимой

аминокислотой, незаменимой жирной кислотой и т.п.) или конкретным минеральным веществом. В таком случае пропорциональность значений s и энергозатрат на размножение нарушится. Наконец, при низкой эффективной численности (N_e) меняются пороговые значения s , что способно сделать присутствие интронов не столь невероятным даже при лимитировании размножения пищей.

В отличие от гипотезы исходного морфологического многообразия (Мамкаев, 1968), интуитивно понятно превращение деградирующих органов или макромолекул в разнообразные “останцы” из-за разрушения и модификации не существенных участков. Например, у слепых видов наблюдаются самые разные дефекты глаз. Сверхмалые и сверхбольшие гены рРНК кажутся разными вариантами закрепления путем дрейфа слабых признаков (Melnikov et al., 2018b). Однако широкое распространение модификации генов рРНК у паразитов поднимает вопрос, не скрыта ли в этих модификациях адаптивная компонента. Ориентируясь на расчеты выше, мы можем предположить, что сокращение длины рРНК у микроспориций дает им существенную экономию в транскрипции, которая с лихвой перекрывает затраты на снижение точности трансляции (тогда возникает вопрос, почему другие виды не “оптимизируют” рибосому). Паразитам обычно выгодна продукция большого числа яиц или спор. Но могут быть ситуации, когда единовременной массовой продукцией не в сезон не перекрыть убыль спор. И не всегда вероятность заражения привязана простым способом к сезону, времени года. Хозяева иногда, как 17-летние циклады, замедляют прохождение своего жизненного цикла для того, чтобы рассинхронизировать его с циклами паразитов. На примере умеренных бактериофагов известно, что лизогения может быть не менее эффективной стратегией паразита, чем продуктивная инфекция. Сверхмалые рибосомы микроспориций по причине сниженной эффективности трансляции (Melnikov et al., 2018b), а сверхбольшие гены рРНК паразитических грибов по причине избыточной нагрузки на аппарат транскрипции, вероятно, замедляют развитие паразита и растягивают продукцию спор на более длительный срок. Мы наблюдали длительное (многолетнее) сосуществование в лабораторной пробирке нитчатой желто-зеленой водоросли *Tribonema gayanum* и убивающего ее клетки паразита (паразитоида) *Sanchytrium tribonematis* с сильно интронированными генами рРНК (до 6 интронов в гене 18S рРНК, до 9 интронов в гене 28S рРНК), хотя зависимость скорости развития от числа интронов группы I не изучали. Аргументом против связи экспансии интронов группы I с па-

разитическим образом жизни можно считать присутствие интронов в генах рРНК свободноживущих видов. И хотя интроны у них встречаются не часто ($\sim 10^{-3}$ – 10^{-2} “в среднем” на вид) и число интронов редко превышает 1–2 на ген рРНК, но по крайней мере в одной группе Amoebozoa – у миксомицетов – интронов не меньше, если не больше (и по доле видов с интронированными генами, и по числу интронов на ген), чем у паразитических грибов. Трудно придумать причину, по которой бы миксомицетам требовалось конститутивно замедлять жизненный цикл. Предполагаемые способы замедления развития за счет интронов или дефектов рибосом не регулируются и не несут заметной выгоды при наличии тонких способов регуляции синтеза рРНК (Warner, 1999; Moss, Stefanovsky, 2002; Engel et al., 2013; Torreira et al., 2017; Fernández-Tornero, 2018), в том числе на отдельных стадиях роста или в рамках quorum sensing (Najmi, Schneider, 2021) и с точностью, направляющей клеточную дифференцировку в эмбриональном развитии (Noack Watt et al., 2016), регуляции биогенеза рибосом (Chaker-Margot, 2018) и регуляции работы готовых рибосом (Усачев и др., 2020), известной в том числе и у микроспоридий (Barandun et al., 2019). Наконец, длительная жизнеспособность спор может быть альтернативой или хорошим дополнением к растянутой по времени продукции спор. В метагеномах обнаруживается большое разнообразие генов рРНК “криптомикот”, но только немногие из них массовые в конкретных библиотеках. Не исключено, что разнообразные, но малочисленные виды генов рРНК происходят из покоящихся стадий, еще не погибших в ожидании своего хозяина. И все же идеальная придуманная организация не обязательно реализуется в природе. Реальное соотношение деструктивных процессов за счет “храповика Меллера” и адаптаций к паразитизму в генах рРНК микроспоридий требует дальнейшего изучения.

Мы очень мало знаем о реальной и эффективной численности микроорганизмов. Население “криптомикот” в наземных и морских биотопах, согласно меташтрихкодированию ампликонов рДНК, обильное и разнообразное (Lepère et al., 2006; Monchy et al., 2011; Nakai et al., 2012; Grossart et al., 2016; Rojas-Jimenez et al., 2017, 2019; Arroyo et al., 2018), тогда как типичные микроспоридии при использовании этой методики находятся гораздо реже. Насколько соотношение генов рРНК в библиотеках отражает реальное соотношение жизнеспособных клеток в природе и какая часть ампликонов происходит из вегетирующих клеток, спор и ДНК мертвых клеток? Вывод о низкой численности типичных микроспоридий в природе противоречит мнению об их биологическом

прогнесе, но объяснил бы стремительную деградацию их геномов за счет “храповика Меллера”. Однако такой вывод был бы преждевременным, поскольку применяемые методики меташтрихкодирования способны приводить к недоучету типичных микроспоридий из-за селекции ампликонов по размеру (отличающему рДНК типичных микроспоридий, но не “криптомикот”, от типичных эукариот), а также из-за высокого уровня отличий нуклеотидных последовательностей, снижающего эффективность отжига “универсальных” праймеров и распознавания определенных последовательностей как рДНК. Адаптация методик меташтрихкодирования для типичных микроспоридий поможет их более адекватному учету (Trzebný et al., 2020). С другой стороны, аллельный полиморфизм зависит от эффективной численности (Кимура, 1985) и может оказаться простым и хорошим средством ее измерения в эпоху активного накопления геномных данных. Такие оценки необходимы для более предметного обсуждения причин разной скорости эволюции “криптомикот” и типичных микроспоридий.

Авторы благодарны д-ру Ф.М. Фреймозеру за любезные консультации, Российскому научному фонду за финансирование исследования библиотек кДНК эугрегаринов, архигрегаринов и бластогрегаринов (грант № 18-14-00123) и Российскому фонду фундаментальных исследований за поддержку работ по прояснению разнообразия и филогении одноклеточных консументов одноклеточных (грант № 18-04-01210).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алешин В.В., Константинова А.В., Михайлов К.В., Никитин М.А., Петров Н.Б., 2007. Нужно ли много генов для филогенетического дерева? // Биохимия. Т. 72. № 12. С. 1610–1623.
- Алешин В.В., Михайлов К.В., Карпов С.А., 2015. О происхождении и ранней эволюции грибов и микроспоридий // Сборник научно-популярных статей и фотоматериалов – победителей конкурса РФФИ 2015 года. Вып. 18. М.: МОЛНЕТ. С. 215–223.
- Громов Б.В., 2000. Паразиты водорослей из группы “Монад” Ценковского родов *Aphelidium*, *Amoebaphelidium* и *Pseudaphelidium* как представители нового класса // Зоол. журн. Т. 79. № 5. С. 517–525.
- Исси И.В., 2020. Развитие микроспоридиологии в России // Вестник защиты растений. Т. 103. № 3. С. 161–176.
- Исси И.В., Воронин В.Н., 2007. Тип Microsporidia Balbiani, 1882 – Микроспоридии // Протисты: руководство по зоологии. Ч. 2 / Под ред. Алимова А.Ф. СПб.: Наука. С. 994–1045.
- Кимура М., 1985. Молекулярная эволюция: теория нейтральности. М.: Мир. 394 с.
- Мамкаев Ю.В., 1968. Сравнение морфологических различий в низших и высших группах одного филогенетического ствола // Журн. общ. биологии. Т. 29. № 1. С. 48–56.

- Семенов М.Е., 2019. Метабаркодинг и метагеномика в почвенно-экологических исследованиях: успехи, проблемы и возможности // Журн. общ. биологии. Т. 80. № 6. С. 403–417.
- Усачев К.С., Юсупов М.М., Валидов Ш.З., 2020. Гибридная – стадия функционирования рибосом // Биохимия. Т. 85. № 11. С. 1690–1700.
- Чупов В.С., 2002. Форма боковой филогенетической ветви у растений // Успехи соврем. биологии. Т. 122. № 3. С. 227–238.
- Alkema G., Nygård O., 2003. A possible tertiary rRNA interaction between expansion segments ES3 and ES6 in eukaryotic 40S ribosomal subunits // RNA. V. 9. № 1. P. 20–24.
- Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A., Zhang J., Zhang Z. et al., 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs // Nucleic Acids Res. V. 25. № 17. P. 3389–3402.
- Antony C.P., Kumaresan D., Hunger S., Drake H.L., Murrell J.C., Shouche Y.S., 2013. Microbiology of Lonar Lake and other soda lakes // ISME J. V. 7. № 3. P. 468–476.
- Arroyo A.S., López-Escardó D., Kim E., Ruiz-Trillo I., Najle S.R., 2018. Novel diversity of deeply branching Holomycota and unicellular holozoans revealed by metabarcoding in Middle Paraná River, Argentina // Front. Ecol. Evol. V. 6. Art. 99.
- Barandun J., Hunziker M., Vossbrinck C.R., Klinge S., 2019. Evolutionary compaction and adaptation visualized by the structure of the dormant microsporidian ribosome // Nat. Microbiol. V. 4. № 11. P. 1798–1804.
- Bass D., Czech L., Williams B.A.P., Berney C., Dunthorn M. et al., 2018. Clarifying the relationships between Microsporidia and Cryptomycota // J. Eukaryot. Microbiol. V. 65. № 6. P. 773–782.
- Benson D.A., Cavanaugh M., Clark K., Karsch-Mizrachi I., Lipman D.J. et al., 2013. GenBank // Nucleic Acids Res. V. 41. № D1. P. D36–D42.
- Berney C., Fahrni J., Pawlowski J., 2004. How many novel eukaryotic “kingdoms”? Pitfalls and limitations of environmental DNA surveys // BMC Biol. V. 2. Art. 13.
- Bernhart S.H., Hofacker I.L., Will S., Gruber A.R., Stadler P.F., 2008. RNAalifold: Improved consensus structure prediction for RNA alignments // BMC Bioinformatics. V. 9. Art. 474.
- Bhattacharya D., Friedl T., Damberger S., 1996. Nuclear-encoded rDNA group I introns: Origin and phylogenetic relationships of insertion site lineages in the green algae // Mol. Biol. Evol. V. 13. № 7. P. 978–989.
- Bhattacharya D., Friedl T., Helms G., 2002. Vertical evolution and intragenic spread of lichen-fungal group I introns // J. Mol. Evol. V. 55. № 1. P. 74–84.
- Borner J., Burmester T., 2017. Parasite infection of public databases: A data mining approach to identify apicomplexan contaminations in animal genome and transcriptome assemblies // BMC Genom. V. 18. № 1. Art. 100.
- Burki F., Corradi N., Sierra R., Pawlowski J., Meyer G.R. et al., 2013. Phylogenomics of the intracellular parasite *Mikrocytos mackini* reveals evidence for a mitosome in Rhizaria // Curr. Biol. V. 23. № 16. P. 1541–1547.
- Burki F., Kaplan M., Tikhonenkov D.V., Zlatogursky V., Minh B.Q. et al., 2016. Untangling the early diversification of eukaryotes: A phylogenomic study of the evolutionary origins of Centrohelida, Haptophyta and Cryptista // Proc. Biol. Sci. V. 283. № 1823. Art. 20152802.
- Carnegie R.B., Meyer G.R., Blackbourn J., Cochennec-Lau-reau N., Berthe F.C., Bower S.M., 2003. Molecular detection of the oyster parasite *Mikrocytos mackini*, and a preliminary phylogenetic analysis // Dis. Aquat. Organ. V. 54. № 3. P. 219–227.
- Cavalier-Smith T., Chao E.E., 2003. Phylogeny and classification of phylum Cercozoa (Protozoa) // Protist. V. 154. № 3–4. P. 341–358.
- Chaker-Margot M., 2018. Assembly of the small ribosomal subunit in yeast: Mechanism and regulation // RNA. V. 24. № 7. P. 881–891.
- Chalwatzis N., Baur A., Stetzer E., Kinzelbach R., Zimmermann F.K., 1995. Strongly expanded 18S rRNA genes correlated with a peculiar morphology in the insect order of Strepsiptera // Zoology. V. 98. № 2. P. 115–126.
- Chorev M., Carmel L., 2012. The function of introns // Front. Genet. V. 3. Art. 55.
- Chouari R., Leonard M., Bouali M., Guerrazi S., Rahli N. et al., 2017. Eukaryotic molecular diversity at different steps of the wastewater treatment plant process reveals more phylogenetic novel lineages // World J. Microbiol. Biotechnol. V. 33. № 3. Art. 44.
- Christaki U., Genitsaris S., Monchy S., Li L.L., Rachik S. et al., 2017. Parasitic eukaryotes in a meso-eutrophic coastal system with marked *Phaeocystis globosa* blooms // Front. Mar. Sci. V. 4. Art. 416.
- Coleman A.W., 2007. Pan-eukaryote ITS2 homologies revealed by RNA secondary structure // Nucleic Acids Res. V. 35. № 10. P. 3322–3329.
- Coleman A.W., 2015. Nuclear rRNA transcript processing versus internal transcribed spacer secondary structure // Trends Genet. V. 31. № 3. P. 157–163.
- Corsaro D., Walochnik J., Venditti D., Hauröder B., Michel R., 2020. Solving an old enigma: *Morellospora saccamoebae* gen. nov., sp. nov. (Rozellomycota), a *Sphaerita*-like parasite of free-living amoebae // Parasitol. Res. V. 119. № 3. P. 925–934.
- Corsaro D., Walochnik J., Venditti D., Müller K.-D., Hauröder B., Michel R., 2014a. Rediscovery of *Nucleophaga amoebae*, a novel member of the Rozellomycota // Parasitol. Res. V. 113. № 12. P. 4491–4498.
- Corsaro D., Walochnik J., Venditti D., Steinmann J., Müller K.D., Michel R., 2014b. Microsporidia-like parasites of amoebae belong to the early fungal lineage Rozellomycota // Parasitol. Res. V. 113. № 5. P. 1909–1918.
- Corsaro D., Michel R., Walochnik J., Venditti D., Müller K.D. et al., 2016. Molecular identification of *Nucleophaga terricolae* sp. nov. (Rozellomycota), and new insights on the origin of the microsporidia // Parasitol. Res. V. 115. № 8. P. 3003–3011.
- Corsaro D., Wylezich C., Venditti D., Michel R., Walochnik J., Wegensteiner R., 2019. Filling gaps in the microsporidian tree: rDNA phylogeny of *Chytridiopsis typographi* (Microsporidia: Chytridiopsida) // Parasitol. Res. V. 118. № 1. P. 169–180.
- Cotto I., Dai Z., Huo L., Anderson C.L., Vilardi K.J. et al., 2020. Long solids retention times and attached growth phase favor prevalence of comammox bacteria in nitrogen removal systems // Water Res. V. 169. Art. 115268.
- Dawson S.C., Pace N.R., 2002. Novel kingdom-level eukaryotic diversity in anoxic environments // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 99. № 12. P. 8324–8329.
- Delalibera I., Jr., Hajek A.E., Humber R.A., 2004. *Neozygites tanajoae* sp. nov., a pathogen of the cassava green mite // Mycologia. V. 96. № 5. P. 1002–1009.

- DePriest P.T., Been M.D., 1992. Numerous group I introns with variable distributions in the ribosomal DNA of a lichen fungus // *J. Mol. Biol.* V. 228. № 2. P. 315–321.
- Edgar R.C., 2004. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput // *Nucleic Acids Res.* V. 32. № 5. P. 1792–1797.
- Eichorst S.A., Kuske C.R., 2012. Identification of cellulose-responsive bacterial and fungal communities in geographically and edaphically different soils by using stable isotope probing // *Appl. Environ. Microbiol.* V. 78. № 7. P. 2316–2327.
- Engel C., Sainsbury S., Cheung A.C., Kostrewa D., Cramer P., 2013. RNA polymerase I structure and transcription regulation // *Nature.* V. 502. № 7473. P. 650–655.
- Felsenstein J., 1978. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading // *Syst. Biol.* V. 27. № 4. P. 401–410.
- Fernández-Tornero C., 2018. RNA polymerase I activation and hibernation: Unique mechanisms for unique genes // *Transcription.* V. 9. № 4. P. 248–254.
- Filée J., Tetart F., Suttle C.A., Krisch H.M., 2005. Marine T4-type bacteriophages, a ubiquitous component of the dark matter of the biosphere // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 102. № 35. P. 12471–12476.
- Fitch D.H., Bugaj-Gaweda B., Emmons S.W., 1995. 18S ribosomal RNA gene phylogeny for some Rhabditidae related to *Caenorhabditis* // *Mol. Biol. Evol.* V. 12. № 2. P. 346–358.
- Förster J., Famili I., Fu P., Palsson B.Ø., Nielsen J., 2003. Genome-scale reconstruction of the *Saccharomyces cerevisiae* metabolic network // *Genome Res.* V. 13. № 2. P. 244–253.
- Freimoser F.M., Tuor U., Aebi M., 2000. Phylogenetic analysis of SSU rDNA sequences suggest a common origin of Neozytaceae (Zoopagomycota; Entomophthorales), fungal pathogens of arthropods, and of microsporidia, obligate intracellular parasite // *Freimoser F.M.*, 2000. Cultivation, sporulation and phylogenetic analysis of *Neozygites parvispora* and *Entomophthora thripidum*, two fungal pathogens of thrips. Diss. ETH № 13869. Zürich: ETH Zürich. P. 29–43. <https://www.research-collection.ethz.ch/handle/20.500.11850/144847>.
- Galindo L.J., Torruella G., Moreira D., Timpano H., Paskerova G. et al., 2018. Evolutionary genomics of *Mechnikovella incurvata* (Metchnikovellidae): An early branching microsporidium // *Genome Biol. Evol.* V. 10. № 10. P. 2736–2748.
- Gargas A., DePriest P.T., Taylor J.W., 1995. Positions of multiple insertions in SSU rDNA of lichen-forming fungi // *Mol. Biol. Evol.* V. 12. № 2. P. 208–218.
- Gawryluk R.M.R., Tikhonenkov D.V., Hehenberger E., Husnik F., Mylnikov A.P., Keeling P.J., 2019. Non-photosynthetic predators are sister to red algae // *Nature.* V. 572. № 7768. P. 240–243.
- Gleason F.H., Lilje O., Marano A.V., Sime-Ngando T., Sullivan B.K. et al., 2014. Ecological functions of zoosporic hyperparasites // *Front. Microbiol.* V. 5. Art. 244.
- Grossart H.-P., Wurzbacher C., James T.Y., Kagami M., 2016. Discovery of dark matter fungi in aquatic ecosystems demands a reappraisal of the phylogeny and ecology of zoosporic fungi // *Fungal Ecol.* V. 19. № 1. P. 28–38.
- Gruber A.R., Bernhart S.H., Lorenz R., 2015. The Vienna-RNA web services // *Methods Mol. Biol.* V. 1269. P. 307–326.
- Guillou L., Viprey M., Chambouvet A., Welsh R.M., Kirkham A.R. et al., 2008. Widespread occurrence and genetic diversity of marine parasitoids belonging to Syndiniales (Alveolata) // *Environ. Microbiol.* V. 10. № 12. P. 3349–3365.
- Haag K.L., James T.Y., Pombert J.F., Larsson R., Schaer T.M. et al., 2014. Evolution of a morphological novelty occurred before genome compaction in a lineage of extreme parasites // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 111. № 43. P. 15480–15485.
- Hannan E.J., van, Mooij W., Agterveld M.P., van, Gons H.J., Laanbroek H.J., 1999. Detritus-dependent development of the microbial community in an experimental system: Qualitative analysis by denaturing gradient gel electrophoresis // *Appl. Environ. Microbiol.* V. 65. № 6. P. 2478–2484.
- Hartmann M., Lee S., Hallam S.J., Mohn W.W., 2009. Bacterial, archaeal and eukaryal community structures throughout soil horizons of harvested and naturally disturbed forest stands // *Environ. Microbiol.* V. 11. № 12. P. 3045–3062.
- Hasegawa H., Satô M., Maeda K., Murayama Y., 2012. Description of *Riouxgolvania kapapkamui* sp. n. (Nematoda: Muspiceoidea: Muspiceidae), a peculiar intradermal parasite of bats in Hokkaido, Japan // *J. Parasitol.* V. 98. № 5. P. 995–1000.
- Hendy M.D., Penny D., 1989. A framework for the quantitative study of evolutionary trees // *Syst. Zool.* V. 38. № 4. P. 277–290.
- Hennig W., 1966. *Phylogenetic Systematics*. Urbana: Univ. Illinois Press. 263 p.
- Huss V.A.R., Bauer C., 2011. A highly divergent 18S rRNA sequence identified by environmental PCR from an extremely acidic mining lake (pH 2.3) in Lusatia (Germany). Deposited under Accession Number FN546176.1. Aug. 30, 2011. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/345107473>.
- Ishida S., Nozaki D., Grossart H.P., Kagami M., 2015. Novel basal, fungal lineages from freshwater phytoplankton and lake samples // *Environ. Microbiol. Rep.* V. 7. № 3. P. 435–441.
- James T.Y., Kauff F., Schoch C.L., Matheny P.B., Hofstetter V. et al., 2006. Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny // *Nature.* V. 443. № 7113. P. 818–822.
- Jamy M., Foster R., Barbera P., Czech L., Kozlov A. et al., 2019. Long-read metabarcoding of the eukaryotic rDNA operon to phylogenetically and taxonomically resolve environmental diversity // *Mol. Ecol. Resour.* V. 20. № 2. P. 429–443.
- Janouškovec J., Tikhonenkov D.V., Burki F., Howe A.T., Rohwer F.L. et al., 2017. A new lineage of eukaryotes illuminates early mitochondrial genome reduction // *Curr. Biol.* V. 27. № 23. P. 3717–3724.
- Janouškovec J., Paskerova G.G., Miroliubova T.S., Mikhailov K.V., Birley T. et al., 2019. Apicomplexan-like parasites are polyphyletic and widely but selectively dependent on cryptic plastid organelles // *eLife.* V. 8. Art. e49662.
- Jones M.D.M., Richards T.A., Hawksworth D.J., Bass D., 2011a. Validation and justification of the phylum name Cryptomycota phyl. nov. // *IMA Fungus.* V. 2. № 2. P. 173–175.
- Jones M.D.M., Forn I., Gadelha C., Egan M.J., Bass D. et al., 2011b. Discovery of novel intermediate forms redefines the fungal tree of life // *Nature.* V. 474. № 7350. P. 200–203.

- Joseph N., Krauskopf E., Vera M.I., Michot B., 1999. Ribosomal internal transcribed spacer 2 (ITS2) exhibits a common core of secondary structure in vertebrates and yeast // *Nucleic Acids Res.* V. 27. № 23. P. 4533–4540.
- Karpov S.A., Paskerova G.G., 2020. The aphelids, intracellular parasitoids of algae, consume the host cytoplasm “from the inside” // *Protistology.* V. 14. № 4. P. 258–263.
- Karpov S.A., Mikhailov K.V., Mirzaeva G.S., Mirabdullaev I.M., Mamkaeva K.A. et al., 2013. Obligately phagotrophic aphelids turned out to branch with the earliest-diverging fungi // *Protist.* V. 164. № 2. P. 195–205.
- Karpov S.A., Mamanazarova K.S., Popova O.V., Aleoshin V.V., James T.Y. et al., 2017. Monoblepharidomycetes diversity includes new parasitic and saprotrophic species with highly intronized rDNA // *Fungal Biol.* V. 121. № 8. P. 729–741.
- Karpov S.A., Moreira D., Mamkaeva M.A., Popova O.V., Aleoshin V.V., López-García P., 2019. New member of Gromochytriales (Chytridiomycetes) – *Apiochytrium granulosporum* nov. gen. et sp. // *J. Eukaryot. Microbiol.* V. 66. № 4. P. 582–591.
- Katiyar S.K., Visvesvara G.S., Edlind T.D., 1995. Comparisons of ribosomal RNA sequences from amitochondrial protozoa: Implications for processing, mRNA binding and paromomycin susceptibility // *Gene.* V. 152. № 1. P. 27–33.
- Kim E., Sprung B., Duhamel S., Filardi C., Kyooin Shin M., 2016. Oligotrophic lagoons of the South Pacific Ocean are home to a surprising number of novel eukaryotic microorganisms // *Environ. Microbiol.* V. 18. № 12. P. 4549–4563.
- Kumar S., Stecher G., Tamura K., 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets // *Mol. Biol. Evol.* V. 33. № 7. P. 1870–1874.
- Langmead B., Salzberg S.L., 2012. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2 // *Nat. Methods.* V. 9. № 4. P. 357–359.
- Lara E., Moreira D., López-García P., 2010. The environmental clade LKM11 and *Rozella* form the deepest branching clade of Fungi // *Protist.* V. 161. № 1. P. 116–121.
- Larsson J.I.R., 1993. Description of *Chytridiopsis trichopterae* n. sp. (Microspora, Chytridiopsidae), a microsporidian parasite of the caddis fly *Polycentropus flavomaculatus* (Trichoptera, Polycentropodidae), with comments on relationships between the families Chytridiopsidae and Metchnikovellidae // *J. Eukaryot. Microbiol.* V. 40. № 1. P. 37–48.
- Larsson J.I.R., 2000. The hyperparasitic microsporidium *Amphiacantha longa* Caullery et Mesnil, 1914 (Microspora: Metchnikovellidae) – description of the cytology, redescription of the species, emended diagnosis of the genus *Amphiacantha* and establishment of the new family Amphiacanthidae // *Folia Parasitol.* V. 47. № 4. P. 241–256.
- Larsson J.I.R., 2014. The primitive Microsporidia // *Microsporidia: Pathogens of Opportunity* / Eds Weiss L.M., Becnel J.J. Hoboken: Wiley-Blackwell. P. 605–634.
- Lazarus K.L., James T.Y., 2015. Surveying the biodiversity of the Cryptomycota using a targeted PCR approach // *Fungal Ecol.* V. 14. № 1. P. 62–70.
- Lee J.C., Gutell R.R., 2012. A comparison of the crystal structures of the eukaryotic and bacterial SSU ribosomal RNAs reveals common structural features in the hypervariable regions // *PLoS One.* V. 7. № 5. Art. e38203.
- Lefèvre E., Roussel B., Amblard C., Sime-Ngando T., 2008. The molecular diversity of freshwater picoeukaryotes reveals high occurrence of putative parasitoids in the plankton // *PLoS One.* V. 3. № 6. Art. e2324.
- Lefèvre E., Bardot C., Noël C., Carrias J.F., Viscogliosi E. et al., 2007. Unveiling fungal zooflagellates as members of freshwater picoeukaryotes: Evidence from a molecular diversity study in a deep meromictic lake // *Environ. Microbiol.* V. 9. № 1. P. 61–71.
- Leipe D.D., Gunderson J.H., Nerad T.A., Sogin M.L., 1993. Small subunit ribosomal RNA+ of *Hexamita inflata* and the quest for the first branch in the eukaryotic tree // *Mol. Biochem. Parasitol.* V. 59. № 1. P. 41–48.
- Lepère C., Domaizon I., Debroas D., 2008. Unexpected importance of potential parasites in the composition of the freshwater small-eukaryote community // *Appl. Environ. Microbiol.* V. 74. № 10. P. 2940–2949.
- Lepère C., Boucher D., Jardillier L., Domaizon I., Debroas D., 2006. Succession and regulation factors of small eukaryote community composition in a lacustrine ecosystem (Lake Pavin) // *Appl. Environ. Microbiol.* V. 72. № 4. P. 2971–2981.
- Letcher P.M., Powell M.J., 2018. A taxonomic summary and revision of *Rozella* (Cryptomycota) // *IMA Fungus.* V. 9. P. 383–399.
- Letcher P.M., Lopez S., Schmieder R., Lee P.A., Behnke C. et al., 2013. Characterization of *Amoebophilium protococcarum*, an algal parasite new to the cryptomycota isolated from an outdoor algal pond used for the production of biofuel // *PLoS One.* V. 8. № 2. Art. e56232.
- Lipson D.A., Kuske C.R., Gallegos-Graves L.V., Oechel W.C., 2014. Elevated atmospheric CO₂ stimulates soil fungal diversity through increased fine root production in a semiarid shrubland ecosystem // *Glob. Change Biol.* V. 20. № 8. P. 2555–2565.
- López-García P., Rodríguez-Valera F., Pedrós-Alió C., Moreira D., 2001. Unexpected diversity of small eukaryotes in deep-sea Antarctic plankton // *Nature.* V. 409. № 6820. P. 603–607.
- Mahé F., Vargas C., de Bass D., Czech L., Stamatakis A. et al., 2017. Parasites dominate hyperdiverse soil protist communities in Neotropical rainforests // *Nat. Ecol. Evol.* V. 1. № 4. Art. 91.
- Marcy Y., Ouverney C., Bik E.M., Lösekann T., Ivanova N. et al., 2007. Dissecting biological “dark matter” with single-cell genetic analysis of rare and uncultivated TM7 microbes from the human mouth // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 104. № 29. P. 11889–11894.
- Matsubayashi M., Shimada Y., Li Y.Y., Harada H., Kubota K., 2017. Phylogenetic diversity and in situ detection of eukaryotes in anaerobic sludge digesters // *PLoS One.* V. 12. № 3. Art. e0172888.
- McGuire K.L., Allison S.D., Fierer N., Treseder K., 2013. Ectomycorrhizal-dominated boreal and tropical forests have distinct fungal communities, but analogous spatial patterns across soil horizons // *PLoS One.* V. 8. № 7. Art. e68278.
- Melnikov S.V., Manakongtreecheep K., Rivera K.D., Makarenko A., Pappin D.J., Söll D., 2018a. Muller’s ratchet and ribosome degeneration in the obligate intracellular parasites Microsporidia // *Int. J. Mol. Sci.* V. 19. № 12. Art. 4125.
- Melnikov S.V., Rivera K.D., Ostapenko D., Makarenko A., Sanscrainte N.D. et al., 2018b. Error-prone protein synthesis in parasites with the smallest eukaryotic genome // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 115. № 27. P. E6245–E6253.

- Mikhailov K.V., Simdyanov T.G., Aleoshin V.V., 2017. Genomic survey of a hyperparasitic microsporidian *Amphiamblyx* sp. (Metchnikovellidae) // *Genome Biol. Evol.* V. 9. № 3. P. 454–467.
- Mitchell A.L., Scheremetjew M., Denise H., Potter S., Tarowska A. et al., 2018. EBI Metagenomics in 2017: Enriching the analysis of microbial communities, from sequence reads to assemblies // *Nucleic Acids Res.* V. 46. № D1. P. D726–D735.
- Monchy S., Sancier G., Jobard M., Rasconi S., Gerphagnon M. et al., 2011. Exploring and quantifying fungal diversity in freshwater lake ecosystems using rDNA cloning/sequencing and SSU tag pyrosequencing // *Environ. Microbiol.* V. 13. № 6. P. 1433–1453.
- Moon-van der Staay S.Y., Wachter R., de, Vaulot D., 2001. Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity // *Nature.* V. 409. № 6820. P. 607–610.
- Moss T., Stefanovsky V.Y., 2002. At the center of eukaryotic life // *Cell.* V. 109. № 5. P. 545–548.
- Mueller R.C., Moya-Balash M., Kuske C.R., 2014. Contrasting soil fungal community responses to experimental nitrogen addition using the large subunit rRNA taxonomic marker and cellobiohydrolase I functional marker // *Mol. Ecol.* V. 23. № 17. P. 4406–4417.
- Najmi S.M., Schneider D.A., 2021. Quorum sensing regulates rRNA synthesis in *Saccharomyces cerevisiae* // *Gene.* V. 776. Art. 145442.
- Nakai R., Abe T., Baba T., Imura S., Kagoshima H. et al., 2012. Eukaryotic phylotypes in aquatic moss pillars inhabiting a freshwater lake in East Antarctica, based on 18S rRNA gene analysis // *Polar. Biol.* V. 35. № 10. P. 1495–1504.
- Nassonova E.S., Bondarenko N.I., Paskerova G.G., Kovacikova M., Frolova E.V., Smirnov A.V., 2021. Evolutionary relationships of *Metchnikovella dogieli* Paskerova et al., 2016 (Microsporidia: Metchnikovellidae) revealed by multigene phylogenetic analysis // *Parasitol. Res.* V. 120. № 2. P. 525–534.
- Noack Watt K.E., Achilleos A., Neben C.L., Merrill A.E., Trainor P.A., 2016. The roles of RNA polymerase I and III subunits Polr1c and Polr1d in craniofacial development and in zebrafish models of Treacher Collins syndrome // *PLoS Genet.* V. 12. № 7. Art. e1006187.
- Page K.A., Flannery M.K., 2018. Microbial epiphytes of deep-water moss in Crater Lake, Oregon // *Northwest Sci.* V. 92. № 4. P. 240–250.
- Paskerova G.G., Frolova E.V., Kováčiková M., Panfilkina T.S., Mesentsev E.S. et al., 2016. *Metchnikovella dogieli* sp. n. (Microsporidia: Metchnikovellida), a parasite of archigregarines *Selenidium* sp. from polychaetes *Pygospio elegans* // *Protistology.* V. 10. № 4. P. 148–157.
- Paskerova G.G., Miroliubova T.S., Diakin A., Kováčiková M., Valigurová A. et al., 2018. Fine structure and molecular phylogenetic position of two marine gregarines, *Selenidium pygospionis* sp. n. and *S. pherusa* sp. n., with notes on the phylogeny of Archigregarinida (Apicomplexa) // *Protist.* V. 169. № 6. P. 826–852.
- Paule M.R., (ed.), 1998. Transcription of Ribosomal RNA Genes by Eukaryotic RNA Polymerase I. Berlin; L.; N.Y.: Springer-Verlag Inc. and R.G. Landes Co. 321 p.
- Pawlowski J., Bolivar I., Guiard-Maffia J., Gouy M., 1994. Phylogenetic position of foraminifera inferred from LSU rRNA gene sequences // *Mol. Biol. Evol.* V. 11. № 6. P. 929–938.
- Pawlowski J., Montoya-Burgos J.I., Fahrni J.F., Wüest J., Zaninetti L., 1996. Origin of the Mesozoa inferred from 18S rRNA gene sequences // *Mol. Biol. Evol.* V. 13. № 8. P. 1128–1132.
- Petrov A.S., Bernier C.R., Gulen B., Waterbury C.C., Hershkovits E. et al., 2014. Secondary structures of rRNAs from all three domains of life // *PLoS One.* V. 9. № 2. Art. e88222.
- Peyretailade E., Biderre C., Peyret P., Duffieux F., Méténier G. et al., 1998. Microsporidian *Encephalitozoon cuniculi*, a unicellular eukaryote with an unusual chromosomal dispersion of ribosomal genes and a LSU rRNA reduced to the universal core // *Nucleic Acids Res.* V. 26. № 15. P. 3513–3520.
- Quinlan A.R., Hall I.M., 2010. BEDTools: A flexible suite of utilities for comparing genomic features // *Bioinformatics.* V. 26. № 6. P. 841–842.
- Rambaut A., 2010. FigTree v1.3.1. Edinburgh: Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Rijk P., de, Gatehouse H.S., Wachter R., de, 1998. The secondary structure of *Nosema apis* large subunit ribosomal RNA // *Biochim. Biophys. Acta.* V. 1442. № 1–2. P. 326–328.
- Rijk P., de, Wuyts J., Wachter R., de, 2003. RnaViz 2: An improved representation of RNA secondary structure // *Bioinformatics.* V. 19. № 2. P. 299–300.
- Rogers S.O., 2019. Integrated evolution of ribosomal RNAs, introns, and intron nurseries // *Genetica.* V. 147. № 2. P. 103–119.
- Rojas-Jimenez K., Wurzbacher C., Bourne E.C., Chiuchiolo A., Priscu J.C., Grossart H.P., 2017. Early diverging lineages within Cryptomycota and Chytridiomycota dominate the fungal communities in ice-covered lakes of the McMurdo Dry Valleys, Antarctica // *Sci. Rep.* V. 7. № 1. Art. 15348.
- Rojas-Jimenez K., Rieck A., Wurzbacher C., Jürgens K., Labrenz M., Grossart H.P., 2019. A salinity threshold separating fungal communities in the Baltic Sea // *Front. Microbiol.* V. 10. Art. 680.
- Ronquist F., Teslenko M., Mark P., van der, Ayres D.L., Darling A. et al., 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model selection across a large model space // *Syst. Biol.* V. 61. № 3. P. 539–542.
- Rotari Y.M., Paskerova G.G., Sokolova Y.Y., 2015. Diversity of metchnikovellids (Metchnikovellidae, Rudimicrosporea), hyperparasites of bristle worms (Annelida, Polychaeta) from the White Sea // *Protistology.* V. 9. № 1. P. 50–59.
- Rueckert S., Wakeman K.C., Leander B.S., 2013. Discovery of a diverse clade of gregarine apicomplexans (Apicomplexa: Eugregarinorida) from Pacific eunicid and onuphid polychaetes, including descriptions of *Paralecudina* n. gen., *Trichotokara japonica* n. sp., and *T. eunicae* n. sp. // *J. Eukaryot. Microbiol.* V. 60. № 2. P. 121–136.
- Rueckert S., Simdyanov T.G., Aleoshin V.V., Leander B.S., 2011. Identification of a divergent environmental DNA sequence clade using the phylogeny of gregarine parasites (Apicomplexa) from crustacean hosts // *PLoS One.* V. 6. № 3. Art. e18163.
- Russell J., Zomerdijk J.C.B.M., 2005. RNA-polymerase-I-directed rDNA transcription, life and works // *Trends Biochem. Sci.* V. 30. № 2. P. 87–96.
- Sanchez L.R.S., Cao E.P., 2019. Metagenomic analysis reveals the presence of heavy metal response genes from cyanobacteria thriving in Balatoc Mines, Benguet Province, Philippines // *Philippine J. Sci.* V. 148. № S1. P. 71–82.

- Schultz J., Maisel S., Gerlach D., Müller T., Wolf M., 2005. A common core of secondary structure of the internal transcribed spacer 2 (ITS2) throughout the eukaryote // RNA. V. 11. № 4. P. 361–364.
- Seenivasan R., Sausen N., Medlin L.K., Melkonian M., 2013. *Picomonas judraskeda* gen. et sp. nov.: The first identified member of the Picozoa phylum nov., a widespread group of picoeukaryotes, formerly known as 'picobiliphytes' // PLoS One. V. 8. № 3. Art. e59565.
- Sharrar A.M., Crits-Christoph A., Méheust R., Diamond S., Starr E.P., Banfield J.F., 2020. Bacterial secondary metabolite biosynthetic potential in soil varies with phylum, depth, and vegetation type // mBio. V. 11. № 3. Art. e00416-20.
- Smith M.E., Douhan G.W., Rizzo D.M., 2007. Ectomycorrhizal community structure in a xeric *Quercus* woodland as inferred from rDNA sequence analysis of pooled EM roots and sporocarps // New Phytol. V. 174. № 4. P. 847–863.
- Smothers J.F., Dohlen C.D., von, Smith L.H., Jr., Spall R.D., 1994. Molecular evidence that the myxozoan protists are metazoans // Science. V. 265. № 5179. P. 1719–1721.
- Sokolova Y.Y., Paskerova G.G., Rotari Y.M., Nassonova E.S., Smirnov A.V., 2013. Fine structure of *Metchnikovella incurvata* Caullery and Mesnil 1914 (Microsporidia), a hyperparasite of gregarines *Polyrhabdina* sp. from the polychaete *Pygospio elegans* // Parasitology. V. 140. № 7. P. 855–867.
- Sprague V., 1977. Classification and phylogeny of the microsporidia // Comparative Pathobiology. V. 2. Systematics of the Microsporidia / Eds Bulla L.A., Cheng T.C. N.Y.: Plenum Press. P. 1–30.
- Stentiford G.D., Ramilo A., Abollo E., Kerr R., Bateman K.S. et al., 2017. *Hyperspora aquatica* n. gen., n. sp. (Microsporidia), hyperparasitic in *Marteilia cochillia* (Paramyxida), is closely related to crustacean-infecting microsporidian taxa // Parasitology. V. 144. № 2. P. 186–199.
- Stevenson B.S., Schmidt T.M., 2004. Life history implications of rRNA gene copy number in *Escherichia coli* // Appl. Environ. Microbiol. V. 70. № 11. P. 6670–6677.
- Strassert J.F.H., Jamy M., Mylnikov A.P., Tikhonenkov D.V., Burki F., 2019. New phylogenomic analysis of the enigmatic phylum Telonemia further resolves the Eukaryote Tree of Life // Mol. Biol. Evol. V. 36. № 4. Art. 757765.
- Tavaré S., 1986. Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences // Lectures Math. Life Sci. V. 17. P. 57–86.
- Taylor D.L., Herriott I.C., Long J., O'Neill K., 2007. TOPO TA is A-OK: A test of phylogenetic bias in fungal environmental clone library construction // Environ. Microbiol. V. 9. № 5. P. 1329–1334.
- Taylor D.L., Booth M.G., McFarland J.W., Herriott I.C., Lennon N.J. et al., 2008. Increasing ecological inference from high throughput sequencing of fungi in the environment through a tagging approach // Mol. Ecol. Resour. V. 8. № 4. P. 742–752.
- Taylor D.L., Hollingsworth T.N., McFarland J.W., Lennon N.J., Nusbaum C., Ruess R.W., 2014. A first comprehensive census of fungi in soil reveals both hyperdiversity and fine-scale niche partitioning // Ecol. Monogr. V. 84. № 1. P. 3–20.
- Tedersoo L., Bahram M., Puusepp R., Nilsson R.H., James T.Y., 2017. Novel soil-inhabiting clades fill gaps in the fungal tree of life // Microbiome. V. 5. № 1. Art. 42.
- Tedersoo L., Sánchez-Ramírez S., Kõljalg U., Bahram M., Döring M. et al., 2018. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses // Fungal Divers. V. 90. № 1. P. 135–159.
- Thornton C.N., Tanner W.D., VanDerslice J.A., Brazelton W.J., 2020. Localized effect of treated wastewater effluent on the resistome of an urban watershed // Gigascience. V. 9. № 11. Art. gaa125.
- Tikhonenkov D.V., Mikhailov K.V., Hehenberger E., Karpov S.A., Prokina K.I. et al., 2020a. New lineage of microbial predators adds complexity to reconstructing the evolutionary origin of animals // Curr. Biol. V. 30. № 22. P. 4500–4509.
- Tikhonenkov D.V., Strassert J.F.H., Janouškovec J., Mylnikov A.P., Aleoshin V.V. et al., 2020b. Predatory colponemids are the sister group to all other alveolates // Mol. Phylogenet. Evol. V. 149. Art. 106839.
- Timling I., Walker D.A., Nusbaum C., Lennon N.J., Taylor D.L., 2014. Rich and cold: Diversity, distribution and drivers of fungal communities in patterned-ground ecosystems of the North American Arctic // Mol. Ecol. V. 23. № 13. P. 3258–3272.
- Tokarev Y.S., Huang W.F., Solter L.F., Malyshev J.M., Becnel J.J., Vossbrinck C.R., 2020. A formal redefinition of the genera *Nosema* and *Vairimorpha* (Microsporidia: Nosematidae) and reassignment of species based on molecular phylogenetics // J. Invertebr. Pathol. V. 169. Art. 107279.
- Torreira E., Louro J.A., Pazos I., González-Polo N., Gil-Carmona D. et al., 2017. The dynamic assembly of distinct RNA polymerase I complexes modulates rDNA transcription // eLife. V. 6. Art. e20832.
- Trzebnny A., Slodkiewicz-Kowalska A., Becnel J.J., Sanscrainte N., Dabert M., 2020. A new method of metabarcoding Microsporidia and their hosts reveals high levels of microsporidian infections in mosquitoes (Culicidae) // Mol. Ecol. Resour. V. 20. P. 1486–1504.
- Van de Peer Y., Ben Ali A., Meyer A., 2000. Microsporidia: Accumulating molecular evidence that a group of amitochondriate and suspectedly primitive eukaryotes are just curious fungi // Gene. V. 246. № 1–2. P. 1–8.
- Vivier E., 1965. Étude, au microscope électronique, de la spore de *Metchnikovella hovassei* n. sp.: Appartenance des Metchnikovellidae aux Microsporidies // Compt. Rend. Hebd. Séan. Soc. Biol. V. 260. № 26. P. 6982–6984.
- Vossbrinck C.R., Woese C.R., 1986. Eukaryotic ribosomes that lack a 5.8S RNA // Nature. V. 320. № 6059. P. 287–288.
- Vossbrinck C.R., Maddox J.V., Friedman S., Debrunner-Vossbrinck B.A., Woese C.R., 1987. Ribosomal RNA sequence suggests Microsporidia are extremely ancient eukaryotes // Nature. V. 326. № 6111. P. 411–414.
- Wadi L., Reinke A.W., 2020. Evolution of microsporidia: An extremely successful group of eukaryotic intracellular parasites // PLoS Pathog. V. 16. № 2. Art. e1008276.
- Wagner A., 2005. Energy constraints on the evolution of gene expression // Mol. Biol. Evol. V. 22. № 6. P. 1365–1374.
- Wakeman K.C., 2020. Molecular phylogeny of marine gregarines (Apicomplexa) from the Sea of Japan and the Northwest Pacific including the description of three novel species of *Selenidium* and *Trollidium akkeshiense* n. gen. n. sp. // Protist. V. 171. № 1. Art. 125710.
- Warner J.R., 1999. The economics of ribosome biosynthesis in yeast // Trends Biochem. Sci. V. 24. № 11. P. 437–440.

- Weber S.D., Hofmann A., Wanner G., Pilhofer M., Agerer R. et al., 2009. The diversity of fungi in aerobic sewage granules assessed by 18S rRNA gene and ITS sequence analyses // FEMS Microbiol. Ecol. V. 68. № 2. P. 246–254.
- Weiser J., 1977. Contribution to the classification of microsporidia // Vestn. Cesk. Spol. Zool. V. 41. № 4. P. 308–321.
- White M.M., James T.Y., O'Donnell K., Cafaro M.J., Tanabe Y., Sugiyama J., 2006. Phylogeny of the Zygomycota based on nuclear ribosomal sequence data // Mycologia. V. 98. № 6. P. 872–884.
- Whiting M.F., Carpenter J.C., Wheeler Q.D., Wheeler W.C., 1997. The Strepsiptera problem: Phylogeny of the holometabolous insect orders inferred from 18S and 28S ribosomal DNA sequences and morphology // Syst. Biol. V. 46. № 1. P. 1–68.
- Wijayawardene N.N., Hyde K.D., Al-Ani L.K.T., Tedersoo L., Haelewaters D. et al., 2020. Outline of Fungi and fungus-like taxa // Mycosphere. V. 11. № 1. P. 1060–1456.
- Wilms R., Sass H., Köpke B., Köster J., Cypionka H., Engelen B., 2006. Specific bacterial, archaeal, and eukaryotic communities in tidal-flat sediments along a vertical profile of several meters // Appl. Environ. Microbiol. V. 72. № 4. P. 2756–2764.
- Wurzbacher C., Rösel S., Rychła A., Grossart H.P., 2014. Importance of saprotrophic freshwater fungi for pollen degradation // PLoS One. V. 9. № 4. Art. e94643.
- Wuyts J., Van de Peer Y., Wachter R., de, 2001. Distribution of substitution rates and location of insertion sites in the tertiary structure of ribosomal RNA // Nucleic Acids Res. V. 29. № 24. P. 5017–5028.
- Wuyts J., Rijk P., de, Van de Peer Y., Pison G., Rousseeuw P., Wachter R., de, 2000. Comparative analysis of more than 3000 sequences reveals the existence of two pseudoknots in area V4 of eukaryotic small subunit ribosomal RNA // Nucleic Acids Res. V. 28. № 23. P. 4698–4708.
- Zhou X., Montalva C., Arismendi N., 2017. *Neozygites linanensis* sp. nov., a fungal pathogen infecting bamboo aphids in southeast China // Mycotaxon. V. 132. № 2. P. 305–315.
- Zuker M., 2003. Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction // Nucleic Acids Res. V. 31. № 13. P. 3406–3415.

Ribosomal RNA of the metchnikovellids in gregarine transcriptomes and rDNA of the microsporidia *sensu lato* in environmental metagenomes

K. V. Mikhailov^{a, b}, E. S. Nasonova^{c, d}, Y. A. Shishkin^c, G. G. Paskerova^c, T. G. Simdyanov^e, V. A. Yudina^e, A. V. Smirnov^c, J. Janoušková^f, V. V. Aleoshin^{a, b, *}

^aBelozersky Institute for Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University
Leninskye Gory, 1, Moscow, 119991 Russia

^bKharkevich Institute for Information Transmission Problems, RAS Bolshoy
Karetny per., 19, build. 1, Moscow, 127051 Russia

^cDepartment of Invertebrate Zoology, Faculty of Biology, Saint Petersburg State University
Universitetskaya emb., 7/9, St. Petersburg, 199034 Russia

^dLaboratory of Cytology of Unicellular Organisms, Institute of Cytology RAS
Tikhoretsky ave., 4, St. Petersburg, 194064 Russia

^eLomonosov Moscow State University, Faculty of Biology
Leninskiye Gory, 1, Moscow, 119991 Russia

^fInstitute of Microbiology of the Czech Academy of Sciences, Centre Algatech,
Laboratory of Photosynthesis
Opatovický mlýn, Třeboň, 37981 Czech Republic

*e-mail: aleshin@genebee.msu.su

Numerous nucleotide sequences of microsporidia *sensu lato*, mainly belonging to the “Cryptomycota” (Rozellida, Rozellomycota, Rozellosporidia, treated here as synonyms), are found in metagenomes, transcriptomes, and amplicon libraries used for metabarcoding. In this study, we describe rDNA sequences of hyperparasitic metchnikovellid microsporidia found in the transcriptomes of unicellular protists belonging to Apicomplexa (Alveolata). The transcriptome of the eugregarine *Polyrhabdina* sp. (GenBank SRX6640468) contains the cDNA of *Metchnikovella incurvata*, the transcriptome of the archigregarine *Selenidium pygospionis* (GenBank SRX6640459) contains the cDNA of *Metchnikovella dogieli*, and in the transcriptome of the blastogregarine *Siedleckia* cf. *nematoides* (GenBank SRX6640464) we find cDNAs originating from a yet undescribed species representing a novel metchnikovellid family. We have modeled the secondary structure of the “ITS2” region of identified and unidentified metchnikovellids taking into account the covariant nucleotide substitutions. Based on the predicted secondary structure of rRNA, mapping of reads from cDNA libraries, and the absence of the endoribonuclease Las1 (PF04031) we conclude that there is no ITS2 processing in metchnikovellids, and the mature “5.8S”- and “28S”-like (LSU) rRNA are covalently fused, similarly to the LSU rRNA in the other microsporidia *sensu stricto*. We discuss several previously proposed (*Chytridiopsis tytopographi*, BAQA065) and new candidates for the sister group of microsporidia *sensu stricto*, and compare the reduced rRNA genes of microsporidia and the lengthened rRNA genes with group I introns of parasitic and lichen fungi in the context of neutral and adaptive evolutionary processes.

УДК 612.84

СВЕТОПРЕЛОМЛЯЮЩИЙ, СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ И СВЕТОИЗОЛИРУЮЩИЙ АППАРАТ КАМЕРНЫХ ГЛАЗ

© 2021 г. И. П. Шепелева*

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
наб. Макарова, 6, Санкт-Петербург, 199034 Россия

*E-mail: ishepeleva@rambler.ru

Поступила в редакцию 21.12.2020 г.

После доработки 27.01.2021 г.

Принята к публикации 19.02.2021 г.

На основе новых и опубликованных собственных данных и данных литературы выполнен сравнительный анализ светопреломляющего, светочувствительного и светоизолирующего аппарата камерных глаз наземного брюхоногого легочного моллюска *Helicigona lapicida* и человека. Выявлены сходства и различия в составе аппаратов глаз, а также свойствах и функциях их компонентов. Полученные данные необходимы для создания представления о брюхоногих моллюсках как о модельных организмах для изучения работы зрительной системы.

DOI: 10.31857/S0044459621030064

Зрение — многоуровневый процесс, который осуществляется зрительной системой и позволяет получать информацию об окружающем мире. Начинается в периферическом отделе зрительной системы — глазах — с формирования изображения на сетчатке, а также с восприятия, кодирования и обработки информации в ней и заканчивается в центральном отделе — коре головного мозга — принятием решения о том, с каким объектом встретился организм (Хьюбел, 1990). Изучать работу зрительной системы на позвоночных часто трудно по техническим причинам или невозможно по этическим соображениям (Кэндел, 1982). Для исследований необходимы модельные организмы, которыми могут служить беспозвоночные животные — брюхоногие моллюски (Черноризов и др., 2009; Chernorizov, Sokolov, 2010; Шепелева, 2013а, 2018а, б; Shepeleva, 2018, 2019). Среди беспозвоночных брюхоногие моллюски — одна из немногих групп, представители которой имеют камерные глаза, и первая группа, у представителей которой камерные глаза приспособлены к зрению в наземной среде и при высоком уровне освещенности, так же как у типичного представителя позвоночных — человека (Shepeleva, 2019). У брюхоногих моллюсков, как и у человека, некоторые компоненты камерных глаз или составляющие их части формируют специализированные аппараты — светопреломляющий, светочувствительный и светоизолирующий (Шепелева, 2018в, г, 2020, 2021). Центральный отдел зрительной системы этих беспозвоночных имеет общие принципы организации с аналогичным отделом по-

звоночных (Зайцева, 2000). В то же время зрительная система брюхоногих моллюсков устроена значительно проще (Land, 1981; Messenger, 1981; Кэндел, 1982; Зайцева, 2000; Шепелева, 2011, 2013а; Shepeleva, 2019). Анализ литературы показывает, что изучению центрального отдела зрительной системы брюхоногих моллюсков посвящено больше работ, чем изучению периферического отдела. Между тем дальнейшее развитие представления о брюхоногих моллюсках, как о модельных организмах для изучения работы зрительной системы, требует выявления сходств и различий между глазами моллюсков и человека.

Цель работы — сравнить светопреломляющий, светочувствительный и светоизолирующий аппараты камерных глаз наземных брюхоногих легочных моллюсков и человека. Для работы был выбран моллюск *Helicigona lapicida* (Linnaeus, 1758), глаз которого приспособлен к зрению в дневное время при высоком уровне освещенности так же, как глаз человека (Шепелева, 2006).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили взрослые особи наземного брюхоногого легочного моллюска *Helicigona lapicida* (Linnaeus, 1758). Моллюсков собирали на о. Эланд (Швеция) в июне 2004 г., содержали в террариуме с почвой при комнатной температуре и естественном световом режиме, кормили листьями одуванчиков.

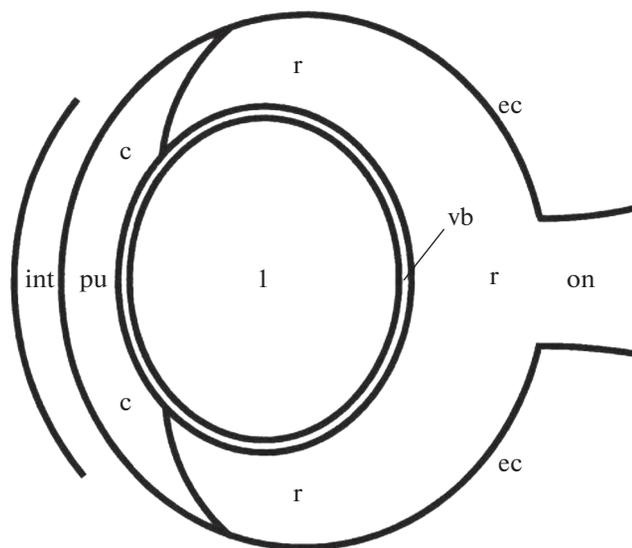


Рис. 1. Схематичное изображение камерного глаза *Helicigona lapicida*. Обозначения: int – интегумент, с – роговица, pu – зрачок, l – хрусталик, vb – стекловидное тело, r – сетчатка, ec – глазная капсула, on – зрительный нерв.

В качестве материала для световой и трансмиссионной электронной микроскопии использовали глазные щупальца моллюсков, адаптированных к темноте. Щупальца последовательно фиксировали в 2.5%-ном растворе глутарового альдегида на 0.1 М какодилатном буфере (рН 8.0) в течение 2 ч при 4°C и в 1%-ном растворе тетраоксида осмия на том же буфере в течение 1 ч при 4°C. Затем материал обезживали в серии спиртов возрастающей концентрации, пропитывали абсолютным ацетоном, а также смесью из ацетона и смолы и заливали смолой. Полутонкие (2 мкм) и ультратонкие (70 нм) срезы нарезали при помощи ультрамикротомы V LKB 2088 (Leitz, Германия). Полутонкие срезы окрашивали 0.5%-ным раствором толуйдинового синего с добавлением 1%-го карбоната натрия и заключали под покровное стекло. Срезы изучали при помощи светового микроскопа Zeiss AxioPhot (Carl Zeiss, Германия) и фотографировали при помощи цифровой камеры Olympus DP 50 (Olympus, Япония). Ультратонкие срезы последовательно контрастировали 2%-ным раствором ацетата урана и 0.1%-ным раствором цитрата свинца. Срезы изучали при помощи трансмиссионного электронного микроскопа JEOL JEM-1230 (JEOL, Япония) и фотографировали при помощи цифровой камеры АМТ-Х100.

Измерения параметров выполняли на фотографиях срезов глаз. Для средних значений полученных данных рассчитывали стандартное отклонение (Лакин, 1990). Расчеты параметров выполняли по формулам, приведенным в ранее опубликованных работах (Land, 1981; Atchison, Smith, 2000;

Smith, 2000; Tang et al., 2010). Параметры, необходимые для расчетов, и рассчитанные параметры приведены в табл. 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общее строение камерных глаз Helicigona lapicida и человека

Глаза наземного брюхоногого легочного моллюска *H. lapicida* и человека принадлежат к камерному типу. Глаза *H. lapicida* имеют форму сжатого эллипсоида. Для глаз человека описано три формы: сферическая, сжатого и вытянутого эллипсоида (Stone, Flitcroft, 2004). Средний размер глаз *H. lapicida* составляет 189 мкм вдоль переднезадней оси и 228 мкм вдоль горизонтальной оси (Шепелева, 2006). Средний размер глаз человека вдоль переднезадней оси достигает 22.0–24.8 мм и вдоль горизонтальной оси – 24.2 мм (Bekerman et al., 2014). Размер глаз *H. lapicida* и человека вдоль каждой оси различается в 116.4–131.2 и 128.0 раз соответственно. Глаза *H. lapicida* состоят из шести компонентов: оболочки, образованной роговицей и глазной капсулой; зрачка фиксированного диаметра; хрусталика; стекловидного тела, окружающего хрусталик; неинвертированной четырёхслойной сетчатки и зрительного нерва (рис. 1) (Шепелева, 2006). Глаза человека состоят из 10 компонентов: оболочки, образованной роговицей и склерой; передней камеры, заполненной водянистой влагой; радужки; зрачка переменного диаметра; задней камеры, заполненной водянистой влагой; хрусталика, подвешенного на цинновой связке; стекловидного тела, расположенного за хрусталиком; инвертированной десятислойной сетчатки; сосудистой оболочки и зрительного нерва (рис. 2) (Даниличев, 2009). Таким образом, камерные глаза *H. lapicida* и человека существенно различаются по размеру (более чем в 100 раз) и строению, но в то же время содержат шесть одинаковых компонентов – оболочку, зрачок, хрусталик, стекловидное тело, сетчатку и зрительный нерв. У *H. lapicida* и человека роговица, которая входит в состав оболочки, и хрусталик формируют светопреломляющий аппарат глаз. Фоторецепторные и пигментные клетки, входящие в состав сетчатки, образуют светочувствительный и светоизолирующий аппарат глаз соответственно. Далее в работе у *H. lapicida* и человека анализируются состав этих трех аппаратов, а также свойства и функции их компонентов.

Светопреломляющий аппарат камерных глаз Helicigona lapicida и человека

Светопреломляющий аппарат камерных глаз *H. lapicida* и человека представлен несколькими линзами, которые преломляют свет и проводят его к сетчатке, в результате чего на сетчатке фор-

Таблица 1. Параметры компонентов светопреломляющего, светочувствительного и светоизолирующего аппарата камерных глаз *Helicigona lapicida* и человека

Параметр	<i>Helicigona lapicida</i>	Человек	Ссылки
Размер глаза (переднезадняя × горизонтальная ось), мкм, мм	189 × 228	22.0–24.8 × 24.2	(Шепелева, 2006; Bekerman et al., 2014)
Светопреломляющий аппарат			
Толщина линзы, образованной интегументом и роговицей, и роговицы в центре, мкм, мм	26	0.5	(Шепелева, 2006; Даниличев, 2009)
Радиус кривизны передней/задней поверхности линзы, образованной интегументом и роговицей, и роговицы, мкм, мм	136/110	7.7/6.8	(Шепелева, 2006; Даниличев, 2009)
Показатель преломления линзы, образованной интегументом и роговицей, и роговицы	1.4	1.376	(Atchison, Smith, 2000; Шепелева, 2006)
Фокусное расстояние линзы, образованной интегументом и роговицей, и роговицы, мкм, мм	542	31	(Грюссер, 1985; Шепелева, 2006)
Преломляющая сила линзы, образованной интегументом и роговицей, и роговицы, дптр	2511.6*	43.05	(Даниличев, 2009)
Размер хрусталика (неаккомодированный–аккомодированный), мкм, мм	143 × 99	3.6 × 9.0–10 × 5.0	(Шепелева, 2006; Даниличев, 2009)
Радиус кривизны передней/задней поверхности хрусталика (неаккомодированный–аккомодированный), мкм, мм	78/78	10/6.0–5.3/5.3	(Грюссер, 1985; Шепелева, 2006)
Общий показатель преломления хрусталика (неаккомодированный–аккомодированный)	2.0*	1.414–1.424	(Грюссер, 1985)
Градиент показателя преломления хрусталика	–	1.386–1.406	(Atchison, Smith, 2000)
Фокусное расстояние хрусталика (неаккомодированный–аккомодированный), мкм, мм	205	69.91*–40.41*	(Шепелева, 2006)
Преломляющая сила хрусталика (неаккомодированный–аккомодированный), дптр	6585.4*	19.11–33.06	(Даниличев, 2009)
Фокусное расстояние светопреломляющего аппарата глаза (неаккомодированный–аккомодированный), мкм, мм	162	22.79–18.93	(Шепелева, 2006; Даниличев, 2009)
Преломляющая сила светопреломляющего аппарата глаза (неаккомодированный–аккомодированный), дптр	8333.3*	58.64–70.57	(Даниличев, 2009)
Показатель преломления стекловидного тела/водянистой влаги	1.35/–	1.336/1.336	(Atchison, Smith, 2000; Gál et al., 2004)
Светочувствительный аппарат			
Длина светочувствительной части фоторецепторных клеток первого /второго типа и наружного сегмента колбочек, мкм	11/2.3/1.9/2.2	35	(Polyak, 1941; Шепелева, 2006)
Диаметр поперечного сечения светочувствительной части фоторецепторных клеток первого/второго типа и наружного сегмента колбочек, мкм	8.0/5.0/2.5/2.0	1.0	(Polyak, 1941; Шепелева, 2006)
Диаметр микровилл фоторецепторных клеток первого/второго типа и толщина мембранных дисков колбочек, мкм, нм	0.07/0.1/0.1/0.1	15	(Островский, 1978; Шепелева, 2006)
Расстояние между основанием и вершиной выпуклой апикальной поверхности тел фоторецепторных клеток первого типа/основанием и краями вогнутой апикальной поверхности тел фоторецепторных клеток второго типа (соответствует степени погружения в пигментный слой сетчатки), мкм	2.65 ± 0.71*/ 0.49 ± 0.12*/ 0.86 ± 0.12*/ 1.05 ± 0.08* (n = 8/5/5/5)	–	
Расстояние между центрами соседних фоторецепторных клеток первого/второго типа и колбочек, мкм	11/10/13/6	1.5	(Polyak, 1941; Шепелева, 2006)
Пространственная разрешающая способность фоторецепторных клеток первого/второго типа и колбочек (неаккомодированный–аккомодированный), рад ⁻¹	8.5/9.5/7.2/15.8	8681*–7363*	(Шепелева, 2006)

Таблица 1. Окончание

Параметр	<i>Helicigona lapicida</i>	Человек	Ссылки
Светоизолирующий аппарат			
Диаметр апикальной поверхности тел пигментных клеток, мкм	$1.08 \pm 0.62^*$ ($n = 7$)	14	(Cavallotti, Schveoller, 2008)
Число коротких апикальных отростков пигментной клетки и длинных апикальных отростков пигментной клетки вокруг палочки/колбочки	2.0–5.0*	3.0–7.0/30–40	(Афанасьев и др., 2012)
Диаметр коротких апикальных отростков пигментной клетки и длинных апикальных отростков пигментной клетки вокруг палочки/колбочки, мкм	$0.09 \pm 0.03^*$ ($n = 21$)	–	
Длина коротких апикальных отростков пигментной клетки и длинных апикальных отростков пигментной клетки вокруг палочки/колбочки, мкм	$0.46 \pm 0.08^*$ ($n = 13$)	3.0/5.0–7.0	(Cavallotti, Schveoller, 2008)
Размер пигментных гранул, мкм	0.2–0.8	1.0 × 2.0–3.0	(Cavallotti, Schveoller, 2008; Шепелева, 2017)
Толщина пигментного слоя сетчатки, мкм	$27.1 \pm 0.98^*$ ($n = 5$)	12	(Cavallotti, Schveoller, 2008)

Примечание. * – параметры измерены или рассчитаны автором на основе данных из указанных работ. Все параметры фоторецепторных и пигментных клеток даны для центральной области сетчатки у *H. lapicida* и фовеолы у человека.

мируются изображения объектов окружающей среды (Atchison, Smith, 2000; Шепелева, 2006; Даниличев, 2009).

У *H. lapicida* камерные глаза расположены на вершинах пары сократимых щупалец под интегу-

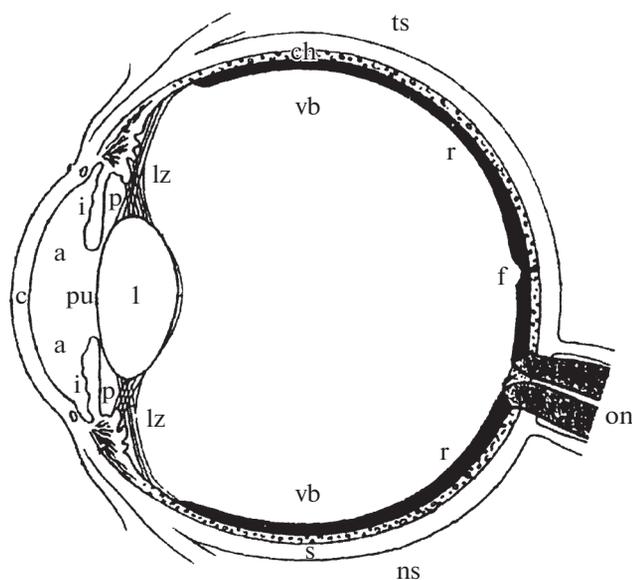


Рис. 2. Схематичное изображение глаза человека (по: Грюссер, 1985, с изменениями). Обозначения: с – роговица, а – передняя камера, i – радужка, пу – зрачок, р – задняя камера, l – хрусталик, lz – циннова связка, vb – стекловидное тело, r – сетчатка, f – фовеа, ch – сосудистая оболочка, s – склера, on – зрительный нерв, ns – назальная сторона, ts – темпоральная сторона.

ментом, который имеет искривленную поверхность. Поэтому у *H. lapicida* первым компонентом светопреломляющего аппарата глаза является интегумент, тогда как другими компонентами – структуры глаза – роговица и хрусталик (Шепелева, 2006). Однако у брюхоногих моллюсков интегумент и роговица – линзы, которые имеют одинаковый показатель преломления и вплотную прилегают друг к другу (Gál et al., 2004). Следовательно, интегумент и роговицу можно рассматривать как одну линзу, а светопреломляющий аппарат глаза *H. lapicida* как состоящий из двух линз: линзы, образованной интегументом и роговицей, и хрусталика (рис. 1) (Шепелева, 2006). Светопреломляющий аппарат глаза человека представлен двумя линзами – роговицей и хрусталиком (рис. 2) (Atchison, Smith, 2000; Даниличев, 2009). У *H. lapicida* обе линзы имеют постоянную преломляющую силу. Так, рассчитанная величина преломляющей силы линзы, образованной интегументом и роговицей, составляет 2511.6 дптр, хрусталика – 6585.4 дптр (табл. 1). У человека роговица имеет постоянную преломляющую силу, тогда как хрусталик – переменную, поскольку способен к аккомодации, в процессе которой меняются его форма и размер, а также форма преломляющих поверхностей и радиус их кривизны (Atchison, Smith, 2000; Даниличев, 2009). Так, величина преломляющей силы роговицы достигает 43.05 дптр, преломляющей силы хрусталика варьирует от 19.11 до 33.06 дптр (табл. 1) (Даниличев, 2009). У *H. lapicida* преломляющая сила линзы, образованной интегументом и роговицей, меньше преломляющей силы хрусталика. У человека, наоборот, преломляющая сила роговицы превосходит таковую хрусталика. Поэтому у *H. lapicida* до-

минирующим преломляющим компонентом в составе светопреломляющего аппарата глаза является хрусталик, у человека — роговица (Atchison, Smith, 2000; Даниличев, 2009).

Интегумент у *H. lapicida* покрывает роговицу, которая у *H. lapicida* и человека является меньшим передним отделом оболочки глаз; интегумент совместно с роговицей выполняют защитную функцию по отношению к хрусталику. Линза, образованная интегументом и роговицей у *H. lapicida*, и роговица у человека представляют собой выпукло-вогнутые прозрачные и бесцветные линзы. У *H. lapicida* роговица имеет полусферическую форму преломляющих поверхностей, у человека — асферическую форму, которая способствует сведению параксиальных и периферических лучей к общему фокусу и тем самым ослаблению сферической аберрации глаза (Doggart, 1959; Land, 1981; Atchison, Smith, 2000; Шепелева, 2006; Даниличев, 2009). Показатель преломления роговицы у *H. lapicida* не определен. У других видов брюхоногих моллюсков наравне с интегументом его принимают равным 1.4, у человека он составляет 1.376 (табл. 1) (Atchison, Smith, 2000; Gál et al., 2004). Интегумент у *H. lapicida* состоит из эпидермиса, который образован одним слоем эпителиальных клеток, лежащих на базальной мембране, и дермы; роговица образована одним слоем эпителиальных клеток, расположенных на базальной мембране (Шепелева, 2006). В роговице человека различают шесть слоев: поверхностный слой, образованный многослойным эпителием; переднюю пограничную мембрану; строму, представляющую собой соединительную ткань; слой Дюа — тонкий высокопрочный слой коллагена; заднюю пограничную мембрану; слой эндотелиальных клеток (Atchison, Smith, 2000; Даниличев, 2009; Dua et al., 2013). Биохимический состав роговицы *H. lapicida* так же, как других видов брюхоногих моллюсков, неизвестен, поэтому сравнить его с биохимическим составом роговицы человека пока не представляется возможным. Тем не менее роговица *H. lapicida* должна содержать кристаллины. Кристаллины представляют собой семейства белков, которые входят в состав роговиц и хрусталиков всех исследованных видов беспозвоночных и позвоночных, где создают и поддерживают прозрачность линз, градиент показателя преломления хрусталиков, а также поглощают вредное для глаз ультрафиолетовое излучение (Piatigorsky, 1998). Кристаллины присутствуют и в роговице человека, которая также содержит воду, другие неорганические и органические соединения и вещества (Piatigorsky, 1998). Известно, что содержание воды в ткани, которая хорошо поглощает инфракрасное излучение, коррелирует с ее показателем преломления и наоборот (Remé et al., 1996; Tuchin, 2015). У человека роговица содержит в среднем 78% воды (Taylour et al., 2015). Исходя из содержания воды в роговице и хрусталике человека, а также величины показателя преломления роговицы и хрусталика чело-

века и роговицы *H. lapicida*, можно предположить, что последняя содержит более 60, но менее 70% воды. Роговица *H. lapicida*, наравне с роговицами других беспозвоночных и позвоночных, с большой долей вероятности способна поглощать ультрафиолетовое излучение с длинами волн короче 300 нм, а также инфракрасное излучение (Douglas, Marshall, 1999). У человека роговица полностью поглощает ультрафиолетовое излучение с длинами волн короче 300 нм и инфракрасное излучение с длинами волн длиннее 2500 нм (Boettner, Walter, 1962).

Хрусталик у *H. lapicida* лежит в непосредственной близости от роговицы и сетчатки и занимает всю полость глаза, у человека находится на расстоянии от роговицы и занимает незначительную часть полости глазного яблока. Хрусталик *H. lapicida* и человека — двояковыпуклая прозрачная линза сравнительно мягкой консистенции и разной окрашенности: бесцветная у *H. lapicida* и бледно-желтая у человека, благодаря чему ослабляет электромагнитное излучение фиолетово-синей части спектра и, следовательно, хроматическую аберрацию глаза (Зак, Островский, 1995; Atchison, Smith, 2000; Шепелева, 2006; Weeber et al., 2007; Даниличев, 2009). У *H. lapicida* хрусталик имеет форму сжатого эллипсоида, а его преломляющие поверхности — асферическую форму (Шепелева, 2006). У человека в покое аккомодации хрусталик имеет форму сжатого эллипсоида с уплощенной передней и выпуклой задней поверхностями, кривизна которых уменьшается от центральной зоны к периферической, тогда как при максимальном напряжении аккомодации хрусталик становится округлым, а обе его поверхности — более выпуклыми и равной кривизны (Atchison, Smith, 2000; Даниличев, 2009). Хрусталик *H. lapicida* не имеет оболочки и характеризуется зернистой структурой, которая обусловлена его секреторным происхождением. Рассчитанная величина показателя преломления хрусталика составляет 2.0 (табл. 1). Она значительно превышает максимально возможную величину показателя преломления кристаллинов хрусталиков — 1.530 (Land, 1981). Значительное расхождение в величине показателей преломления указывает на присутствие в хрусталике *H. lapicida* градиента показателя преломления. Также о нем свидетельствуют отчетливые изображения тестовых объектов, формируемые изолированными хрусталиками моллюска (Шепелева, 2006). Градиент показателя преломления линзы, как и ее асферическая поверхность, способствует ослаблению сферической аберрации глаза (Land, 1981). В хрусталике человека различают капсулу; слой эпителиальных клеток на внутренней передней поверхности капсулы и вещество хрусталика из веретеновидных эпителиальных клеток. Последние образуют слои разной плотности с переменным показателем преломления — от 1.386 на периферии до 1.406 в центре (табл. 1) (Atchison, Smith, 2000; Даниличев, 2009). Биохимический состав хрусталика

H. lapicida и других видов брюхоногих моллюсков не определен, поэтому сравнить его с биохимическим составом хрусталика человека пока не представляется возможным. Однако на примере двух видов морских брюхоногих моллюсков показано, что хрусталик содержит кристаллины и может содержать гликозаминогликаны. Последние присутствуют в хрусталике человека, который также содержит воду, другие неорганические и органические соединения и вещества (Cox et al., 1991; Katagiry N., Katagiry Y., 1998; Piatigorsky, 1998). Содержание воды в хрусталике человека составляет примерно 69% на периферии и 63% в центре (Fisher, Pettet, 1973). Высказать предположение о содержании воды в хрусталике *H. lapicida* на основании величины показателя преломления не представляется возможным, поскольку величина этого параметра не известна. Измеренная величина показателя преломления хрусталиков некоторых видов морских брюхоногих моллюсков варьирует в направлении от периферии к центру от 1.40 до 1.51 или от 1.40 до 1.45 (Hamilton, 1991). По сравнению с морскими моллюсками хрусталик *H. lapicida* имеет более мягкую консистенцию, схожую с таковой хрусталика человека. Известно, что консистенция линзы коррелирует с величиной показателя преломления и, соответственно, содержанием воды в ней (Land, 1981). Поэтому можно предположить, что содержание воды в хрусталике *H. lapicida* схоже с содержанием воды в хрусталике человека. У *H. lapicida*, наравне с другими беспозвоночными и позвоночными, хрусталик с большой долей вероятности способен поглощать ультрафиолетовое излучение с длинами волн короче 300 нм, а также инфракрасное излучение (Douglas, Marshall, 1999). У человека хрусталик полностью поглощает ультрафиолетовое излучение с длинами волн короче 300 нм и инфракрасное излучение с длинами волн длиннее 1900 нм (Boettner, Walter, 1962).

У *H. lapicida* светопреломляющий аппарат глаза создает отчетливое изображение на светочувствительном слое трех из четырех видов фоторецепторных клеток (Шепелева, 2006). У человека в покое аккомодации, в зависимости от положения главного фокуса по отношению к сетчатке, различают два вида клинической рефракции: эметропию — соразмерную рефракцию, когда длина переднезадней оси глаза совпадает с длиной фокусного расстояния его светопреломляющего аппарата и фокус располагается на сетчатке; и аметропию — несоразмерную рефракцию, когда фокус располагается за пределами сетчатки. Последняя бывает трех видов: миопия, при которой лучи фокусируются перед сетчаткой; гиперметропия, при которой лучи фокусируются за сетчаткой; астигматизм — различие в преломляющей силе роговицы и/или хрусталика во взаимно перпендикулярных меридианах, при котором образуется два фокуса (Даниличев, 2009).

Таким образом, светопреломляющий аппарат камерных глаз *H. lapicida* и человека содержит

больше одинаковых компонентов, которые имеют больше одинаковых свойств и выполняют больше одинаковых функций (табл. 2).

Светочувствительный аппарат камерных глаз *Helicigona lapicida* и человека

Светочувствительный аппарат камерных глаз *H. lapicida* и человека образован фоторецепторными клетками, которые поглощают электромагнитное излучение в видимой части спектра и преобразуют его энергию в энергию нервных импульсов (Хьюбел, 1990).

У *H. lapicida* фоторецепторные клетки представлены одним цитологическим типом — микровиллярным и двумя морфологическими типами — первым и вторым. В свою очередь, клетки первого типа представлены одним видом, клетки второго типа — тремя видами. Фоторецепторные клетки состоят из светочувствительной части, тела и аксона. Клетки первого типа характеризуются длинным и широким пучком микровилл полусферической формы на выпуклой апикальной поверхности, клетки второго типа — значительно более коротким и узким пучком микровилл приблизительно такой же формы на вогнутой апикальной поверхности. Три вида клеток второго типа различаются между собой длиной и диаметром пучка микровилл, а также степенью вогнутости апикальной поверхности (табл. 1) (Шепелева, 2006). У человека фоторецепторные клетки также представлены одним цитологическим типом — цилиарным — и двумя морфологическими типами — палочками и колбочками. Палочки представлены одним видом, колбочки — тремя видами. Палочки и колбочки состоят из светочувствительного наружного сегмента, который образован стопками мембранных дисков, соединительной реснички, внутреннего сегмента, ядерной части и синаптической области с нейронами второго порядка. Палочки имеют длинный и тонкий наружный сегмент цилиндрической формы, колбочки — более короткий и толстый наружный сегмент конической формы (табл. 1) (Хьюбел, 1990; Даниличев, 2009). У *H. lapicida* фоторецепторные клетки первого типа имеют более высокую чувствительность к свету, чем клетки второго типа, но оба типа клеток имеют низкую чувствительность и могут функционировать при дневном освещении (Шепелева, 2006). У человека палочки имеют высокую чувствительность и работают при ночном и сумеречном освещении, а также с меньшей эффективностью — при дневном освещении, тогда как колбочки имеют низкую чувствительность и работают при дневном и сумеречном освещении (Даниличев, 2009; Tikji-Hamburyan et al., 2017). У *H. lapicida* природа зрительного пигмента не определена и спектральная чувствительность фоторецепторных клеток глаза не оценена. Однако исследования, выполненные при помощи разных методов на других видах брюхоногих моллюсков,

Таблица 2. Сходства и различия между светопреломляющим, светочувствительным и светоизолирующим аппаратом камерных глаз *Helicigona lapicida* и человека

Состав, свойства и функции компонентов	Сходства (+) и различия (–)
Светопреломляющий аппарат	
<i>Состав</i>	
Интегумент	–
Роговица	+
Хрусталик	+
Линза, образованная интегументом и роговицей, и роговица	
<i>Свойства</i>	
Расположение	+
Размер относительно размера оболочки глаза	+
Вид линзы	+
Прозрачность	+
Пигментация	+
Форма преломляющих поверхностей	–
Показатель преломления	+
Строение	–
<i>Функции</i>	
Светопреломляющая	+
Светопроводящая	+
Защитная	+
Ослабление сферической аберрации	–
Светофильтр для УФ- и ИК-излучения	+
Хрусталик	
<i>Свойства</i>	
Расположение в глазной полости	–
Размер относительно размера глаза	–
Вид линзы	+
Прозрачность	+
Консистенция	+
Пигментация	–
Форма	+/–
Форма преломляющих поверхностей	+
Строение	–
Показатель преломления	–
Градиент показателя преломления	+
<i>Функции</i>	
Светопреломляющая	+
Светопроводящая	+
Ослабление хроматической аберрации	–
Участие в аккомодации	–
Ослабление сферической аберрации	+
Светофильтр для УФ- и ИК-излучения	+
Светочувствительный аппарат	
<i>Состав</i>	
Фоторецепторные клетки	+

Таблица 2. Продолжение

Состав, свойства и функции компонентов	Сходства (+) и различия (–)
<i>Свойства</i>	
Число цитологических типов	+
Цитологический тип	–
Число морфологических типов	+
Морфологический тип	–
Число морфологических видов	+
Морфологический вид	–
Строение	–
Чувствительность к свету	+/-
Зрительный пигмент	+/-
Максимум чувствительности зрительных пигментов	+/-
Расположение в сетчатке	–
Расположение в зрительной части сетчатки	+
Расположение двух типов фоторецепторных клеток в центральной и периферической области зрительной части	+/-
Область с максимальной пространственной разрешающей способностью фоторецепторных клеток	+/-
Различие в пространственной разрешающей способности между фоторецепторными клетками	–
<i>Функции</i>	
Восприятие и кодирование стимулов	+
Рабочий диапазон	+/-
Цветовое зрение	+/-
Пространственная разрешающая способность	–
Светоизолирующий аппарат	
<i>Состав</i>	
Пигментные клетки	+
<i>Свойства</i>	
Строение	+/-
Расположение пигментных гранул в пигментных клетках	+/-
Форма пигментных гранул	–
Порядок расположения пигментных гранул	–
Экранирующий пигмент	+
Образование пигментного слоя сетчатки	–
Расположение пигментного слоя в сетчатке	–
Расположение пигментных клеток в зрительной и незрительной части сетчатки	+
Расположение пигментных клеток по отношению к фоторецепторным клеткам	–
Изоляция светочувствительных частей фоторецепторных клеток при помощи отростков пигментных клеток	–
Погружение фоторецепторных клеток в пигментный слой сетчатки	–
<i>Функции</i>	
Поглощение света	+/-
Опорная	+
Транспортная	+
Секреторная	+

Таблица 2. Окончание

Состав, свойства и функции компонентов	Сходства (+) и различия (–)
Антиоксидантная	–
Восстановление зрительного пигмента	–
Фагоцитоз дисков наружных сегментов палочек и колбочек	–

указывают на принадлежность их зрительных пигментов к классу родопсинов с максимумом чувствительности к излучению с длиной волны в диапазоне 475–500 нм и на монохроматическое зрение (Menzel, 1979; Land, 1981; Шепелева, 2013а, б; Shepeleva, 2019). У человека в палочках находится зрительный пигмент родопсин с максимумом чувствительности к излучению с длиной волны около 510 нм. Поэтому палочки обеспечивают монохроматическое зрение. Каждый вид колбочек содержит зрительный пигмент йодопсин с собственным максимумом чувствительности, в соответствии с которым получил свое название. Так, колбочки, которые содержат цианолаб с наибольшей чувствительностью около 430 нм, называются коротковолновыми; те, у которых обнаружен хлоролаб с максимальной чувствительностью около 530 нм – средневолновыми; и те, которые содержат эритролаб с наибольшей чувствительностью около 560 нм – длинноволновыми. Три вида колбочек обеспечивают цветное зрение человека (Хьюбел, 1990; Ignatov, Mosin, 2014). Однако существуют люди с нарушенным цветовосприятием – монохроматы и дихроматы, а также такие, которые способны различать большее, чем трихроматы, количество цветов – тетрахроматы (Jordan et al., 2010).

У *H. lapicida* фоторецепторные клетки занимают все четыре слоя сетчатки: микровиллярный слой, образованный микровиллами фоторецепторных клеток; пигментный и соматический слои, включающие апикальные и базальные части фоторецепторных клеток соответственно; и плексиформный слой, содержащий аксоны фоторецепторных клеток. У человека фоторецепторные клетки находятся на уровне четырех из десяти слоев сетчатки: слоя палочек и колбочек, состоящего из наружных и внутренних сегментов этих клеток; наружной пограничной мембраны; наружного ядерного слоя, содержащего ядерную часть палочек и колбочек; и наружного плексиформного слоя – синаптической зоны между фоторецепторными и биполярными клетками (Хьюбел, 1990; Schubert, 2014). У *H. lapicida* и человека фоторецепторные клетки расположены в зрительной части сетчатки, которая разделена на центральную и периферическую области (Даниличев, 2009). Обе области являются однородными у *H. lapicida* и подделены на зоны у человека (Schubert, 2014). Так, у человека центральная область сетчатки (макула) содержит фовеа (центральную ямку), в которой выделяют фовеолу

(дно) с центром (умбо), склон и утолщенный край, и которая окружена парафовеа и перифовеа (рис. 2). В периферической области по мере удаления от центральной области различают ближнюю, среднюю, дальнюю и крайнюю периферию (Schubert, 2014). У *H. lapicida* в каждой области сетчатки находятся фоторецепторные клетки первого и второго типа. У человека фовеола не содержит палочек и коротковолновых колбочек, а заполнена только средневолновыми и длинноволновыми колбочками. В остальных зонах центральной области сетчатки так же, как во всех зонах периферической области, фоторецепторные клетки представлены палочками и тремя видами колбочек (Schubert, 2014). У *H. lapicida* область с максимальной плотностью расположения и, соответственно, с максимальной пространственной разрешающей способностью фоторецепторных клеток является вся центральная область, у человека – зона центральной области, фовеола (Schubert, 2014). В центральной области у *H. lapicida* пространственная разрешающая способность фоторецепторных клеток первого типа ниже, чем двух из трех видов фоторецепторных клеток второго типа (табл. 1). В фовеоле у человека пространственная разрешающая способность средневолновых и длинноволновых колбочек идентична, поскольку клетки имеют одинаковые параметры (табл. 1). За пределами фовеолы, где появляются палочки, их пространственная разрешающая способность ниже таковой колбочек (Land, 1981).

Таким образом, светочувствительный аппарат камерных глаз *H. lapicida* и человека состоит из одинаковых компонентов, которые имеют больше разных свойств и выполняют поровну одинаковых и разных функций (табл. 2).

Светоизолирующий аппарат камерных глаз *Helicigona lapicida* и человека

Светоизолирующий аппарат камерных глаз *H. lapicida* и человека представлен пигментными клетками, которые предназначены для поглощения света, рассеянного тканями глаза, и предотвращения его распространения между светочувствительными частями соседних фоторецепторных клеток. У некоторых беспозвоночных и позвоночных, включая человека, эта функция реализуется при помощи апикальных отростков пигментных клеток, которые окружают светочувствительную часть каждой фоторецепторной

клетки и в которые под действием света перемещаются гранулы экранирующего пигмента (Eakin, 1972; Dontsov, Ostrovsky, 2019).

У *H. lapicida* пигментные клетки состоят из тела и одного вида коротких тонких апикальных отростков, похожих на микровиллы. У человека пигментные клетки состоят из тела и двух видов апикальных отростков: коротких, которые взаимодействуют с концами наружных сегментов палочек и колбочек, и длинных, которые располагаются между наружными сегментами палочек и колбочек (табл. 1) (Афанасьев и др., 2012). У *H. lapicida* и человека пигментные клетки содержат гранулы, заполненные экранирующим пигментом. У *H. lapicida* большинство гранул сосредоточено в апикальной части тел пигментных клеток, у человека – в апикальной части тел и длинных апикальных отростках (Cavallotti, Schveoller, 2008). У *H. lapicida* гранулы экранирующего пигмента имеют сферическую и округлую форму и располагаются в произвольном порядке. У человека демонстрируют сигарообразную форму и в большинстве случаев ориентированы вертикально и параллельно друг другу (табл. 1) (Boulton, Dayhaw-Barker, 2001). Природа экранирующего пигмента сетчатки глаза *H. lapicida* не определена. Однако экранирующий пигмент других представителей брюхоногих моллюсков относят к классу меланинов (Бобкова, 1996). У человека экранирующий пигмент сетчатки глаза является меланином (Cavallotti, Schveoller, 2008).

У *H. lapicida* апикальные части тел пигментных клеток в совокупности образуют пигментный слой сетчатки, который располагается между микровиллярным и соматическим слоем. У человека сами пигментные клетки образуют в сетчатке отдельный слой пигментного эпителия между слоем палочек и колбочек и сосудистой оболочкой (табл. 1) (Cavallotti, Schveoller, 2008). У *H. lapicida* и человека пигментные клетки расположены в зрительной и незрительной части сетчатки (Даниличев, 2009). В зрительной части сетчатки у *H. lapicida* пигментные клетки распределены таким образом, что несколько пигментных клеток окружают одну фоторецепторную клетку. Пигментные клетки не имеют длинных апикальных отростков, подходящих для изоляции светочувствительных частей фоторецепторных клеток и поглощения рассеянного света. Поэтому фоторецепторные клетки первого типа изолированы друг от друга пигментными клетками только на уровне клеточных тел, но не светочувствительных частей. Светочувствительные части фоторецепторных клеток второго типа в большей или меньшей степени погружены в пигментный слой сетчатки, что, возможно, следует рассматривать как альтернативный способ достижения их частичной изоляции друг от друга и реализации функций поглощения рассеянного света (табл. 1) (Шепелева, 2021). У *H. lapicida*, как у представителя группы брюхоногих моллюсков, пигментные клетки по отношению к фоторецепторным клет-

кам выполняют еще опорную и транспортную функции. Также в пигментных клетках синтезируются вещества, которые секретуются и транспортируются в полость глаз, где из них формируются хрусталик и стекловидное тело (Eakin, 1972). Последнее служит опорой для погруженных в него микровилл фоторецепторных клеток. У человека клетки пигментного эпителия своей апикальной поверхностью обращены к наружным сегментам палочек и колбочек. Концы наружных сегментов палочек достигают апикальной поверхности клеток пигментного эпителия, колбочек – нет (Anderson et al., 1978). Длинные апикальные отростки пигментных клеток охватывают и изолируют друг от друга наружные сегменты палочек и колбочек (Strauss, 2005; Dontsov, Ostrovsky, 2019). Отростки, которые контактируют с палочками, имеют цилиндрическую форму и покрывают только верхушку наружного сегмента, в то время как отростки, которые контактируют с колбочками, устроены сложнее и могут проникать глубже в межфоторецепторный матрикс (Boulton, Dayhaw-Barker, 2001). Отростки колбочек представляют собой пальцевидные выросты, которые становятся трубчатыми, когда достигают верхушек их наружных сегментов. Отростки расширяются, чтобы покрыть верхушки, и продолжают вниз по наружному сегменту до одной трети его длины. Некоторые из отростков могут быть расположены концентрически, образуя многослойную оболочку вокруг наружного сегмента колбочки (Anderson et al., 1978). Помимо поглощения рассеянного света клетки пигментного эпителия выполняют антиоксидантную, опорную и транспортную функции, функции восстановления зрительного пигмента и фагоцитоза дисков наружных сегментов палочек и колбочек, а также секреторную функцию (Strauss, 2005; Афанасьев и др., 2012; Dontsov, Ostrovsky, 2019).

Таким образом, светоизолирующий аппарат камерных глаз *H. lapicida* и человека состоит из одинаковых компонентов, которые имеют больше разных свойств и выполняют поровну одинаковых и разных функций (табл. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнительный анализ светопреломляющего, светочувствительного и светоизолирующего аппарата камерных глаз наземного брюхоножного моллюска *H. lapicida* и человека, выполненный на основе собственных и литературных данных, позволил выявить между ними сходства и различия. Последние наблюдаются в составе аппаратов глаз, а также свойствах и функциях их компонентов. Светопреломляющий аппарат состоит из одинаковых и разных компонентов, но содержит больше одинаковых, тогда как светочувствительный и светоизолирующий аппараты состоят из одинаковых компонентов. Компоненты светопреломляющего аппарата имеют больше

одинаковых свойств, светочувствительного и светоизолирующего аппаратов — наоборот — больше разных свойств. Компоненты светопреломляющего аппарата выполняют больше одинаковых функций, светочувствительного и светоизолирующего аппаратов — поровну одинаковых и разных функций. В целом из трех рассмотренных аппаратов камерных глаз *H. lapicida* и человека больше сходств, чем различий, обнаружено у светопреломляющего аппарата, и больше различий, чем сходств — у светочувствительного и светоизолирующего аппаратов.

Автор благодарит проф. Э.Дж. Ворранта за предоставленную возможность проведения исследований на кафедре биологии клетки и организма Университета Лунда, М. Соренссона за доставку моллюсков с о. Эланд и заведующую лабораторией электронной микроскопии Р. Валлен за помощь в изготовлении ультратонких срезов глаз моллюсков.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 гг. (ГП-14, раздел 63) и Университета Лунда.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Афанасьев Ю.И., Юрина Н.А., Котовский Е.Ф., 2012. Гистология, эмбриология, цитология. М.: ГЕОТАР-Медиа. 800 с.
- Бобкова М.В., 1996. Форма сетчатки, структура хрусталика и природа экранирующего пигмента глаза *Lymnaea stagnalis* // Журн. эвол. биохим. физиол. № 1. С. 109–112.
- Грюссер О., 1985. Зрение и движения глаз // Физиология человека / Под ред. Шмидта Р., Тевса Г. М.: Мир. С. 90–105.
- Даниличев В.Ф., 2009. Современная офтальмология. СПб.: Питер. 688 с.
- Зайцева О.В., 2000. Организация сенсорных систем брюхоногих моллюсков: принцип структурно-функционального параллелизма развития. Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. СПб.: СПбГУ. 33 с.
- Зак П.П., Островский М.А., 1995. Желтизна оптических сред глаза в физиологии и патологии человеческого зрения // Сенсорные системы. Т. 9. № 1. С. 9–20.
- Кэндел Э., 1982. Малые системы нейронов. Мозг. М.: Мир. 280 с.
- Лакин Г.Ф., 1990. Биометрия. М.: Высш. школа. 351 с.
- Островский М.А., 1978. Фоторецепторные клетки. М.: Знание. 64 с.
- Хьюбел Д., 1990. Глаз, мозг, зрение. М.: Мир. 239 с.
- Черноризов А.М., Шехтер Е.Д., Греченко Т.Н., Гарусев А.В., 2009. Психофизиология ахроматического зрения: от простых нервных систем к человеку // Психология человека в современном мире. Т. 4. М.: Ин-т психологии РАН. С. 370–377.
- Шепелева И.П., 2006. Глаз наземного брюхоногого моллюска *Helicigona lapicida* (Pulmonata: Stylommatophora) // Сенсорные системы. Т. 20. № 1. С. 52–58.
- Шепелева И.П., 2011. Камерные глаза брюхоногих моллюсков // Вестн. Мордовского ун-та. № 4. С. 230–239.
- Шепелева И.П., 2013а. Сравнительный анализ камерных глаз брюхоногих моллюсков и человека // Сенсорные системы. Т. 27. № 4. С. 317–326.
- Шепелева И.П., 2013б. Спектральная чувствительность глаза брюхоногого легочного моллюска *Radix peregra* (Müller, 1774) (Basommatophora, Lymnaeidae) // Ruthenica. V. 23. № 2. P. 177–180.
- Шепелева И.П., 2017. Экранирующий пигмент камерных глаз стебельчатоглазых моллюсков (Pulmonata, Stylommatophora) с разными световыми предпочтениями // Ruthenica. V. 27. № 3. P. 133–140.
- Шепелева И.П., 2018а. Дифракция в камерных глазах брюхоногих моллюсков и человека // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. Т. 104. № 2. С. 31–38.
- Шепелева И.П., 2018б. Сравнительный анализ разрешающей способности камерных глаз брюхоногих моллюсков и человека // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. Т. 104. № 4. С. 412–424.
- Шепелева И.П., 2018в. Морфологические и оптические свойства и эволюционные изменения хрусталиков глаз наземных брюхоногих моллюсков (Pulmonata, Stylommatophora) // Ruthenica. V. 28. № 1. P. 33–38.
- Шепелева И.П., 2018г. Морфологические и оптические свойства и эволюционные изменения щупальцевого эпидермиса и роговицы глаз наземных брюхоногих моллюсков (Pulmonata, Stylommatophora) // Ruthenica. V. 28. № 4. P. 151–156.
- Шепелева И.П., 2020. Клеточный состав, морфологическая характеристика и эволюционные изменения фоторецепторного аппарата камерных глаз наземных брюхоногих моллюсков (Heterobranchia, Stylommatophora) // Ruthenica. V. 30. № 2. P. 93–101.
- Шепелева И.П., 2021. Светоизолирующий аппарат камерного глаза наземного брюхоногого моллюска *Arion rufus* (Heterobranchia, Stylommatophora) // Ruthenica. V. 31. № 1. P. 39–49.
- Anderson D.H., Fisher S.K., Steinberg R.H., 1978. Mammalian cones: Disc shedding, phagocytosis, and renewal // Assoc. Res. Vis. Ophthalmol. V. 17. № 2. P. 117–133.
- Atchison D.A., Smith G., 2000. Optics of the Human Eye. Oxford: Butterworth-Heinemann. 269 p.
- Bekerman I., Gottlieb P., Vaiman M., 2014. Variations in eyeball diameters of the healthy adults // J. Ophthalmol. V. 2014. P. 503645.
- Boettner E.A., Walter J.R., 1962. Transmission of the ocular media // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. V. 1. № 6. P. 776–783.
- Boulton M., Dayhaw-Barker P., 2001. The role of the retinal pigment epithelium: Topographical variation and ageing changes // Eye. V. 15. P. 384–389.
- Cavallotti C.A.P., Schveoller M., 2008. Aging of the retinal pigmented epithelium // Age-related Changes of the Human Eye / Eds Cavallotti C.A.P., Cerulli L. Totowa: Humana Press. P. 203–215.
- Chernorizov A.M., Sokolov E.N., 2010. Mechanisms of achromatic vision in invertebrates and vertebrates: A comparative study // Span. J. Psychol. V. 13. № 1. P. 18–29.
- Cox R.L., Glick D.L., Strumwasser F., 1991. Isolation and sequence identification of *Aplysia californica* lens crystallins // Biol. Bull. V. 181. P. 333–335.
- Doggart J.H., 1959. Significance of color change in the cornea // Br. J. Ophthalmol. V. 43. № 13. P. 13–20.
- Dontsov A.E., Ostrovsky M.A., 2019. Screening eye pigments as natural antioxidants // Antioxidants in Systems of Varying Complexity. Chemical, Biochemical and Biological Aspects / Eds Shishkina L.N., Goloshchapov A.N.,

- Weisfeld L.I. Oakville: Apple Academic Press Inc. P. 141–179.
- Douglas R.H., Marshall N.J., 1999. A review of vertebrate and invertebrate ocular filters // Adaptive Mechanisms in the Ecology of Vision / Eds Archer S.N., Djamgoz M.B.A., Loew E.R., Partridge J.C., Vallerga S. Dordrecht: Springer. P. 95–162.
- Dua H.S., Faraj L.A., Said D.G., Gray T., Lowe J., 2013. Human corneal anatomy redefined: A novel pre-Desceemet's layer (Dua's layer) // Ophthalmology. V. 120. № 9. P. 1778–1785.
- Eakin R.M., 1972. Structure of invertebrate photoreceptors // Photochemistry of Vision / Ed. Dartnall H.J.A. Berlin; Heidelberg; N.Y.: Springer-Verlag. P. 625–684.
- Fisher R.F., Pettet B.E., 1973. Presbyopia and the water content of the human crystallin lens // J. Physiol. V. 234. P. 443–447.
- Gál J., Bobkova M.V., Zhukov V.V., Shepeleva I.P., Meyer-Rochow V.B., 2004. Fixed focal-length optics in pulmonate snails (Mollusca, Gastropoda): Squaring phylogenetic background and ecophysiological needs (II) // Invert. Biol. V. 123. № 2. P. 116–127.
- Hamilton P.V., 1991. Variation in sense organ design and associated sensory capabilities among closely related mollusks // Am. Malacol. Bull. V. 9. № 1. P. 89–98.
- Jordan J., Deeb S.S., Bosten J.M., Mollon J.D., 2010. The dimensionality of color vision in carriers of anomalous trichromacy // J. Vision. V. 10. № 8. P. 1–19.
- Ignatov I., Mosin O., 2014. Studying of phototransformation of light signal by photoreceptor pigments – rhodopsin, iodopsin and bacteriorhodopsin // Eur. J. Mol. Biotechnol. V. 5. № 3. P. 104–119.
- Katagiry N., Katagiry Y., 1998. Fine structure of the dioptic apparatus in the stalk eye of *Onchidium verriculatum* (Gastropoda, Stylommatophora): A distinct lamellar substructure of the lens // Zoomorphology. V. 118. P. 13–21.
- Land M.F., 1981. Optics and vision in invertebrates // Vision in Invertebrates / Ed. Autrum H. Berlin; Heidelberg; N.Y.: Springer-Verlag. P. 471–592.
- Menzel R., 1979. Spectral sensitivity and colour vision in invertebrates // Comparative Physiology and Evolution of Vision in Invertebrates / Ed. Autrum H. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag. P. 504–566.
- Messenger J.B., 1981. Comparative physiology of vision in molluscs // Comparative Physiology and Evolution of Vision in Invertebrates / Ed. Autrum H. Berlin; Heidelberg; N.Y.: Springer-Verlag. P. 93–200.
- Piatigorsky J., 1998. Gene sharing in lens and cornea: Facts and implications // Prog. Ret. Eye Res. V. 17. № 2. P. 145–174.
- Polyak S.L., 1941. The Retina. Chicago: Univ. Chicago Press. 607 p.
- Remé C., Reinboth J., Clausen M., Hafezi F., 1996. Light damage revisited: Converging evidence, diverging views? // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. V. 234. P. 2–11.
- Schubert H.D., 2014. Structure of the neural retina // Ophthalmology / Eds Yanoff M., Duker J.S. Edinburgh: Elsevier. P. 419–423.
- Shepeleva I.P., 2018. Spherical aberration of camera-like eyes // J. Opt. Technol. V. 85. № 8. P. 507–510.
- Shepeleva I.P., 2019. A comparative analysis of the camera-like eyes of gastropod mollusks and humans // Neural Networks and Neurotechnologies / Eds Shelepin Y., Ogorodnikova E., Solovyev N., Yakimova E. St. Petersburg: VVM. P. 85–92.
- Smith W.J., 2000. Modern Optical Engineering. N.Y.: McGraw-Hill. 641 p.
- Stone R.A., Flitcroft D.I., 2004. Ocular shape and myopia // Ann. Acad. Med. Singap. V. 33. № 1. P. 7–15.
- Strauss O., 2005. The retinal pigment epithelium in visual function // Physiol. Rev. V. 85. P. 845–881.
- Tang M., Chen A., Li Y., Huan D., 2010. Corneal power measurement with Fourier-domain optical coherence tomography // J. Cataract. Refract. Surg. V. 36. № 12. P. 2115–2122.
- Taylor Z.D., Garritano J., Sung S., Bajwa N., Nowroozi B. et al., 2015. THz and mm-wave sensing of corneal tissue water content: Electromagnetic modelling and analysis // IEEE Trans. Terahertz Sci. Technol. V. 5. № 2. P. 170–183.
- Tikiji-Hamburyan A., Reinhard R., Storchi R., Dietter J., Seitter H. et al., 2017. Rods progressively escape saturation to drive visual responses in daylight conditions // Nat. Commun. V. 8. P. 1–17.
- Tuchin V.V., 2015. Tissue optics and photonics: Light-tissue interaction // J. Biomed. Photonics Eng. V. 1. № 2. P. 98–134.
- Weeber H.A., Eckert G., Pechhold W., Heijde R.G.L., van der, 2007. Stiffness gradient in the crystalline lens // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. V. 245. P. 1357–1366.

Light-refracting, light-sensitive, and light-insulating apparatus of the camera-like eyes

I. P. Shepeleva*

Pavlov Institute of Physiology, RAS
Makarova emb., 6, St. Petersburg, 199034 Russia

*e-mail: ishepeleva@rambler.ru

A comparative analysis of the light-refracting, light-sensitive, and light-insulating apparatus of the camera-like eyes of the terrestrial gastropod pulmonate mollusk *Helicigona lapicida* and a human was performed on the basis of new and published own and literature data. The similarities and differences in the composition of the eye apparatus, as well as in the properties and functions of their components, are revealed. The presented data contribute to the formation of knowledge about gastropods as model organisms for studying the functioning of the visual system.