

Вестник Российского фонда фундаментальных исследований

№ 2 (106) апрель–июнь 2020 года

Основан в 1994 году

Зарегистрирован Комитетом РФ по печати, рег. № 012620 от 03.06.1994

Сетевая версия зарегистрирована Роскомнадзором, рег. № ФС77-61404 от 10.04.2015

Учредитель

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский фонд фундаментальных исследований»

Главный редактор В.Я. Панченко,
заместители главного редактора В.В. Квардаков и В.Н. Фридлянов

Редакционная коллегия:

В.П. Анаников, В.Б. Бетелин, К.Е. Дегтярев, И.Л. Еременко,
В.П. Кандидов, П.К. Кашкаров, В.П. Матвеев, Е.И. Моисеев,
А.С. Сигов, В.А. Ткачук, Р.В. Петров, И.Б. Федоров, Д.Р. Хохлов

Редакция:

Е.Б. Дубкова, И.А. Мосичева

Адрес редакции:

119334, г. Москва, Ленинский проспект, 32а

Тел.: (499) 995-16-05

e-mail: pressa@rfbr.ru



Russian Foundation for Basic Research Journal

N 2 (106) April–June 2020

Founded in 1994

Registered by the Committee of the Russian Federation for Printed Media, 012620 of 03.06.1994 (print)

Registered by the Roskomnadzor FS77-61404 of 10.04.2015 (online)

The Founder

Federal State Institution

“Russian Foundation for Basic Research”

Editor-in-Chief V. Panchenko,

Deputy chief editors V. Kvardakov and V. Fridlyanov

Editorial Board:

V. Ananikov, V. Betelin, K. Degtyarev, I. Eremenko,
V. Kandidov, P. Kashkarov, V. Matveenko, E. Moiseev,
A. Sigov, V. Tkachuk, R. Petrov, I. Fedorov, D. Khokhlov

Editorial staff:

E. Dubkova, I. Mosicheva

Editorial address:

32a, Leninskiy Ave., Moscow, 119334, Russia

Tel.: (499) 995-16-05

e-mail: pressa@rfbr.ru

«Вестник РФФИ»

№ 2 (106) апрель–июнь 2020

КОЛОНКА ТЕМАТИЧЕСКОГО РЕДАКТОРА

О редакторе тематического блока академике, профессоре М.П. Кирпичникове	6
Аннотация к тематическому блоку	9
<i>М.П. Кирпичников</i>	

ТЕМАТИЧЕСКИЙ БЛОК: БИОРАЗНООБРАЗИЕ КАК РЕСУРС: ИЗУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Таксономическое и генетическое разнообразие беспозвоночных арктических морей. Насущные задачи и новые подходы	16
<i>А.Б. Цетлин, Т.В. Неретина, А.Э. Жадан</i>	
Характеристика биологического разнообразия аборигенных и диких форм Vitaceae Juss. как важнейшего ресурса зародышевой плазмы Крыма на основе анализа микросателлитных локусов .	25
<i>С.М. Гориславец, В.А. Володин, А.А. Колосова, Я.А. Волков, Г.Ю. Спотарь, В.И. Рисованная</i>	
Разнообразие и эволюция геномов	38
<i>А.С. Графодатский</i>	
Изменчивость кариотипа: хромосомные перестройки, их проявление в мейозе у млекопитающих и эволюционные последствия	50
<i>С.Н. Матвеевский, О.Л. Коломиец</i>	
Прогнозирование изменений биологического разнообразия и разработка подходов к управлению его устойчивостью: анализ и моделирование пространственно-временной естественной и антропогенной динамики экосистем на примере Среднего Приамурья	60
<i>Е.Я. Фрисман, А.Н. Колобов, О.Л. Ревуцкая, Г.П. Неверова, Д.М. Фетисов</i>	
Геномные исследования для сохранения осетровых: анализ наследования полиплоидных локусов и разработка панели маркеров для идентификации гибридов осетровых и продукции из них . .	78
<i>Н.С. Мюге, А.Е. Барминцева</i>	
Почва как природный банк микробного разнообразия: новые подходы и актуальные аспекты. .	88
<i>Н.А. Манучарова, В.С. Чепцов, А.А. Белов, Е.А. Воробьева, Г.М. Зенова, А.Л. Степанов</i>	
Актуальные направления в изучении грибов северных торфяных болот в связи с изменением климата и таянием многолетней и вечной мерзлоты	101
<i>О.А. Грум-Гржимайло, Е.Н. Биланенко, Е.Н. Бубнова, М.Л. Георгиева</i>	
Коллекции Зоологического института РАН как важный инструмент и информационная основа фундаментальных биологических исследований.	115
<i>Н.Б. Ананьева, Л.Л. Войта, М.Г. Волкович, М.Б. Дианов, С.Г. Медведев, К.Д. Мильто, Е.А. Петрова, С.Ю. Синев, И.С. Смирнов, Р.В. Смирнов, Р.Г. Халиков, А.В. Халин</i>	
Открытая электронная база данных по нейроморфологии как перспективный ресурс для научных исследований и образовательного процесса	126
<i>О.В. Зайцева, Е.Е. Воронежская</i>	
Выделение типовых образцов сосудистых растений, хранящихся в Гербарии имени М.Г. Попова (NSK) Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, оцифровка и размещение фактической информации в открытом доступе в интернете	135
<i>С.В. Овчинникова, О.Д. Никифорова, И.Н. Шеховцова, В.И. Трошкина</i>	

«RFBR JOURNAL»
 № 2 (106) April-June 2020

THEMED ISSUE EDITOR COLUMN

About the Editor of the Themed Section RAS Academician, Professor M.P. Kirpichnikov 6

Abstract of the Themed Section 9
M.P. Kirpichnikov

THEMED SECTION:
 BIODIVERSITY AS A RESOURCE: STUDY AND USE

Taxonomic and Genetic Diversity of Invertebrates in the Arctic Seas. Current Challenges and New Approaches 16
A.B. Tzetlin, T.V. Neretina, A.E. Zhadan

Characteristics of the Biological Diversity of Native and Wild Forms Vitaceae Juss. as the Most Important Resource of Crimea Vegetation Germplasm (Gene Pool) Based on Analysis of Microsatellite Loci 25
S.M. Goryslavets, V.A. Volodin, A.A. Kolosova, Ya.A. Volkov, G.Yu. Spotar, V.I. Risovannaya

Genome Diversity and Evolution 38
A.S. Graphodatsky

Karyotype Variability: Chromosomal Rearrangements, Meiotic Manifestation in Mammals and Evolutionary Consequences 50
S.N. Matveevsky, O.L. Kolomiets

Forecasting Dynamics of Biodiversity and the Development of Approaches to the Control of Its Stability: Analysis and Simulation of Spatio-Temporal Dynamics of Ecosystems through the Example of the Middle Amur Region 60
E.Ya. Frisman, A.N. Kolobov, O.L. Revutskaya, G.P. Neverova, D.M. Fetisov

Genomic Research for Sturgeon Conservation: Analysis of the Inheritance of Polyploid Loci and the Development of a Marker Panel to Identify Sturgeon Hybrids and Their Products..... 78
N.S. Mugue, A.E. Barmintseva

Soil as Natural Bank of Microbial Diversity: New Approaches and Actual Aspects..... 88
N.A. Manucharova, V.S. Cheptsov, A.A. Belov, E.A. Vorobyova, G.M. Zenova, A.L. Stepanov

Current Trends in the Exploration of Fungi of Northern Peat Bogs in Connection with Climate Change and the Thawing of Perennial and Permafrost 101
O.A. Grum-Grzhimaylo, E.N. Bilanenko, E.N. Bubnova, M.L. Georgieva

The Collection of the Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences as an Important Tool and Informational Basis of Fundamental Biological Researches 115
N.B. Ananjeva, L.L. Voyta, M.G. Volkovich, M.B. Dianov, S.G. Medvedev, K.D. Milto, E.A. Petrova, S.Yu. Sinev, I.S. Smirnov, R.V. Smirnov, R.G. Khalikov, A.V. Khalin

Open Neuromorphological Database as a Promising Resource for Research Investigation and Educational Process 126
O.V. Zaitseva, E.E. Voronezhskaya

Selection of Type Specimens of Vascular Plants Kept in M.G. Popov Herbarium (NSK) of the Central Siberian Botanical Garden, SB RAS, Digitization and Posting Them Publically Available on the Internet..... 135
S.V. Ovchinnikova, O.D. Nikiforova, I.N. Shekhovtsova, V.I. Troshkina



О редакторе тематического блока академике, профессоре Михаиле Петровиче Кирпичникове



- Декан биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова; академик-секретарь Отделения биологических наук РАН, член Президиума РАН
- Заведующий кафедрой биоинженерии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова; заведующий отделом биоинженерии Института биоорганической химии РАН им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (ИБХ РАН)
- Председатель Аттестационной комиссии МГУ им. М.В. Ломоносова
- Член Ученых советов МГУ им. М.В. Ломоносова, ИБХ РАН, Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН
- Председатель Научного совета РАН по генно-инженерной деятельности при Президиуме РАН; член ряда других научных и экспертных советов РАН
- Член Совета по реализации Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий в Российской Федерации на 2019–2027 гг.
- Член Научно-экспертного совета при Председателе Совета Федерации
- Dean of the Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University (MSU); Head of Biology Science Division of the Russian Academy of Science
- Head of the Department of Biological Engineering at the Faculty of Biology, MSU; Head of the Protein Engineering Department of the RAS M.M. Shemyakin and Y.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry
- Head of the Attestation Commission of the MSU
- Member of Scientific Boards of the MSU, RAS Shemyakin – Ovchinnikov Bioorganic Chemistry Institute, and RAS Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology”
- Head of the RAS Presidium Scientific Council on Genetic Engineering; member of several scientific and expert boards of RAS
- Member of the Council for the Implementation of the Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies in Russian Federation in 2019–2027
- Member of the Scientific Expert Council under the Chairman of the Federation Council of the Federal

Ю.А. Овчинникова, с 2000 г. является заведующим Отдела биоинженерии этого института.

В 1994 г. М.П. Кирпичников был избран членом-корреспондентом Российской академии наук, а в 1997 г. стал академиком РАН.

С 1989 по 2004 г. находился на государственной службе, совмещая ее с научной и преподавательской деятельностью. Занимал должности заместителя начальника отдела, заместителя начальника Главного управления Государственного комитета по науке и технике (1989–1991); заместителя начальника управления и начальника управления Министерства науки, высшей школы и технической политики РФ (1992–1993); заведующего Отделом науки и образования Аппарата Совета Министров Правительства Российской Федерации (1993–1994); начальника Департамента науки и образования (1994–1997) и Департамента науки, высоких технологий, образования и культуры Аппарата Правительства Российской Федерации (1997–1998); Первого заместителя Министра (1998) и Министра науки и технологий Российской Федерации (1998–2000); Первого заместителя Министра промышленности, науки и технологий Российской Федерации (2000–2004).

В 2000 г. создал и возглавил кафедру биоинженерии биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (МГУ). С 2004 по 2006 г. был проректором МГУ. С 2006 г. М.П. Кирпичников является деканом биологического факультета МГУ.

С 2006 по 2012 г. являлся Председателем Высшей аттестационной комиссии Министерства образования Российской Федерации.

В 1998–2000 гг. представлял Правительство Российской Федерации в качестве наблюдателя в Совете Европейской организации ядерных исследований, был полномочным представителем Правительства

Российской Федерации в Комитете представителей государств – членов Объединенного института ядерных исследований.

В 2014–2018 гг. входил в состав Наблюдательного совета по созданию в МГУ им. М.В. Ломоносова биобанка – депозитария живых систем.

М.П. Кирпичников – ученик и сподвижник академика А.А. Баева, автор более 500 научных работ и многих патентов. Одним из первых в мире предложил и использовал новый подход для изучения структуры белков и их комплексов с ДНК, основанный на согласованном применении приемов генетической инженерии, химического синтеза олионуклеотидов и физического анализа структуры биополимеров. Возглавляемый им коллектив осуществил дизайн и получение первого в мире белка *de novo* с заданной структурой и функцией (академику М.П. Кирпичникову присуждена Государственная премия Российской Федерации за 1999 г. в области науки и техники). С 2006 г. в качестве декана биологического факультета МГУ придал новый импульс фундаментальным исследованиям и практическим разработкам в сфере широкоформатного освоения бионанотехнологий, в том числе по созданию нового поколения генно-инженерных лекарств, улучшающих качество жизни.

About the Editor of the Themed Section RAS Academician, Professor Mikhail Petrovich Kirpichnikov

Mikhail P. Kirpichnikov graduated from the Moscow Institute of Physics and Technology with a degree in Molecular Biophysics in 1969, and in 1972 completed postgraduate studies at the same Institute.

In 1972–1989, he worked at the V.A. Engelhardt Institute of Molecular Biology of the USSR Academy of Sciences (nowadays, Russian Academy of Sciences – RAS). During this period, he has made progress from senior laboratory assistant to leading researcher.

Since 1989, Prof. M.P. Kirpichnikov has been working at the M.M. She-myakin and Y.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, since 2000, he is the Head of the Protein Engineering Department of the institute.

M.P. Kirpichnikov had become a RAS Corresponding Member in 1994, and full member of RAS – in 1997.

многолетней и вечной мерзлоты» рассматриваются особенности функционирования микобиоты в торфяниках разных климатических зон, а также в заболачивающихся водоемах, образовавшихся в результате отделения от Белого моря и постепенно трансформирующихся в олиготрофные пресные болота. Исследование выполнено с использованием рабочей коллекции грибов. На основе полученных результатов сформирована программа по расширению исследований биоразнообразия и функционирования грибов в многолетне- и вечномерзлотных торфяниках в зоне вечной мерзлоты, из-за оттаивания которой увеличивается площадь торфяников и, как следствие, усиливается выброс парниковых газов.

Мы считаем актуальным включение в тематический блок результатов работ с коллекциями, ориентированными на изучение, учет биоразнообразия и формирование современных онлайн-инструментов представления относящихся к ним больших данных. В рамках проведения РФФИ конкурса проектов ориентированных фундаментальных научных исследований по актуальным междисциплинарным темам в области сохранения и использования биологического разнообразия впервые были поддержаны проекты по научному и практическому использованию биокolleкций. Наиболее интересные и перспективные из них включены в данный тематический блок и отражают различные аспекты использования богатейших отечественных собраний биоматериалов и сопровождающей научной информации.

Работа коллектива авторов во главе с Н.Б. Ананьевой «Коллекции Зоологического института РАН как важный инструмент и информационная основа фундаментальных биологических исследований» отражает результаты научных исследований и практических разработок по наиболее актуальному направлению работы с накопленным к настоящему времени объемом зоологических коллекций. Публикация О.В. Зайцевой и Е.Е. Воронежской «Открытая электронная база данных по нейро-

морфологии как перспективный ресурс для научных исследований и образовательного процесса» посвящена результатам создания новейших интегрированных цифровых систем, которые в ближайшем будущем должны стать важнейшим научным и образовательным ресурсом при работе с научными коллекциями. Исследование С.В. Овчинниковой с соавторами «Выделение типовых образцов сосудистых растений, хранящихся в Гербарии им. М.Г. Попова (NSK) Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, оцифровка и размещение фактической информации в открытом доступе в Интернете» призвана проиллюстрировать успехи, достигнутые в применении современного подхода к решению актуальных вопросов таксономии растений.

Работы, включенные в тематический блок, призваны отразить широкий спектр подходов и тематик важнейшего направления деятельности ученых, поддержанные Российским фондом фундаментальных исследований. Это проекты в области зоологии, ботаники и микологии, ориентированные на разрешение фундаментальных научных проблем в перечисленных областях, результаты которых могут использоваться как при решении практических задач по оценке и использованию биоресурсов, так и при формировании новых стратегий государственной политики устойчивого развития в области сохранения и использования биологического разнообразия.

Abstract of the Themed Section

M.P. Kirpichnikov

The issue of the "RFBR Journal" is dedicated to the problems of the use and conservation of biological diversity — the most urgent task of modern natural science.

We are entering an era when biological diversity is becoming a subject of international treaties and con-

ventions, which once again underscores the importance of its conservation while the exploitation of the planet's bioresources by the human kind increases. The conservation and use of biological diversity in its en-

tirety become more and more urgent, both because of the increasing human impact on natural ecosystems, and due to global climate change. Because of its size, Russia has relatively high biodiversity within the rank of the countries of the temperate zone, which remains far from being fully inventoried and studied. This is especially true for the territories of the Far East, the Arctic, as well as for territorial waters and entirely the ocean. At the same time, we are increasingly using the country's bioresources both in traditional way (obtaining food, various materials, etc.), and in new ways, based on the success of biotechnology, genetics, microbiology, molecular biology, as well as computer science and a number of other branches of science and technology. The processes of studying the biodiversity and developing new approaches to the rational and sustainable use of components of it, of managing biodiversity and of gaining new technologies and products are happening simultaneously, in a complex way, which forces us to pay more and more attention to the country's bioresources as a valuable source of biological knowledge and information about their practical and useful properties. It is important to note that we talk here of renewable resources, since it is extremely important to prevent the risk of conversion of some of them to non-renewable due to the progressive and often irreversible decline in the number of species even up to their extinction, due to uncontrolled reprocessing, due to unjustified introduction of alien forms, destruction of biotopes resulting from economic processes and pollution of the environment.

The articles collected in this thematic block represent a wide range of topical issues related to the study and use of biodiversity. These issues are solved using complex interdisciplinary approaches. We bring to your attention results of fundamental research in which traditional methods

are supplemented with modern molecular genetics and informatics. We also show the results of direct use of application knowledge to the management of entire biodiversity, or in parts of importance for humans. It is obvious that the components of biodiversity exist in the closest and evolutionarily developed interaction, forming ecosystems of varying complexity, which we are still learning to manage – contrary to what has been repeatedly stated before. Many features of ecosystem functioning, that directly affect human economic activity in large regions, depend on the structure and specificity of biological diversity. The thematic section presents pieces of work devoted to the analysis of the mechanisms of ecosystem functioning and their dependence on human activity, which allows us to approach the understanding of critical patterns from a practical point of view.

The works included in this issue of "RFBR Journal" are unified by the authors' common understanding of the importance of our attitude to biodiversity as a complex set of the most important renewable resources of the Russian Federation. The thematic section opens with works directly devoted to the discussion of certain aspects of the approach to biological objects as bioresources, and it is concluded quite logically from our point of view with the works related to the problem of accounting for bioresources, which are most relevant to the study of biodiversity, its structure, composition and features of existence – the digital "economy" of nature. This journal's thematic section focuses (for the first time in Russia) on the results of scientific projects aimed at recording, digitizing and introducing biodiversity data collected in the largest national collections and/or on online portals as emerging new to present data. The rapid expansion of the use of "big data" in biology is taking place right before our eyes, and the first results demonstrate that such a transition is relevant and promising in the study, accounting and use of the country's biological resources.

The thematic section opens with the article by A.B. Tzetlin, T.V. Neretina and A.E. Zhadan, dedicated to the analysis of our knowledge about the taxonomic and genetic diversity of invertebrates in the Arctic seas, which seems to be a traditional object of long-term research of Russian scientists. However, the application of an interdisciplinary approach based on a combination of classical morphological methods, taxonomic and population analysis, and molecular genetics methods has allowed the authors to obtain completely new dataset on the composition of the Arctic fauna thus assessing the level of insufficiency of our knowledge in this field. The use of molecular taxonomy methods has helped scientists to shed light

on the structure of the life cycles of a number of mass species in the Arctic, to identify hidden diversity (detection and description of complexes of species and species-counterparts), and to study the population structure of some widespread species. The research has created the basis for developing a scheme for monitoring the biological diversity of Arctic marine ecosystems based on metabarcoding, which essentially increases the effectiveness of basic and applied research in the field of monitoring the state of marine fauna, in particular, during oil production on the shelf of the Northern seas of Russia.

In the work of S.M. Goryslavets *et al.*, the object of research is a much more compact group. The paper addresses the biological diversity of native and wild forms of grapes as the most important resource of the germ plasm of Crimea. In this case, the use of the ISSR-PCR-analysis allowed the authors to identify, describe and evaluate the genetic diversity of wild grapes in the Crimean Peninsula. The results were compared with data on the gene pool of indigenous grapes of Crimea, concentrated in the ampelographic collection of the Magarach Institute of Viticulture and Winemaking. As a result, it was found that 57 native varieties from this collection have unique genotypes, probably related to their local origin.

The article "Genome Diversity and Evolution" by A.S. Graphodatsky, one of the leading specialists working in the relevant research area, is made within the framework of the project "Scientific basis for the preservation of genetic diversity in the territory of the Russian Federation". It analyzes the results of total genome sequencing of representatives of several vertebrate groups (cetaceans, pinnipeds, rodents, sturgeon). This way saves the information about the genotypes of rare species some of which may permanently disappear soon. The results of the application of technologies for the transformation of specialized cells into "stem" or sex cells are also considered, which allows us to consider the collection of cell cultures and DNA samples of many species of Russian fauna, including endangered ones, created at the Institute of Molecular and Cellular Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences as a resource for preserving the species diversity of the Globe.

Mammals are studied well enough to have got used by S.N. Matveevsky and O.L. Kolomiets as model objects in their study "Karyotype Variability: Chromosomal Rearrangements, Meiotic Manifestation in Mammals and Evolutionary Consequences". The authors develop a special approach to analyze the mechanisms of chromosomal rearrangements that occur during speciation. Their research is devoted

to the study of mammalian species whose evolution is associated with Robertsonian translocations. Its results allow to determine some reasons for the reproductive isolation of individual chromosomal forms.

Passing from the analysis of the fundamental mechanisms underlying the formation of biological diversity to one of the main issues of the thematic block – the analysis of the management and use of biodiversity, we are focusing on the work of E.Ya. Frisman *et al.* The title of the work exactly fits the general idea of the thematic block, that it is necessity of moving from studying biodiversity to solving issues of biodiversity management and to analyzing the impact of humans on the condition thereof – "Forecasting Dynamics of Biodiversity and the Development of Approaches to the Control of its Stability: Analysis and Simulation of Spatio-Temporal Dynamics of Ecosystems through the Example of the Middle Amur Region". The authors have conducted a quantitative study and mathematical modeling of the spatial and temporal dynamics of ecosystems and their main biotic components – populations and communities of plants and animals under the influence of various natural and anthropogenic factors. Model scenarios for restoring the stock and structure of the stand depending on the intensity of wood removal are constructed.

The study by N.S. Mugue and A.E. Barmintseva "Genomic Research for Sturgeon Conservation: Analysis of the Inheritance of Polyploid Loci and the Development of a Marker Panel to Identify Sturgeon Hybrids and Their Products" is dedicated to natural resources management. The results of the presented research have been implemented in the Program for Genetic Monitoring of Sturgeon Restocking, conducted by Federal Fishery Agency, as well as in the practice of DNA-based species identification of caviar and other sturgeon products

Таксономическое и генетическое разнообразие беспозвоночных арктических морей. Насущные задачи и новые подходы*

А.Б. Цетлин, Т.В. Неретина, А.Э. Жадан

Изучение биологического разнообразия морей Арктики – чрезвычайно актуальная задача в эпоху меняющегося климата и усиления хозяйственной деятельности человека в высоких широтах. Применение междисциплинарного подхода, основанного на сочетании классических морфологических методов, таксономического и популяционного анализа и молекулярно-генетических методов, позволило получить новые данные в изучении биологического разнообразия морских арктических экосистем, в том числе по видовой принадлежности массовых представителей личиночного планктона. Последовательности ядерных и митохондриальных генов были получены для более чем 200 видов (более 1 500 сиквенсов). Выполненное исследование позволяет пролить свет на структуру жизненных циклов этих видов в Арктике, выявить скрытое разнообразие (обнаружение и описание комплексов видов и видов-двойников) и провести изучение популяционной структуры некоторых широко распространенных видов. Проведенные исследования создали базу для разработки метода мониторинга биологического разнообразия морских арктических экосистем, основанного на применении метода метабаркодинга.

Ключевые слова: биологическое разнообразие, Арктика, бентос, планктон, мониторинг, популяционная структура, молекулярно-генетические методы.

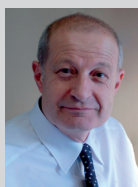
*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты №№15-29-02447 и 18-05-60158).

Введение

Биота Арктики представляет исключительный научный и практический интерес. Генетическая структура многих арктических популяций несет ясные следы множественных оледенений, имевших место в течение плейстоцена [1–3], что делает их удобной моделью для изучения общих вопросов исторической биогеографии и анализа закономерностей и факторов микроэволюционных процессов. Относительная простота арктических сообществ, видовое разнообразие которых существенно ниже, чем в сообществах тропических и даже умеренных широт [4–6], делает их незаменимым модельным объектом для фундаментальных экологических исследований (например, [7–8]). Уязвимость арктических сообществ, вызванная относительно малой способностью противостоять неблагоприятным воздействиям, связанным с локальной деятельностью человека и глобальными изменениями климата (например, [5, 9–10]), делает их изучение неотложной практической

задачей. Некоторые данные позволяют предположить, что трудно-обратимые изменения многих арктических экосистем уже зашли довольно далеко [11–13]. Прогнозирование их дальнейших изменений невозможно без детального понимания состава и структуры входящих в них популяций и сообществ, а данные о путях их возникновения в ходе эволюции необходимы, чтобы понимать механизмы и пределы их возможной адаптации к изменяющимся условиям. Несмотря на это, биота Арктики, в том числе на территории России, до сих пор изучена совершенно недостаточно (например, [14]).

Работы по исследованию арктических сообществ, в том числе их



ЦЕТЛИН
Александр Борисович
профессор, директор
Беломорской биологической
станции им. Н.А. Перцова
Биологического факультета
МГУ им. М.В. Ломоносова



НЕРЕТИНА
Татьяна Владимировна
Беломорская биологическая
станция им. Н.А. Перцова
Биологического факультета
МГУ им. М.В. Ломоносова



ЖАДАН
Анна Эльмировна
Беломорская
биологическая станция
им. Н.А. Перцова
Биологического факультета
МГУ им. М.В. Ломоносова

функциональной структуры (исследованию жизненных циклов, характера личиночного развития, пространственной структуры сообществ и т. п.), развиваются в настоящее время существенно медленнее, чем того требует перспектива вовлечения этих районов в зону крупномасштабных индустриальных проектов и необходимость создания достоверных прогнозов изменения экосистемы Арктики. Это определяется экстремальными климатическими условиями, необходимостью преодоления огромных логистических трудностей, которые возникают при постановке круглогодичных исследований в Арктике, а также исключительно высокой стоимостью эксплуатации ледокольного научного флота. Всё сказанное в полной степени относится и к изучению биологического разнообразия беспозвоночных животных, обитающих на дне и в толще вод (пелагиали) Арктики.

Разработка эффективных методов экологического мониторинга морских экосистем высоких широт – один из актуальных аспектов арктических исследований. Структура популяций морских беспозвоночных, функциональная структура ареалов видов – это основа реакции видов на изменяющиеся условия. Они определяются особенностями протекания жизненных циклов, характером размножения, типом личиночного развития. К настоящему времени изучены жизненные циклы только у небольшой части из числа даже массовых видов морских беспозвоночных [15]. Меропланктон (личиночный планктон) – это хороший показатель репродуктивной активности донных беспозвоночных с пелагическим типом личиночного развития. Однако личиночные стадии развития обычно не учитывают при стандартном количественном и качественном учете планктона по причине сложности их идентификации. Для многих массовых форм личиночного

меропланктона арктических морей не установлена даже видовая принадлежность. Это существенно снижает достоверность прогнозов возможных изменений в морских арктических экосистемах.

Одной из важнейших задач сегодняшних гидробиологических исследований в Арктике является слежение за изменениями в морских экосистемах (мониторинг их состояния), происходящими как под воздействием глобальных климатических трендов, так и в связи с резко возрастающей антропогенной, индустриальной нагрузкой на шельфовые районы арктических морей. Мониторинговые исследования сопряжены с еще более существенными временными и финансовыми затратами, чем обычные экологические съемки, поскольку их необходимо проводить в очень сжатые сроки. Подобная работа проводится «вручную» с привлечением большого числа специалистов-зоологов, что требует огромных временных затрат и даже при активной работе целого коллектива специалистов оставляет массу вопросов в силу значительного скрытого биологического разнообразия биоты Арктики (видов-двойников и т. п.). В то же время специалистов, проводящих такую обработку морского бентоса и планктона, мало и становится меньше с каждым годом не только в России, но и во всем мире [16–18]. Особенность современного этапа состоит в том, что в настоящее время обработка мониторинговых проб в основном проводится не государственными научными институтами (например: ЗИН РАН, Институт океанологии РАН), а силами коммерческих консалтинговых фирм, в которых нет специалистов по всем необходимым для анализа группам животных. Кроме того, в их задачи не входит описание новых видов и сохранение коллекций в силу специфики их работы. Таким образом, несмотря на, казалось бы, большое количество съемок, большая часть скрытого биологического разнообразия остается за рамками подобных исследований, что во многом снижает ценность этих данных для достоверного анализа биологического разнообразия.

Использование принятых в настоящее время молекулярно-генетических методов позволяет выявлять криптические виды (виды-двойники [19]), однако эти методы неприменимы к старым сборам, хранящимся в музейных коллекциях, поскольку эти материалы были фиксированы формалином, они трудоемки и требуют специального лабораторного оборудования. Базы нуклеотидных последовательностей, которые позволили бы сразу получать видовые идентификации [20–21], еще очень неполные, кроме того, существенным

вопросом является частая недостоверность видовых определений организмов, данные по которым есть в этих базах.

Представляется, что магистральным направлением изучения и мониторинга биологического разнообразия морей Арктики должен быть комплексный междисциплинарный подход, сочетающий как традиционные, так и инновационные методы исследования. Большое внимание следует уделить исследованию жизненных циклов и, как минимум, видовому составу меропланктона.

Целью настоящей работы является попытка применить имеющийся в настоящее время современный инструментарий для исследования биологического разнообразия беспозвоночных арктических морей.

Материал и методы

Сбор материала проводили в течение нескольких полевых сезонов (2013–2018) в Кандалакшском заливе в окрестностях Беломорской биостанции МГУ и в Баренцевом море в районе Дальних Зеленцов. Помимо того, проводили морфологический и молекулярно-генетический анализы сборов во время экспедиции НИС «Polarstern», которая проходила в сентябре и октябре 2016 г. в районе хребта Гаккеля (центральный Арктический бассейн). По возможности в ваучерную коллекцию отбирали по пять представителей каждого вида. Собранные образцы определяли с помощью классических морфологических методов, по возможности – до вида.

Выделение ДНК проводили, в зависимости от размеров животного, с использованием либо набора «Diatom» фирмы «Изоген» согласно протоколу производителя, либо Wizard® Genomic DNA Purification Kit («Promega»), используя разработанную нами модификацию протокола фирмы-производителя [22].

В качестве митохондриальных маркеров использовали стандартный фолмеровский фрагмент CO1 и/или фрагмент гена, кодирующего 16S рРНК. В качестве ядерных маркеров использовались чаще всего последовательности генов, кодирующих 18S и 28S рРНК, гистона H3 и транскрибируемого спейсера ITS. Амплификация фрагмента CO1 проводилась с вырожденных праймеров [23], общих для всех таксонов. Амплификация фрагмента 16S проводилась с таксонспецифичных праймеров.

Для проведения исследования выбранных участков методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовался набор ScreenMix фир-

мы Evrogen. Протокол проведения ПЦР составлялся с учетом температуры отжига праймера и протокола производителя.

Секвенирование по Сэнгеру производили на генетическом анализаторе ABI3500 с использованием набора BigDye 3.1. Полученные хроматограммы анализировали с применением программы CodonCodeAligner. Для анализа последовательностей, определения генетических дистанций и построения филогенетических деревьев использовали программу MEGA7.

Результаты

За время реализации проекта было получено большое количество новых данных о биологическом разнообразии морей Арктического бассейна. Это стало возможным благодаря совместному использованию молекулярно-генетического анализа и традиционных морфологических методов и подходов. Последовательности ядерных и митохондриальных генов были получены для более чем 200 видов (более 1 500 сиквенсов). В этой краткой статье мы не можем изложить весь огромный объем полученных данных и их интерпретацию. Мы приведем несколько характерных примеров по основным направлениям исследований, которые позволят представить как характер полученных результатов, так и трудности, связанные с их интерпретацией.

1. Изучение жизненных циклов и меропланктона

Определение видовой принадлежности личинок донных беспозвоночных и установление взаимно однозначного соответствия личиночной стадии и взрослой формы без молекулярно-генетических методов – очень сложная задача. Во многих случаях мы столкнулись с ошибочным определением личинок наиболее массовых видов бен-

тоса (например, *Arenicola marina*). Нами была проведена ревизия планктонных личинок донных беспозвоночных, которых исключительно трудно и даже невозможно идентифицировать морфологически. Всего было впервые идентифицировано 24 вида планктонных личинок, в том числе 11 видов личинок многощетинковых червей, 11 видов личинок моллюсков, личинки мшанок и личинки морских звезд. Эта работа продолжается в настоящее время и дает чрезвычайно важную информацию как о скрытом биоразнообразии Белого моря (обнаружение личинок видов моллюсков и многощетинковых червей, взрослые стадии которых ранее не были отмечены в Белом море), так и о структуре жизненных циклов донных беспозвоночных [15, 24–25]. Таким образом, сочетание классических зоологических описаний личинок и методов молекулярной филогенетики позволяют провести видовую идентификацию представителей меропланктона.

2. Изучение биоразнообразия беспозвоночных в морях Арктического бассейна

Совместные усилия зоологов и молекулярных биологов позволили провести исследование фауны батипелагиали Арктики. Были получены последовательности 18S и, во многих случаях, 16S и ITS для 23 видов Cnidaria. Шесть видов не удалось идентифицировать даже до рода, это новые для науки виды, которые ожидают описания. Определение нуклеотидных последовательностей генетических маркеров не помогло в идентификации данных образцов, так как последовательностей, соответствующих полученным нами, не удалось найти в базах данных GenBank и IBOL. При изучении коллекций из батипелагиали было описано два новых вида полихет: один из рода *Bathypolaria*, второй из рода *Pelagobia*; для них

получены последовательности 16S и 18S. Были также получены материалы и последовательности 43 видов, относящихся к Arthropoda. Эти данные существенно дополнили наши знания о планктонной фауне арктических морей.

3. Изучение скрытого разнообразия

Примером выявления комплекса симпатрических криптических видов в процессе изучения внутривидового полиморфизма может служить обнаружение нового вида приапулид, ранее объединяемого с известным видом *Priapululus caudatus*. Вывод о существовании генетически дифференцированных групп, объединяемых под названием *Priapululus caudatus*, был сделан на основании анализа ядерных (ITS, 28S и 18S) и митохондриальных маркеров (CO1 и 16S). Данные анализа ядерных и митохондриальных маркеров совпадают между собой, что свидетельствует об отсутствии скрещивания между двумя симпатрическими группами. В настоящее время проводится изучение морфологии представителей двух разных групп, готовится описание нового вида.

Скрытое разнообразие среди видов рода *Eteone* (Annelida, Phyllodocidae). Было показано, что в Белом море, помимо таких традиционно идентифицируемых, как *Eteone longa* и *E. flava*, имеется еще пять представителей этого рода, по своим морфологическим признакам не подходящих под имеющиеся в литературе описания. Данные, полученные на основании анализа последовательностей CO1, 16S, 18S и ITS, совпадают с морфологическими, что позволяет предположить существование пяти видов рода *Eteone*, новых для Белого моря, и, возможно, для биологии в целом. Для полноценного описания этих новых форм необходимо исследование материалов из сопредельных районов Арктического бассейна – Баренцева, Карского и восточной части Норвежского морей, поскольку существование эндемичных для Белого моря видов полихет маловероятно.

Был проведен морфологический и молекулярно-генетический анализ вида полихет, имеющего статус вида-космополита, – *Cossura pygodactylata* Jones, 1956 (Annelida, Cossuridae). Этот вид легко отличить от других представителей рода по уникальному признаку – наличию межусиковых выростов на пигидии. *C. pygodactylata* имеет широкое географическое распространение, встречается от Арктики до бореальных и тропических зон и от Атлантического до Восточного и Западного Тихого океана (на глубине от 1 до 2 700 м). Мы изучали образцы *C. pygodactylata* из залива Аркашон (Франция) и из Карского и Белого морей

(Россия) с использованием традиционных таксономических и молекулярных методов (анализ 18S рРНК). Образцы из разных морей были неотличимы морфологически, но последовательности 18S рРНК выявили значительные различия. Дистанция между образцами из Карского и Белого морей составляла 0.4%, между образцами Аркашона и Белого моря – 1%, между *C. pygodactylata* и *C. candida* – 3% и между Cossuridae и Paraonidae (аутгруппа) – 4.6%. Эти расстояния могут означать различия на видовом уровне между образцами Аркашона и Белого моря, так как 18S рРНК – довольно консервативный ген. Видовой статус образцов из Карского моря остается непонятным. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы выявить все криптические виды комплекса *Cossura pygodactylata*: исследования других ядерных и митохондриальных генов (16S, COI), сравнение наших молекулярных и морфологических данных с образцами из типовой местности (Калифорния) и других регионов.

4. Изучение структуры популяций арктических беспозвоночных

Использование междисциплинарного подхода позволило получить данные о популяционной структуре сцифоидных медуз рода *Suanea* из Белого, Берингова и Карского морей. Для них были определены последовательности фрагментов CO1 и ITS. Ранее с помощью молекулярно-генетического анализа [26] было показано, что обитающие в Белом море сцифоидные медузы, считавшиеся представителями вида *C. capillata* – массовым и повсеместно встречающимся в Арктике, Северной Атлантике и Северной Пацифике видом, на самом деле относятся к двум различным генетически изолированным группам. Применение методов морфологического анализа позволило найти также морфологические различия между представителями этих групп и описать новый вид, *C. tzetlini*. Дальнейшее изучение структуры популяций этих видов по материалам, собранным в последние несколько лет в различных районах Арктического бассейна, показало, что популяции *C. capillata* значительно более полиморфны, чем популяции *C. tzetlini*. В обоих случаях популяции из Карского моря формируют отдельные клады. В случае *C. tzetlini* медузы из Белого моря кластеризуются с медузами из Берингова моря (0% нуклеотидных замен). Нахождение *C. tzetlini* в Беринговом море имеет большое значение. Так как Белое море является очень молодым морем, мы предполагали, что *C. tzetlini* должна обитать и в других арктических морях. Находка *C. tzetlini* в Беринговом

и Карском морях подтвердила наше предположение. В Карском море не было найдено *C. tzetlini*, тогда как в Беринговом не было найдено *C. capillata*, что, по-видимому, объясняется различиями в сроках размножения этих двух видов. Кроме того, согласно нашим данным, в Беринговом море найдена еще и *C. ferrugenia*. По результатам анализа фрагмента CO1 были построены карты гаплотипов для *C. capillata* и для *C. tzetlini*.

Однако не во всех случаях совместное применение молекулярных и классических морфологических методов приводит к «дроблению» видов. Согласно современным представлениям о внутривидовой изменчивости, виды-космополиты должны характеризоваться значительно большим генетическим разнообразием по сравнению с видами-эндемиками, поэтому изучение внутривидового полиморфизма естественно начинать со сравнения между собой различных популяций какого-либо вида-космополита. Был проведен генетический анализ представителей вида-космополита *Pygospio elegans* Claparede, 1863 (Annelida, Polychaeta, Spionidae) [27]. Были получены последовательности фрагментов четырех генов: митохондриальной 16S, 18S, 28S и H3. Последовательности фрагментов всех четырех генов особей из Калифорнии, Орегона, Шотландии и Белого моря оказались очень близки (средние дистанции между этими четырьмя группами составляют от 0.08 до 0.16%). Таким образом, было показано, что *P. elegans* – вид-космополит, имеющий амфибореальное распространение и очень низкий уровень внутривидового генетического полиморфизма.

Обсуждение

1. Жизненные циклы арктических беспозвоночных

Знание жизненных циклов – сроков размножения, типа личинок,

характера расселения – необходимы для понимания функционирования и воспроизводства арктических экосистем. Без этого нельзя представить функциональную структуру ареалов (независимые и зависимые популяции [28–29]), что необходимо для достоверного прогноза изменений в сообществах, связанных с климатическими трендами и антропогенным воздействием. В зависимости от того, например, есть у какого-то вида пелагические личинки или нет (личинки донные), характер распространения этого вида будет различен. Так, при изменении климатических условий виды с донными личинками могут продвигаться в своем распространении на сотни метров в год, а виды с пелагическими личинками, возможно, на сотни километров. Точно так же возможности восстановления сообществ, подвергшихся тем или иным антропогенным воздействиям, существенно зависят от характера жизненных циклов и типов личиночного развития форм, их составляющих [30].

Настоящая работа показала, что пробелы в знаниях жизненных циклов огромны. Для более чем половины даже массовых видов арктических беспозвоночных эта информация фрагментарна, недостоверна или отсутствует вовсе. В условиях Арктики, когда круглогодичный мониторинг и длительные лабораторные эксперименты практически невозможны из-за логистических трудностей и недоступности на практике обширных пространств морей Арктики в большую часть года, молекулярно-генетический анализ меропланктона и в дальнейшем личиночного мейобентоса является перспективным методом, который позволяет продвинуться в изучении структуры популяций и жизненных циклов арктических беспозвоночных.

2. Итоги изучения таксономической структуры арктических видов

Л.А. Зенкевич [31] писал о том, как хорошо изучены моря Совет-

ской Арктики, и указывал, например, Баренцево море как море, изученное лучше всех остальных морей мира. Тогда казалось, что уж в фаунистическом отношении серьезных вопросов не осталось. Однако сейчас, спустя более чем 70 лет, понятно, что в реальности положение совсем не такое радужное.

Даже в таких хорошо изученных группах, как сцифоидные медузы, не говоря о менее изученных таксонах (аннелиды, моллюски, приапиды), регулярно (что показало и наше исследование) обнаруживаются новые для науки виды, которые являются массовыми формами. Таким образом, общие оценки степени изученности мировой океанической фауны полностью применимы к фауне морей Арктики, и это означает, что в ближайшие годы предстоит описать 30–40% от общего числа видов, указанных для Арктического бассейна.

Обширные и очень полные по объему и охвату акваторий Арктики коллекции, собранные в XX в. и хранящиеся в Зоологическом институте РАН, Зоологическом музее МГУ и в Институте океанологии имени П.П. Ширшова, которые могли бы быть достаточным источником данных о биологическом разнообразии морей Арктики, оказываются в настоящее время почти бесполезными, так как они зафиксированы, согласно правилам того времени, в формалине. Эти материалы не могут быть использованы для молекулярно-генетического анализа, который в последние десятилетия стал основным инструментом исследования видового разнообразия. Таким образом, чрезвычайно остро стоит вопрос о том, что для исследования и оценки биологического разнообразия беспозвоночных морей Арктического бассейна необходимо заново собирать материалы – то есть коллекции беспозвоночных из многих районов Арктики. Это огромная работа, но она необходима для адекватной оценки состояния биологического разнообразия арктической фауны в настоящий момент и разработки достоверных прогнозов ее изменения в будущем. В частности, необходима разработка новых протоколов фиксации бентосных и планктонных сборов как в академических научных рейсах, так и при мониторинговых исследованиях, которые позволят получать коллекционные материалы, пригодные для молекулярно-генетических исследований.

Следует отметить, что Арктический бассейн не является исключением, проблема необходимости развертывания больших программ по «переисследованию» фауны морей вполне осознана международным научным сообществом [16]. Актуальность этого вопроса для морей Арктики в

том, что они стремительно вовлекаются в сферу активной индустриальной деятельности на фоне быстро идущих климатических изменений.

3. Мониторинг шельфа Арктики как акватории, наиболее подверженной интенсивной эксплуатации

Программы мониторинга морской среды в морях Российской Арктики проводятся в рамках современных ведомственных нормативов, предусматривающих использование классических зоологических методов с ручным разбором многочисленных проб бентоса и планктона с последующим определением и подсчетом организмов. Такие исследования, если они проводятся высококвалифицированными специалистами-зоологами, дают результат, сильно запаздывающий по сравнению с моментом сбора материала.

Антропогенная нагрузка, и в первую очередь развитие нефтегазовых проектов в морях Российской Арктики, сосредоточена на относительно небольшой по сравнению с размерами всего Арктического бассейна площади на мелководном шельфе Баренцева и Карского морей. Состав бентосных сообществ этих районов изучен существенно лучше, чем других частей Арктики, а видовое разнообразие бентоса относительно низкое.

Это дает шанс на создание в ближайшем будущем достаточно полных баз молекулярных данных с хорошо верифицированной видовой идентификацией, проведенной на базе ваучерных коллекций. Для это-

го требуется создать относительно полные (то есть включающие весь видовой состав донной фауны) базы данных по нуклеотидным последовательностям или «библиотеки» по нескольким генам, во всяком случае – для наиболее вовлеченных в индустриальную активность шельфовых районов наших арктических морей.

Следующим шагом может стать постановка и решение задачи мониторинга видовой состава методами метагеномного секвенирования, который мог бы в корне изменить практику определения организмов для целей экологического мониторинга, снизив на порядок трудозатраты и финансирование.

Таким образом, междисциплинарный подход к анализу биологического разнообразия фауны беспозвоночных Арктических морей, основанный на сочетании классических морфологических методов таксономического и популяционного анализа и молекулярно-генетических методов, представляется наиболее эффективным инструментом исследования биологического разнообразия Арктики как на видовом, так и на популяционном уровнях.

Литература

1. G.M. Hewitt
Biol. J. Linn. Soc., 1996, 58(3), 247. DOI: 10.1006/bijl.1996.0035.
2. K.J. Willis, K.D. Bennett, D. Walker, G.M. Hewitt
Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B Biol. Sci., 2004, 359(1442), 183. DOI: 10.1098/rstb.2003.1388.
3. J.A. Cook, C. Brochmann, S.L. Talbot, V.B. Fedorov, E.B. Taylor, R. Väinölä, E.P. Hoberg, M. Kholodova, K.P. Magnusson, T. Mustonen
Conservation of Arctic Flora and Fauna, Arctic Biodiversity Assessment 2013: Chapter 17. (<https://www.caff.is/assessment-series/arctic-biodiversity-assessment/222-arctic-biodiversity-assessment-2013-chapter-17-genetics>).
4. F.S. Chapin, C. Körner
Arctic and Alpine Biodiversity: Patterns, Causes and Ecosystem Consequences, Ser. Ecological Studies, Vol. 113, Luxembourg, Springer Science & Business Media, 2013, 332 pp.
5. K.N. Kosobokova, R.R. Hopcroft, H.-J. Hirche
Mar. Biodivers., 2011, 41(1), 29. DOI: 10.1007/s12526-010-0057-9.
6. *List of species of free-living invertebrates of Eurasian Arctic seas and adjacent deep waters, Ser. Exploration of the Fauna of the Sea, Vol. 51*, Ed. B.I. Sirenko, RF, St. Petersburg, RAS Zoological Institute, 2001, 129 pp.
7. R.B. McKane, L.C. Johnson, G.R. Shaver, K.J. Nadelhoffer, E.B. Rastetter, B. Fry, A.E. Giblin, K. Kielland, B.L. Kwiatkowski, J.A. Laundre, G. Murray
Nature, 2002, 415(6867), 68. DOI: 10.1038/415068a.
8. P. Legagneux, G. Gauthier, D. Berteaux, J. Bêty, M.C. Cadieux, F. Bilodeau, E. Bolduc, L. McKinnon, A. Tarroux, J.F. Therrien, L. Morissette
Ecology, 2012, 93(7), 1707. DOI: 10.1890/11-1973.1.
9. W.C. Oechel, S.J. Hastings, G. Vourlitis, M. Jenkins, G. Riechers, N. Grulke
Nature, 1993, 361(6412), 520. DOI: 10.1038/361520a0.
10. W.C. Oechel, G.L. Vourlitis, S.J. Hastings, R.C. Zulueta, L. Hinzman, D. Kane
Nature, 2000, 406(6799), 978. DOI: 10.1038/35023137.
11. M.S.V. Douglas, J.P. Smol, W. Blake
Science, 1994, 266(5184), 416. DOI: 10.1126/science.266.5184.416.
12. V.L. Loughheed, M.G. Butler, D.C. McEwen, J.E. Hobbie
Ambio, 2011, 40(6), 589. DOI: 10.1007/s13280-011-0165-1.
13. K.M. Rühland, A.M. Paterson, W. Keller, N. Michelutti, J.P. Smol
Proc. R. Soc. B Biol. Sci., 2013, 280(1772), 20131887. DOI: 10.1098/rspb.2013.1887.

14. A.B. Josefson, V. Mokievsky, M. Bergmann, M.E. Blicher, B. Bluhm, S. Cochrane, N.V. Denisenko, C. Hasemann, L.L. Jorgensen, M. Klages, I. Schewe, M.K. Sejr, T. Soltwedel, J.M. Weslawski, M. Wlodarska-Kowalczyk
In *Arctic Biodiversity Assessment, Status and Trends in Arctic Biodiversity, CAFF Status Report*, Ed. H. Meltofte, Conservation of Arctic Flora and Fauna (CAFF), Arctic Council, 2013, pp. 225–257. (<http://arcticlcc.org/assets/resources/ABA2013Science.pdf>).
15. A.A. Prudkovsky, T.V. Neretina
Polar Biol., 2016, **39**(3), 533.
DOI: 10.1007/s00300-015-1805-x.
16. F.T. Bakker, A. Antonelli, J.A. Clarke, J.A. Cook, S.V. Edwards, P.G. Ericson, S. Faurby, N. Ferrand, M. Gelang, R.G. Gillespie, M. Irestedt
Peer J., 2020, **8**, 8225.
DOI: 10.7717/peerj.8225.
17. P. Hutchings
In *Grumpy Scientists: the Ecological Conscience of a Nation*, Eds D. Lunney, P. Hutchings, H.F. Recher, Australia, NSW, Mosman, Royal Zoological Society of New South Wales, 2013. pp. 26–30.
DOI: 10.7882/FS.2013.009.
18. P. Hutchings
Pacific Conserv. Biol., 2019, **25**(1), 36.
DOI: 10.1071/PC17033.
19. D.H. Janzen, J.M. Burns, Q. Cong, W. Hallwachs, T. Dapkey, R. Manjunath, M. Hajibabaei, P.D. Hebert, N.V. Grishin
Proc. Natl. Acad. Sci., 2017, **114**(31), 8313.
DOI: 10.1073/pnas.1621504114.
20. IBOL. (<https://ibol.org>).
21. NCBI: Genbank. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>).
22. E.N. Temereva, T.V. Neretina
Invertebr. Syst., 2013, **27**(6), 622.
DOI: 10.1071/IS13023.
23. J. Geller, C. Meyer, M. Parker, H. Hawk
Mol. Ecol. Resour., 2013, **13**(5), 851.
DOI: 10.1111/1755-0998.12138.
24. A.A. Prudkovsky, T.V. Neretina
Invertebr. Zool., 2018, **15**(4), 333. DOI: 10.15298/invertzool.15.4.02
25. A.A. Prudkovsky, I.A. Ekimova, T.V. Neretina
Sci. Rep., 2019, **9**, 15567. DOI: 10.1038/s41598-019-52026-7.
26. G.D. Kolbasova, A.O. Zalevsky, A.R. Gafurov, P.O. Gusev, M.A. Ezhova, A.A. Zheludkevich, O.P. Konovalova, K.N. Kosobokova, N.U. Kotlov, N.O. Lanina, A.S. Lapashina
Polar Biol., 2015, **38**(9), 1439. DOI: 10.1007/s00300-015-1707-y.
27. V. Radashevsky, V.V. Pankova, T.V. Neretina, A.N. Stupnikova, A.B. Tzetlin
Zootaxa, 2016, **4083**(2), 239.
DOI: 10.11646/zootaxa.4083.2.4.
28. A. Longhurst
Ecological geography of the Sea, USA, Burlington, Academic Press Inc., 2007, 560 pp.
29. К.В. Беклемишев
Экология и биогеография пелагиали, СССР, Москва, Наука, 1969, 291 с.
30. И.А. Жирков
Жизнь на дне. Биогеография и биоэкология бентоса, РФ, Москва, Товарищество научных изданий КМК, 2010, 453 с.
31. Л.А. Зенкевич
Фауна и биологическая продуктивность моря. Моря СССР, т. 2, СССР, Москва, Советская наука, 1947, 587 с.

English

Taxonomic and Genetic Diversity of Invertebrates in the Arctic Seas. Current Challenges and New Approaches*

Alexander B. Tzetlin

Professor, Director of N.A. Pertsov
White Sea Biological Station,
Department of Biology, Lomonosov MSU
1–12 Leninskie Gory, Moscow,
119234, Russia
atzetlin@wsbs-msu.ru

Tatiana V. Neretina

N.A. Pertsov White Sea Biological
Station, Department of Biology,
Lomonosov MSU
1–12 Leninskie Gory, Moscow,
119234, Russia
nertata@wsbs-msu.ru

Anna E. Zhadan

N.A. Pertsov White Sea Biological
Station, Department of Biology,
Lomonosov MSU
1–12 Leninskie Gory, Moscow,
119234, Russia
azhadan@wsbs-msu.ru

Abstract

Studying the biological diversity of the Arctic seas is an extremely urgent task in the era of changing climate and increasing human economic activity in high latitudes. The application of an interdisciplinary approach based on a combination of classical morphological methods, taxonomic and population analysis and molecular genetics methods have allowed us to obtain new data in the study of the biological diversity of Arctic marine ecosystems, including species belonging to mass representatives of larval plankton. Sequences of nuclear and mitochondrial genes were obtained for more than 200 species (more than 1,500 sequences). This study allows us to shed light on the structure of the life cycles of these species in the Arctic, to reveal the hidden diversity (detection and description of complexes of species and cryptic species) and to study the population structure of some widespread species. The research has created the basis for the development of a method for monitoring the biological diversity of Arctic marine ecosystems based on the metabarcoding method.

Keywords: biological diversity, Arctic, benthos, plankton, monitoring, population structure, molecular genetics methods.

*The work was financially supported by RFBR (projects 15-29-02447 and 18-05-60158).

References

1. **G.M. Hewitt**
Biol. J. Linn. Soc., 1996, **58**(3), 247. DOI: 10.1006/bijl.1996.0035.
2. **K.J. Willis, K.D. Bennett, D. Walker, G.M. Hewitt**
Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B Biol. Sci., 2004, **359**(1442), 183. DOI: 10.1098/rstb.2003.1388.
3. **J.A. Cook, C. Brochmann, S.L. Talbot, V.B. Fedorov, E.B. Taylor, R. Väinölä, E.P. Hoberg, M. Kholodova, K.P. Magnusson, T. Mustonen**
Conservation of Arctic Flora and Fauna, Arctic Biodiversity Assessment 2013: Chapter 17. (<https://www.caff.is/assessment-series/arctic-biodiversity-assessment/222-arctic-biodiversity-assessment-2013-chapter-17-genetics>).
4. **F.S. Chapin, C. Körner**
Arctic and Alpine Biodiversity: Patterns, Causes and Ecosystem Consequences, Ser. Ecological Studies, Vol. 113, Luxembourg, Springer Science & Business Media, 2013, 332 pp.
5. **K.N. Kosobokova, R.R. Hopcroft, H.-J. Hirche**
Mar. Biodivers., 2011, **41**(1), 29. DOI: 10.1007/s12526-010-0057-9.
6. *List of species of free-living invertebrates of Eurasian Arctic seas and adjacent deep waters, Ser. Exploration of the Fauna of the Sea, Vol. 51*, Ed. B.I. Sirenko, RF, St. Petersburg, RAS Zoological Institute, 2001, 129 pp.
7. **R.B. McKane, L.C. Johnson, G.R. Shaver, K.J. Nadelhoffer, E.B. Rastetter, B. Fry, A.E. Giblin, K. Kielland, B.L. Kwiatkowski, J.A. Laundre, G. Murray**
Nature, 2002, **415**(6867), 68. DOI: 10.1038/415068a.
8. **P. Legagneux, G. Gauthier, D. Berteaux, J. Bêty, M.C. Cadieux, F. Bilodeau, E. Bolduc, L. McKinnon, A. Tarroux, J.F. Therrien, L. Morissette**
Ecology, 2012, **93**(7), 1707. DOI: 10.1890/11-1973.1.
9. **W.C. Oechel, S.J. Hastings, G. Vourlitis, M. Jenkins, G. Riechers, N. Grulke**
Nature, 1993, **361**(6412), 520. DOI: 10.1038/361520a0.
10. **W.C. Oechel, G.L. Vourlitis, S.J. Hastings, R.C. Zulueta, L. Hinzman, D. Kane**
Nature, 2000, **406**(6799), 978. DOI: 10.1038/35023137.
11. **M.S.V. Douglas, J.P. Smol, W. Blake**
Science, 1994, **266**(5184), 416. DOI: 10.1126/science.266.5184.416.
12. **V.L. Loughheed, M.G. Butler, D.C. McEwen, J.E. Hobbie**
Ambio, 2011, **40**(6), 589. DOI: 10.1007/s13280-011-0165-1.
13. **K.M. Rühland, A.M. Paterson, W. Keller, N. Michelutti, J.P. Smol**
Proc. R. Soc. B Biol. Sci., 2013, **280**(1772), 20131887. DOI: 10.1098/rspb.2013.1887.
14. **A.B. Josefson, V. Mokievsky, M. Bergmann, M.E. Blicher, B. Bluhm, S. Cochrane, N.V. Denisenko, C. Hasemann, L.L. Jorgensen, M. Klages, I. Schewe, M.K. Sejr, T. Soltwedel, J.M. Weslawski, M. Wlodarska-Kowalczyk**
In Arctic Biodiversity Assessment, Status and Trends in Arctic Biodiversity, CAFF Status Report, Ed. H. Meltofte, Conservation of Arctic Flora and Fauna (CAFF), Arctic Council, 2013, pp. 225–257. (<http://arcticlcc.org/assets/resources/ABA2013Science.pdf>).
15. **A.A. Prudkovsky, T.V. Neretina**
Polar Biol., 2016, **39**(3), 533. DOI: 10.1007/s00300-015-1805-x.
16. **F.T. Bakker, A. Antonelli, J.A. Clarke, J.A. Cook, S.V. Edwards, P.G. Ericson, S. Faurby, N. Ferrand, M. Gelang, R.G. Gillespie, M. Irestedt**
Peer J., 2020, **8**, 8225. DOI: 10.7717/peerj.8225.
17. **P. Hutchings**
In Grumpy Scientists: the Ecological Conscience of a Nation, Eds D. Lunney, P. Hutchings, H.F. Recher, Australia, NSW, Mosman, Royal Zoological Society of New South Wales, 2013. pp. 26–30. DOI: 10.7882/FS.2013.009.
18. **P. Hutchings**
Pacific Conserv. Biol., 2019, **25**(1), 36. DOI: 10.1071/PC17033.
19. **D.H. Janzen, J.M. Burns, Q. Cong, W. Hallwachs, T. Dapkey, R. Manjunath, M. Hajibabaei, P.D. Hebert, N.V. Grishin**
Proc. Natl. Acad. Sci., 2017, **114**(31), 8313. DOI: 10.1073/pnas.1621504114.
20. **IBOL.** (<https://ibol.org>).
21. **NCBI: Genbank.** (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>).
22. **E.N. Temereva, T.V. Neretina**
23. **J. Geller, C. Meyer, M. Parker, H. Hawk**
Mol. Ecol. Resour., 2013, **13**(5), 851. DOI: 10.1111/1755-0998.12138.
24. **A.A. Prudkovsky, T.V. Neretina**
Invertebr. Zool., 2018, **15**(4), 333. DOI: 10.15298/invertzool.15.4.02
25. **A.A. Prudkovsky, I.A. Ekimova, T.V. Neretina**
Sci. Rep., 2019, **9**, 15567. DOI: 10.1038/s41598-019-52026-7.
26. **G.D. Kolbasova, A.O. Zalevsky, A.R. Gafurov, P.O. Gusev, M.A. Ezhova, A.A. Zheludkevich, O.P. Konovalova, K.N. Kosobokova, N.U. Kotlov, N.O. Lanina, A.S. Lapashina**
Polar Biol., 2015, **38**(9), 1439. DOI: 10.1007/s00300-015-1707-y.
27. **V. Radashevsky, V.V. Pankova, T.V. Nereina, A.N. Stupnikova, A.B. Tzetlin**
Zootaxa, 2016, **4083**(2), 239. DOI: 10.11646/zootaxa.4083.2.4.
28. **A. Longhurst**
Ecological Geography of the Sea, USA, Burlington, Academic Press Inc., 2007, 560 pp.
29. **K.V. Beklemishev**
Ecology and Biogeography of Pelagial [Ekologiya i biogeografiya pelagiali]. USSR, Moscow, Nauka, 1969, 291 pp. (in Russian).
30. **I.A. Zhirkov**
Life at the Bottom. Biogeography and Bio-Ecology of Benthos, [Zhizn na dne. Biogeografiya i bioekologiya bentosa], RF, Moscow, KMK Scientific Press Ltd., 2010, 453 pp. (in Russian).
31. **L.A. Zenkevich**
Fauna and Biological Productivity of the Sea. Seas of the USSR [Fauna i biologicheskaya produktivnost morya. Morya SSSR], Vol. 2, USSR, Moscow, Sovetskaya nauka, 1947, 587 pp. (in Russian).

Характеристика биологического разнообразия аборигенных и диких форм *Vitaceae* Juss. как важнейшего ресурса зародышевой плазмы Крыма на основе анализа микросателлитных локусов*

С.М. Гориславец, В.А. Володин, А.А. Колосова, Я.А. Волков, Г.Ю. Спотарь, В.И. Рисованная

Исследование посвящено выявлению, описанию и оценке генетического разнообразия дикого винограда Крымского полуострова. В лесных районах Крымских гор в диком виде произрастает виноград *Vitis vinifera* L., к которому относится одичавший культурный виноград *V. vinifera* ssp. *sativa* D.C. и настоящий дикий виноград *V. vinifera* ssp. *silvestris* Gmel., который рассматривают как прародителя культурного винограда. В 2015–2018 гг. при обследовании лесных районов Крымских гор было обнаружено 345 дикорастущих лиан, произрастающих вдали от культурных виноградных насаждений. Молекулярная оценка генотипов винограда выполнена на основе анализа аллельного полиморфизма девяти ядерных и трех хлоропластных микросателлитных локусов (pSSR, cpSSR). Всего генотипированы 123 образца дикорастущего винограда, по фенотипу наиболее типичных для диких форм. Проведена сравнительная оценка генетического разнообразия диких форм с результатами генотипирования 76 образцов аборигенных сортов из ампелографической коллекции. SSR-ПЦР-анализ выборки дикорастущих образцов и аборигенных сортов позволил оценить генетическое разнообразие генотипов (индекс разнообразия Шеннона 1.5 и 1.8, соответственно) и рассчитать матрицу генетических дистанций для оценки генетической изменчивости винограда.

Ключевые слова: зародышевая плазма, дикий виноград, молекулярные маркеры, SSRs, микросателлиты, аллельный полиморфизм.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №15-29-02715).

Введение

Изучение генетических ресурсов винограда в настоящее время занимает ведущее место в исследованиях винограда [1–2]. Особое внимание уделяется изучению генетического разнообразия дикого винограда *V. vinifera* ssp. *silvestris* Gmel., его филогенетическим связям с виноградом культурным *V. vinifera* ssp. *sativa* D.C. для уточнения вопросов происхождения винограда и его окультуривания [3–7]. Богатый генетический пул зародышевой плазмы дикого винограда, который тысячелетиями произрастал в данном регионе, является ценным источником

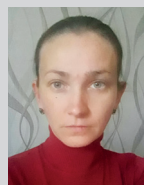
для селекции [8]. В результате деятельности человека размер популяций дикого винограда постепенно уменьшается и находится под угрозой вымирания [9]. Следовательно, высокий приоритет должен быть отдан характеристике биоразнообразия зародышевой плазмы дикого винограда и ее сохранению для предотвращения потенциальной генетической эрозии.



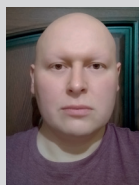
ГОРИСЛАВЕЦ
Светлана Михайловна
ВНИИ виноградарства
и виноделия «Магарач» РАН



ВОЛОДИН
Виталий
Александрович
ВНИИ виноградарства
и виноделия «Магарач» РАН



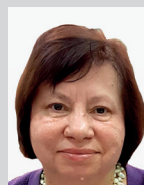
КОЛОСОВА
Аделина
Александровна
ВНИИ виноградарства
и виноделия «Магарач» РАН



ВОЛКОВ
Яков Александрович
ВНИИ виноградарства
и виноделия «Магарач» РАН



СПОТАРЬ
Геннадий Юрьевич
ВНИИ виноградарства
и виноделия «Магарач» РАН



РИСОВАННАЯ
Валентина Ивановна
ВНИИ виноградарства
и виноделия «Магарач» РАН

Крымский полуостров, благодаря его экологическим условиям и наличию заповедных районов горных лесов, является благоприятным местом для выживания и произрастания дикой популяции *Vitis vinifera* L. На территории горного Крыма встречается одичавший виноград *V. vinifera* ssp. *sativa* D.C. и настоящий дикий виноград *V. vinifera* ssp. *silvestris* Gmel., который рассматривают как прародитель культурного винограда [10–14]. Территория Ялтинского и Крымского горно-лесного заповедников, где раньше находили дикий виноград, простирается вдоль побережья Черного моря полосой с юго-запада на северо-восток от Фороса до Гурзуфа и входит в состав Главной горной гряды Крымских гор. Климат заповедников в нижней части близок к средиземноморскому, в верхней части – умеренный, влажный. Такой климат благоприятен для произрастания винограда, основным лимитирующим фактором в этом случае служит наличие грунтовых вод.

Виноградарство Крыма насчитывает тысячи лет. При этом предполагается, что некоторые местные сорта Крыма произошли от своих диких сороричей [15–17]. Кроме этого, множественные миграции народов способствовали проникновению в Крым новых виноградных лоз, которые дали начало части местных сортов винограда [18]. Основной имеющийся генофонд аборигенного винограда Крыма, собранного в прошлом веке в основных регионах виноделия полуострова, сосредоточен в ампелографической коллекции Института винограда и вина «Магарач» и насчитывает около 80 сортов. Традиционно идентификация сортов винограда в зародышевой плазме проводится на основе анализа исторической информации и оценки морфологических характеристик образца. Использование молекулярных маркеров позволило изучать генотипы на новом качественном уровне, который не зависит от субъективной оценки и фенотипической изменчивости. Для оценки генетического разнообразия широко используются ядерные микросателлитные маркеры (nSSR). Они высокополиморфны, мультиаллельны, наследуются по кодоминантному типу и являются эффективным инструментом для оценки генетической структуры зародышевой плазмы винограда [2, 19–23]. Однако высокий уровень полиморфизма nSSR-маркеров не позволяет определять отношения между профилем ДНК и географическим распределением виноградной лозы. Хлоропластные микросателлиты (cpSSR) более подходят для этой цели из-за низкой скорости мутаций и рекомбинаций в хлоропласте генома, а также из-за их наследования по материнской линии [4–7].

Целью данного исследования являлся поиск, выявление мест произрастания и изучение генетического разнообразия диких форм винограда в заповедниках горного Крыма и их сравнительный анализ с аборигенными крымскими сортами из ампелографической коллекции на основе анализа аллельного полиморфизма микросателлитных локусов (проект РФФИ №15-29-02715 «Характеристика биологического разнообразия аборигенных и диких форм Vitaceae Juss. на основе анализа микросателлитных локусов как важнейшего ресурса зародышевой плазмы (генофонда) растительности Крыма»).

Материалы и методы

Поиск дикорастущего винограда в лесных регионах Крыма

Для поиска дикорастущих форм винограда использовали метод экспедиционных обследований [24]. Образцы были отобраны в местах, удаленных от населенных пунктов и насаждений культурного винограда.

Были выполнены экспедиционные обследования заповедных районов Ялтинского, Крымского горно-лесного и Карадагского заповедников, ущелья Уч-Кош, Пепит-Топчан, Кызылкобинское и Хапхал, а также районы над Ангарским и Кибитским перевалом, Ласпинской бухтой, Байдарской долиной. Были обследованы бассейны рек Крыма Бал-Алма, Темиар, Бала, Учан-Су, Кош-Узень, Кизил-Кобинка, Улу-Узень, Суат, Орта-Узень, Алака, Календа, Арманка и Черная, лесные районы склонов Байдарской, Ялтинской, Алуштинской, Долгоруковкой яйлы, а также Бабуган-яйлы, Чатыр-Даг-яйлы, Тьрке-яйлы, Карабийл и Демерджи-яйлы.

Обнаруженные локации произрастания лиан дикорастущего винограда наносили на карту с указанием GPS-координат и краткой характеристикой образца, фотодокументировали место произрастания лианы

(лиан), побега, листа, соцветия и грозди (при наличии) дикорастущего винограда *in situ*. В лабораторных условиях отбирали материал для молекулярного исследования и повторно создавали образ-документацию образцов – побег и лист с обеих сторон, соцветия и грозди (при наличии), а также общее фото вариации формы листовой пластинки у образцов, отобранных в одном месте обследования.

С целью характеристики генетического разнообразия крымского аборигенного винограда были изучены 76 образцов из ампелографической коллекции ФГБУН ВНИИ института виноградарства и виноделия «Магарач», где сосредоточен основной генофонд зародышевой плазмы винограда Крыма. Была создана образ-документация побега, листа и грозди сортов в полевых и лабораторных условиях. Создан банк данных, включающий краткую характеристику аборигенных сортов по основным ампелографическим признакам (цвет ягоды, направление использования, опущение листа, степень его рассеченности, эколого-географическая группа и др.).

Экстракция ДНК и SSR-анализ

Для экстракции ДНК использовали 100 мг растительного материала (молодой побег, лист). ДНК экстрагировали СТАВ-методом.

Анализ простых повторяющихся последовательностей (simple sequence repeats – SSR-анализ) образцов выполнен с использованием девяти ядерных микросателлитных локусов (nSSR), рекомендованных Европейской рабочей группой [21]. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в соответствии с инструкцией производителя и добавлением 20 нг геномной ДНК в 20 мл общей ПЦР-смеси (PCR Master Mix (2X), Thermo Scientific). Все форвард-праймеры были мечены флуорохромной меткой 6-FAM, NED, R6G или TAMRA (Синтол, Москва). Условия для SSR-ПЦР-анализа выполнены в соответствии с Laucou *et al.* (2011) [23].

Разделение микросателлитных фрагментов было выполнено на генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystems) с использованием внутреннего маркера размеров GeneScan HD 400 ROX. Анализ полученных данных проводили с использованием программного обеспечения (ПО) GeneMapper (v. 4.0).

Для анализа изменчивости образцов по гаплотипам хлоропластной ДНК использовали три хлоропластных микросателлитных локуса (cpSSR): *ccmp3*, *ccmp5*, *ccmp10* [4].

Стандартные генетические параметры были рассчитаны с использованием ПО POPGENE (v.1.32) и GenALEX (v.6.5). ПО DArwin (v.5.0.158) использовали для расчета генетического расстояния по NJ (1000 бутстреп) и построения филогенетического дерева.

Результаты

Поиск дикорастущего винограда в лесных регионах Крыма

Для поиска образцов дикорастущего винограда в 2015–2018 гг. были выполнены экспедиционные обследования заповедных районов Ялтинского, Крымского горно-лесного и Карадагского природного заповедников. Обнаруженный виноград преимущественно произрастал вплоть до высоты 600 м над уровнем моря, вдоль рек, в ложбинах в смешанных лиственных лесах и в сосновом лесу с достаточным увлажнением почвы, то есть в местах с близким стоянием грунтовых вод или у источников, и практически отсутствовал в сильно затененных буковых лесах. В балках дикорастущий виноград встречался значительно реже. На обследованных участках яйл растений винограда обнаружено не было. Наибольшее количество образцов было обнаружено вдоль русел рек Черная речка, Алака и Улу-Узень (рис. 1а, б).

В отдельных локациях лианы произрастали плотными группами, например, в Поповской балке, вдоль русла реки Улу-Узень, поэтому отбирали по одному образцу на расстоянии 50–100 м друг от друга, чтобы избежать повторов (рис. 1б). Были созданы карты-схемы маршрутов экспедиционных обследований, построенных по координатам с использованием GPS-навигатора. Суммарный трек по горным массивам Крыма составил 370 км. В результате обследования были обнаружены 345 локаций произрастания дикорастущего винограда *Vitis vinifera* L. Места произрастания дикорастущих форм были описаны, их GPS-координаты нанесены на карту-схему (рис. 2).

У обнаруженных лиан была создана образ-документация места произрастания лианы (лиан), побега, листа, соцветия и грозди (при наличии) *in situ* и в лабораторных условиях (рис. 3).

Для характеристики образцов использовали классические ампелографические методы описания побега, листа, соцветия, грозди и др. Известно, что у растения типичного *V. vinifera* ssp. *silvestris* Gmel. цельные или слаборассеченные листья, трех- и пятилопастные с открытой черешковой выемкой. Нижняя поверхность листа не опушена или имеет редкое щетинистое опушение. Листовая пластинка у изученных нами образцов также была преимущественно без опушения (66.5%), в одном образце отмечено сильное паутинистое опушение и у 33% образцов – слабое паутинистое опушение. Выявлено варьирование числа лопастей (трех-, пяти- и семилопастная) форм листовой пластинки и степени ее рассеченности. Общее фото вариации формы листовой пластинки у образцов, отобранных в одном месте обследования, представлено на рис. 4.

Наиболее сложно было идентифицировать пол обнаруженного растения. В отличие от винограда культурного *V. vinifera* ssp. *sativa* D.C., сорта которого преимущественно являются обоеполыми, то есть однодомны, растения типичного *V. vinifera* ssp. *silvestris* Gmel. двудомны, то есть встречаются образцы с мужским и женским типом цветка. В лесу лианы винограда могут подниматься по деревьям до 15 м и выше (рис. 1а). Побеги с соцветиями расположены на верхушках, где максимальное освещение. Осмотреть соцветия и оценить тип цветка у таких образцов часто было невозможно. Кроме того, у многих образцов соцветия отсутствовали. Для идентификации пола у всех образцов необхо-

димо проведение дополнительных исследований по определению пола (гермафродит, женский или мужской тип цветка) молекулярными методами.

У обнаруженных нами растений винограда с соцветиями преобладали растения с мужским типом цветка (72.7%), 22.8% составили растения женского типа и 4.5% образцов имели обоеполый тип цветка. Двудомные растения произрастали в окрестностях Эски-Кермена, в районе Поповской балки и вдоль рек Алака, Суат и Учан-Су.

Таким образом, обнаруженные растения с мужским и женским типом соцветий подтвердили наличие произрастающих в Крыму двудомных форм винограда, которые, вероятнее всего, относятся к настоящему дикому винограду – *V. vinifera* ssp. *silvestris* Gmel.

Для SSR-ПЦП-анализа дикорастущих форм были отобраны 123 образца дикорастущих растений винограда с фенотипическими характеристиками, близкими к *V. silvestris* Gmel. В результате генетического анализа было детектировано 78 аллелей. Среднее число аллелей на локус составило 8.67, эффективное число аллелей – 3.68. Число аллелей на локус в общей выборке варьировало от 7 (VVMD32, VVS2) до 11

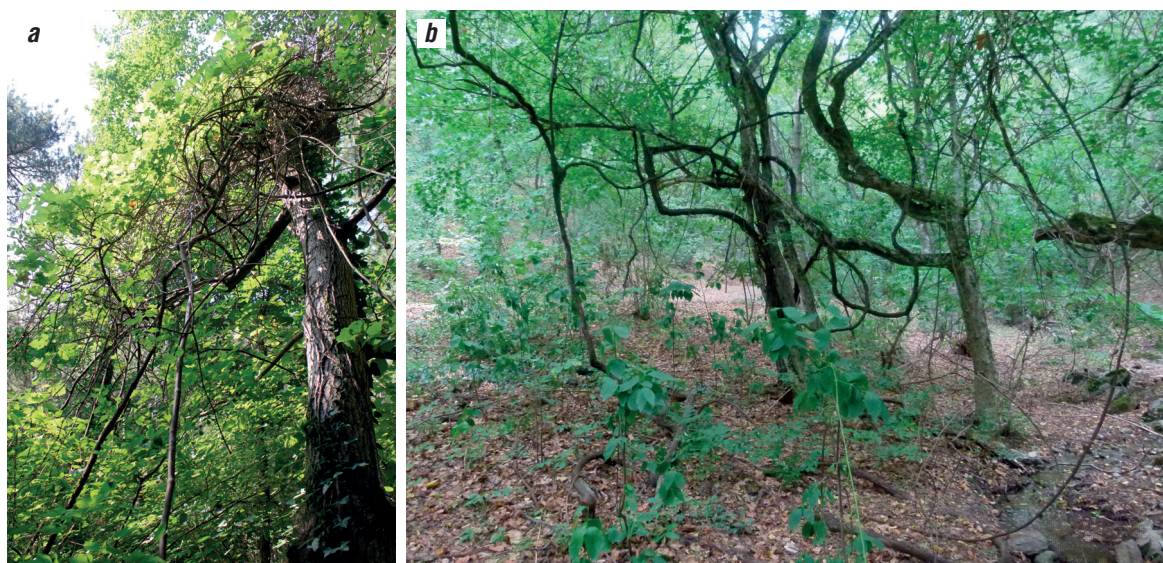
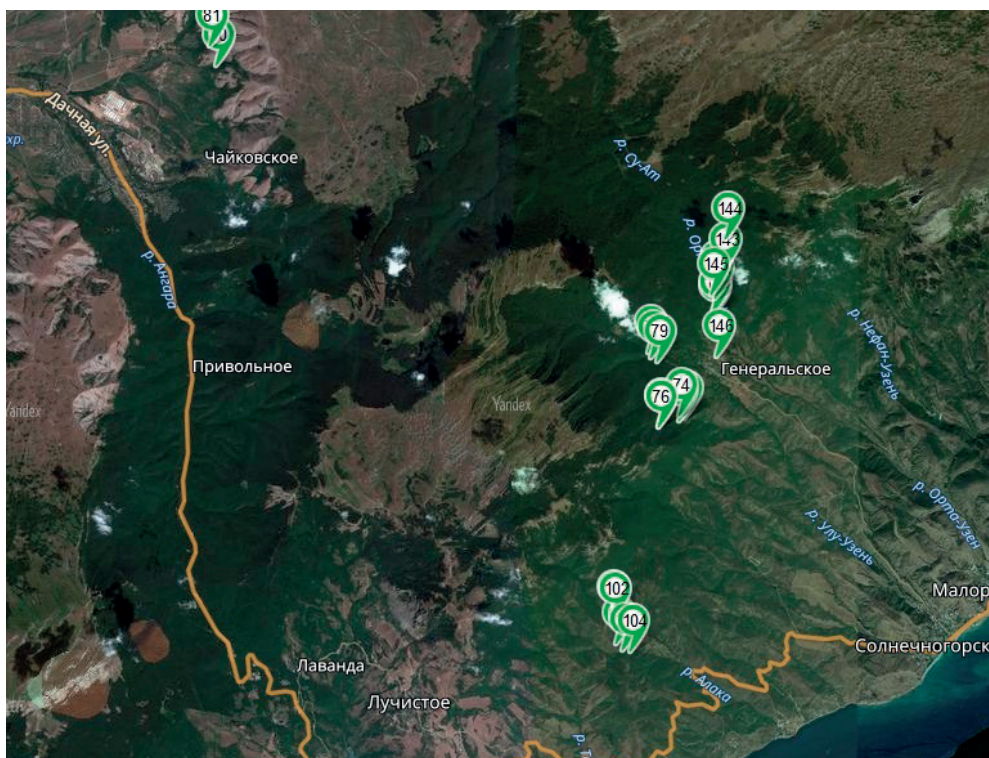


Рис. 1. Многолетние лианы дикорастущего винограда *Vitis vinifera* L., обнаруженные в горах Крыма: а – вдоль русла реки Черная речка; б – вдоль русла реки Алаки.



- 143 44.49.155 С; 34.29.079 В; Высота над уровнем моря 572 м. Справа от дороги. Опущение щетинистое. Диаметр материнской лозы 5 см. Много лиан диаметром до 4 см. Цветоносов не выявлено.
- 142 44.48.940 С; 34.28.893 В; Высота над уровнем моря 526 м. Большая старая лоза возле родника. Диаметр 15-20 см. Опущение слабое.
- 141 44.48.825 С; 34.28.903 В; Высота над уровнем моря 506 м. Диаметр лозы 2 см. Опущение слабое, паутинистое. Соцветий нет.
- 140 44.48.665 С; 34.28.875 В; Высота над уровнем моря 487 м. Справа от дороги. Красные пятна, оидиума нет. 3 лозы, диаметр до 5 см. Оидиума нет.
- 139 44.48.623 С; 34.28.880 В; Высота над уровнем моря 476 м. 3 лозы, диаметр от 1 до 5 см. Опущение паутинистое. На листьях виноградный войлочный клещ.
- 138 44.35.904 С; 33.47.943 В; Высота над уровнем моря 380 м.
- 137 44.35.756 С; 33.48.078 В; Высота над уровнем моря 469 м. Диаметр материнской лианы 15 см. Соцветий нет.

Рис. 2. Пример нанесенных на карту обнаруженных локаций произрастания дикорастущего винограда на территории Крымских заповедников с использованием GPS-координат.

(VVMD28, VrZAG79). Высокий уровень полиморфизма SSR-локусов генома винограда уже отмечался ранее исследователями при анализе коллекции сортов и видов. Среднее число аллелей на локус, полученное для девяти SSR-локусов, было равно показателям, полученным по 20 SSR-локусам в Азербайджанской коллекции дикого винограда (8.55), и больше, чем во французской и армянской популяциях (6.35 и 7.05, соответственно), но меньше, чем в популяциях Грузии, Италии и Испании (12.85, 10.25 и 9.4, соответственно) [6–7, 23]. Наблюдаемая гетерозиготность общей выборки составила 0.639 и находилась в пределах от 0.463 (VrZAG79) до 0.829 (VVMD25). Индекс фиксации (коэффициент инбридинга) варьировал от -0.036 (VVMD25) и -0.011 (VVMD27) до 0.310 (VrZAG79) со средним значением 0.111, что указывает на недостаток гетерозигот в популяции. Индекс разнообразия Шеннона составил 1.573.

Наиболее часто встречались образцы дикорастущего винограда, в генотипе которых детектированы аллели размером 186 пар нуклеотидов (п. н.) (VVMD27) – частота 0.610, 248 п. н. (VrZAG79) – 0.500, 249 п. н. (VVMD32) – 0.474, 225 п. н. (VVMD5) – 0.450.

По результатам анализа аллельного полиморфизма микросателлитных профилей рассчитаны генетические дистанции и построена дендрограмма, отражающая взаимоотношения между генотипами

клеточных образцов (п. н.) (VVMD27) – частота 0.610, 248 п. н. (VrZAG79) – 0.500, 249 п. н. (VVMD32) – 0.474, 225 п. н. (VVMD5) – 0.450.

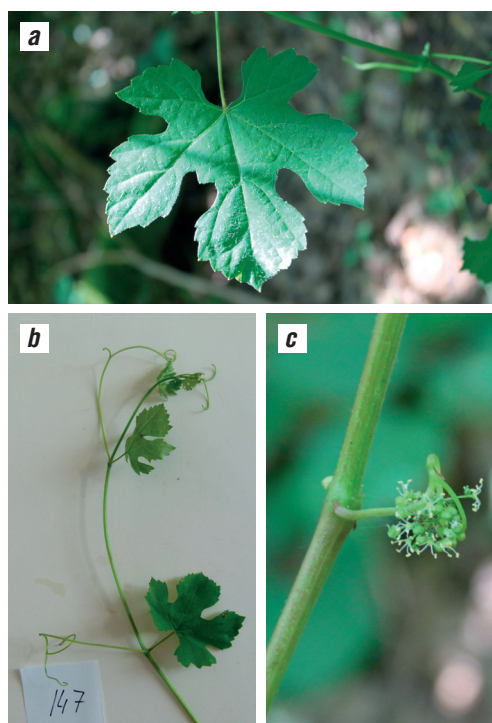


Рис. 3. Создание образ-документации дикорастущего винограда на примере образца №147, отобранного над Алуштой: а – лист in situ; б – побег в лабораторных условиях; с – мужской тип цветка.

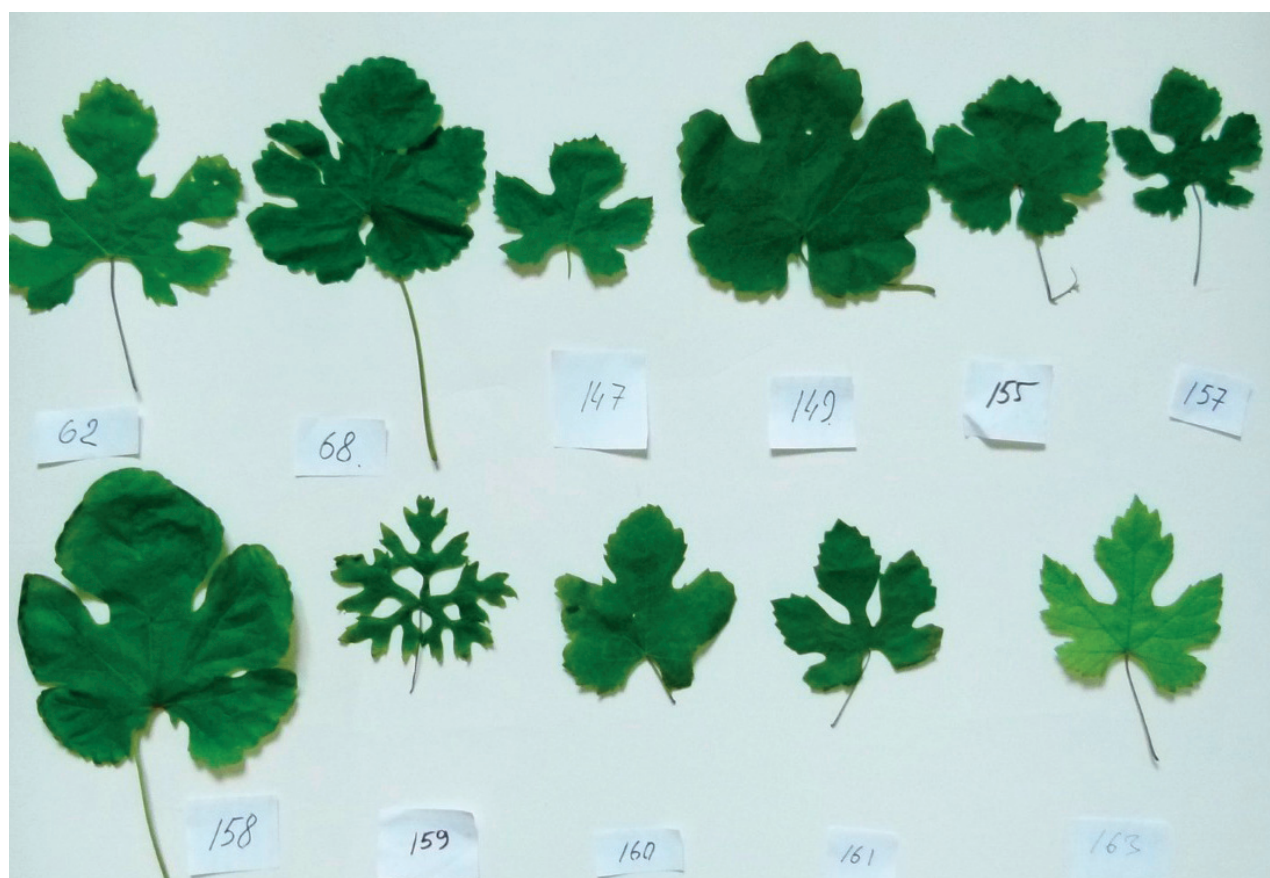


Рис. 4. Вариации формы листовой пластинки у образцов, отобранных в Поповской балке, регион Алушта.

(образцы обозначены как W и номер отобранного образца) (рис. 5).

Образцы объединились в четыре кластера, которые включают по 2–3 подкластера. Часть образцов имели идентичный генотип. Возможно, были отобраны по два образца с одного куста, так как в естественных условиях лиана может разрастаться в радиусе на несколько десятков метров, образуя новые побеги.

Анализ образцов дикорастущего винограда по трем хлоропластным микросателлитным локусам (cpSSR) позволил идентифицировать шесть аллелей, которые соответствовали двум хлоротипам A и D по классификации R. Arroyo-García [4].

Таким образом, использование SSR-локусов в качестве молекулярных маркеров позволило получить уникальные генетические профили исследуемых образцов, оценить генетическое разнообразие выборки дикорастущего винограда Крыма, аллельную варибельность микросателлитных локусов ядерного и хлоропластного генома, а также выполнить молекулярную идентификацию дикорастущих растений винограда.

Характеристика биоразнообразия аборигенного винограда Крыма

С целью характеристики генетического разнообразия крымского аборигенного винограда изу-

чены все имеющиеся сорта из ампелографической коллекции Всесоюзного национального научно-исследовательского института виноградарства и виноделия «Магарач» (ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН»). Всего проанализированы 76 образцов. Создан банк данных, включающий краткую характеристику аборигенных сортов по основным ампелографическим признакам (цвет ягоды, направление использования, опушение листа, степень его рассеченности, эколого-географическая группа и др.). Для сортов была создана образ-документация побега, листа и грозди (рис. 6).

Характеристика генетического разнообразия аборигенных сортов также выполнена на основе анализа девяти nSSR-локусов [21].

Результаты, полученные в процессе выполнения проекта, позволили провести сравнительную оценку биологического разнообразия аборигенных и диких форм *Vitaceae* Juss. (табл. 1).

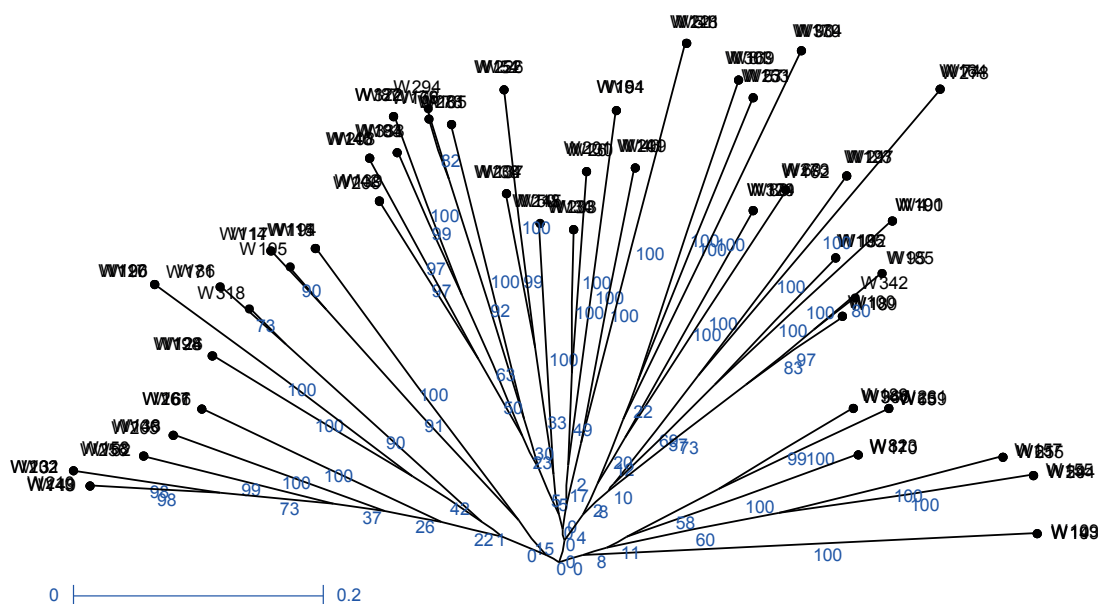


Рис. 5. Дендрограмма, отражающая генетические отношения 123 дикорастущих образцов винограда, генотипированных по девяти nSSR-локусам. Дендрограмма построена по методу Weighted Neighbour Joining с использованием программного обеспечения Darwin (v.5.0.158).

Таблица 1. Сравнительная характеристика аллельного разнообразия генотипов 76 крымских аборигенных сортов и 123 дикорастущих форм винограда по девяти микросателлитным локусам

Популяции винограда	Статистические показатели	Генетические характеристики				
		<i>N_a</i>	<i>N_e</i>	<i>I</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>
Аборигенные	Среднее	10.889	4.956	1.810	0.807	0.781
	SE	0.676	0.480	0.075	0.028	0.023
Дикие	Среднее	8.667	3.679	1.573	0.639	0.718
	SE	0.527	0.251	0.044	0.032	0.020
Общие показатели	Среднее	9.778	4.318	1.692	0.723	0.749
	SE	0.495	0.305	0.051	0.029	0.017

Примечания: *N_a* – число аллелей на локус; *N_e* – эффективное число аллелей; *I* – индекс Шеннона; *H_o* – полученная гетерозиготность; *H_e* – ожидаемая гетерозиготность; SE – стандартное отклонение.

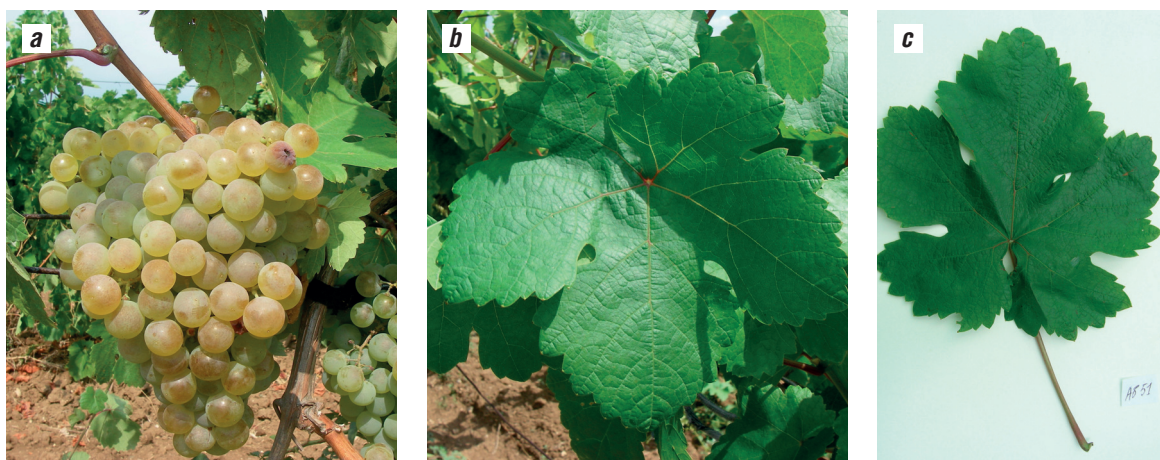


Рис. 6. Создание образ-документации крымских аборигенных сортов на примере сорта винограда Бияс Айбатлы из ампелографической коллекции Института «Магарач» (пос. Вилино, Бахчисарайский район): а – фото грозди in situ; б – фото листа in situ; в – фото листа в лабораторных условиях.

В результате анализа аборигенных сортов выявлена 191 аллель, среднее число аллелей на локус было выше, чем в выборке дикорастущего винограда, и составило 10.7, эффективное число аллелей 4.9. Число аллелей на локус находилось в пределах от 8 (VVMD27,

VVMD32) до 13 (VVMD28, VRZAG79). Средняя гетерозиготность была достаточно высокой (0.78), с диапазоном от 0.66 (VVMD28) до 0.86 (VRZAG62). Индекс разнообразия Шеннона был также выше, чем у дикорастущего винограда, и составил 1.8. По результатам генотипирования была построена дендрограмма, отражающая генетическое разнообразие крымских аборигенных сортов [25].

Сравнение SSR-профилей крымских аборигенов с SSR-профилями образцов, представленными в европейской базе данных, подтвердило, что 57 аборигенных сортов имеют уникальные генотипы, что указывает на их возможное местное происхождение. Часть молекулярных профилей сортов имели аналоги в базе данных сортов. Выявлены несколько групп сортов-синонимов. Характеристики генетической изменчивости свидетельствуют о высоком биоразнообразии крымских аборигенов.

Заключение

В рамках выполненного исследования, поддержанного грантом РФФИ, в горах заповедных зон Крымского полуострова обнаружены локации произрастания дикорастущего винограда. Наличие двудомных форм подтверждает наличие в популяции диких форм винограда *V. vinifera* ssp. *silvestris* Gmel. SSR-ПЦР-анализ выборки дикорастущих образцов и всех имеющихся в ампелографической коллекции 76 аборигенных образцов по девяти SSR-локусам позволил оценить генетическое разнообразие генотипов (индекс разнообразия Шеннона 1.5 и 1.8 соответственно) и рассчитать матрицу генетических дистанций для оценки филогенетических отношений между генотипами дикорастущего и аборигенного винограда. Оценка

взаимоотношений между изученными группами показала дифференциацию между дикорастущими формами и аборигенными сортами. Собран огромный фактический материал, заложена коллекция ДНК дикорастущего и аборигенного винограда, создан банк данных, который включает микросателлитные профили изученных генотипов, их образ-документацию, географические координаты произрастания и краткую характеристику. Это позволит отслеживать в дальнейшем сохранение генетических ресурсов в условиях *in situ* во избежание генетической эрозии зародышевой плазмы дикого винограда Крыма. Проведенные исследования позволили оценить генетическое разнообразие аллельного полиморфизма сортов. Однако специфика произрастания лиан дикорастущего винограда в лесных массивах существенно затруднила диагностику собранных образцов по полу (двудомное или однодомное растение) и идентификацию настоящего дикого винограда. Для идентификации пола у всех растений необходимы дополнительные молекулярные исследования для определения генов, ассоциированных с полом (гермафродит, женский или мужской тип цветка) молекулярными методами.

Литература

1. B. Biagini, G. De Lorenzis, S. Imazio, O. Failla, A. Scienza *Tree Genet. Genomes*, 2014, 10(5), 1369. DOI: 10.1007/s11295-014-0767-4.
2. E. Maul, R. Töpfer, F. Carka, V. Cornea, M. Crespan, M. Dallakyan, T. de Andrés Domínguez, G. de Lorenzis, L. Dejeu, S. Gorislavets, S. Grandó, N. Hovannisyan, M. Hudcovicova, T. Hvarleva, J. Ibáñez, E. Kiss, L. Kocsis, T. Lacombe, V. Laucou, D. Maghradze, E. Maletić, G. Melyan, M.Z. Mihaljević, G. Muñoz-Organero, M. Musayev, A. Nebish, C.F. Popescu, F. Regner, V. Risovanna, S. Ruisa, V. Salimov, G. Savin, A. Schneider, N. Stajner, L. Ujmajuridze, O. Failla *Vitis*, 2015, 54(Spec. Iss.), 5. DOI: 10.5073/vitis.2015.54.special-issue.5-12.
3. F. Grassi, M. Labra, S. Imazio, A. Spada, S. Sgorbati, A. Scienza, F. Sala *Theor Appl Genet.*, 2003, 107, 1315. DOI: 10.1007/s00122-003-1321-1.
4. R. Arroyo-García, L. Ruiz-García, L. Bolling, R. Ocete, M.A. Lopez, C. Arnold, A. Ergul, G. Söylemezo Lu, H.I. Uzun, F. Cabello, J. Ibáñez, M.K. Aradhya, A. Atanassov, I. Atanassov, S. Balint, J.L. Cenis, L. Costantini, S. Gorislavets, M.S. Grandó, B.Y. Klein, P.E. McGovern, D. Merdinoglu, J. Pejic, F. Pelsy, N. Primikirios, V. Risovannaya, K.A. Roubelakis-Angelakis, H. Snoussi, P. Sotiri, S. Tamhankar, P. This, I. Troshin, J.M. Malpica, F. Lefort, J.M. Martínez-Zapater *Mol. Ecol.*, 2006, 15(12), 3707. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2006.03049.x.
5. R. Arroyo-García, E. Revilla *B The Mediterranean Genetic Code – Grapevine and Olive (E-book)*, 2013. DOI: 10.5772/52933.
6. S. Imazio, D. Maghradze, G. De Lorenzis, R. Bacilieri, V. Laucou, P. This, A. Scienza, O. Failla *Tree Genet. Genomes*, 2013, 9(3), 641. DOI: 10.1007/s11295-013-0597-9.

7. S. Riaz, G. Lorenzis, Velasco, A. Koehmstedt, D. Maghradze, Z. Bobokashvili, M. Musayev, G. Zdunic, V. Laucou, M.A. Walker, O. Failla, J. Preece, M. Aradhya, R. Arroyo-Garcia
BMC Plant Biology, 2018, **18**, 137. DOI: 10.1186/s12870-018-1351-0.
8. O. Failla
Vitis, 2015, **54**(Spec. Iss.), 1.
DOI: 10.5073/vitis.2015.54.special-issue.1-4.
9. H. Doulati-Baneh, S. Mohammadi, M. Labra, F. de Mattia, I. Bruni, V. Mezzasalma, R. Abdollahi
Plant Genet. Resour., 2015, **13**(1), 27.
DOI: 10.1017/S1479262114000598.
10. А.М. Негруль
В *Ампелография СССР в 6 тт., т. 1*, под ред. А.М. Негруля, Я.Ф. Каца, СССР, Москва, Пищепромиздат, 1946, с. 159–216.
11. А.М. Негруль
Известия ТСХА, 1958, №1, 39.
12. А.А. Иванов
Крымские аборигенные сорта винограда, СССР, Симферополь, Крымиздат, 1947, 79.
13. П.Н. Грамотенко, Л.П. Трошин
Виноградарство и виноделие, 1994, №1, 10.
14. В.А. Волынкин, А.А. Полулях
В *Мат. междунар. конф. «Мобилизация и сохранение генетических ресурсов винограда, совершенствование методов селекционного процесса»* (РФ, Новочеркасск, 13–14 августа 2008 г.), РФ, Новочеркасск, ВНИИВиВ им. Я.И. Потапенко, 2008, с. 18–24. (<https://elibrary.ru/item.asp?id=23795536>).
15. С. Коржинский
Атлас к Ампелографии Крыма, Рос. Империя, С.-Петербург, Типография Главного Управления Уделов, 1904, 210 с.
16. А.М. Негруль
Советская археология, 1960, №1, 111.
17. В.М. Маликов
Автореф. дис. канд. с.-х. наук, СССР, Кишинев, 1968, 21 с.
18. *От киммерийцев до крымчаков. Народы Крыма с древнейших времён до конца XVIII в.*, под ред. И.Н. Храпунова, А.Г. Герцена, Укр., Симферополь, Доля, 2010, 288.
19. K.M. Seft, M.S. Lopes, F. Lefort, R. Botta, K.A. Roubelakis-Angelakis, J. Ibáñez, I. Pejić, H.W. Wagner, J. Glössl, H. Steinkellner
Theor. Appl. Genet., 2000, **100**, 498. DOI: 10.1007/s001220050065.
20. F. Lefort, M. Massa, S. Goryslavets, V. Risovanna, L. Troshin
В *Proc. Oenologie, 7^{ème} Symp. Int. d'Oenol.* (FR, Bordeaux-Arcachon, 2003), Ed. A. Lonvaud-Funel, FR, Paris, Tec & Doc, 2003, 71.
21. P. This, A. Jung, P. Voccacci, J. Borrego, R. Botta, L. Costantini, M. Crespan, G. Dangl, C. Eisenheld, F. Ferreira-Monteiro, M. S. Grando, J. Ibáñez, T. Lacombe, V. Laucou, R. Magalhães, C.P. Meredith, N. Milani, E. Peterlunger, F. Regner, L. Zulini, E. Maul
Theor. Appl. Genet., 2004, **109**, 1448.
DOI: 10.1007/s00122-004-1760-3.
22. M. Heuertz, S. Goryslavets, J.F. Hausman, V. Risovanna
Am. J. Enol. Vitic., 2008, **59**(2), 169.
23. V. Laucou, T. Lacombe, F. Dechesne, R. Siret, J.P. Bruno, M. Dessup, T. Dessup, P. Ortigosa, P. Parra, C. Roux, S. Santoni, D. Vares, J.P. Peros, J. M. Boursiquot, P. This
Theor. Appl. Genet., 2011, **122**, 1233. DOI: 10.1007/s00122-010-1527-y.
24. Е.Н. Андреева, И.Ю. Каккал
Методы изучения лесных сообществ, РФ, С.-Петербург, НИИХимии СПбГУ, 2002, 240 с.
25. S. Goryslavets, R. Bacilieri, V. Risovannaya, E. Memetova, V. Laucou
Vitis, 2015, **54**(Spec. Iss.), 37.
DOI: 10.5073/vitis.2015.54.special-issue.37-41.



Fig. 1. Perennial lianas of wild-growing grapevine *Vitis vinifera* L., found in the mountains of Crimea: a – along the riverbed of the Black River; b – along the bed of the Alaka River.

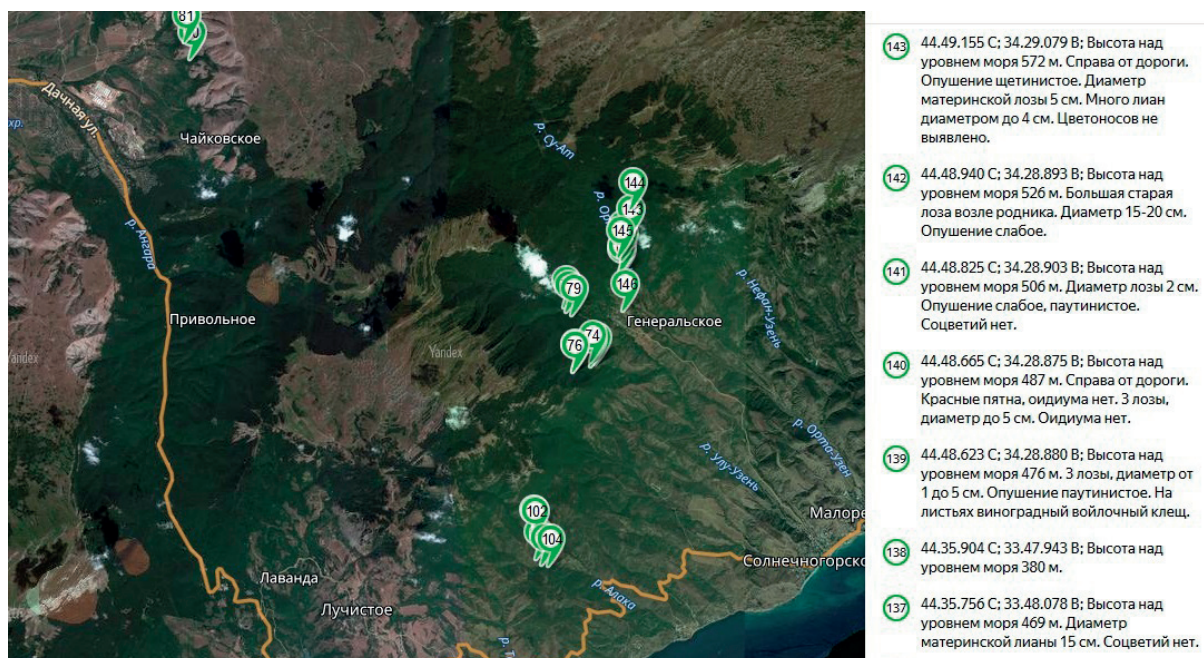


Fig. 2. An example of a map of the discovered locations of growing wild grapes found on the territory of the Crimean reserves (the map was built using GPS coordinates).



Fig. 3. Creation of image data of wild growing vineplant using the example of sample No. 147 taken over Alushta: a – under in situ leaf; b – shoot in laboratory conditions; c – under in situ male flower type.



Fig. 4. Variations in the shape of the leaf blade in plants growing in one location (the Popovskaya beam, Alushta Region).

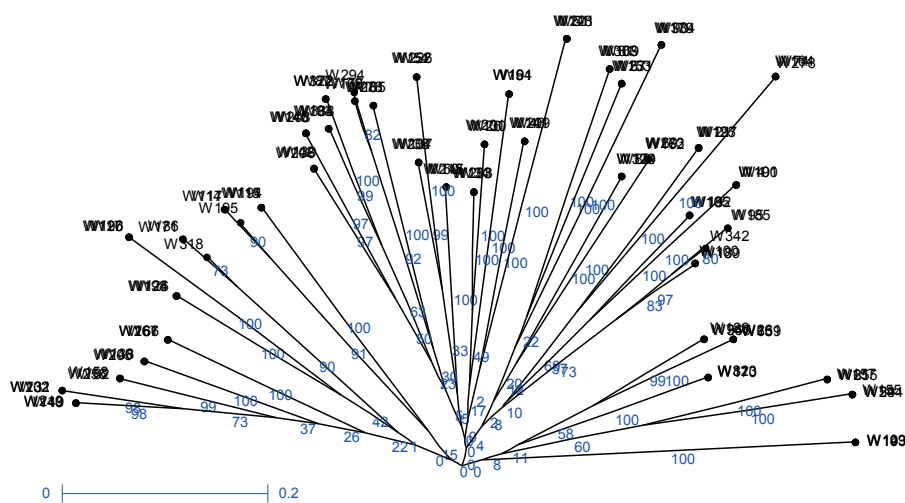


Fig. 5. Dendrogram reflecting the genetic relationship between the studied 123 wild-growing grape samples genotyped at 9 nSSR loci. Dendrograms are constructed using the Weighted Neighbour Joining method (DARwin, v.5.0.158).

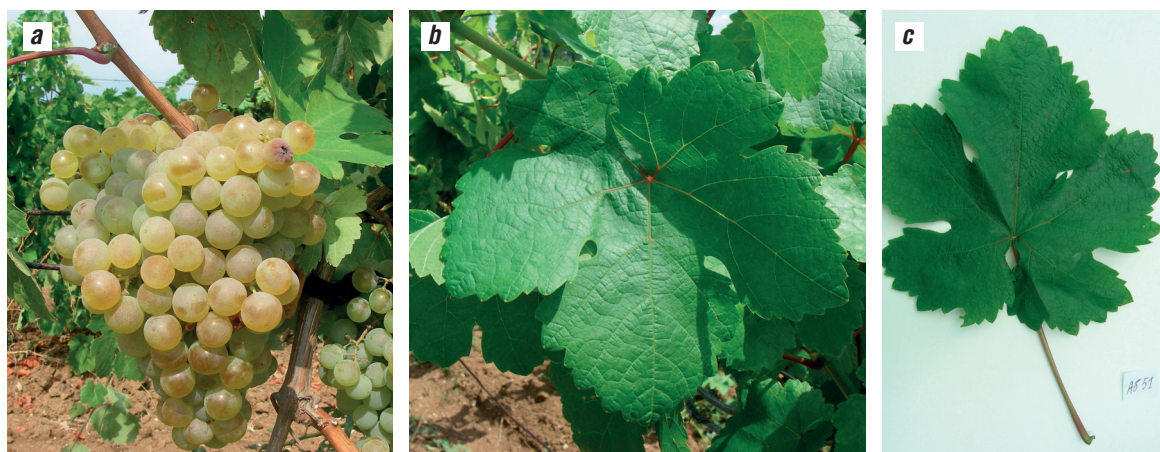


Fig. 6. Creation of image data of Crimean local grapevine varieties using the example of Biyas Aibatli cultivar from the ampelographic collection of the Magarach Institute (Vilino settlement, Bakhchisarai District): a – in situ cluster photo; b – in situ photo of the leaf; c – photo of the leaf in the laboratory.

References

1. B. Biagini, G. De Lorenzis, S. Imazio, O. Failla, A. Scienza
Tree Genet. Genomes, 2014, **10**(5), 1369.
DOI: 10.1007/s11295-014-0767-4.
2. E. Maul, R. Töpfer, F. Carka, V. Cornea, M. Crespan, M. Dallakyan, T. de Andrés, Domínguez, G. de Lorenzis, L. Dejeu, S. Goryslavets, S. Grando, N. Hovannisyanyan, M. Hudcovicova, T. Hvarleva, J. Ibáñez, E. Kiss, L. Kocsis, T. Lacombe, V. Laucou, D. Maghradze, E. Maletić, G. Melyan, M.Z. Mihaljević, G. Muñoz-Organero, M. Musayev, A. Nebish, C.F. Popescu, F. Regner, V. Risovanna, S. Ruisa, V. Salimov, G. Savin, A. Schneider, N. Stajner, L. Ujmajuridze, O. Failla
Vitis, 2015, **54**(Spec. Iss.), 5.
DOI: 10.5073/vitis.2015.54.special-issue.5-12.
3. F. Grassi, M. Labra, S. Imazio, A. Spada, S. Sgorbati, A. Scienza, F. Sala
Theor Appl Genet., 2003, **107**, 1315. DOI: 10.1007/s00122-003-1321-1.
4. R. Arroyo-García, L. Ruiz-García, L. Bolling, R. Ocete, M.A. Lopez, C. Arnold, A. Ergul, G. Söylemezo Lu, H.I. Uzun, F. Cabello, J. Ibáñez, M.K. Aradhya, A. Atanassov, I. Atanassov, S. Balint, J.L. Cenis, L. Costantini, S. Gorislavets, M.S. Grando, B.Y. Klein, P.E. McGovern, D. Merdinoglu, J. Pejic, F. Pelsy, N. Primikirios, V. Risovannaya, K.A. Roubelakis-Angelakis, H. Snoussi, P. Sotiri, S. Tamhankar, P. This, I. Troshin, J.M. Malpica, F. Lefort, J.M. Martinez-Zapater
Mol. Ecol., 2006, **15**(12), 3707.
DOI: 10.1111/j.1365-294X.2006.03049.x.
5. R. Arroyo-García, E. Revilla
In *The Mediterranean Genetic Code – Grapevine and Olive (E-book)*, 2013. DOI: 10.5772/52933.
6. S. Imazio, D. Maghradze, G. De Lorenzis, R. Bacilieri, V. Laucou, P. This, A. Scienza, O. Failla
Tree Genet. Genomes, 2013, **9**(3), 641.
DOI: 10.1007/s11295-013-0597-9.
7. S. Riaz, G. Lorenzis, Velasco, A. Koehmstedt, D. Maghradze, Z. Bobokashvili, M. Musayev, G. Zdunic, V. Laucou, M.A. Walker, O. Failla, J. Preece, M. Aradhya, R. Arroyo-Garcia
BMC Plant Biology, 2018, **18**, 137.
DOI: 10.1186/s12870-018-1351-0.
8. O. Failla
Vitis, 2015, **54**(Spec. Iss.), 1.
DOI: 10.5073/vitis.2015.54.special-issue.1-4.
9. H. Doulati-Baneh, S. Mohammadi, M. Labra, F. de Mattia, I. Bruni, V. Mezzasalma, R. Abdollahi
Plant Genet. Resour., 2015, **13**(1), 27.
DOI: 10.1017/S1479262114000598.
10. A. M. Negrul
In *Ampelographiya SSSR [Ampelography of the USSR]*, Eds A.M. Negrul, Ya.F. Kats, USSR, Moscow, Pishchepromizdat Publ., 1946, pp. 159–216 (in Russian).
11. A.M. Negrul
Izvestia Timiryazevskoy selskokhozyaystvennoy akademii [Bulletin of Timiryazev Agricultural Academy], 1958, №1, 39 (in Russian).
12. A.A. Ivanov
Krymskie aborigennyye sorta vinograda [The Crimean Native Varieties of Grapes], USSR, Simferopol, Krymizdat Publ., 1947, 79 (in Russian).
13. P.M. Gramotenko, L.P. Troshin
Vinogradarstvo i vinodelie [Viticulture and Winemaking], 1994, №1, 10 (in Russian).
14. V.A. Volinkin, A.A. Polulyzh
In *Proc. Int. Conf. "Mobilization and Preservation of the Genetic Resources of Grapes, and Improvement of the Methods of the Breeding Process"* (RF, Novocherkassk, 13–14 August, 2008), RF, Novocherkassk, Potapenko VNIIViV Publ., 2008, pp. 18–24 (in Russian).
(https://elibrary.ru/item.asp?id=23795536).
15. S.I. Korzhinsky
Atlas k Ampelografii Kryma [Atlas to the Ampelography of Crimea], Russ. Emp., St. Petersburg, Tipografiya Glavnogo Upravleniya Udelov Publ., 1904, 210 pp. (in Russian).
16. A. M. Negrul
Sovetskaya arkhologia [Soviet Archeology], 1960, №1, 111 (in Russian).
17. V.M. Malikov
Abstr. PhD Thes. (Agrucult. Sci.) [Abstr. of Dissertation for the degree of a Candidate of Agricult. Sci.], USSR, Kishinev, 1968, 21 pp. (in Russian).
18. *Otkimmeriyteyev do krymchakov. Narody Kryma s drevneyshikh vremen do kontsa XVIII v. [From Cimerian to Crimchak. The People of Crimea since the Most Ancient Times till the End of XVIII Century]*, Eds I.N. Khrapunov, A.G. Gertsen, UA, Simferopol, Dolya Publ., 2010, 288 pp. (in Russian).
19. K.M. Seif, M.S. Lopes, F. Lefort, R. Botta, K.A. Roubelakis-Angelakis, J. Ibáñez, I. Pejić, H.W. Wagner, J. Glössl, H. Steinkellner
Theor. Appl. Genet., 2000, **100**, 498. DOI: 10.1007/s001220050065.
20. F. Lefort, M. Massa, S. Goryslavets, V. Risovanna, L. Troshin
In *Proc. Oenologie, 7^{ème} Symp. Int. d'Oenol. (FR, Bordeaux-Arcachon, 2003)*, Ed. A. Lonvaud-Funel, FR, Paris, Tec & Doc, 2003, 71.
21. P. This, A. Jung, P. Boccacci, J. Borrego, R. Botta, L. Costantini, M. Crespan, G. Dangl, C. Eisenheld, F. Ferreira-Monteiro, M. S. Grando, J. Ibáñez, T. Lacombe, V. Laucou, R. Magalhães, C.P. Meredith, N. Milani, E. Peterlunger, F. Regner, L. Zulini, E. Maul
Theor. Appl. Genet., 2004, **109**, 1448. DOI: 10.1007/s00122-004-1760-3.
22. M. Heuertz, S. Goryslavets, J.F. Hausman, V. Risovanna
Am. J. Enol. Vitic., 2008, **59**(2), 169.
23. V. Laucou, T. Lacombe, F. Dechesne, R. Siret, J.P. Bruno, M. Dessup, T. Dessup, P. Ortigosa, P. Parra, C. Roux, S. Santoni, D. Vares, J.P. Peros, J. M. Boursiquot, P. This
Theor. Appl. Genet., 2011, **122**, 1233. DOI: 10.1007/s00122-010-1527-y.
24. E.N. Andreeva, I.Yu. Kakkal
Metody izucheniya lesnykh soobshchestv [Forest Community Research Methods], RF, St. Petersburg, NIIChemical SPbGU, 2002, 240 pp. (in Russian).
25. S. Goryslavets, R. Bacilieri, V. Risovannaya, E. Memetova, V. Laucou
Vitis, 2015, **54**(Spec. Iss.), 37.
DOI: 10.5073/vitis.2015.54.special-issue.37-41.

Разнообразие и эволюция геномов*

А.С. Графодатский

В рамках программы РФФИ «Изучение биологического разнообразия животных, растений и грибов как важнейшего ресурса Российской Федерации» по направлению «Научные основы сохранения генетического разнообразия на территории Российской Федерации» выполнена работа по проекту «Разнообразие и эволюция геномов», по результатам которой была существенно пополнена коллекция культур клеток и образцов ДНК многих видов фауны России (китообразные, ластоногие, грызуны, осетровые), в том числе исчезающих, описаны на хромосомном уровне геномы ряда из них. С помощью анализа «древней ДНК» определено таксономическое положение некоторых вымерших видов и популяций (лошади, куры).

Ключевые слова: сравнительная геномика, хромосомная эволюция, палеогеномика.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №15-29-02384).

Межправительственная научно-политическая платформа по биоразнообразию и экосистемным услугам ООН (IPBES) на своем заседании в мае 2019 г. описало состояние биологии планеты как «зловещее». На глобальном уровне фиксируется беспрецедентная катастрофа с биоресурсами и почти полное отсутствие реакции человечества на этот факт. Отмечено, что «экосистема Земли, от которой мы и все другие виды зависят, ухудшается быстрее, чем когда-либо. Мы разрушаем основы нашей экономики, средств к существованию, продовольственной безопасности, здоровья и качества жизни во всём мире». С 1980 г. загрязнение пластиками возросло в 10 раз, ежегодно в мировые воды сбрасывается 300–400 млн тонн тяжелых металлов, растворителей, токсичных осадков и других отходов промышленных предприятий, а удобрения, попадающие в прибрежные экосистемы, создали более 400 «мертвых зон» океана общей площадью более 245 000 км². В докладе говорится, что около 1 млн видов животных и растений в настоящее время находятся под угрозой исчезновения, причем многие из них исчезнут в течение десятилетия, чего не было никогда ранее в истории человечества. Отмечено сокращение численности популяций дикой природы на 58% с 1970 г. и еще большее сокращение (до 67%) произойдет в ближайшие три года. Более 40% видов амфибий, почти 33% кораллов и более трети всех морских млекопитающих находятся под угрозой исчезновения. Для видов насекомых картина менее ясна, но имеющиеся данные подтверждают предва-

тельную оценку угрозы для 10%. По меньшей мере 680 видов позвоночных были истреблены с XVI века, как и более 9% всех одомашненных пород млекопитающих, причем еще как минимум 1 000 пород находятся под угрозой исчезновения. Деградация земель привела к снижению продуктивности на 23% земной поверхности в мире и финансовым потерям 577 млрд долларов США в год.

Наконец-то к человечеству приходит осознание того, что мы теряем богатства, превосходящие по конечной стоимости все запасы нефти, газа и минеральных ресурсов, понимание того, что исчезают виды, изучение которых может привести к глобальным прорывам в медицине, сельском хозяйстве и экономике. Именно это положение стало основой стратегии новой, четвертой индустриальной революции, опорой которой станет изучение, глобальная попытка сохранения и рационального использования биологических ресурсов планеты.

В рамках этой парадигмы тема проведенного РФФИ конкурса проектов «Изучение биологического разнообразия животных, растений и



ГРАФОДАТСКИЙ
Александр Сергеевич
профессор,
Институт молекулярной
и клеточной биологии СО РАН

грибов как важнейшего ресурса России» представляется сверхактуальной.

Одним из направлений изучения биоразнообразия планеты стали предлагаемые в последние несколько лет проекты по тотальному секвенированию геномов всех видов планеты, включая позвоночных (среди прочих эукариот), что позволит сохранить безвозвратно исчезающие виды, хотя бы в виде информации [1–3]. Отчасти в рамках этого направления нами и выполнялся наш проект, поддержанный РФФИ. Кроме того, существенная часть нашего проекта базируется на получении первичных культур клеток, в том числе и для видов, которым грозит исчезновение. Отработанные в последнее время клеточные технологии по трансформации специализированных клеток в «стволовые» либо половые позволяют рассматривать нашу коллекцию как своего

рода ресурс для сохранения видового многообразия планеты.

Хромосомная организация геномов позвоночных

Нами продолжены наши традиционные работы по описанию хромосомного многообразия геномов млекопитающих методами молекулярной цитогенетики, прежде всего с помощью «хромосомной живописи», или Zoo-FISH. Основными объектами исследования в этот период стали морские млекопитающие – китообразные и ластоногие, олени с добавочными хромосомами, грызуны и осетровые рыбы.

В семействе китообразных (Cetaceae) отряда китопарнокопытных (Cetartiodactyla) два подсемейства: Mysticeti (усатые киты) и Odontoceti (зубатые киты). Кариотипы китообразных характеризуются исключительной стабильностью как диплоидных чисел, так и рисунком дифференциальной окраски. Однако на сегодняшний день только два вида зубатых китов (Odontoceti) были проанализированы с помощью сравнительной хромосомной живописи. В настоящей работе мы изучили хромосомы представителя усатых китов, серого кита (*Eschrichtius robustus*, Mysticeti), с помощью Zoo-FISH локализации проб

Eschrichtius robustus (Gray Whale)

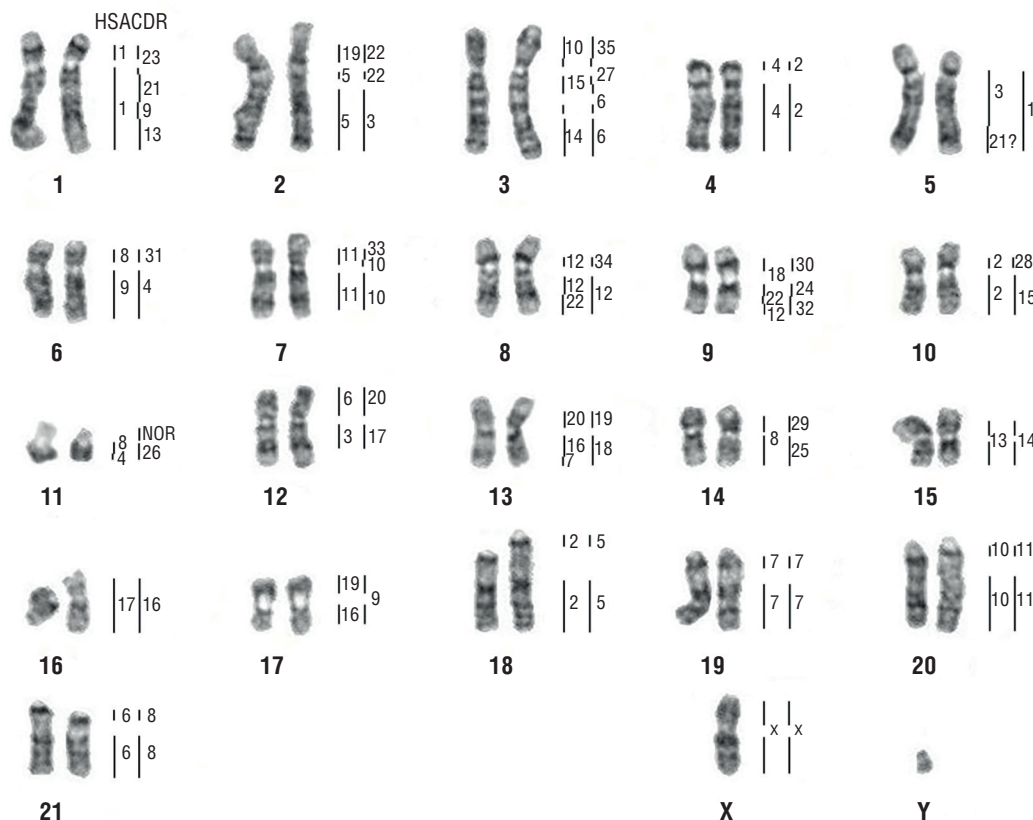


Рис. 1. GTG-окрашенный кариотип серого кита с гомологией хромосомам человека (HSA) и одногорбого верблюда (CDR). Предоставлено А. Кулемзиной и А. Проскураковой.

хромосом верблюда и человека и подтвердили высокую степень консерватизма хромосомных наборов и идентичный порядок синтенных сегментов в обеих ветвях китообразных (рис. 1). В то же время виды китообразных существенным образом различаются по локализации и размерам гетерохроматических блоков, которые у ряда видов составляют более трети генома и состоят из повторов ДНК нескольких типов. Несколько классов повторяющихся последовательностей ДНК были локализованы нами в хромосомах видов и усатых и зубатых китов. Мы обнаружили обширную внутривидовую изменчивость в размере гетерохроматиновых блоков у серого кита, показали, что гетероморфизм ряда пар хромосом определяется изменением количества общего для всех китообразных повтора, который присутствует и у зубатых китов. В то же время нами показано, что гетерохроматические районы у гринды (*Globicephala melas*) представляют собой композицию из собственных теломерных и общих для всех китов повторов [4]. Полученные данные, как и выделенная нами ДНК серого кита, стали основой для проведения работы по секвенированию генома этого вида [5].

Ранее нами были изучены геномы более 100 видов основных таксонов хищных (Carnivora), за исключением ластиногих (Pinnipedia). Настоящей работой мы восполнили этот пробел. Пробы хро-

мосом человека, собаки и каменной куницы (*Martes foina*) были локализованы нами на хромосомах байкальской нерпы (*Pusa sibirica*, Phocidae) (рис. 2), сивуча (*Eumetopias jubatus*, Otariidae) и моржа (*Odobenus rosmarus*, Odobenidae); показаны очень медленные темпы хромосомной эволюции в этой группе хищных – примерно одна перестройка за 10 млн лет; подтверждено общее происхождение всех ластиногих и определена вероятная структура кариотипа общего предка ластиногих ($2n = 38$) и близость его к кариотипу общего предка Carnivora [6]. На базе наших коллекций, как и данных о гомологии хромосом ластиногих и таких модельных видов, как человек и собака, начаты работы по секвенированию геномов, в частности, байкальской нерпы (*Pusa sibirica*) – самого долгоживущего вида среди хищных.

Появление современных методов нового поколения (NGS), когда полное секвенирование геномов стало

***Pusa sibirica* (Baikal Seal)**

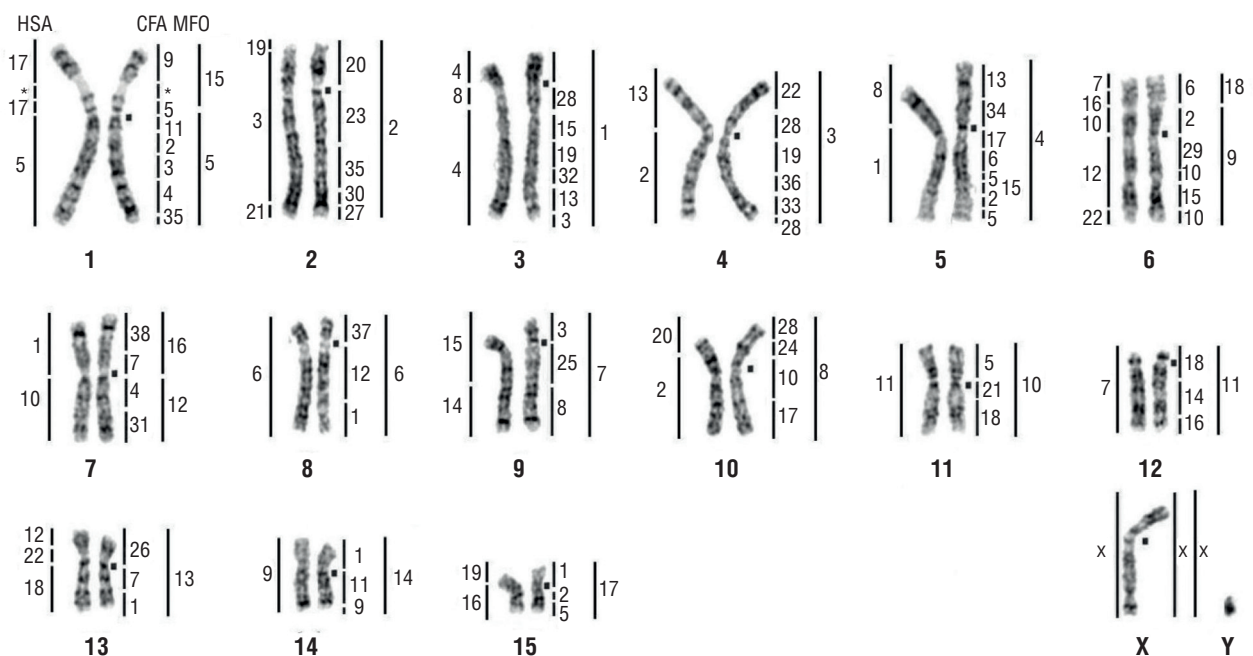


Рис. 2. GTG-окрашенный кариотип байкальской нерпы ($2n = 32$) с выявленной гомологией хромосомам человека (HSA), собаки (CFA) и каменной куницы (MFO). Квадрат отмечает положение центромерного района на соответствующей хромосоме, звездочка – отсутствие гомологии с пробамми хромосом собаки. Предоставлено В. Беклемишевой.

рутинной процедурой, сборка геномов остается огромной проблемой и в настоящее время практически никогда не доходит до привязки геномных данных к хромосомам. Так, около 100 последних реализованных проектов по секвенированию геномов видов позвоночных вообще не содержат каких-либо сведений о группах сцепления и хромосомах. Решению и этой весьма актуальной проблемы отчасти посвящен наш проект. Нами разработан подход к получению и биоинформационному анализу более или менее представительных библиотек (DOP-библиотеки) ДНК сортированных хромосом видов позвоночных. Такой подход позволил «привязать» данные NGS к определенным хромосомам. Например, в 2016 г. мы завершили проект по изучению молекулярного состава добавочных (B-) хромосом двух видов оленей, сибирской косули (*Capreolus pygargus*) и серого мазама (*Mazama gouazoubira*) и показали, что B-хромосомы косулы содержат, кроме повторов, три полноценных гена, гомологичных таковым с аутосомами, тогда как у мазама – 34 полноценных гена и частично еще 21. Очень важно, что среди полноценных генов присутствует и ген рецептора тирозин киназы (c-kit), круциальный ген (протоонкоген) развития, обнаруженный нами ранее и на B-хромосомах лисицы (*Vulpes vulpes*) и енотовидной собаки (*Nyctereutes procyonoides*) [7].

Опубликованы результаты работ по изучению особенностей организации и эволюции геномов у ряда видов наиболее многочисленной и разнообразной группы млекопитающих – грызунов (Rodentia).

Одомашненная морская свинка, *Cavia porcellus* (Hystricomorpha, Rodentia), является важным лабораторным видом и модельным объектом изучения для ряда заболеваний человека. Тем не менее геномные инструменты для этого вида ограничены, даже его кариотип плохо охарактеризован. Морская свинка

Cavia porcellus (Guinea Pig)

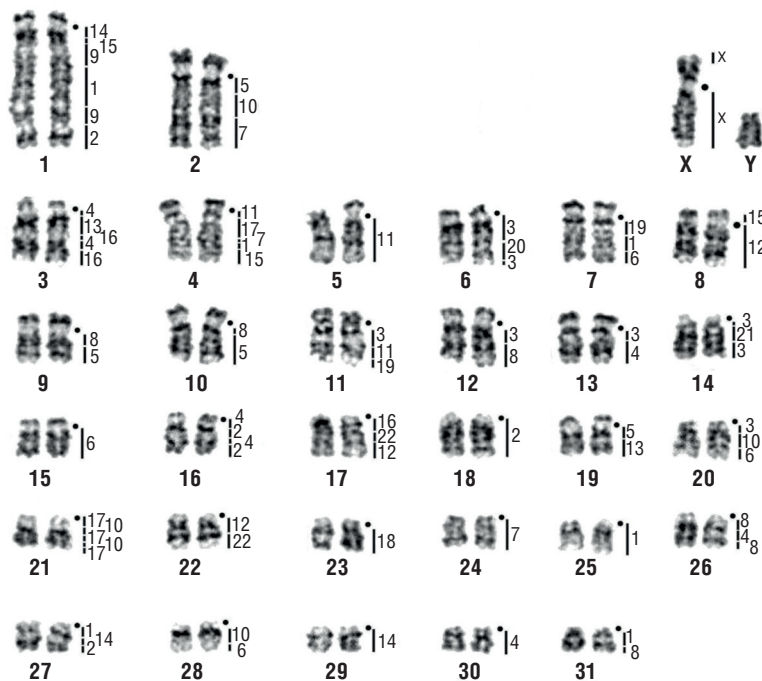


Рис. 3. Кариотип морской свинки с гомологией хромосомам человека (HSA), выявленной с помощью сравнительного хромосомного пэйнтинга. Черные точки отмечают положение центромер. Черные треугольники обозначают ЯОР. Предоставлено С. Романенко.

относится к подотряду Hystricomorpha, широко распространенной и важной группе грызунов; до сих пор хромосомы морской свинки не были сравнены с хромосомными наборами других видов хистрикоморф или с другими млекопитающими. Мы создали полный набор хромосомспецифичных проб морской свинки путем проточной сортировки и микродиссекции и впервые картировали участки гомологии хромосом между морской свинкой и человеком методом реципрокного хромосомного пэйнтинга (рис. 3). Наши данные показывают, что кариотип морской свинки претерпел значительные преобразования: 78 аутосомных консервативных сегментов хромосом человека были выявлены в геноме морской свинки. Высокая скорость эволюции генома морской свинки может объяснить, почему ассоциации HSA7/16 и HSA16/19, рассматриваемые как предковые для плацентарных, и три синтенные ассоциации (HSA1/10, 3/19 и 9/11), рассматриваемые как предковые для грызунов, не были найдены в кариотипе *C. porcellus*. Сравнительная хромосомная карта, представленная здесь, является отправной точкой для дальнейшего развития физических и генетических карт морской свинки, а также вспомогательным средством для геномной сборки конкретных хромосом. Кроме того, сравнительное картирование позволит перенести

Dicrostonyx torquatus (Palearctic Collared Lemming)

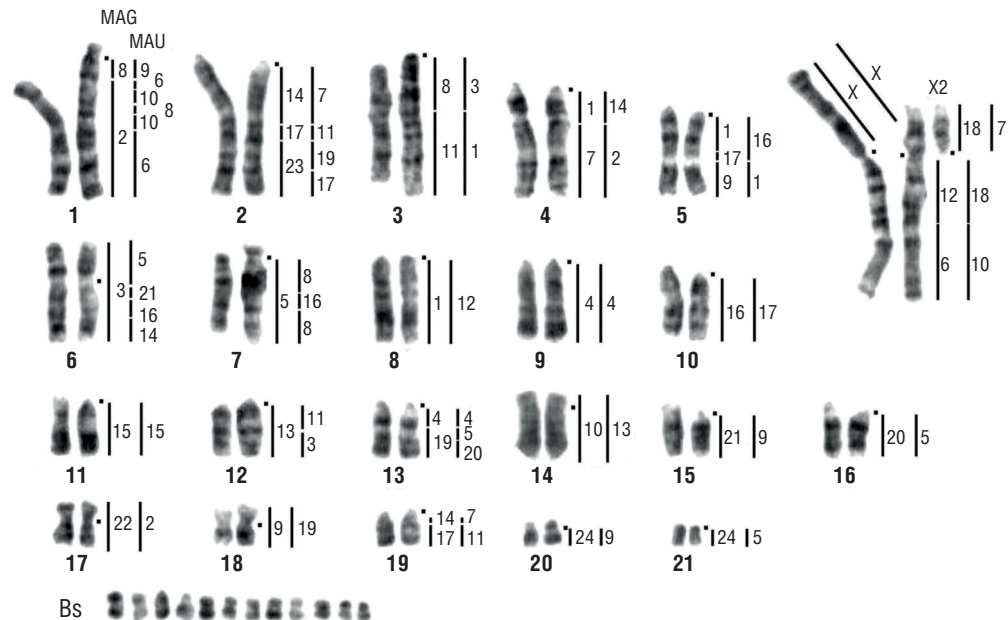


Рис. 4. Кариотип копытного лемминга (*DTO*). Черные квадраты отмечают положение центромеры. Вертикальные черные полосы отмечают районы гомологии с хромосомами темной полевки (*MAG*) и золотистого хомячка (*MAU*). Предоставлено С. Романенко.

данные генетического картирования на другие виды. Полученные нами пробы обеспечивают геномный инструментарий, который сделает морскую свинку ключевым видом для изучения эволюционной биологии грызунов из таксона *Huysticomorpha* [8].

Подсемейство полевок, *Arvicolinae*, содержит большое число видов с очень разнообразными кариотипами. Несмотря на широкое использование полевковых в биологических и медицинских исследованиях, данные о структуре их кариотипов ограничены. В рамках настоящей работы мы методом проточного сортирования создали набор пэйнтинг-проб самца копытного лемминга (*Dicrostonyx torquatus*, *DTO*). Используя этот набор и наборы, полученные ранее для темной полевки (*Microtus agrestis*, *MAG*) и золотистого хомячка (*Mesocricetus auratus*, *MAU*), мы выполнили реципрокный хромосомный пэйнтинг между этими тремя видами. Три набора проб были дополнительно гибридизированы на хромосомах евразийской водяной полевки (*Arvicola amphibius*) и северной красной полевки (*Myodes rutilus*). Мы определили диплоидное число хромосом в кариотипе *D. torquatus* как $2n = 45 + Bs$ и показали, что система половых хромосом вида представлена хромосомами $X_1X_2Y_1$ (рис. 4). Разработанные пробы являются инструментом, который поможет исследовать эволюционную биологию грызунов подсемейства *Arvicolinae*. Наши результаты показывают, что синтенная ассоциация *MAG1/17* присутствует не только в кариотипах *Arvicolinae*, но у

некоторых видов *Cricetinae*, и, таким образом, не должна рассматриваться как цитогенетическая сигнатура для *Arvicolinae*. Хотя цитогенетические маркеры для родов еще не найдены, наши данные дают представление о вероятной структуре предкового кариотипа *Arvicolinae*. Мы пришли к выводу о том, что кариотипы современных полевок могли эволюционировать от кариотипа общего предка полевковых (*AAK*) с $2n = 56$ в основном за счет слияний и делений [9].

Родовой статус китайских полевок рода *Lasiopodomys* и его разделение на подроды *Lasiopodomys* (*L. mandarinus*, *L. brandtii*) и *Stenocranius* (*L. gregalis*, *L. raddei*) не являются общепризнанными из-за противоречий в морфологических и молекулярных данных. Чтобы получить цитогенетические доказательства родового статуса *Lasiopodomys* и его разделения на подроды, а также для того, чтобы проверить гипотезу о происхождении комплекса половых хромосом у *L. mandarinus* путем транслокации аутосом на половые хромосомы, мы гибридизовали хромосомные пэйнтинг-пробы тем-

ной полевки (*Microtus agrestis*, MAG) и копытного лемминга (*Dicrostonyx torquatus*, DTO) на метафазные хромосомы самки китайской полевки (*L. mandarinus*, $2n = 47$) и самца полевки Брандта (*L. brandtii*, $2n = 34$). Дополнительно мы провели локализацию набора проб копытного лемминга на хромосомы самки узкочерепной полевки (*L. gregalis*, $2n = 36$). Межвидовой хромосомный пэйнтинг позволил выявить три цитогенетические ассоциации (MAG12/18, 17a/19 и 22/24), которые могут подтверждать родовой статус *Lasiopodomys* и указывают на эволюционную принадлежность *L. gregalis* к этому роду. Кроме того, в кариотипах всех трех видов сохранились ассоциации MAG1bc/17b и 2/8a, выявленные ранее в кариотипах всех изученных полевковых. Ассоциации MAG2a/8a/19b, 8b/21, 9b/23, 11/13b, 12b/18, 17a/19a и пять разрывов предковых сегментов характерны для подрода *Lasiopodomys*. Мы также подтвердили гипотезу о происхождении комплекса половых хромосом у *L. mandarinus* путем транслокации аутосом на половые хромосомы. Две последовательные транслокации аутосом на предковую X-хромосому у *L. mandarinus* привели к формированию комплекса, состоящего из нео-X1, нео-X2 и нео-X3 элементов. Наши результаты показывают, что род *Lasiopodomys* представляет собой яркий пример быстрой хромосомной эволюции, затрагивающей как аутосомы, так и половые хромосомы. Множественные перестройки кариотипа, включавшие робертсоновские слияния, разрывы хромосом, инверсии и накопление гетерохромосматина, привели к формированию кариотипов современных видов за очень короткий эволюционный промежуток времени, составивший около 2.4 млн лет [10].

Муйская полевка (*Microtus tujanensis*) в диплоидном наборе имеет стабильное число ($2n = 38$), но изменчивую морфологию хромосом. Мы описываем четыре кариотипических варианта, в которые вовлечены

две пары аутосом – MMUJ8 и MMUJ14, выявленные у шести особей из Бурятии с использованием комбинации методов: GTG-бэндинга и гибридизации проб хромосом пашенной полевки, *M. agrestis*. Мы предположили, что полиморфизм двух пар MMUJ8 и MMUJ14 обусловлен инверсиями в этих хромосомах в процессе эволюции кариотипа и эволюции видов. Также мы предполагаем, что стабильность числа хромосом подтверждает видовую самостоятельную эндемичного молодого вида на территории Российского Дальнего Востока [11].

Цитогенетически изучены очередные формы внутривидовых гибридов F1 слепушонок *Ellobius tancrei* ($2n = 49$, $NF = 56$ и $2n = 50$, $NF = 56$), гетерозиготных по робертсоновским транслокациям. Показано, что синапсис хромосом в сперматоцитах у этих гибридов нарушен, что и определяет понижение рождаемости у гибридов [12].

Наша группа начала работы по сравнительной геномике позвоночных других отрядов, кроме млекопитающих, в частности – рыб и среди последних – осетровых. Исследование четко выявленных примеров эволюции геномов за счет полной их дупликации (WGD) представляет значительный интерес. Одна из таких групп позвоночных – осетровые рыбы (Acipenseridae) – претерпела несколько этапов таких дупликаций и представляет собой удобную модель для исследования последствий WGD. Мы получили набор библиотек ДНК всего генома стерляди (*Acipenser ruthenus*) и ряда отдельных хромосом и их отдельных районов (с помощью микродиссекции) и определили либо сохранение, либо утрату их на различных этапах эволюции. Эталонном для сравнения был выбран геном пятнистого панцирника (*Lepisosteus oculatus*), геном которого отделился от осетровых 360 млн лет назад. Кроме того, выявлены множественные межхромосомные перестройки, имевшие место быть в ходе эволюции осетровых [13].

Древняя ДНК

Эволюционная генетика вышла на новый уровень исследований благодаря возможности изучать геномы не только современных, но и древних организмов. Получение достоверных данных при работе с древней ДНК возможно только благодаря междисциплинарному взаимодействию археологов, палеонтологов, молекулярных генетиков и биоинформатиков. Несмотря на трудоемкость и дороговизну работ, результаты не перестают удивлять и позволяют не только заполнить пробелы в знании эволюционной истории различных видов, но и пересмотреть существующие представления о формировании и динамике популяций. В рамках

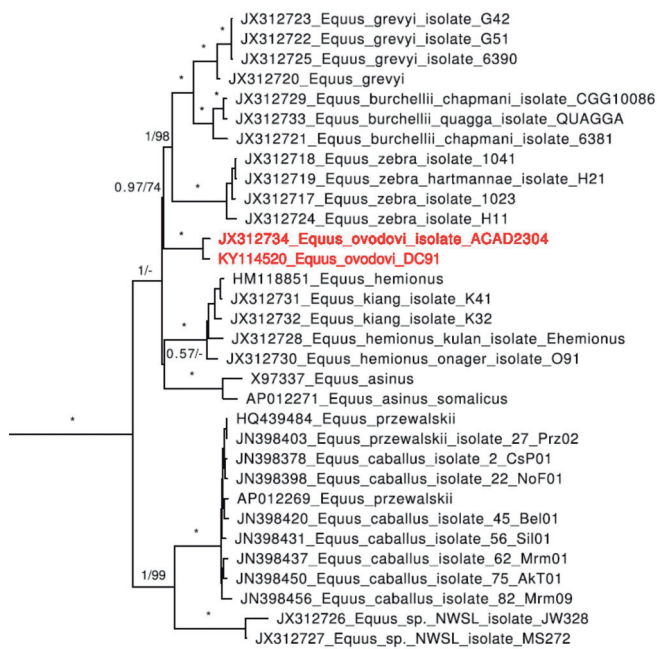


Рис. 5. Филогенетическое древо, основанное на сравнении полных митохондриальных геномов лошадей, включая образцы, использованные в работе Vilstrup et al. (2013) вместе с образцами *Equus ovodovi* из пещер Алтая (красные линии). Предоставлено А. Дружковой.

нашего проекта мы выполнили ряд работ по изучению лошадей, в том числе и вымерших относительно недавно видов.

Новый, до сих пор неизвестный подвид *Equus Sussemionus*, был определен по специфическим стоматологическим характеристикам. В настоящее время полный митогеном секвенирован только для одного представителя *Sussemionus* – лошади Оводова, обнаруженной в пещере Проскуракова (Хакасия, юго-восток Сибири) с радиоуглеродной датировкой 40 000 до н. э. [14]. Ранее считалось, что лошадь Оводова вымерла в среднем плейстоцене. В ходе исследования митогеномов древних лошадей Денисовой пещеры (Республика Алтай, юго-западная Сибирь) в 2015 г. мы обнаружили и частично секвенировали митохондриальный геном второго представителя этого вида. В 2016 г. мы секвенировали полный митохондриальный геном лошади Оводова из Денисовой пещеры. Филогенетический анализ показывает ее близкое родство с особью из Хакасии. Проведенная радиоуглеродная датировка – 32 000 лет – сдвигает границу существования вида еще на 8 тыс. лет [15]. Особый интерес вызвал тот факт, что подвид *Sussemionus* оказался филогенетически ближе к зебрам, чем к настоящим лошадям (рис. 5). В рамках проекта началось и детальное описание митохондриальных и ядерных геномов лошадей из различных захоронений Сибири и Казахстана, в том числе знаменитого Пазарьского, результаты которого будут опубликованы позднее.

Проведено исследование генетического разнообразия древних и современных кур Восточно-Европейской равнины. Для выяснения географических и историче-

ских аспектов распространения этого вида через Восточную Европу мы проанализировали последовательности D-петли митохондриальных геномов 1231–1232 пар нуклеотидов у 86 кур, принадлежащих породам, традиционным для Восточно-Европейской равнины, выявили 35 полиморфных сайта и 22 гаплотипа среди современных кур. Также мы оценили ископаемый материал IX – XVIII веков из археологических раскопок в Северной и Восточной Европе (Великого Новгорода, Пскова, Петербурга, Старой Ладogi и Азова). Три гаплотипа из ископаемых образцов принадлежат к гаплогруппе E1, один образец XVIII века относится к гаплогруппе C1, характерной для Южного Китая. Это первый выявленный случай в популяциях домашних кур до начала XX века на основе ископаемого материала. Филогенетический анализ современных и древних представителей домашних кур показал относительно недавнее введение всех гаплотипов, отличных от E1, в восточно-европейские популяции со значительным воздействием гаплогруппы C1 [16].

Проект «Геном человека», потребовавший многомиллиардных затрат, завершился тем, что весь генетический «текст» был прочитан, каждое «слово» собрано в «предложения», «абзацы» и «главы». Аналогичным образом были завершены геномные проекты для ряда модельных объектов (среди позвоночных это собака, корова, мышь, опоссум, курица). Потом наступил этап «высокопроизводительного секвенирования, NGS», когда геномные проекты подешевели на несколько порядков и геномы многих тысяч видов эукариот были секвенированы. Но хорошее не бывает дешевым, и сейчас биологическое сообщество пришло к осознанию того, что те наборы рваных с разной степенью остервенения текстов, редко собранных даже до «абзацев» и никогда до «глав», не могут считаться полноценными «геномами». В последние два года идет активное обсуждение

третьего этапа геномных проектов, основанных на новых методах секвенирования и новых подходах в сборке геномов до «глав» (хромосом). Важнейшей компонентой нового этапа геномики стала адаптация Hi-C-метода, изучающего хромосомные контакты, для секвенирования и сборки геномов до хромосомного уровня [17]. Применение Hi-C требует наличие культур клеток, то есть базируется на тех ресурсах, получение которых и было задачей нашего проекта. Широко обсуждается в последний год проект по секвенированию геномов всех 70 тыс. видов позвоночных (Vertebrate Genome Project), предполагающий довести сборки всех геномов до уровня хромосом. Часть полученных нами ресурсов уже используется

в ряде работ на этом, новом, этапе секвенирования. Вполне можно представить, что мы получим ответы на многие важнейшие общебиологические вопросы. Например, сравнивая между собой гены и геномы в целом у самых долгоживущих среди млекопитающих китов или самого долгоживущего вида среди хищников – байкальской нерпы и мышевидных грызунов, в том числе из самой «многовидовой» группы полевок. Жизнь последних коротка, но именно они выиграли эволюционную «игру» у всех остальных видов млекопитающих, составив половину из всех живущих ныне видов этого класса. Следует также учитывать, что полученные нами с помощью ZooFISH сравнительные карты хромосом существенно помогают биоинформатикам при сборках геномов новых видов. И последнее: реализуя задачи своего проекта, изучая геномы современных и вымерших видов и популяций, мы выражаем робкую надежду на то, что хотя бы часть из объектов наших исследований не перейдет в ближайшее время из первой категории во вторую.

Литература

1. *Genome 10K Community of Scientists* *J. Hered.*, 2009, **100**(6), 659. DOI: 10.1093/jhered/esp086.
2. E.C. Teeling, S.C. Vernes, L.M. Dávalos, D.A. Ray, M.T.P. Gilbert, E. Myers, *Bat1K Consortium* *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 2018, **6**, 23. DOI: 10.1146/annurev-animal-022516-022811.
3. H.A. Lewin, G.E. Robinson, W.J. Kress, W.J. Baker, J. Coddington, K.A. Crandall, R. Durbin, S.V. Edwards, F. Forest, M.T.P. Gilbert, M.M. Goldstein, I.V. Grigoriev, K.J. Hackett, D. Haussler, E.D. Jarvis, W.E. Johnson, A. Patrinos, S. Richards, J.C. Castilla-Rubio, M. Van Sluys, P.S. Soltis, X. Xu, H. Yang, G. Zhang *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2018, **115**(17), 4325. DOI: 10.1073/pnas.1720115115.
4. A.I. Kulemzina, A.A. Proskuryakova, V.R. Beklemisheva, N.A. Lemskaya, P.L. Perelman, A.S. Graphodatsky *Cytogenet. Genome Res.*, 2016, **148**, 25. DOI: 10.1159/000445459.
5. A.A. Moskalev, A.V. Kudryavtseva, A.S. Graphodatsky, V.R. Beklemisheva, N.A. Serdyukova, K.V. Krutovsky, V.V. Sharov, I.V. Kulakovskiy, A.S. Lando, A.S. Kasianov, D.A. Kuzmin, Yu.A. Putintseva, S.I. Feranchuk, M.V. Shaposhnikov, V.E. Frairefeld, D. Toren, A.V. Snezhkina, V.V. Sitnik *BMC Evol. Biol.*, 2017, **17**(Suppl. 2), 258. DOI: 10.1186/s12862-017-1103-z.
6. V.R. Beklemisheva, P.L. Perelman, N.A. Lemskaya, A.I. Kulemzina, A.A. Proskuryakova, V.N. Burkanov, A.S. Graphodatsky *PLoS ONE*, 2016, **11**(1), e0147647. DOI: 10.1371/journal.pone.0147647.
7. A.I. Makunin, I.G. Kichigin, D.M. Larkin, P.C.M. O'Brien, M.A. Ferguson-Smith, F. Yang, A.A. Proskuryakova, N.V. Vorobieva, E.N. Chernyaeva, S.J. O'Brien, A.S. Graphodatsky, V.A. Trifonov *BMC Genomics*, 2016, **17**, 618. DOI: 10.1186/s12864-016-2933-6.
8. S.A. Romanenko, P.L. Perelman, V.A. Trifonov, N.A. Serdyukova, T. Li, B. Fu, P.C.M. O'Brien, B.L. Ng, W. Nie, T. Liehr, R. Stanyon, A.S. Graphodatsky, F. Yang *PLoS ONE*, 2015, **10**(5), e0127937. DOI: 10.1371/journal.pone.0127937.
9. S.A. Romanenko, N.A. Lemskaya, V.A. Trifonov, N.A. Serdyukova, P.C.M. O'Brien, N.Sh. Bulatova, F.N. Golenishchev, M.A. Ferguson-Smith, F. Yang, A.S. Graphodatsky *Chromosome Res.*, 2016, **24**, 145. DOI: 10.1007/s10577-015-9504-6.
10. O.L. Gladkikh, S.A. Romanenko, N.A. Lemskaya, N.A. Serdyukova, P.C.M. O'Brien, J.M. Kovalskaya, A.V. Smorkatcheva, F.N. Golenishchev, P.L. Perelman, V.A. Trifonov, M.A. Ferguson-Smith, F. Yang, A.S. Graphodatsky *PLoS ONE*, 2016, **11**(12), e0167653. DOI: 10.1371/journal.pone.0167653.
11. N.A. Lemskaya, I.V. Kartavtseva, N.V. Rubtsova, F.N. Golenishchev, I.N. Sheremetyeva, A.S. Graphodatsky *Cytogenet. Genome Res.*, 2015, **146**, 238. DOI: 10.1159/000439096.
12. S. Matveevsky, I. Bakloushinskaya, V. Tambovtseva, S. Romanenko, O. Kolomiets *Comp. Cytogenet.*, 2015, **9**(4), 691. DOI: 10.3897/CompCytogen.v9i4.5674.
13. D.A. Andreyushkova, A.I. Makunin, V.R. Beklemisheva, S.A. Romanenko, A.S. Druzhkova, L.S. Biltueva, N.A. Serdyukova, A.S. Graphodatsky, V.A. Trifonov *Genes*, 2017, **8**(11), 318. DOI: 10.3390/genes8110318.
14. J.T. Vilstrup, A. Seguin-Orlando, M. Stiller, A. Ginolhac, M. Raghavan, S.C.A. Nielsen, J. Weinstock, D. Froese, S.K. Vasiliev, N.D. Ovodov, J. Clary, K.M. Helgen, R.C. Fleischer, A. Cooper, B. Shapiro, L. Orlando *PLoS ONE*, 2013, **8**(2), e55950. DOI: 10.1371/journal.pone.0055950.
15. A.S. Druzhkova, A.I. Makunin, N.V. Vorobieva, S.K. Vasiliev, N.D. Ovodov, M.V. Shunkov, V.A. Trifonov, A.S. Graphodatsky *Mitochondrial DNA Part B*, 2017, **2**(1), 79. DOI: 10.1080/23802359.2017.1285209.
16. A.G. Dyomin, M.I. Danilova, J.M. Mwacharo, A.E. Masharsky, A.V. Pantelev, A.S. Druzhkova, V.A. Trifonov, S.A. Galkina *J. Anim. Breed. Genet.*, 2017, **134**(2), 98. DOI: 10.1111/jbg.12248.
17. E. Lieberman-Aiden, N.L. Van Berkum, L. Williams, M. Imakaev, T. Ragozy, A. Telling, I. Amit, B.R. Lajoie, P.J. Sabo, M.O. Dorschner, R. Sandstrom, B. Bernstein, M.A. Bender, M. Groudine, A. Gnirke, J. Stamatoyannopoulos, L.A. Mirny, E.S. Lander, J. Dekker *Science*, 2009, **326**(5950), 289. DOI: 10.1126/science.1181369.

English |||||

Genome Diversity and Evolution*

Alexander S. Graphodatsky

Professor,

Institute of Molecular and Cellular Biology, SB RAS

8/2 Lavrentiev Ave., Novosibirsk, 630090, Russia

graf@mcb.nsc.ru

Abstract ●

As part of the RFBR program "Studying the biological diversity of animals, plants and mushrooms as the most important resource of the Russian Federation" in the direction "Scientific basis for the preservation of genetic diversity in the territory of the Russian Federation", the work on the project "Genome Diversity and Evolution" was carried out. The collection of DNA samples of many species of the fauna of Russia (cetaceans, pinnipeds, rodents, sturgeons), including the disappearing ones, were replenished significantly, and the genomes of a number of them were described on a chromosomal level. By analyzing the "ancient DNA", the taxonomic position of some extinct species and populations (horses, chickens) was determined.

Keywords: comparative genomics, chromosomal evolution, paleogenomics.

*The work was financially supported by RFBR (project 15-29-02384).

Images & Tables ●

Eschrichtius robustus (Gray Whale)

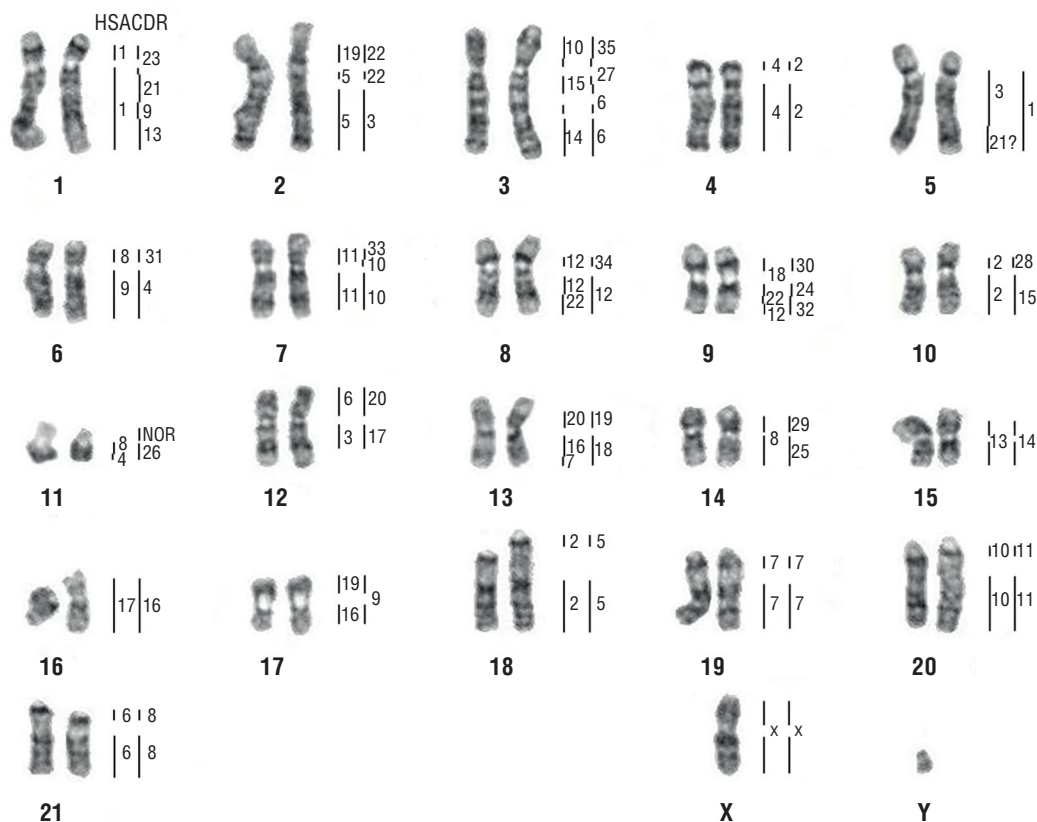


Fig. 1. GTG-banded karyotype of the gray whale with homologies to human (HSA) and dromedary (CDR) chromosomes. Contributed by A. Kulemzina & A. Proskuryakova.

Pusa sibirica (Baikal Seal)

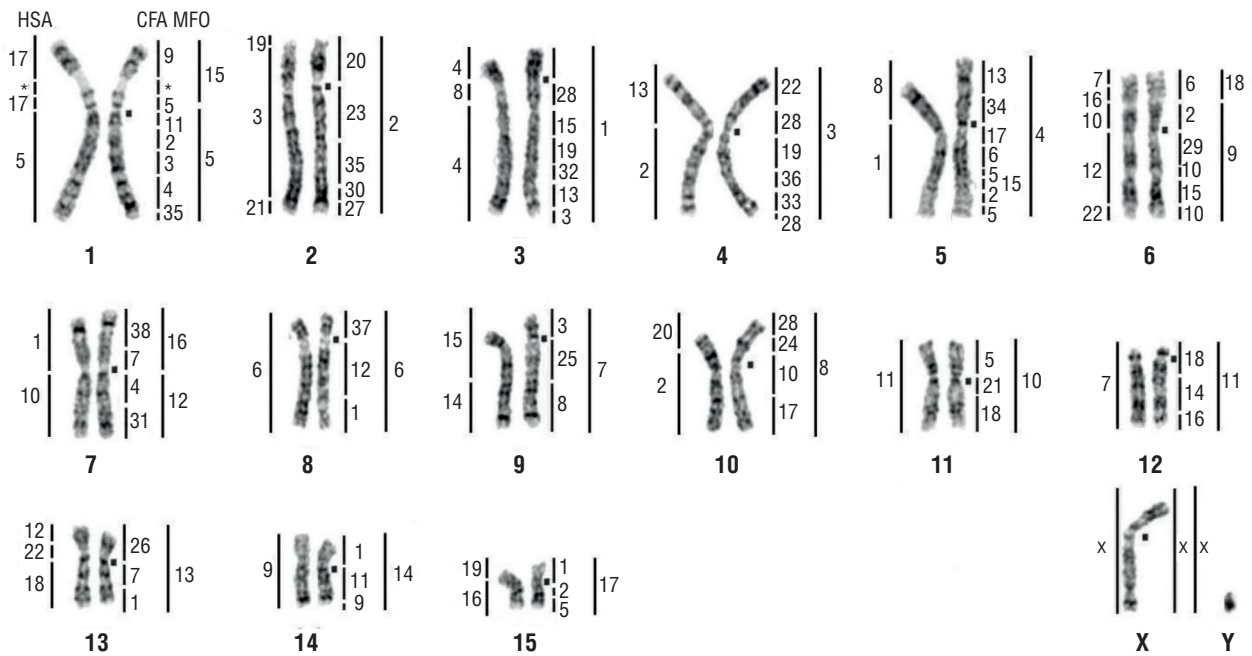


Fig. 2. GTG-banded karyotype of the Baikal seal ($2n=32$) with the assignment of homology to human (HSA), dog (CFA) and stone marten (MFO) chromosomes. The square denotes the centromere position on corresponding chromosome. the segments with “*” were not painted by any dog probe. Contributed by V. Beklemisheva.

Cavia porcellus (Guinea Pig)

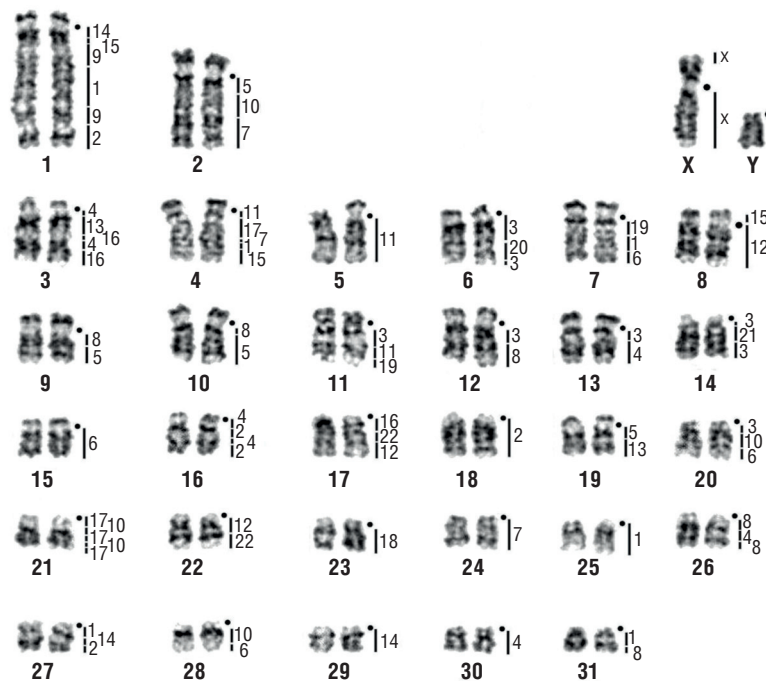


Fig. 3. Karyotype of the guinea pig with homologies to human chromosomes (HSA) revealed by comparative chromosome painting. Black dots mark position of centromeres. Black triangles indicate NORs. Contributed by S. Romanenko.

Dicrostonyx torquatus (Palearctic Collared Lemming)

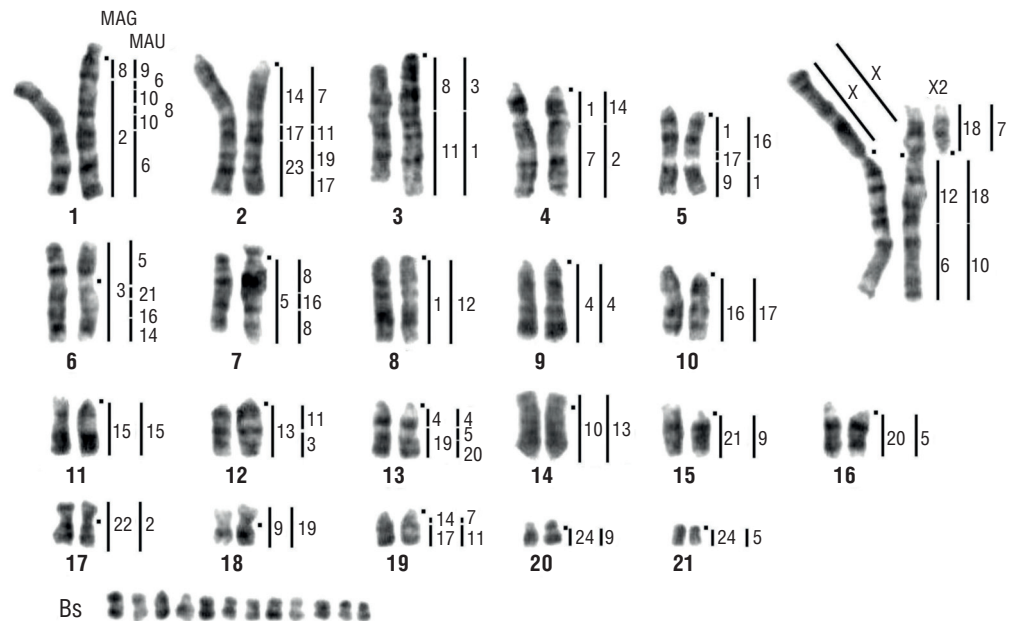


Fig. 4. Karyotype of the collared lemming (DTO). Black squares mark the position of the centromere. Vertical black bars mark the regions of homology with chromosomes of the dark vole (*Microtus agrestis*, MAG) and the golden hamster *M. auratus* (MAU). Contributed by S. Romanenko.

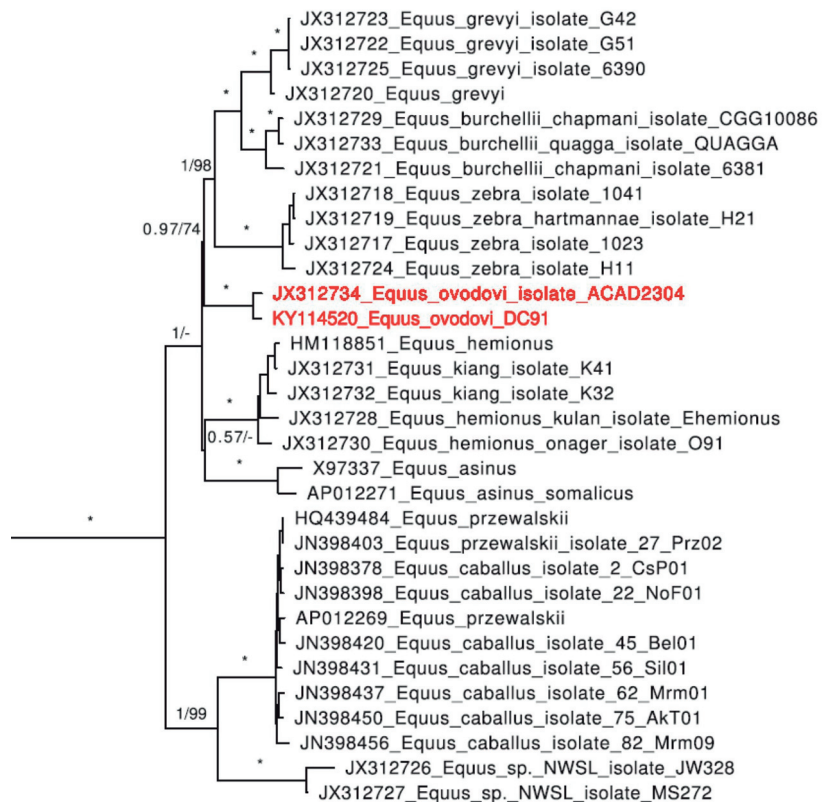


Fig. 5. Phylogenetic tree based on complete mitochondrial genomes including equid samples used in Vilstrup et al. (2013) together with *Equus ovodovi* samples from Altai caves (red lines). Contributed by A. Druzhkova.

References

1. **Genome 10K Community of Scientists**
J. Hered., 2009, **100**(6), 659.
DOI: 10.1093/jhered/esp086.
2. **E.C. Teeling, S.C. Vernes, L.M. Dávalos, D.A. Ray, M.T.P. Gilbert, E. Myers, Bat1K Consortium**
Annu. Rev. Anim. Biosci. 2018., **6**, 23.
DOI: 10.1146/annurev-animal-022516-022811.
3. **H.A. Lewin, G.E. Robinson, W.J. Kress, W.J. Baker, J. Coddington, K.A. Crandall, R. Durbin, S.V. Edwards, F. Forest, M.T.P. Gilbert, M.M. Goldstein, I.V. Grigoriev, K.J. Hackett, D. Haussler, E.D. Jarvis, W.E. Johnson, A. Patrinos, S. Richards, J.C. Castilla-Rubio, M. Van Sluys, P.S. Soltis, X. Xu, H. Yang, G. Zhang**
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2018, **115**(17), 4325.
DOI: 10.1073/pnas.1720115115.
4. **A.I. Kulemzina, A.A. Proskuryakova, V.R. Beklemisheva, N.A. Lemskaya, P.L. Perelman, A.S. Graphodatsky**
Cytogenet. Genome Res., 2016, **148**, 25.
DOI: 10.1159/000445459.
5. **A.A. Moskalev, A.V. Kudryavtseva, A.S. Graphodatsky, V.R. Beklemisheva, N.A. Serdyukova, K.V. Krutovsky, V.V. Sharov, I.V. Kulakovskiy, A.S. Lando, A.S. Kasianov, D.A. Kuzmin, Yu.A. Putintseva, S.I. Feranchuk, M.V. Shaposhnikov, V.E. Fraifeld, D. Toren, A.V. Snezhkina, V.V. Sitnik**
BMC Evol. Biol., 2017, **17**(Suppl. 2), 258.
DOI: 10.1186/s12862-017-1103-z.
6. **V.R. Beklemisheva, P.L. Perelman, N.A. Lemskaya, A.I. Kulemzina, A.A. Proskuryakova, V.N. Burkanov, A.S. Graphodatsky**
PLoS ONE, 2016, **11**(1), e0147647.
DOI: 10.1371/journal.pone.0147647.
7. **A.I. Makunin, I.G. Kichigin, D.M. Larkin, P.C.M. O'Brien, M.A. Ferguson-Smith, F. Yang, A.A. Proskuryakova, N.V. Vorobieva, E.N. Chernyaeva, S.J. O'Brien, A.S. Graphodatsky, V.A. Trifonov**
BMC Genomics, 2016, **17**, 618. DOI: 10.1186/s12864-016-2933-6.
8. **S.A. Romanenko, P.L. Perelman, V.A. Trifonov, N.A. Serdyukova, T. Li, B. Fu, P.C.M. O'Brien, B.L. Ng, W. Nie, T. Liehr, R. Stanyon, A.S. Graphodatsky, F. Yang**
PLoS ONE, 2015, **10**(5), e0127937.
DOI: 10.1371/journal.pone.0127937.
9. **S.A. Romanenko, N.A. Lemskaya, V.A. Trifonov, N.A. Serdyukova, P.C.M. O'Brien, N.Sh. Bulatova, F.N. Golenishchev, M.A. Ferguson-Smith, F. Yang, A.S. Graphodatsky**
Chromosome Res., 2016, **24**, 145. DOI: 10.1007/s10577-015-9504-6.
10. **O.L. Gladkikh, S.A. Romanenko, N.A. Lemskaya, N.A. Serdyukova, P.C.M. O'Brien, J.M. Kovalskaya, A.V. Smorkatcheva, F.N. Golenishchev, P.L. Perelman, V.A. Trifonov, M.A. Ferguson-Smith, F. Yang, A.S. Graphodatsky**
PLoS ONE, 2016, **11**(12), e0167653.
DOI: 10.1371/journal.pone.0167653.
11. **N.A. Lemskaya, I.V. Kartavtseva, N.V. Rubtsova, F.N. Golenishchev, I.N. Sheremetyeva, A.S. Graphodatsky**
Cytogenet. Genome Res., 2015, **146**, 238.
DOI: 10.1159/000439096.
12. **S. Matveevsky, I. Bakloushinskaya, V. Tambovtseva, S. Romanenko, O. Kolomiets**
Comp. Cytogenet., 2015, **9**(4), 691.
DOI: 10.3897/CompCytogen.v9i4.5674.
13. **D.A. Andreyushkova, A.I. Makunin, V.R. Beklemisheva, S.A. Romanenko, A.S. Druzhkova, L.S. Biltueva, N.A. Serdyukova, A.S. Graphodatsky, V.A. Trifonov**
Genes, 2017, **8**(11), 318. DOI: 10.3390/genes8110318.
14. **J.T. Vilstrup, A. Seguin-Orlando, M. Stiller, A. Ginolhac, M. Raghavan, S.C.A. Nielsen, J. Weinstock, D. Froese, S.K. Vasiliev, N.D. Ovodov, J. Clary, K.M. Helgen, R.C. Fleischer, A. Cooper, B. Shapiro, L. Orlando**
PLoS ONE, 2013, **8**(2), e55950. DOI: 10.1371/journal.pone.0055950.
15. **A.S. Druzhkova, A.I. Makunin, N.V. Vorobieva, S.K. Vasiliev, N.D. Ovodov, M.V. Shunkov, V.A. Trifonov, A.S. Graphodatsky**
Mitochondrial DNA Part B, 2017, **2**(1), 79.
DOI: 10.1080/23802359.2017.1285209.
16. **A.G. Dyomin, M.I. Danilova, J.M. Mwacharo, A.E. Masharsky, A.V. Panteleev, A.S. Druzhkova, V.A. Trifonov, S.A. Galkina**
J. Anim. Breed. Genet., 2017, **134**(2), 98. DOI: 10.1111/jbg.12248.
17. **E. Lieberman-Aiden, N.L. Van Berkum, L. Williams, M. Imakaev, T. Ragozy, A. Telling, I. Amit, B.R. Lajoie, P.J. Sabo, M.O. Dorschner, R. Sandstrom, B. Bernstein, M.A. Bender, M. Groudine, A. Gnirke, J. Stamatoyannopoulos, L.A. Mirny, E.S. Lander, J. Dekker**
Science, 2009, **326**(5950), 289. DOI: 10.1126/science.1181369.

Изменчивость кариотипа: хромосомные перестройки, их проявление в мейозе у млекопитающих и эволюционные последствия*

С.Н. Матвеевский, О.Л. Коломиец

Хромосомный полиморфизм как составная часть изменчивости обусловлен различными хромосомными перестройками, в том числе робертсоновскими транслокациями (Rb) и полноплечевыми реципрокными транслокациями (WART). Исследование посвящено изучению видов млекопитающих, эволюция которых сопряжена с Rb-транслокациями, включая Rb с частичной гомологией. Особое внимание уделено особенностям синапсиса хромосом у гетерозигот по Rb-транслокациям, деталям формирования мультивалентов хромосом в профазе I мейоза, роли связи мейотических хромосом с ядерной оболочкой в формировании «быстрых» и «медленных» СК-тривалентов и особенностям организации прицентромерных участков осевого элемента Rb-метацентриков в составе тривалентов. Показано, что формирование мультивалентов хромосом в мейозе может приводить к изменению архитектуры ядер, анеуплоидии гамет, нарушению фертильности гетерозигот, являться причиной репродуктивной изоляции отдельных хромосомных форм и служить драйвером становления новых видов.

Ключевые слова: робертсоновская транслокация, монобрахиальная гомология, полноплечевая реципрокная транслокация, мейоз, синаптонемный комплекс (СК).

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты №№12-04-31425, 15-29-02649 и 20-34-70027).

Биоразнообразие – широкое понятие современной биологии, имеющее множество трактовок из-за отсутствия единого общепринятого определения. Так или иначе, этот термин означает «вариабельность живых существ...», которая проявляется на внутривидовом, видовом и надвидовом уровнях. Под хромосомной изменчивостью как частью генетического разнообразия подразумевают внутривидовую изменчивость кариотипа, обусловленную различными хромосомными перестройками.

Принято считать, что кариотип – уникальная стабильная характеристика вида, которая отражает не только количество, но и качество (структуру) хромосом. Термин «кариотип» как признак вида введен в науку Л.Н. Делоне в 1922 г. [1]. Кариотип выражается формулой « $2n = 42, NF = 60$ » (на примере серой крысы *Rattus norvegicus*), где $2n$ – диплоидное число хромосом, а NF – число хромосомных плеч. Под «стабильностью кариотипа» подразумевают существование в популяциях особей одного вида с постоянными значениями чисел $2n$ и NF на всем ареале.

Вместе с тем существуют виды с нестабильным кариотипом, и хотя число их невелико, именно они привлекают всё большее число исследователей [2]. Под нестабильностью кариотипа подразумевают существование

в разных популяциях одного вида особей, кариотипы которых характеризуются разными значениями $2n$ и/или NF . Такие кариотипические варианты называют хромосомными формами, хромосомными расами, кариоморфами, кариоформами или цитотипами. В этом случае часто используют термины «хромосомный полиморфизм» или «географическая изменчивость хромосомных наборов», хотя объемы этих понятий различны [3]. Широкий хромосомный полиморфизм описан у многих видов, например: домашней мыши *Mus musculus domesticus* ($2n = 40-22, NF = 40$), обыкновенной бурозубки *Sorex araneus* ($2n = 33-18, NF = 39-40$), ближневосточного слепыша *Nannospalax ehrenbergi* ($2n = 52-60, NF = 76-86$), малого слепыша *Nannospalax leucodon* ($2n = 46-58, NF = 76-98$), кустарниковой полевки *Terricola daghestanicus* ($2n = 54-38, NF = 58$) и других.



МАТВЕЕВСКИЙ
Сергей Николаевич
Институт общей генетики
им. Н.И. Вавилова РАН



КОЛОМИЕЦ
Оксана Леонидовна
профессор,
Институт общей генетики
им. Н.И. Вавилова РАН

Робертсоновские транслокации и монобрахиальная гомология метацентриков

Изменчивость кариотипов обусловлена возникновением хромосомных перестроек. Самым распространенным типом перестроек является робертсоновская (Rb) транслокация (слияние), когда две акроцентрические или телоцентрические хромосомы образуют одну метацентрическую хромосому, а маленький метацентрический фрагмент элиминируется (рис. 1а).

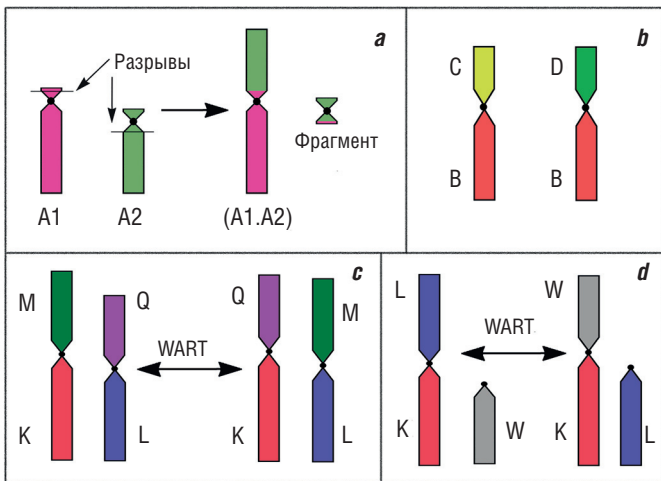


Рис. 1. Схемы хромосомных изменений в кариотипе: а – робертсоновская транслокация, A1, A2 – акроцентрики 1 и 2; b – монобрахиально гомологичные метацентрики; c, d – перестройки WART.

Так, в некоей предковой популяции, имеющей все акроцентрики, может образоваться разное число Rb-слияний, в результате которых формируются

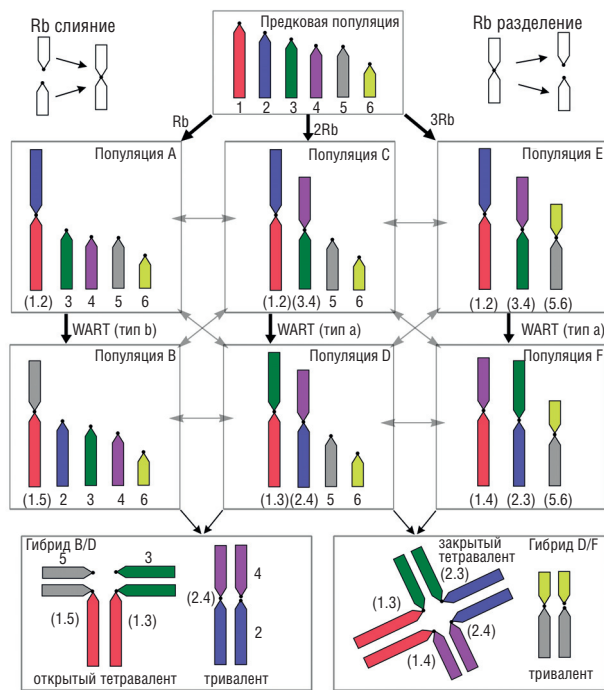


Рис. 2. Схема хромосомной изменчивости, обусловленной Rb-транслокациями, монобрахиальной гомологией и WART-транслокациями, и возможные хромосомные конфигурации у межпопуляционных гибридов.

одна или несколько метацентрических хромосом (популяции А, С, Е на рис. 2).

Наибольший интерес для исследования хромосомного полиморфизма представляют виды животных с полным «робертсоновским веером», впервые описанным Робертом Маттеем у африканских мышей подрода *Leggada* (*Mus minutoides-musculoides*) [4]. Суть этого феномена заключается в том, что в пределах одного вида встречаются разные хромосомные формы: от форм, в кариотипах которых все аутосомы представлены акроцентриками, до форм, у которых все аутосомы – Rb-метацентрики. Важно, что в хромосомной эволюции могут происходить не только Rb-слияния (Rb-fusion), но и разъединения Rb-метацентриков (Rb-fission), как это описано, например, в семействе лошадиных [5] (рис. 2, две схемы в верхней части).

Хромосомные формы могут отличаться друг от друга не только по числу хромосом, но и по комбинации двуплечих хромосом. Особый интерес в этом отношении представляет частичная гомология двух Rb-метацентриков, то есть гомология только по одному из плеч. Такие хромосомы принято называть монобрахиально гомологичными, а сам феномен – монобрахиальной гомологией (рис. 1b). Впервые термин «монобрахиальная гомология» предложен Альфредом Гроппом с коллегами [6] в работе, посвященной исследованию робертсоновской изменчивости у мышей *Mus musculus domesticus* в Альпах. Сейчас этот термин широко используется исследователями. На рис. 2 иллюстративно представлена монобрахиальная гомология хромосом: популяции А и В, С и D или Е и F отличаются друг от друга комбинацией двуплечих хромосом, гомологичных по одному из плеч.

Полноплечевые реципрокные транслокации (WART)

Понимание «полноплечевой реципрокной транслокации» (whole-arm reciprocal translocation, WART)

как феномена обмена хромосомными плечами между метацентриками стало возможно благодаря работам медицинских цитогенетиков. В 1978 г. анализ абортивного материала позволил выявить обмен плечами между гомологами хромосомы 2, в этом случае один гомолог состоял только из коротких плеч t(2p2p), другой гомолог – только из длинных плеч t(2q2q) [7]. Затем аналогичный случай был выявлен для хромосомы 7 [8]. В другом случае анализ кариотипа женщины, у которой произошло несколько спонтанных аборт, выявил обмен плеч между 10 и 14 хромосомами с формированием дву-плечих хромосом t(10p14q) и t(14p10q) [9].

В 1981 г. Крокер и Каттанах сообщают о полноплечевых обменах (whole arm exchanges) в потомстве мышей, подвергнутых рентгеновскому облучению [10]. У них были выявлены реципрокные транслокации между метацентриками и акроцентриками (например, плечо 11 в метацентрике Rb(11.13) вытесняется акроцентриком 14 с образованием метацентрика Rb(13.14)), а также между двумя метацентриками (в статье данный пункт не сопровождается примерами конкретных метацентриков).

Широкое применение терминов «полноплечевого обмена» и «WART» для описания хромосомной эволюции и оценки степени фертильности стали использовать на примере мышей *Mus musculus domesticus* [11]. Затем появились публикации об участии WART в эволюции других видов млекопитающих, в частности, других видов мышей, а также бурозубок [12–14].

Сейчас к перестройкам WART относят обмен плечами между двумя метацентриками (тип *a*), либо обмен плечами между метацентриком и акроцентриком (тип *b*) (рис. 1с, d) [11]. Иллюстративно оба

варианта представлены на рис. 2: популяции А и В отличаются благодаря WART по типу *b*, а популяции С и D или Е и F – WART по типу *a*.

Проявление хромосомных перестроек в мейозе

Наиболее информативным методом выявления хромосомных перестроек является анализ тотальных препаратов распластаных синаптонемных комплексов (СК). СК представляют скелетные нуклеопротеидные структуры мейотических хромосом в профазе I мейоза.

Если популяции отличаются друг от друга по одной или нескольким Rb-транслокациям, то в мейозе будет идентифицирован соответственно один или несколько тривалентов. При наличии в популяциях монобрахиально гомологичных метацентриков формируются сложные хромосомные компаунды. Так, на рис. 2 популяции В и D отличаются наличием не только одиночной Rb-транслокации, но и монобрахиально гомологичных метацентриков. В случае гибридизации представителей этих популяций гетерозигота будет формировать в мейозе простую конфигурацию – тривалент, и более сложную – один открытый тетравалент (рис. 2, гибрид В/D). У гибрида от скрещивания популяций D и F в мейозе будут идентифицированы тривалент и закрытый тетравалент (рис. 2, гибрид D/F). Приведем несколько примеров.

Серые хомячки группы *Cricetulus barabensis* имеют несколько хромосомных форм, включая *C. b. barabensis* (2n = 20, NF = 38) и *C. b. griseus* (2n = 22, NF = 38). Установлено, что акроцентрики 6 и 7 формы «griseus» соответствуют метацентрику 4 (6.7) формы «barabensis». У искусственно полученного гибрида между этими формами в профазе I мейоза был выявлен один тривалент (рис. 3) [15].

Обыкновенная бурозубка *Sorex araneus* – хорошо изученный пример широкой хромосомной изменчивости, в ее эволюции имели место как

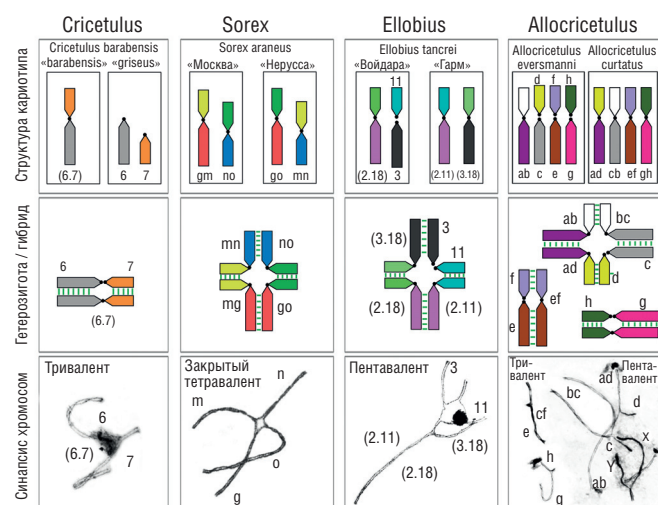


Рис. 3. Конфигурации мейотических хромосом у гетерозиготных представителей четырех видов млекопитающих, обусловленные простыми Rb-транслокациями и монобрахиальной гомологией. Для *Cricetulus barabensis*, *Sorex araneus* и *Ellobius tancrei* использована официальная номенклатура хромосом.

простые Rb-транслокации и монобрахиально гомологичные метацентрики, так и перестройки по типу WART [13]. Две популяции или расы этого вида отличаются монобрахиально гомологичными метацентриками: *gm* и *no* у расы «Москва», *go* и *mn* у расы «Нерусса». В природной зоне гибридизации у гетерозигот обнаружена сложная конфигурация – закрытый тетравалент (рис. 3) [16].

Восточная слепушонка *Ellobius tancrei* в горах Памиро-Алая имеет широкий спектр разных кариотипов: от $2n = 54$ до $2n = 30$ при постоянном $NF = 56$. Кариотипы разнохромосомных популяций слепушонок отличаются по составу монобрахиально гомологичных Rb-метацентриков: (2.11) и (3.18) у формы «Гарм» и (2.18) у формы «Войдара». В результате искусственной гибридизации этих форм были получены особи, у которых на стадии пахитены выявлен пентавалент, состоящий из трех метацентриков и двух акроцентриков (рис. 3) [17].

Два близкородственных вида хомячков рода *Allocricetulus* – эверсманов *A. evermanni* ($2n = 26$) и монгольский *A. curtatus* ($2n = 20$) – отличаются друг от друга не только одиночными Rb-транслокациями, но и метацентриками с монобрахиальной гомологией [18]. У гибрида нами обнаружено два тривалента и открытый пентавалент, который ассоциировал с половым (XY) бивалентом (рис. 3) [19].

У представленных выше экспериментальных моделей, так же как и в ряде известных примеров из литературы, варьировала плодовитость: если у гетерозиготных барабинских хомячков и обыкновенной бурозубки отмечено незначительное снижение фертильности, то гибриды эверсмановых хомячков были стерильными.

Возможные последствия хромосомных перестроек в эволюции

Концепция хромосомного видообразования получила активное развитие во второй половине XX века [2, 20–21]. Эта концепция остается актуальной

и в настоящее время. Вместе с тем роль хромосомных перестроек в образовании видов активно обсуждается и пересматривается многими исследователями [22–23].

Согласно классическим представлениям, хромосомные перестройки в гетерозиготном состоянии нарушают синапсис хромосом, изменяют топологию хроматина и хромосомные территории, вызывая нарушения организации мейотических ядер, что может приводить к селекции клеток или ассиметричной сегрегации хромосом и, в целом, к снижению фертильности или полной стерильности [2, 20]. Многие исследователи подчеркивают, что нарушение синапсиса в области хромосомных перестроек приводит к подавлению мейотической рекомбинации, что, в свою очередь, может ограничивать поток генов в них, и эти регионы могут накапливать аллели, вовлеченные в формирование репродуктивной изоляции [24].

Одним из вариантов хромосомного видообразования является видообразование посредством центральных слияний с монобрахиальной гомологией [21]. Предыдущие исследования подтверждают гипотезу о том, что единичные или множественные Rb-транслокации, включая монобрахиально гомологичные слияния, могут быть вовлечены в процесс видообразования, так как накопление таких мутаций будет способствовать становлению репродуктивной изоляции [21, 25].

Ранее отмечалось, что позиции хромосомных территорий внутри ядер эволюционно консервативны [26], и в то же время ядерная архитектура мейоцитов является видоспецифичной [27]. В этом случае интересен вопрос, каким образом организован Rb-метацентрики в гетерозиготном ядре, если его предковые акроцентрики занимали относительно далекие друг от друга позиции. Известно, что в гетерозиготных мейоцитах Rb-триваленты, мультваленты или временные объединения хромосом в цепочки способны изменять архитектуру ядер [28] и, вероятно, это может привести к аресту таких клеток. Простые и сложные конфигурации в профазе I были продемонстрированы ранее [29–31].

В этом отношении особого внимания заслуживает динамика синапсиса гетерологичных хромосом на разных стадиях профазы I мейоза у гетерозигот по Rb-метацентрикам. Ранее нами было проведено электронно-микроскопическое исследование СК у стерильных самцов межвидовых гибридов F1 слепушонок, полученных от скрещивания *Ellobius talpinus* ($2n = 34$) и *E. tancrei* ($2n = 54$) [30].

В каждом распластанном пахитенном сперматоците обнаруживались сформированные триваленты, но число их было разным в зависимости от степени продвинуто-сти синапсиса. На стадии ранней пахитены, как правило, обнаруживался лишь один (из 10 ожидаемых) закрытый СК-тривалент. Короткие плечи латеральных элементов акроцентриков у таких

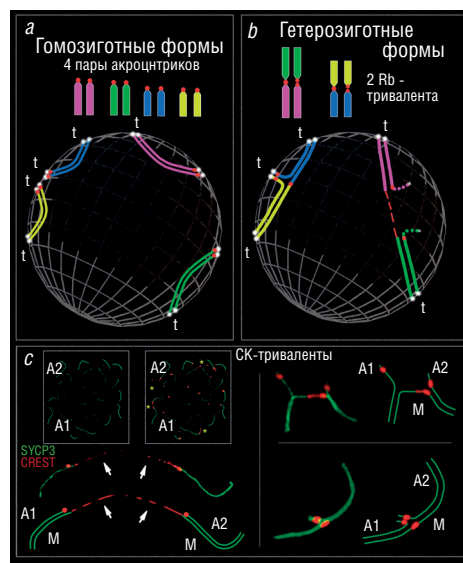


Рис. 4. Поведение хромосом в мейотических ядрах хромосомных форм (а) и гетерозиготных по Rb животных (b); t – теломеры. с – Rb СК-триваленты у межвидовых гибридов, полученных от скрещивания слепушонки обыкновенной *Ellobius talpinus* ($2n = 54$, $NF = 54$) и восточной *E. talpae* ($2n = 34$, $NF = 56$). Иммуноокрашивание антителами против основного белка СК – SYCP3 (зеленый цвет), против белков кинетохоров (CREST, красный), маркирующих центромеру. A1, A2 – акроцентрики 1 и 2 в составе тривалентов. Желтые звездочки указывают на линейные центромерные сигналы.

СК-тривалентов оказались «пригнанными» друг к другу, то есть находились в состоянии полного синapsиса. К началу средней пахитены обнаруживалось уже два-три закрытых СК-тривалента. Тип формирования СК-тривалентов, приводящий к формированию в ранней пахитене закрытых конфигураций, был назван «быстрым».

Второй тип формирования СК-тривалентов – «медленный». Процесс формирования «медленных» СК-тривалентов начинается с теломерных концов Rb-метацентрика и распространяется с двух сторон по направлению к центромерному району. При этом задержка синapsиса нередко сопровождается нарушением формирования прицентромерных районов как Rb-метацентрика, так и синаптирующих с ним акроцентриков. Иными словами, в структуре Rb-метацентрика обнаруживается длинная брешь, а короткие плечи акроцентриков не видны. Такие растянутые недоформированные СК-триваленты с длинными брешами в центральной части Rb-метацентрика выглядели под электронным микроскопом как два СК-бивалента. Условно их обозначают как «псевдобиваленты». В дальнейшем, на стадии средней пахитены, достраивание осевых элементов постепенно завершалось. Такие медленные СК-триваленты часто соединялись в цепочки, правда, в структуре некоторых метацентриков сохранялись брешки.

Иммуноцитохимическое исследование распластаных ядер сперматоцитов самцов межвидовых гибридов F1 слепушонок с использованием антител к основному белку СК – SYCP3 подтверждают закономерности, вы-

явленные при электронно-микроскопическом исследовании. Важно, что при иммуноокрашивании «медленных» растянутых СК-тривалентов антителами к белку SYCP3 также выявляются «псевдобиваленты» – иммуноокрашенными оказываются сформированные участки СК, а центральная растянутая асинаптированная часть Rb-метацентрика не связывается с антителами к SYCP3. Однако этот протяженный участок Rb-метацентрика иммуноокрашивался поликлональными антителами CREST, которые широко используются для иммунодетекции центромер. Окрашивание растянутой части Rb-метацентрика носило пунктирный линейный характер (рис. 4a–b).

Задержка формирования осевых элементов в прицентромерных районах хромосом СК-тривалентов, скорее всего, обусловлена тем, что три хромосомы, начавшие синapsис с теломерных концов СК-тривалента, испытывают сильное напряжение из-за растяжения между точками прикрепления к внутренней мембране ядерной оболочки (рис. 4b). Известно, что каждая хромосома занимает в ядре свою территорию и имеет собственные точки прикрепления к ядерной оболочке, а ее регламентированное движение обусловлено SUN-KASH системой, связывающей теломеры с цитоскелетом [32]. Возможно, в таких растянутых участках хромосом может задерживаться загрузка белков СК и осевых элементов, основным из которых является белок SYCP3.

Мы предполагаем, что зона растяжения (брешки в структуре СК-тривалента) представляет собой растянутый участок прицентромерного хроматина, так как в структуре коротких открытых СК-тривалентов отчетливо видны три центромеры и несколько пунктирных фокусов, связанных с антителами CREST (рис. 4c). В связи с этим нельзя исключить наличия сателлитной ДНК в структуре прицентромерного хроматина. В литературе имеются сообщения о роли сателлитной ДНК в формировании Rb-слияний и ее связи с белками группы CENP у нескольких

видов грызунов, в том числе у домашней мыши [23, 33].

Заключение

В профазе I мейоза гетерозиготность по множественным Rb-транслокациям проявляется в нарушении архитектоники ядер, формировании цепочек хромосом, нарушениях синапсиса и рекомбинации мейотических хромосом. Формирование мультивалентов у гетерозигот по монобрахиальной гомологии способно вызывать более значительные нарушения организации мейотических ядер. В мультивалентах синапсис не завершается из-за растяжения формирующих его хромосом. В целом эти нарушения могут служить причиной пахитенного ареста или неправильного расхождения хромосом в процессе последующих митотических делений, что может приводить к формированию азооспермии или анеуплоидии гамет и, в конечном итоге, служить

причиной репродуктивной изоляции разных хромосомных форм.

Однако в литературе имеются сообщения и о том, что при внутривидовой гибридизации хромосомных форм, отличающихся по числу Rb-метацентриков, фертильность гибридов может сохраняться, а нарушения синапсиса не приводят к пахитенному аресту [34]. Возможно, это обусловлено тем, что только прицентромерные участки хромосом подвергаются растяжению, асинапсису и/или сайленсингу хроматина, в которых преобладают сателлитные повторы ДНК [23, 33] и нарушение синапсиса в которых не является критичным для прогрессии мейоза.

В заключение следует подчеркнуть, что формирование хромосомных транслокаций может служить и инициатором, и убедительным индикатором дивергенции видов, а особенности транслоцированных хромосом в мейозе гибридов может служить основой для оценки их изолирующей роли.

Вместе с тем, говоря о репродуктивной изоляции, не следует забывать, что стерильность межвидовых гибридов может быть обусловлена не только ярко выраженными нарушениями мейоза, но и нарушениями экспрессии генов из-за регуляторной несовместимости различных элементов транскрипционных сетей, наследуемых ими от разных видов [35].

Литература

1. Л.Н. Делоне
Вестн. Тифлис. ботан. сада, 1922, 2(1), 24.
2. M. King
Species Evolution: The Role of Chromosomal Change, UK, Cambridge, Cambridge University Press, 1993, 336 pp.
3. Э.А. Гилева
Хромосомная изменчивость и эволюция, РФ, Москва, Наука, 1990, 140 с.
4. R. Matthey
Rev. Suisse Zool., 1970, 77, 625.
5. J.L. Myka, T.L. Lear, M.L. Houck, O.A. Ryder, E. Bailey
Cytogenet. Genome Res., 2003, 102(1–4), 217.
6. A. Gropp, H. Winking, L. Zech, H. Müller
Chromosoma, 1972, 39(3), 265. DOI: 10.1007/BF00290787.
7. K. Ohama, I. Kusumi, H. Takahara, T. Kajii
Hum. Genet., 1978, 40(2), 221. DOI: 10.1007/BF00272305.
8. N. Niikawa, M. Ishikawa
Hum. Genet., 1983, 63(1), 85. DOI: 10.1007/BF00285407.
9. A. Smith, R. Murray, G. den Dulk
J. Med. Genet., 1988, 25(1), 61. DOI: 10.1136/jmg.25.1.61.
10. M. Crocker, B.M. Cattanaach
Mutat. Res. Lett., 1981, 91(4–5), 353.
DOI: 10.1016/0165-7992(81)90014-2.
11. H.C. Hauffe, J. Piálek
Biol. J. Linn. Soc., 1997, 62(2), 255.
DOI: 10.1111/j.1095-8312.1997.tb01626.x.
12. F. Veyrunes, J. Watson, T.J. Robinson, J. Britton-Davidian
Chromosome Res., 2007, 15(2), 223. DOI: 10.1007/s10577-006-1116-8.
13. S.V. Pavlova, O.L. Kolomiets, N.S. Bulatova, J.B. Searle
Comp. Cytogenet., 2008, 2(2), 115.
14. M. Volleth, K.G. Heller, H.S. Yong, S. Müller
Cytogenet. Genome Res., 2014, 143(4), 241. DOI: 10.1159/000365824.
15. S.N. Matveevsky, V.M. Malygin, V.S. Lebedev, N.S. Poplavskaya, A.V. Surov, O.L. Kolomiets
Caryologia, 2014, 67(2), 149.
16. S.N. Matveevsky, S.V. Pavlova, M.M. Acaeva, O.L. Kolomiets
Comp. Cytogenet., 2012, 6(3), 301.
DOI: 10.3897/CompCytogen.v6i3.3701.
17. S. Matveevsky, I. Bakloushinskaya, V. Tambovtseva, S. Romanenko, O. Kolomiets
Comp. Cytogenet., 2015, 9(4), 691.
DOI: 10.3897/CompCytogen.v9i4.5674.
18. S.A. Romanenko, V.S. Lebedev, N.A. Serdukova, N.Y. Feoktistova, A.V. Surov, A.S. Graphodatsky
Cytogenet. Genome Res., 2013, 139(4), 258.
DOI: 10.1159/000346194.
19. А.В. Гуреева, Н.Ю. Феоктистова, С.Н. Матвеевский, О.Л. Коломиец, А.В. Суров
Зоологический журнал, 2015, 94(5), 614.
DOI: 10.1134/S1062359016070074.
20. M.J.D. White
Modes of Speciation, USA, CA, San Francisco, 1978, 456 pp.
21. R.J. Baker, J.W. Bickham
PNAS, 1986, 83(21), 8245.
DOI: 10.1073/pnas.83.21.8245.
22. П.М. Бородин
Вавиловский журнал генетики и селекции, 2(3), 5.
(<https://elibrary.ru/item.asp?id=9126115>).
23. J.D. Brown, R.J. O'Neill
Ann. Rev. Genome Hum. Genet., 2010, 11(1), 291.
DOI: 10.1146/annurev-genom-082509-141554.
24. R. Faria, A. Navarro
Trends Ecol. Evol., 2010, 25(11), 660.
DOI: 10.1016/j.tree.2010.07.008.
25. H.C. Hauffe, J.B. Searle
Genetics, 1998, 150(3), 1143.
26. H. Tanabe, S. Müller, M. Neusser, J. von Hase, E. Calcagno, M. Cremer, I. Solovei, C. Cremer, T. Cremer
PNAS, 2002, 99(7), 4424.
DOI: 10.1073/pnas.072618599.

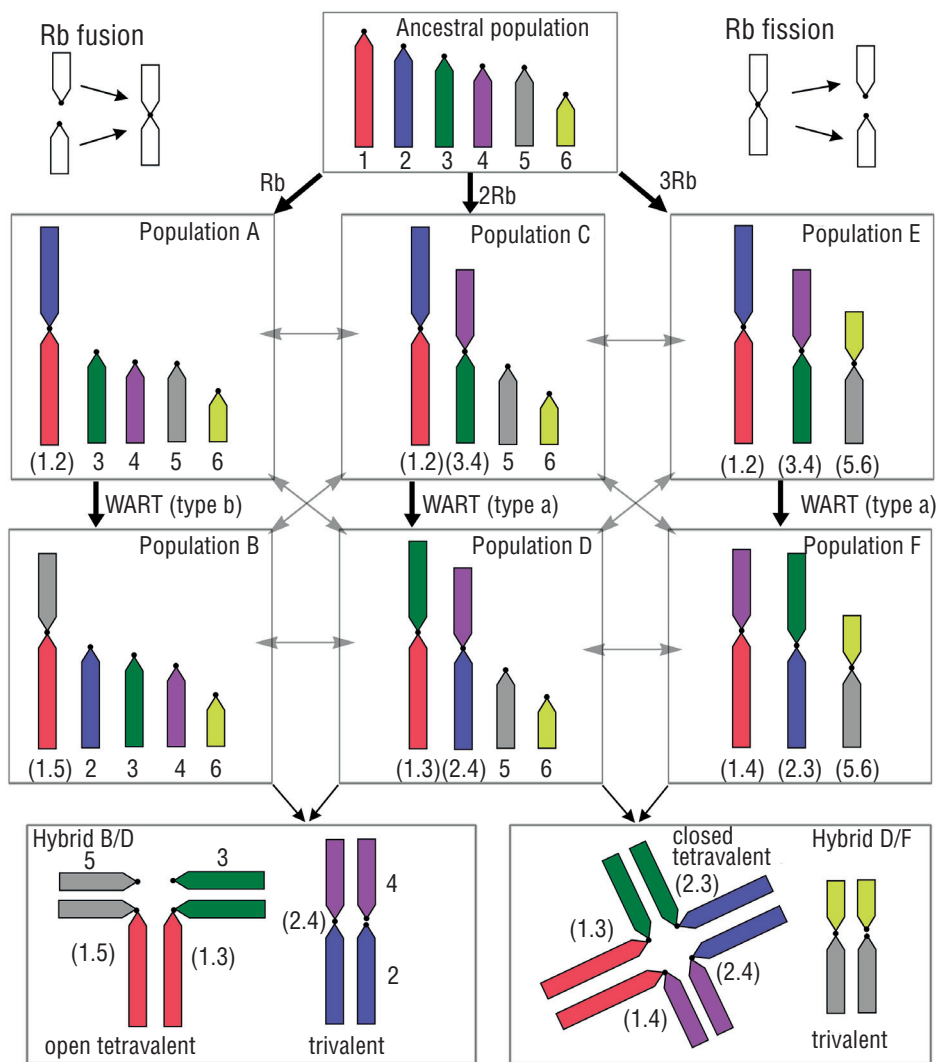


Fig. 2. Scheme of chromosomal variability which is due to Rb-translocations, including Rb with monobrachial homology and WART and possible chromosomal configuration in interpopulation hybrids.

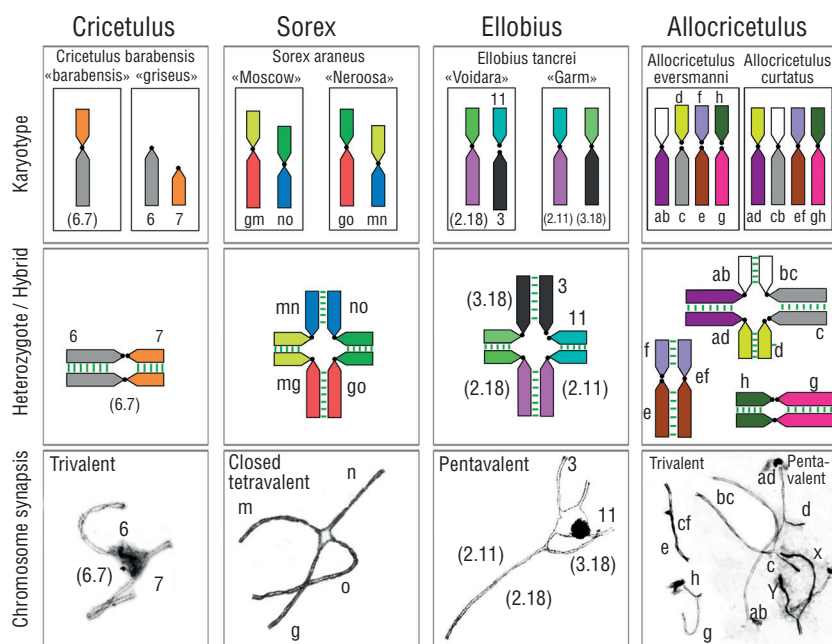


Fig. 3. Meiotic chromosome configurations in 4 heterozygous mammals, which are due to simple Rb-translocations and Rb with monobrachial homology. The official chromosome nomenclature is used for Cricetulus barabensis, Sorex araneus and Ellobius tancrei.

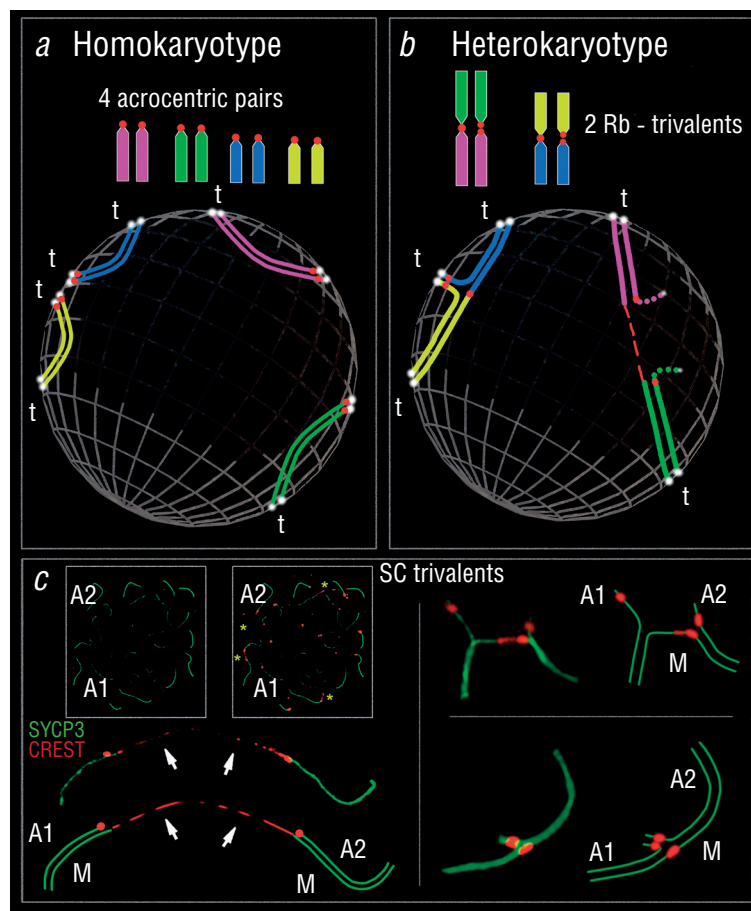


Fig. 4. Synaptic chromosome behavior in meiotic nuclei of homozygous chromosomal forms, homokaryotype (a) and heterozygous for Rb animals, heterokaryotype (b); t – telomeres. Rb SC-trivalents (c) in interspecific mole vole hybrids [*Ellobius talpinus* ($2n = 54$, $NF = 54$) \times *E. tancrei* ($2n = 34$, $NF = 56$)]. Immunostaining with antibodies against the synaptonemal complex protein – SYCP3 (green) and against kinetochore proteins (CREST, red), marking the centromere. A1, A2 – acrocentrics 1 and 2 as a part of trivalent. Yellow asterisks indicate linear centromere signals.

References

1. L.N. Delone
Bul. Tiflis Bot. Garden [Vestnik Tbilisskogo botanicheskogo sada], 1922, 2(1), 24 (in Russian).
2. M. King
Species Evolution: The Role of Chromosomal Change, UK, Cambridge, Cambridge University Press, 1993, 336 pp.
3. E.A. Gileva
Chromosomal Variability and Evolution, Russia, Moscow, Nauka, 1990, 140 pp. (in Russian).
4. R. Matthey
Rev. Suisse Zool., 1970, 77, 625.
5. J.L. Myka, T.L. Lear, M.L. Houck, O.A. Ryder, E. Bailey
Cytogenet. Genome Res., 2003, 102(1–4), 217.
6. A. Gropp, H. Winking, L. Zech, H. Müller
Chromosoma, 1972, 39(3), 265.
DOI: 10.1007/BF00290787.
7. K. Ohama, I. Kusumi, H. Takahara, T. Kajii
Hum. Genet., 1978, 40(2), 221. DOI: 10.1007/BF00272305.
8. N. Niikawa, M. Ishikawa
Hum. Genet., 1983, 63(1), 85. DOI: 10.1007/BF00285407.
9. A. Smith, R. Murray, G. den Dulk
J. Med. Genet., 1988, 25(1), 61.
DOI: 10.1136/jmg.25.1.61.
10. M. Crocker, B.M. Cattanaeh
Mutat. Res. Lett., 1981, 91(4–5), 353.
DOI: 10.1016/0165-7992(81)90014-2.
11. H.C. Hauffe, J. Piálek
Biol. J. Linn. Soc., 1997, 62(2), 255.
DOI: 10.1111/j.1095-8312.1997.tb01626.x.
12. F. Veyrunes, J. Watson, T.J. Robinson, J. Britton-Davidian
Chromosome Res., 2007, 15(2), 223. DOI: 10.1007/s10577-006-1116-8.
13. S.V. Pavlova, O.L. Kolomiets, N.S. Bulatova, J.B. Searle
Comp. Cytogenet., 2008, 2(2), 115.
14. M. Volleth, K.G. Heller, H.S. Yong, S. Müller
Cytogenet. Genome Res., 2014, 143(4), 241. DOI: 10.1159/000365824.
15. S.N. Matveevsky, V.M. Malygin, V.S. Lebedev, N.S. Poplavskaya, A.V. Surov, O.L. Kolomiets
Caryologia, 2014, 67(2), 149.
16. S.N. Matveevsky, S.V. Pavlova, M.M. Acaeva, O.L. Kolomiets
Comp. Cytogenet., 2012, 6(3), 301.
DOI: 10.3897/CompCytogen.v6i3.3701.
17. S. Matveevsky, I. Bakloushinskaya, V. Tambovtseva, S. Romanenko, O. Kolomiets
Comp. Cytogenet., 2015, 9(4), 691.
DOI: 10.3897/CompCytogen.v9i4.5674.
18. S.A. Romanenko, V.S. Lebedev, N.A. Serdukova, N.Y. Feoktistova, A.V. Surov, A.S. Graphodatsky
Cytogenet. Genome Res., 2013, 139(4), 258.
DOI: 10.1159/000346194.
19. A.V. Gureeva, N.Yu. Feoktistova, S.N. Matveevsky, O.L. Kolomiets, A.V. Surov
Biology Bulletin, 2016, 43(94), 736.
DOI: 10.1134/S1062359016070074.
20. M.J.D. White
Modes of Speciation, USA, CA, San Francisco, 1978, 456 pp.
21. R.J. Baker, J.W. Bickham
PNAS, 1986, 83(21), 8245.
DOI: 10.1073/pnas.83.21.8245.

22. **P.M. Borodin**
Vavilov J. Genetics and Breeding [Vavilovsky zhurnal genetiki i selektsii], 1998, **2**(3), 5. (<https://elibrary.ru/item.asp?id=9126115>) (in Russian).
23. **J.D. Brown, R.J. O'Neill**
Ann. Rev. Genome Hum. Genet., 2010, **11**(1), 291.
DOI: 10.1146/annurev-genom-082509-141554.
24. **R. Faria, A. Navarro**
Trends Ecol. Evol., 2010, **25**(11), 660. DOI: 10.1016/j.tree.2010.07.008.
25. **H.C. Hauffe, J.B. Searle**
Genetics, 1998, **150**(3), 1143.
26. **H. Tanabe, S. Müller, M. Neusser, J. von Hase, E. Calcagno, M. Cremer, I. Solovei, C. Cremer, T. Cremer**
PNAS, 2002, **99**(7), 4424. DOI: 10.1073/pnas.072618599.
27. **S. Berríos, R. Fernández-Donoso, J. Pincheira, J. Page, M. Manterola, M.C. Cerda**
Genética, 2004, **121**(3), 219.
DOI: 10.1023/B:GENE.0000039843.78522.99.
28. **S. Berríos, C. Manieu, J. López-Fenner, E. Ayarza, J. Page, M. González, M. Manterola, R. Fernández-Donoso**
Biol. Res., 2014, **47**(1), 16. DOI: 10.1186/0717-6287-47-16.
29. **R. Johannisson, H. Winking**
Chromosome Res., 1994, **2**, 137. DOI: 10.1007/BF01553492.
30. **Y.F. Bogdanov, O.L. Kolomiets, E.A. Lyapunova, I.Y. Yanina, T.F. Mazurova**
Chromosoma, 1986, **94**, 94. DOI: 10.1007/BF00286986.
31. **M. Ribagorda, S. Berríos, E. Solano, E. Ayarza, M. Martín-Ruiz, A. Gil-Fernández, M. Teresa Parra, A. Viera, J.S. Rufas, E. Capanna, R. Castiglia, R. Fernández-Donoso, J. Page**
Chromosoma, 2019, **128**(1), 1. DOI: 10.1007/s00412-019-00695-8.
32. **M. Alsheimer**
In *Meiosis. Genome Dynamics*, Eds R. Benavente, J-N. Volff, Switzerland, Basel, Karger Publ., 2009, **5**, pp. 81–93. DOI: 10.1159/000166621.
33. **S. Garagna, J. Page, R. Fernandez-Donoso, M. Zuccotti, J.B. Searle**
Chromosoma, 2014, **123**(6), 529. DOI: 10.1007/s00412-014-0477-6.
34. **M. Manterola, J. Page, C. Vasco, S. Berríos, M. Parra, A. Viera, J. Rufas, M. Zuccotti, S. Garagna, R. Fernández-Donoso**
PLoS Genetics, 2009, **5**(8), 1. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000625.
35. **A. Llopart, E. Brud, N. Pettie, J.M. Comeron**
Genetics, 2018, **210**(2), 703.
DOI: 10.1534/genetics.118.301229.

Прогнозирование изменений биологического разнообразия и разработка подходов к управлению его устойчивостью: анализ и моделирование пространственно-временной естественной и антропогенной динамики экосистем на примере Среднего Приамурья*

Е.Я. Фрисман, А.Н. Колобов, О.Л. Ревуцкая, Г.П. Неверова, Д.М. Фетисов

Проведено количественное исследование и математическое моделирование пространственно-временной динамики экосистем и их главных биотических компонентов – популяций и сообществ растений и животных – под воздействием различных природных и антропогенных факторов. Построены модельные сценарии восстановления запаса и структуры древостоя в зависимости от интенсивности изъятия древесины. Показано, что в случае изъятия доли елового подроста в смешанном древостое наблюдаются длиннопериодические колебания, в которых численное преобладание светолюбивых видов сменяется преобладанием теневыносливых и наоборот. Такие режимы могут возникать, в частности, при поедании части молодых побегов копытными животными или гибели растений, вызванной вспышками фитофагов. Выявлены общие закономерности пространственного изменения плотностей промысловых млекопитающих в зависимости от структуры местообитаний Среднего Приамурья. Показано, что пространственное распределение животных зависит от размещения и площадей типичных для них биотопов, средних размеров выделов и степени ландшафтной дробности. Предложены принципы совершенствования природопользования на юге Дальнего Востока России для сохранения биоразнообразия млекопитающих в зависимости от уровня потенциально негативного влияния фрагментированности геосистем транспортной сетью на состояние регионального биоразнообразия.

Ключевые слова: биоразнообразие, популяции, пространственное распределение, математическое моделирование, рациональное природопользование, сценарии развития.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Института комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН и при финансовой поддержке РФФИ (проект №15-29-02658).

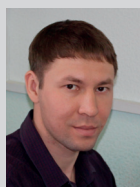
Введение

Среднее Приамурье является одним из наиболее освоенных регионов Дальнего Востока России. Здесь развиты сельскохозяйственная, лесозаготовительная, горнодобывающая и другие виды деятельности. В связи с этим экосистемы данной территории находятся в условиях постоянного антропогенного воздействия. Хозяйственная деятельность приводит к уменьшению

площади коренных лесов (в частности, пихтово-еловых и кедрово-широколиственных), увеличению фрагментации лесного покрова, смене типов растительности. В свою очередь, на данных территориях изменяются условия обитания животных, их простран-



ФРИСМАН
Ефим Яковлевич
член-корреспондент РАН,
профессор, научный
руководитель Института
комплексного анализа
региональных проблем ДВО РАН



КОЛОБОВ
Алексей Николаевич
Институт комплексного
анализа региональных
проблем ДВО РАН



РЕВУЦКАЯ
Оксана Леонидовна
Институт комплексного
анализа региональных
проблем ДВО РАН



НЕВЕРОВА
Галина Петровна
Институт автоматизации
и процессов управления
ДВО РАН



ФЕТИСОВ
Денис Михайлович
директор Института
комплексного анализа
региональных проблем
ДВО РАН АН

ственное распределение и направления миграций, что может приводить к флуктуациям численности, а в крайнем случае – к полному их исчезновению. Таким образом, антропогенная деятельность изменяет видовой состав экосистем, параметры популяционных колебаний и характер пространственной неоднородности. Всё это происходит на фоне направленных, периодических и хаотических изменений в окружающей среде.

Нарастающее антропогенное воздействие на экосистемы Дальнего Востока России в целом и Среднего Приамурья в частности требует конкретных стратегических и практических решений, направленных на сохранение биоразнообразия и оптимизацию использования природных биологических ресурсов. Для разработки эффективных мероприятий по рациональному использованию природно-ресурсного потенциала экосистем необходимо выявить пространственные особенности экосистем Среднего Приамурья, изучить закономерности временной динамики их ключевых биотических компонентов, проанализировать источники антропогенного воздействия и проявления их влияния на экосистемы.

Решение проблемы сохранения биологического разнообразия и восстановления экосистем после антропогенных нарушений или природных катастроф требует детального анализа сценариев развития, механизмов и особенностей пространственно-временной динамики экосистем. Разработка стратегий устойчивого управления природно-ресурсным потенциалом усложняется длительностью реакции (временным откликом) компонентов экосистем на управляющие воздействия. Существенный вклад в решение этой проблемы принадлежит математическому моделированию и специализированным программным средствам, позволяющим описывать и анализировать естественную динамику экосистем, в том числе при вариации воздействия факторов различной природы.

Целью работы является количественное исследование и математическое моделирование пространственно-временной динамики экосистем и их главных биотических компонентов: популяций и сообществ растений и животных. Исследование такого характера позволяет изучить биологическое разнообразие региона с позиций экосистемного подхода. Применение здесь методов математического моделирования весьма целесообразно, поскольку они позволяют описывать текущее состояние, строить прогнозы изменений биологического разнообразия и разрабатывать подходы к рациональному природопользованию, направленному на сохранение устойчивости развития экосистем.

Материал и методы исследования

Для исследования процессов пространственно-временной динамики лесных экосистем использовали разработанную ранее имитационную модель [1–2]. Она создана для проведения вычислительных экспериментов со всевозможными комбинациями видовой и возрастной структуры древостоев, произрастающих на территории с умеренным климатом, где основным системообразующим фактором формирования и развития лесных экосистем является свет. Модель предназначена для описания динамики запаса, а также процессов формирования пространственного распределения, возрастной структуры и видового состава смешанных древостоев в результате внутривидовой и межвидовой конкуренции за свет между отдельно стоящими деревьями. Она позволяет исследовать влияние различных внешних факторов (пожары, ветровалы, вспышки численности насекомых, сплошные рубки и т. д.) на динамику древостоя. Используемый в модели индивидуально-ориентированный подход, подразумевающий описание роста каждого дерева в зависимости от его видовой специфики и расположения в древостое, позволяет имитировать различные виды рубок. Для территории Дальневосточного региона исследования лесных экосистем с привлечением средств имитационного моделирования немногочисленны и, как правило, ограничиваются традиционными методами прогноза. Для оценки параметров модели использовали фактические данные таблиц хода роста одновозрастных древостоев, произрастающих на территории Дальневосточного региона [3].

Исследование особенностей формирования горизонтальной структуры смешанных древесных сообществ проводили на основе фактических данных, собранных на четырех постоянных пробных площадях (ПП), расположенных в заповеднике «Бастак» Еврейской автономной области (ЕАО). Данные включают координаты каждого дерева, диаметр ствола и его видовую принадлежность. Размер пробных площадей со-

ставляет: ПП №1 – 100 × 50 м, ПП №№2–4 – 80 × 80 м. Для обработки пространственных данных использовались статистические методы, вложенные в программу R-статистика, в частности, пакет «Spatstat».

На основе модифицированной модели Морана – Рикера была описана динамика численности некоторых видов насекомых – вредителей леса: серой лиственничной листовертки (*Zeiraphera griseana*), еловой листовертки-иглоеда (*Epinotia tedella*), совки сосновой (*Panolis flammea*), пяденицы сосновой (*Bupalus piniaria*) [4–5]. Интерес к данному объекту обусловлен тем, что многие виды насекомых имеют годовой жизненный цикл и сложную флуктуирующую динамику вплоть до «вспышек» численности. Также немаловажную роль играет наличие рядов данных по динамике численности разных видов насекомых, накопленных научным сообществом за годы исследований. Для теоретического исследования были использованы: аппарат разностных уравнений, элементы функционального анализа, теории устойчивости систем, теории колебаний. Разработаны программные комплексы, направленные на построение бифуркационных диаграмм, бассейнов притяжения и карт динамических режимов. В ходе анализа применялись классические методы исследования устойчивости систем и методы математического анализа.

Основным источником информации о численности и плотности охотничьих млекопитающих являются годовые отчеты по зимним маршрутным учетам, проведенным государственными службами, отвечающими за охрану и использование объектов животного мира в Еврейской автономной области. Анализировались данные на территории охотничьих хозяйств и особо охраняемых природных территорий (ООПТ) ЕАО [6]. Для территории области в результате дешифрирования космических снимков среднего пространственного разрешения (30 м) со спутника Landsat 7 сенсора ETM+ (2012) были созданы две карты-схемы биотопов. На первой карте-схеме выделены 10 типов биотопов: гольцы, горная тундра, горельники; хвойные (елово-пихтовые с лиственницей) леса; хвойно-широколиственные, кедрово-еловые леса; смешанные широколиственные леса; дубовые леса; лиственничные леса; мелколиственные леса; луга, в том числе пойменные; мари, болота; освоенные земли. Выделенные таксономические единицы соответствуют уровню типа охотничьих угодий в работе Б.А. Михайловского с соавторами (1988) [7], которые были выделены на фитоценологической основе. Вторая карта-схема биотопов отражает распределение трех категорий: 1) лес, 2) луга, болота, 3) сельскохозяйственные земли и населенные пункты. С использованием картосхем для каждого охотничьего хозяйства и ООПТ области по биотопам были рассчитаны

доля занимаемой площади, средняя площадь выдела, степень ландшафтной дробности и обилие границ каждого типа биотопа [8–9]. Для выделения групп охотничьих хозяйств и ООПТ, сходных по структурной организации местообитаний, использовался кластерный анализ. Связи между пространственным размещением популяций охотничьих животных и характеристиками структуры местообитаний были исследованы методами корреляционного и регрессионного анализа. Для количественного анализа основных тенденций изменения численности промысловых популяций использовались модели популяционной динамики (модели Бивертон-Холта, Рикера, Мальтуса).

При изучении фрагментированности геосистем юга Дальнего Востока России транспортными коммуникациями объектом исследования стали природные геосистемы в ранге физико-географических провинций. За основу было принято природное районирование СССР, выполненное коллективом авторов на географическом факультете МГУ имени М.В. Ломоносова [10]. Для расчета уровня фрагментированности физико-географических провинций юга Дальнего Востока России использовался индекс «эффективного размера сети» (effective mesh size – M_{eff}) [11]. Использованный индекс M_{eff} аналогичен более традиционному в России показателю плотности дорог, однако, в отличие от него, имеет более экологоцентристскую направленность. Показатель эффективного размера сети M_{eff} для специалистов, занимающихся влиянием транспорта на природную среду, – одна из характеристик, которая дает общее представление о возможном влиянии сети транспортных коммуникаций на состояние геосистем и, следовательно, биоразнообразия в стране или регионе [12]. Группировка физико-географических провинций юга Дальнего Востока России по предлагаемым принципам выбора мер для сохранения биоразнообразия жи-

вотных выполнялась согласно Т. Ли, Ф. Шиллингу и др. [12]. Апробирование расчета индекса «эффективного размера сети», широко применяемого в зарубежной ландшафтной экологии, для оценки фрагментированности дорогами физико-географических провинций юга Дальнего Востока России позволило выявить региональные геосистемы с потенциально высоким уровнем негативного воздействия дорог на экологическое состояние ландшафтов и, следовательно, сравнительно высокими возможными рисками сокращения уровня биоразнообразия.

Результаты исследования и их обсуждение

Пространственно-временная динамика древесных сообществ

Для исследования пространственно-временной динамики древесных сообществ была разработана имитационная компьютерная модель [2, 13]. На основе этой модели получено описание процессов саморазвития разновозрастных одновидовых древесных сообществ, развивающихся в условиях конкуренции за свет. В частности, было показано, что вследствие структурной самоорганизации системы, формирующейся при одном параметре порядка (интенсивности солнечной радиации), возникает бимодальное распределение деревьев по толщине диаметров ствола (рис. 1).

В результате модельного анализа долгосрочной динамики еловых древостоев выделены четыре стадии их развития: естественной регенерации (до 30 лет), формирования разновозрастных древостоев (от 30 до 300 лет), трансформации разновозрастных древостоев в разновозрастные (от 300 до 750 лет) и постсукцессионная стадия (свыше 750 лет) (рис. 2).

Статистический анализ пространственного размещения деревьев теневыносливых и светолюбивых видов относительно друг друга показал, что в среднем вокруг произвольно вы-

бранного дерева теневыносливого вида существует область, в пределах которой возможность встретить дерево светолюбивого вида меньше, чем была бы при их случайном размещении. На рис. 3 показано про-

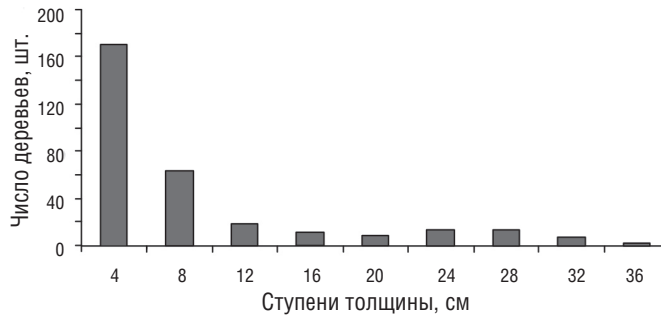


Рис. 1. Бимодальное распределение деревьев по толщине диаметров ствола.

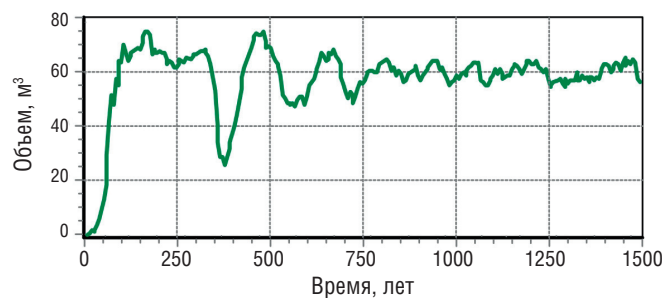


Рис. 2. Динамика запаса елового древостоя на моделируемом участке.

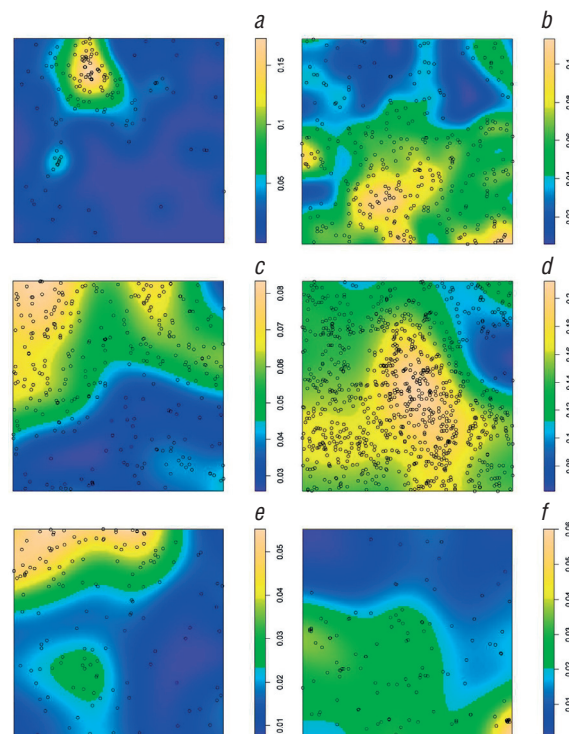


Рис. 3. Пространственное расположение светолюбивой и теневыносливой группы деревьев на трех пробных площадях (ПП). Светолюбивая группа (левый столбец): ПП №2 – береза желтая (а), ПП №3 – береза плосколистная, береза шерстистая, лиственница даурская (с), ПП №4 – дуб монгольский, береза даурская, береза шерстистая, лиственница даурская (е). Теневыносливая группа (правый столбец): ПП №2 – ель аянская, пихта белокорая, кедр корейский (b), ПП №3 – ель аянская, пихта белокорая, кедр корейский (d), ПП №4 – клен мелколистный, клен зеленокорый, липа амурская (f).

пространственное расположение светолюбивой и теневыносливой группы деревьев на трех пробных площадях. Виды с разной требовательностью к условиям освещения расположены так, что участки с низкой

плотностью светолюбивых видов преимущественно соответствуют участкам с высокой плотностью теневыносливых деревьев. Таким образом, установлено, что в результате действия процессов конкуренции пространственное расположение деревьев светолюбивых видов определяется размещением теневыносливых деревьев [13].

Одной из основных задач рационального использования лесных ресурсов является разработка эффективных стратегий выборочных рубок для разного типа леса. Для решения этих задач во всём мире успешно применяются методы математического и

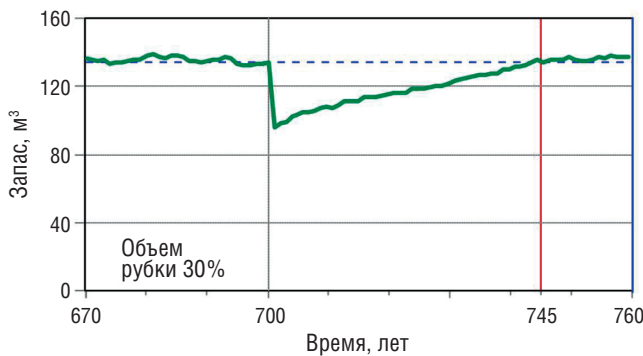


Рис. 4. Прирост запаса в еловом древостое после выборочной рубки с объемом изъятия 30%.

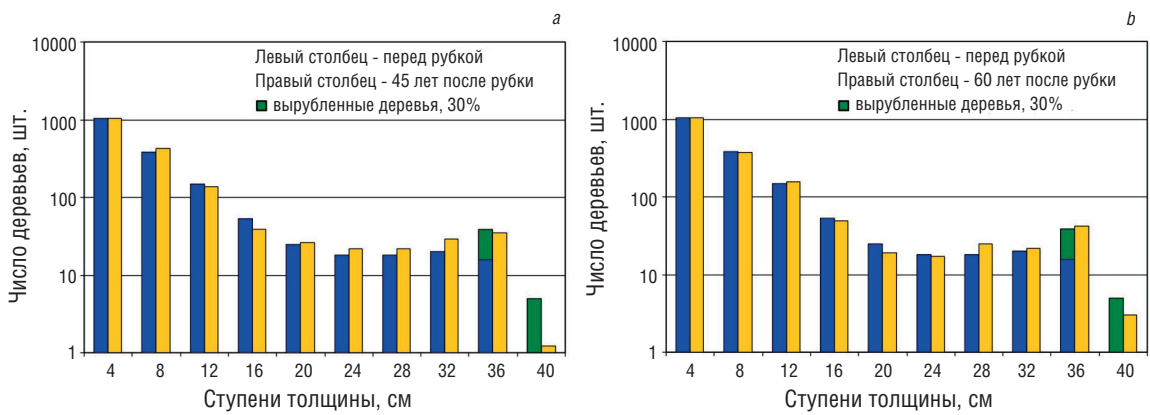


Рис. 5. Распределение деревьев по диаметру в еловом древостое через 45 (а) и 60 (б) лет после рубки с объемом изъятия 30%.

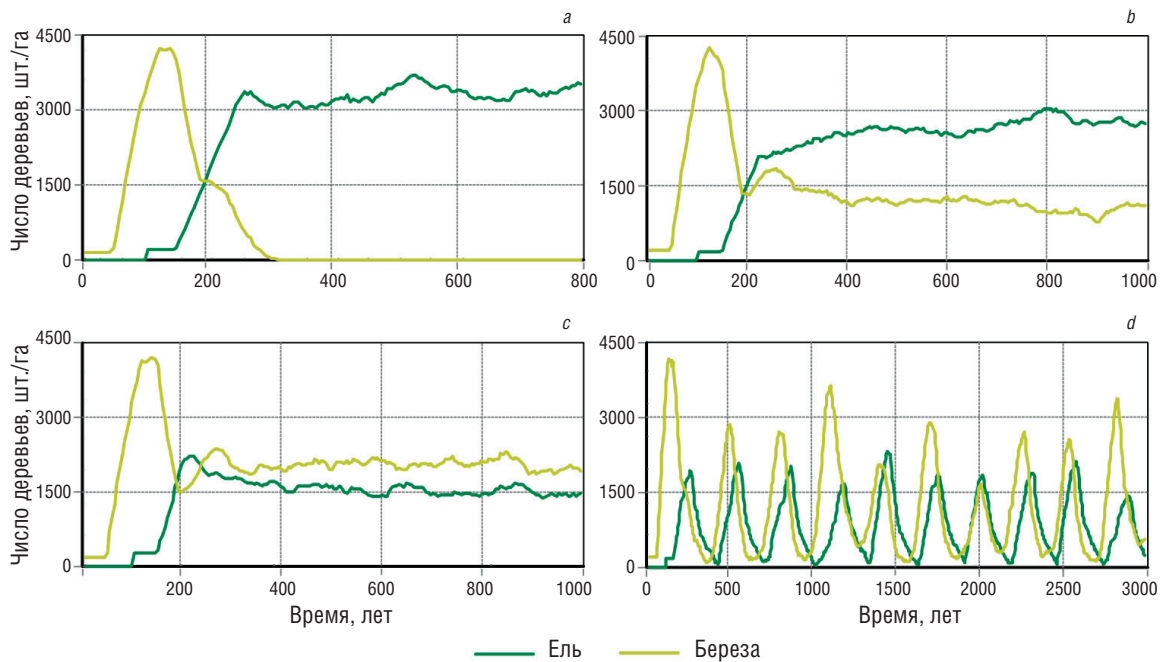


Рис. 6. Модельные сценарии динамики елово-березового древостоя в случае ежегодного изъятия доли деревьев ели: а – естественное развитие сообщества без влияния внешних факторов; б, с – развитие сообщества при изъятии 4 и 9% деревьев темнохвойного вида от его общего объема древесины, начиная с максимального диаметра; d – развитие сообщества при изъятии 23% елового подроста от общего числа деревьев, начиная с нулевого диаметра.

компьютерного моделирования, которые позволяют строить долгосрочные прогнозные сценарии развития лесных экосистем в условиях антропогенного воздействия [14–16]. В результате нашего исследования были построены модельные сценарии восстановления запаса и структуры елового древостоя до исходного состояния в зависимости от интенсивности изъятия древесины. Показано, что к тому моменту, когда запас древостоя достигает значения, которое было до рубки (рис. 4), структура древостоя еще не успевает восстановиться (рис. 5а). Для восстановления структуры древостоя, в зависимости от объема изъятия (10–40%), требуется на 10–15 лет больше, чем для восстановления запаса (рис. 4, 5б). Это влияет на качественные характеристики древесины. Также были построены сценарии восстановления запаса и структуры елового древостоя в зависимости от степени повреждения подроста в процессе выборочных рубок. Показано, что повреждение подроста в объеме 30–70% не оказывает существенного влияния на скорость восстановления запаса, а также структуры древостоя с диаметром деревьев выше среднего значения.

Далее моделировали пространственно-временную динамику смешанных древесных сообществ с учетом воздействия факторов внешней среды. Анализ сценариев динамики согласуется с базовым положением о том, что в долговременной перспективе в отсутствие внешних воздействий теневыносливые виды полностью вытесняют светолюбивые (рис. 6а). Вместе с тем изъятие части темнохвойных деревьев приводит к возможности сосуществования видов неограниченно долго (рис. 6б).

На рис. 6б, с представлены сценарии развития двувидового сообщества при ежегодном изъятии 4 и 9% деревьев темнохвойного вида от его общего объема древесины, начиная с максимального диаметра. В первом случае доминирует тене-

выносливый вид, во втором – преобладает светолюбивая береза (рис. 6б, с). Такие режимы динамики возникают при выпадении крупных деревьев в результате ветровала, а также повреждения стволов фитофагами и характерными болезнями. Далее нами были проанализированы сценарии развития сообщества при ежегодном удалении части теневыносливого подроста. В случае изъятия 23% елового подроста от общего числа деревьев этого вида, начиная с нулевого диаметра, в системе наблюдаются длиннопериодические колебания, в которых численное преобладание светолюбивых видов сменяется преобладанием теневыносливых и наоборот (рис. 6д). Такие режимы могут возникать, в частности, при поедании части молодых побегов копытными животными или гибели растений, вызванной вспышками размножения фитофагов.

Популяционная динамика насекомых

На территории Сибири и Дальнего Востока одним из наиболее опасных насекомых-вредителей хвойных лесов является сибирский шелкопряд (*Dendrolimus superans sibiricus* Tschetv.). За последние 100 лет от вспышек массового размножения сибирского шелкопряда погибло более 13 млн га хвойных лесов. Наиболее значительные по площади очаги наблюдаются в лесах Дальнего Востока, менее значительные – в Восточной Сибири [17]. В целом на территории России угрозу могут представлять очаги таких хвое- и листогрызущих вредителей, как сибирский шелкопряд, непарный шелкопряд, шелкопряд-монашенка, сосновая совка, звездчатый пилильщик-ткач, рыжий сосновый пилильщик и другие. В связи с этим изучение природных наземных экосистем должно быть связано с рассмотрением проблемы популяционной динамики насекомых.

Популяционная динамика насекомых определяется совокупностью модифицирующих (не зависящих от плотности) и регулирующих (функционально связанных с плотностью) факторов [17]. В данной работе для описания динамики локальной популяции используется модифицированная модель Морана – Рикера. Модель отражает ситуацию, когда происходит уменьшение величины необходимых ресурсов в связи с их потреблением предыдущими поколениями, то есть реализуется плотностно-зависимая регуляция численности с запаздыванием. Проведено исследование модели при различных значениях лага (то есть числа поколений, в течение которых ресурсы, необходимые для жизнедеятельности вида, восстанавливаются). Показано, что в системе при одних и тех же значениях демографических параметров популяция может демонстрировать различные типы динамики –

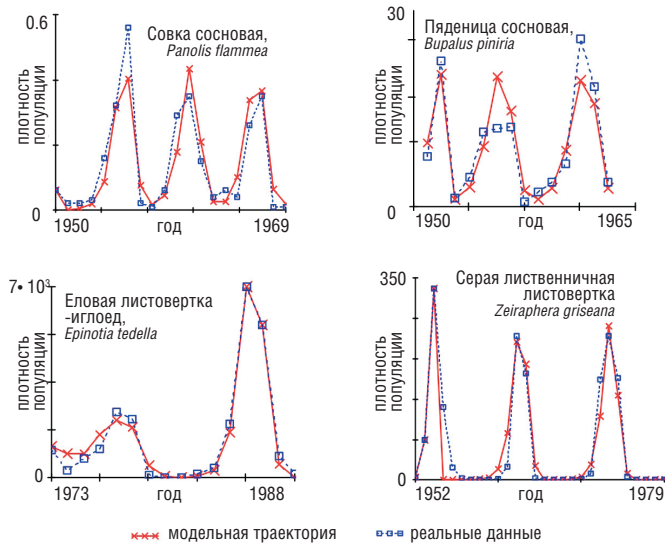


Рис. 7. Результаты описания динамики численности насекомых моделью Морана – Рикера с лагом 1 год (верхний ряд) и 2 года (нижний ряд).

либо стабильную, либо периодическую, либо хаотическую. Результаты исследования позволяют заключить, что зависимость популяционной динамики от интенсивности восстановления ресурсов, необходимых для жизнедеятельности вида, приводит к тому, что популяция в большинстве случаев демонстрирует квазипериодическую динамику. В силу отсутствия данных по вспышкам насекомых-вредителей в лесах Дальнего Востока эта модель применена к описанию динамики численности некоторых видов насекомых на других территориях: серой листовничной листовертки (*Zeiraphera griseana*), еловой листовертки-иглоеда (*Epinotia tedella*), совки сосновой (*Panolis flammea*) и пяденицы сосновой (*Bupalus piniaria*). На основе найденных оценок статистических показателей и критериев показано, что модель Морана – Рикера с запаздыванием хорошо описывает динамику рассматриваемых видов насекомых (рис. 7).

Следует отметить, что, несмотря на большое количество работ, имеющих отношение к модели Морана – Рикера [например, 18 и 19], обстоятельного обоснования и исследования модификации данной модели при введении запаздывания, как и анализа возникающих в этом случае динамических режимов, до сих пор не проводилось. В ходе выполнения настоящей работы впервые проведено детальное исследование динамических режимов модифицированной модели Морана – Рикера, позволяющей описывать динамику численности популяций с неперекрывающимися поколениями при плотностно-зависимой регуляции с запаздыванием. Модель Морана – Рикера с запаздыванием обладает весьма богатым спектром динамических режимов [20]. Более того, в этой системе наблюдается явление мультирежимности [21], когда при одних и тех же значениях демографических параметров популяция демонстрирует различные типы ди-

намики – либо стабильную, либо периодическую, либо хаотическую. При этом вариация текущей численности популяции может привести к смене наблюдаемого динамического режима. В связи с этим при применении данной модели к описанию реальной динамики, помимо проверки точечной оценки модели на адекватность и соответствие объекту, возникает необходимость дополнительного исследования возможных динамических режимов модели в окрестности точечной оценки. Изучение данного аспекта позволяет выявлять динамические режимы, между которыми возможны переходы, вызванные влиянием факторов экзо- и эндогенной природы.

Графики динамики численности насекомых, представленные на рис. 7, демонстрируют хорошо известный факт того, что хвое- и листогрызущие вредители способны к периодическим всплескам массового размножения, когда их численность резко увеличивается. Для большинства видов хвое- и листогрызущих вредителей с однолетней генерацией вспышка обычно длится около 6–7 лет. Зачастую насекомые повреждают молодые деревья. Например, еловая листовертка-иглоед поедает еловые молодняки десяти-тридцатилетнего возраста. При поражении молодых елей повреждаются, как правило, верхушечные побеги, у старших деревьев – наружные и нижние ветви. При этих повреждениях обычно хвойные насаждения резко снижают прирост под влиянием потери хвои, при повторных объеданиях подвергаются нападению стволовых вредителей и усыхают [22]. Таким образом, периодические вспышки массового размножения фитофагов приводят к значительным изменениям структуры хвойных лесов и разрушению древостоев. А это, в свою очередь, ведет к смене лесных формаций, в частности, – к ситуации, когда численное преобладание теневыносливых видов сменяется доминированием светолюбивых пород. Позднее в результате

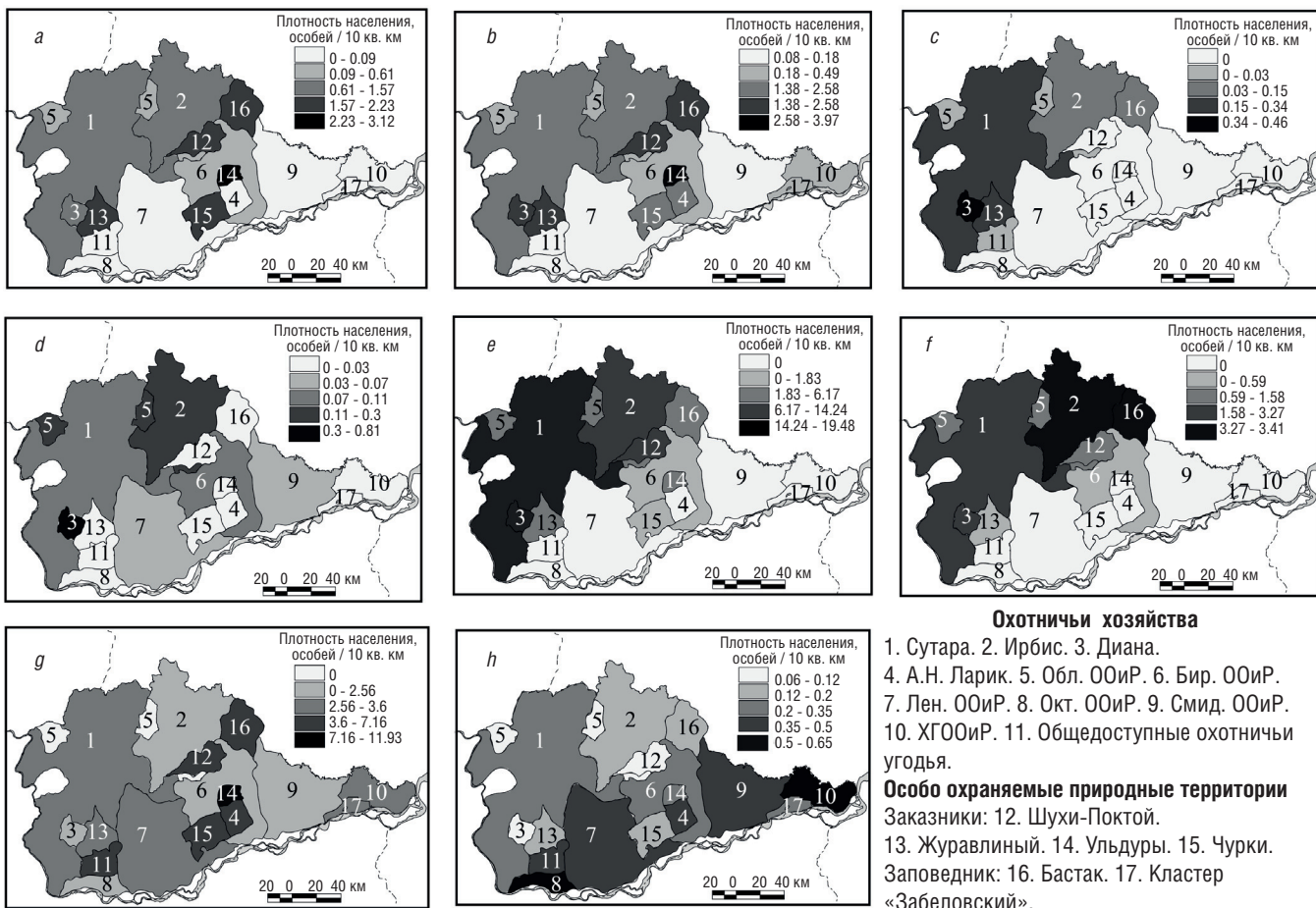


Рис. 8. Пространственное распределение охотничьих млекопитающих, включая изюбря (а), кабана (b), лося (с), бурого медведя (d), белки (e), соболя (f), козули (g), лисы (h) по территории ЕАО.

сукцессий видовой состав древостоев изменится, и снова в биосистеме будут численно преобладать теневыносливые виды над светолюбивыми породами (рис. 6d). Вместе с тем регулярное изъятие части молодых деревьев из общего состава елового древостоя, соответствующее, например, вспышкам численности насекомых, будет приводить к длиннопериодическим колебаниям (рис. 6d).

Пространственное распределение промысловых млекопитающих

Растительность является основополагающим фактором среды обитания млекопитающих и служит наиболее простым и точным показателем при выделении в природе биоценозов и изучении распределения животных в зависимости от условий обитания. В нашем исследовании растительные формации были выбраны в качестве биотопов. Набор биотопов, их мозаика, протяженность границ, соотно-

шение площадей, взаимное расположение относительно друг друга и совокупное влияние всех этих условий определяют современное качество среды обитания и влияют на распределение, численность и плотность животных [23]. Проведено исследование распределения населения охотничьих млекопитающих по территории Еврейской автономной области. Выявлены общие закономерности пространственного изменения плотностей животных в зависимости от структуры местообитаний.

Как видно на рис. 8, пространственное распределение млекопитающих в области, согласно данным зимнего маршрутного учета, имеет зональный характер, причем показатели плотности в целом изменяются в меридиональном направлении. Статистически подтверждено, что наиболее высокие плотности населения популяций лося (*Alces alces*), изюбря (*Cervus canadensis*), кабан (*Sus scrofa*), белки (*Sciurus vulgaris*), соболя (*Martes zibellina*) и бурого медведя (*Ursus arctos*) отмечаются на территории тех охотничьих хозяйств и особо охраняемых природных территориях, где наблюдается наибольшая лесистость, мозаика лесных типов биотопов и небольшая доля открытых местообитаний. Для этих животных прослеживается тесная связь плотности их населения с представленностью как отдельных лесных

типов угодий, так и их набором. Так, пространственное распределение лося, изюбря, кабана и бурого медведя обусловлено размещением хвойно-широколиственных и дубовых лесов. Плотности населения белки и соболя максимальны в тех хозяйствах, где преобладают хвойные и хвойно-широколиственные леса. Кроме того, высокая плотность копытных и бурого медведя обуславливается наличием крупных лесных выделов. С ростом суммарной площади дубовых лесов и освоенных земель, среднего размера выделов дубовых лесов, а также дробности луговых комплексов увеличивается плотность населения популяции косули (*Capreolus pygargus*). При этом наибольшая плотность лисицы (*Vulpes vulpes*) наблюдается в тех хозяйствах, где освоенные земли и луга занимают значительные площади и имеют мозаичное распределение.

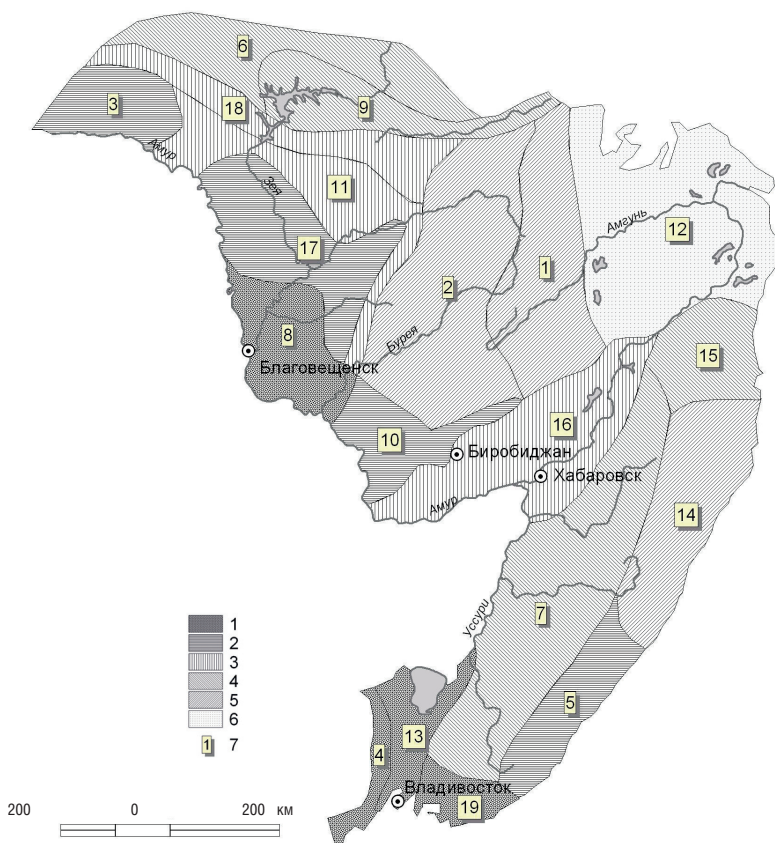


Рис. 9. Фрагментированность физико-географических провинций юга Дальнего Востока России транспортной сетью. Обозначения: 1–6 – величина $Meff$, км/км²: 1) 1 515–4 317; 2) 4 318–7 692; 3) 7 693–11 251; 4) 11 252–26 283; 5) 26 284–41 153; 6) 41 154–897 723. 7 – Физико-географические провинции: 1) Баджалско-Ям-Алинская, 2) Буреинско-Туранская, 3) Верхнеамурская, 4) Восточно-Маньчжурских гор, 5) Восточно-Сихотэ-Алинская, 6) Гилуйско-Токская, 7) Западно-Сихотэ-Алинская, 8) Зейско-Буреинская, 9) Зейско-Удская, 10) Малохинганская, 11) Мамыньская, 12) Нижнеамурская, 13) Приханкайская, 14) Самаргинская, 15) Северо-Сихотэ-Алинская, 16) Среднеамурская, 17) Среднезейская, 18) Тукурингра-Джагдинская, 19) Южно-Сихотэ-Алинская.

Кроме того, выявлено, что наибольшие значения плотностей населения копытных отмечаются на особо охраняемых природных территориях области.

Таким образом, показано, что в распределении населения охотничьих млекопитающих по территории ЕАО важную роль играют не только различия в природных условиях местообитаний, но и охранный статус территории [8–9]. Проведенная нами работа дополняет исследования, связанные с изучением закономерностей распределения животных в зависимости от биотопической структуры местообитаний на региональном уровне.

Проведен количественный анализ многолетней динамики численности промысловых млекопитающих Среднего Приамурья России (на примере ЕАО). Показано, что при некоторой стабильности общей численности большинства промысловых животных на всей территории ЕАО с середины 90-х годов XX в. просматривается устойчивая тенденция к ее снижению, особенно на тех территориях, где ведется промысел. Впечатление некоторой стабильности численности животных в ЕАО в целом связано с положением животных на охраняемых территориях.

Для определения стратегии совершенствования природопользования региональных геосистем Приамурья, ориентированного на сохранение экосистемного разнообразия изучаемого региона, проведено изучение соотношения уровня фрагментированности юга Дальнего Востока России транспортными коммуникациями (один из универсальных показателей освоенности территории) и уровня биоразнообразия региона. Использовались данные о видовом богатстве млекопитающих, включая охотничье-промысловые виды животных.

Проведенная региональная оценка уровня фрагментированности транспортными коммуникациями физико-географических провинций юга Дальнего Востока России показывает, что она напрямую зависит от уровня и длительности освоения геосистем (рис. 9). Самым высоким уровнем фрагментированности характеризуются четыре мезогеосистемы: Зейско-Буреинская, Южно-Си-

хотэ-Алинская, Приханкайская и Восточно-Маньчжурских гор. Это исторические ядра освоения юга Дальнего Востока России (южные части Амурской области и Приморского края). Еще четыре мезогеосистемы имеют высокий уровень фрагментированности: Верхнеамурская, Малохинганская, Восточно-Сихотэ-Алинская и Среднезейская. Низкой фрагментированностью характеризуются Самаргинская, Буреинско-Туранская и Баджальско-Ям-Алинская провинции. Наименее фрагментирована дорогами Нижнеамурская физико-географическая провинция.

Наибольшее число видов млекопитающих (около 150) характерно для провинции Восточно-Маньчжурских гор. Высокими показателями биоразнообразия (более 100 видов млекопитающих) выделяются еще четыре провинции: Восточно-Сихотэ-Алинская, Южно-Сихотэ-Алинская, Западно-Сихотэ-Алинская и Приханкайская. Эти мезогеосистемы, за исключением Западно-Сихотэ-Алинской, характеризуются высокой транспортной раздробленностью. Средний уровень биоразнообразия (80–90 видов) отмечен в пяти мезогеосистемах, территориально расположенных в Приамурье: Мамынской, Среднезейской, Зейско-Буреинской, Малохинганской и Среднеамурской. Из них только две – Малохинганская и Зейско-Буреинская – сильно расчленены транспортными коммуникациями.

На юге Дальнего Востока обитает группа охотничье-промысловых видов животных, в том числе виды, чей ареал сокращается, в частности, кабан, косуля, лось [24]. Анализ распространения охотничье-промысловых видов животных на территориях изучаемого региона с высоким уровнем фрагментированности транспортной сетью выявил, что три провинции с высокой фрагментированностью транспортными коммуникациями являются местом обитания всех

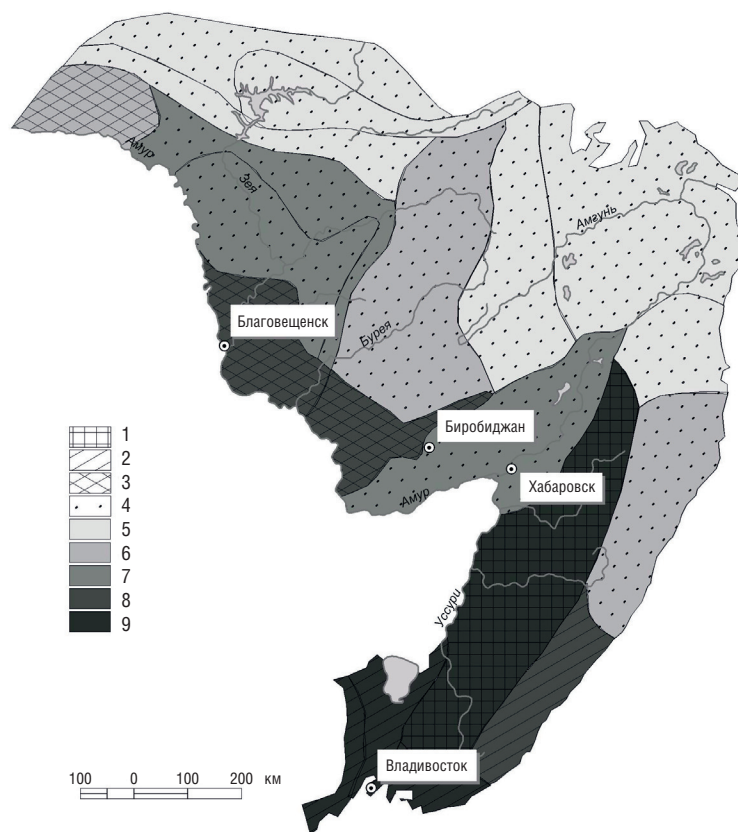


Рис. 10. Группировка физико-географических провинций юга Дальнего Востока России по предлагаемым принципам выбора мер для сохранения биоразнообразия млекопитающих. Обозначения: 1–4 – рекомендуемые принципы выбора мер для сохранения биоразнообразия млекопитающих: 1 – развитие природоохранной заповедной деятельности; 2 – корректирующие меры в природопользовании для снижения угрозы биоразнообразию; 3 – внимание к отдельным видам; 4 – в специальных мерах нет необходимости. 5–9 – Видовое богатство млекопитающих, число видов: 5) 40–48; 6) 49–68; 7) 69–79; 8) 80–101; 9) 102–146.

рассмотренных видов охотничье-промысловых видов животных: Малохинганская, Западно-Сихотэ-Алинская, Восточно-Сихотэ-Алинская. Анализ карт плотности населения рассматриваемых охотничье-промысловых видов животных на этих территориях [25] показывает четкую картину разрыва целостности их ареалов транспортными путями, в зоне влияния которых плотность населения животных может сокращаться до минимальных значений (в виде единичных заходов), как, например, у кабана, кабарги, бурого медведя.

Физико-географические провинции юга Дальнего Востока России были сгруппированы по предлагаемым принципам выбора мер для сохранения биоразнообразия животных, согласно [12] (рис. 10).

Из восьми физико-географических провинций с высоким уровнем фрагментированности транспортной сетью только для двух не декларируется необходимость сохранения биоразнообразия лесных экосистем – Приханкайской и Зейско-Буреинской. Из них для Приханкайской провинции предлагается принцип корректирующих мер в природопользовании для сни-

жения угрозы биоразнообразию. Зейско-Буреинская провинция с низким разнообразием млекопитающих, но высоким уровнем фрагментированности ландшафтов определяется нами как требующая внимания к защите только отдельных видов [26].

Заключение

Выполнено количественное исследование и математическое моделирование пространственно-временной динамики экосистем и их главных биотических компонентов: популяций и сообществ растений и животных под воздействием различных природных и антропогенных факторов. На основе разработанной имитационной модели пространственно-временной динамики древесных сообществ изучены особенности формирования структуры и стадии развития темнохвойных древостоев под действием конкуренции за свет. Построены модельные сценарии восстановления запаса и структуры древостоя в зависимости от интенсивности изъятия древесины. Показано, что в случае ежегодного изъятия четверти елового подроста в смешанном древостое наблюдаются длиннопериодические колебания, в которых численное преобладание светолюбивых видов сменяется преобладанием теневыносливых и наоборот. Такие режимы могут возникать, в частности, при поедании части молодых побегов копытными животными или гибели растений, вызванной вспышками численности фитофагов.

Для описания динамики локальной популяции насекомых применялся модифицированный вариант модели Морана – Рикера, описывающий ситуацию, когда происходит уменьшение величины необходимых ресурсов в связи с их потреблением предыдущими поколениями, то есть реализуется плотно-зависимая регуляция численности с запаздыванием. В качестве примеров применения разрабатываемой методологии проанализированы ряды данных по динамике разных видов насекомых. На основе найденных оценок статистических показателей и критериев показано, что модель Морана – Рикера с запаздыванием хорошо описывает динамику численности рассматриваемых видов насекомых, в частности, – периодические вспышки массового размножения, когда их численность резко увеличивается. Отмечено, что периодические вспышки массового размножения фитофагов приводят к значительным изменениям структуры хвойных лесов и разрушению древостоев. А это, в свою очередь, ведет к смене лесных формаций, в частности, – к ситуации, когда численное преобладание теневыносливых видов сме-

няется доминированием светолюбивых пород. Позднее в результате сукцессий видовой состав древостоев снова изменится, и в биосистеме будут преобладать теневыносливые виды. Следовательно, изъятие части молодых еловых деревьев, вызванное вспышками численности насекомых, будет приводить к длиннопериодическим колебаниям структуры и запаса древостоя.

Методами статистического анализа выявлены общие закономерности пространственного изменения плотностей промысловых млекопитающих в зависимости от структуры местообитаний Среднего Приамурья. Показано, что пространственное распределение животных зависит от размещения и площадей типичных для них биотопов, средних размеров выделов и степени ландшафтной дробности. Предложены принципы совершенствования природопользования на юге Дальнего Востока России для сохранения биоразнообразия млекопитающих в зависимости от уровня потенциального негативного влияния фрагментированности геосистем транспортной сетью на состояние регионального биоразнообразия.

Содержание проведенных исследований носит междисциплинарный характер, а полученные научные результаты находятся на стыке ряда дисциплин – популяционной биологии, экологии, географии, математики и других. Подобная междисциплинарность позволяет, во-первых, создавать подходы к исследованию и анализу современного состояния и динамики биологического разнообразия региона и, во-вторых, разрабатывать предложения и рекомендации по управлению экосистемами как с позиций сохранения биоразнообразия и устойчивости их развития, так и в целях оптимизации хозяйственного использования биологических ресурсов.

Литература

1. **А.Н. Колобов**
Лесоведение, 2014, №5, 72.
2. **A.N. Kolobov, E.Ya. Frisman**
Ecological Complexity, 2016, 27, 29.
DOI: 10.1016/j.ecocom.2015.10.002.
3. **В.В. Загребев, В.И. Сухих, А.З. Швиденко, Н.Н. Гусев, А.Г. Мошкалев**
Общесоюзные нормативы для таксации лесов, РФ, Москва, Колос, 1992, 195 с.
4. **F. Schwardtfege**
Entomology, 1952, 34(2), 216.
5. **В.Г. Суховольский, О.В. Тарасова**
В Сб. *Материалы Международного семинара «Математические модели в теоретической экологии и земледелии», посвященного памяти профессора Ратмира Александровича Полуэктова (Полуэктовские чтения), (Санкт-Петербург, 14–16 октября 2014 г.)*, РФ, СПб., АФИ, 2014, с. 97–99.
6. *Информация для охотников области. Официальный портал органов государственной власти Еврейской автономной области. Охотхозяйственный реестр за 2011–2018 гг.* (<http://www.eao.ru/isp-vlast/upravlenie-po-okhrane-i-ispolzovaniyu-obektov-zhivotnogo-mira-pravitelstva-eao/inaya-informatsiya--2/informatsiya-dlya-okhotnikov-oblasti/?print=Y>).
7. **Б.А. Михайловский, А.С. Залесов, Н.Н. Рычкова**
В Сб. *Промысловая оценка и освоение биологических ресурсов*, СССР, Киров, 1988, с. 43–59.
8. **О.Л. Ревуцкая, Д.М. Фетисов**
Региональные проблемы, 2015, 18(4), 52.
9. **О.Л. Ревуцкая, Д.М. Фетисов**
Региональные проблемы, 2016, 19(2), 20.
10. *Карта физико-географического районирования СССР: м-б 1:8 000 000*, под ред. Н.А. Гвоздецкого, Г.С. Самойлова, СССР, Москва, ГУГК, 1986.
11. **J.A.G. Jaeger**
Landscape Ecol., 2000, 15(2), 115. DOI: 10.1023/a:1008129329289.
12. **T. Li, F. Shilling, J. H. Thorne, F. Li, H. Schott, R. Boynton, A.M. Berry**
Landscape Ecol., 2010, 25(6), 839. DOI: 10.1007/s10980-010-9461-6.
13. **А.Н. Колобов, Е.С. Лонкина, Е.Я. Фрисман**
Сибирский лесной журнал, 2015, 3, 45.
DOI: 10.15372/SJFS20150305.
14. **O. Tahvonen, T. Pukkala, O. Laiho, E. Lähde, S. Niinimäki**
Forest Ecology and Management, 2010, 260(1), 106.
DOI: 10.1016/j.foreco.2010.04.006.
15. **A. Xabadia, R. Goetz**
J. Forest Econ., 2010, 16(1), 63. DOI: 10.1016/j.jfe.2009.06.002.
16. **A. Yasuda, T. Yoshida, H. Miya, B. Harvey**
J. Forest Res.-JPN, 2013, 18(5), 398. DOI: 10.1007/s10310-012-0362-1.
17. **С.А. Бахвалов, Е.В. Колтунов, В.В. Мартемьянов**
Факторы и экологические механизмы популяционной динамики лесных насекомых-филлофагов, под ред. М.В. Штерншица, РФ, Новосибирск, Издательство СО РАН, 2010, 299 с.
18. **P. Turchin**
Complex Population Dynamics: A Theoretical / Empirical Synthesis, USA, NJ, Princeton, Princeton University Press, 2003, 456 pp.
19. **L.V. Nedorezov, D.L. Sadykova**
Ecol. Model., 2015, 297, 26.
DOI: 10.1016/j.ecolmodel.2014.11.003.
20. **Г.П. Неверова, Е.Я. Фрисман**
Математическая биология и биоинформатика, 2015, 10(2), 309.
DOI: 10.17537/2015.10.309.
21. **G.P. Neverova, I.P. Yarovenko, E.Y. Frisman**
Ecol. Model., 2016, 340(24), 64. DOI: 10.1016/j.ecolmodel.2016.09.005.
22. **А.И. Воронцов**
Лесная энтомология, СССР, Москва, Высшая школа, 1982, 384 с.
23. **П.Б. Юргенсон**
Биологические основы охотничьего хозяйства в лесах, СССР, Москва, Лесная промышленность, 1973, 176 с.
24. **И.С. Шереметьев, В.Е. Панасенко**
Вестник ДВО РАН, 2013, 2, 41.
25. *Медико-экологический атлас Хабаровского края и Еврейской автономной области*, РФ, Хабаровск, Воен.-картогр. фабрика МО РФ, 2005, 112 с.
26. **Д.М. Фетисов**
Вестник ДВО РАН, 2016, 1(185), 38.

English

Forecasting Dynamics of Biodiversity and the Development of Approaches to the Control of Its Stability: Analysis and Simulation of Spatio-Temporal Dynamics of Ecosystems through the Example of the Middle Amur Region*

Efim Ya. Frisman

RAS Corresponding Member, Professor,
Scientific Director of Institute for Complex Analysis
of Regional Problems, FEB RAS
4 Sholom-Aleikhem Str.,
Birobidzhan, 679016, Russia
frisman@mail.ru

Alexey N. Kolobov

Institute for Complex Analysis
of Regional Problems, FEB RAS
4 Sholom-Aleikhem Str.,
Birobidzhan, 79016, Russia
alex_0201@mail.ru

Oksana L. Revutskaya

Institute for Complex Analysis
of Regional Problems, FEB RAS
4 Sholom-Aleikhem Str.,
Birobidzhan, 679016, Russia
oksana-rev@mail.ru

Galina P. Neverova

Institute of Automation
and Control Processes, FEB RAS
5 Radio Str.,
Vladivostok, 690041, Russia
galina.nev@gmail.com

Denis M. Fetisov

Director of Institute for Complex
Analysis of Regional Problems, FEB RAS
4 Sholom-Aleikhem Str.,
Birobidzhan, 679016, Russia
dfetisov@gmail.com

Abstract

The paper investigates the spatial and temporal dynamics of ecosystems and their main biotic components – populations and communities of plants and animals – under the influence of natural and anthropogenic factors using methods of quantitative analysis and mathematical modeling. Model scenarios for restoring the stock and structure of the stand depending on the intensity of wood removal were built. It is shown that in the case of removal of a part of spruce saplings in a mixed tree stand, long-period fluctuations are observed, in which the numerical predominance of light-loving species is replaced by the predominance of shade-tolerant and vice versa. Such regimes can occur, in particular, when part of saplings are eaten by ungulates or plant death caused by phytophagous outbreaks takes place. Using statistical analysis methods revealed general patterns of spatial changes in mammal densities due to habitat structure of the Middle Amur Region. The principles of environmental management in the south of the Russian Far East are proposed to conserve biodiversity and take into account potential negative impact of geosystem fragmentation on biodiversity by the transport network.

Keywords: biodiversity, populations, spatial distribution, mathematical modeling, environmental management, development scenarios.

*The work was performed as part of the state target for Institute for Complex Analysis of Regional Problems FEB RAS, and was also financially supported by RFBR (project 15-29-02658).

Images & Tables

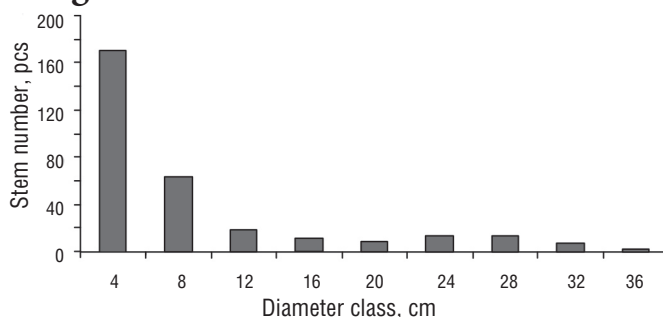


Fig. 1. Tree distribution in accord with stages of stem diameter volume.

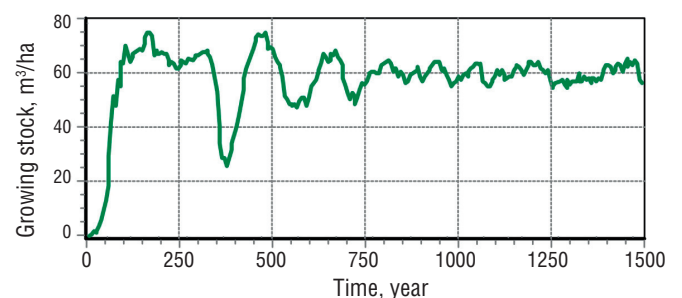


Fig. 2. Dynamics of spruce tree stand resources in modeled plot.

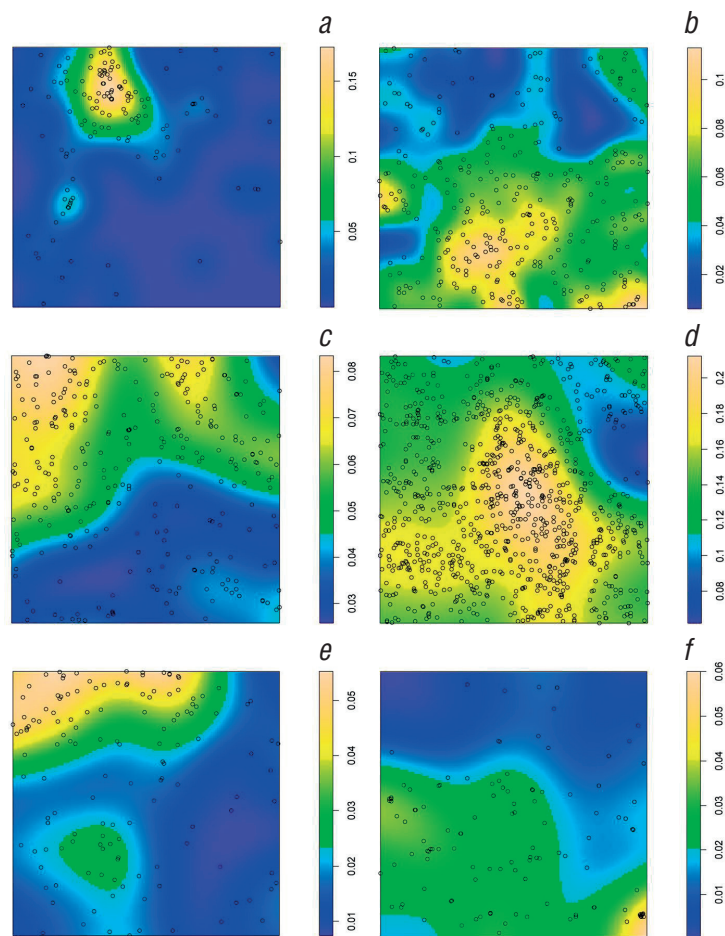


Fig. 3. Spatial location of the light-loving and shade-tolerant group of trees on sample plots (SP). Light-loving species (left): SP №2 – *Betula costata* (a), SP №3 – *Betula platyphylla*, *Betula lanata*, *Lárix dahúrica* (c), SP №4 – *Quercus mongolica*, *Betula dahurica*, *Betula lanata*, *Lárix dahúrica* (e). Shade-tolerant species (right): SP №2 – *Picea jezoensis*, *Abies nephrolepis*, *Pínus koraiénsis* (b), SP №3 – *Picea jezoensis*, *Abies nephrolepis*, *Pínus koraiénsis* (d), SP №4 – *Acer mono*, *Acer tegmentosum*, *Tilia amurensis* (f).

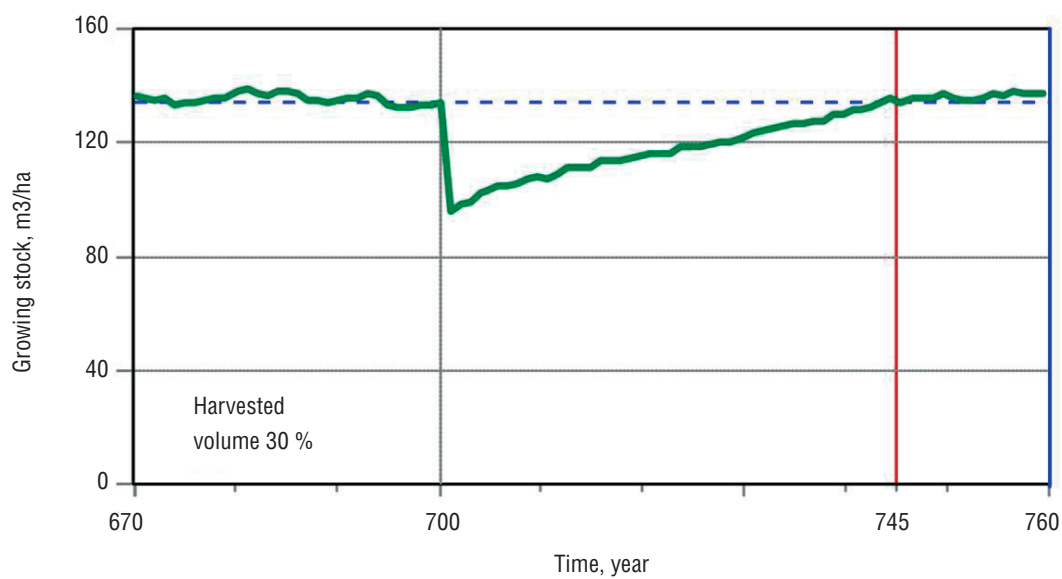


Fig. 4. Increase of stock spruce stand after cutting with harvested volume of 30%.

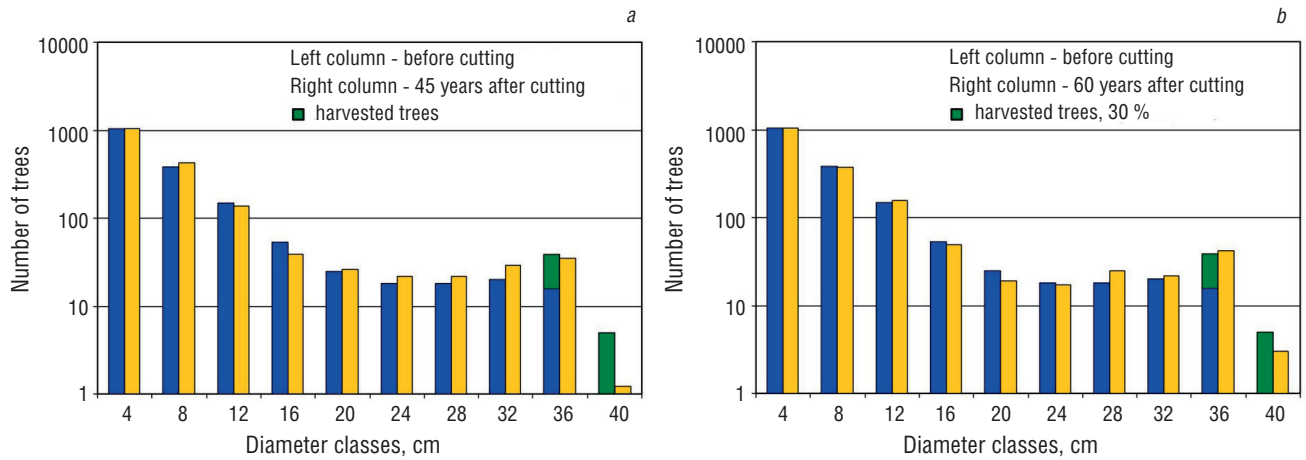


Fig. 5. Distribution of trees by diameter in the spruce tree stand in 45 (a) and 60 (b) years after cutting with harvested volume of 30%.

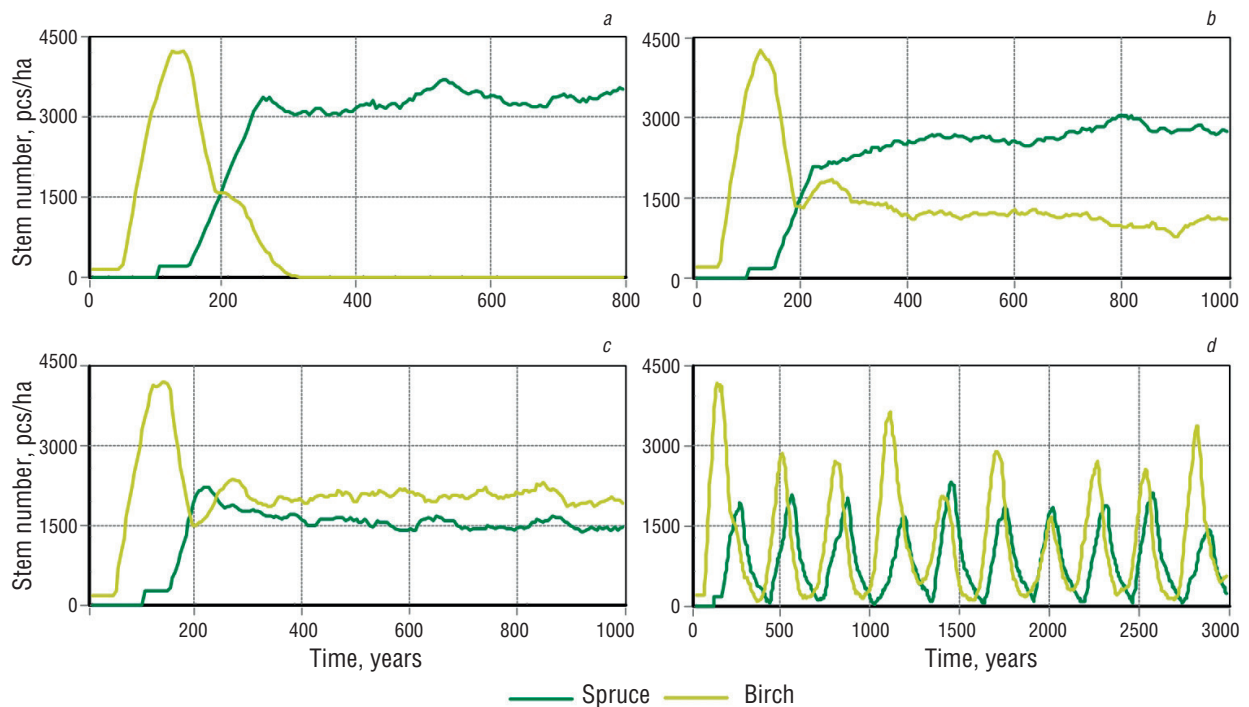


Fig. 6. Pictures the scenarios of a spruce-birch tree stand dynamics in case of annual removal of a part of Japanese spruce species: a – a natural development of the mixed forest stand without external factors influence; b, c – a development of the community with the removal of 4% and 9% of spruce trees out of the total growing stock volume, starting with a maximum stem diameter; d – a development of the community with the removal of 23% of spruce saplings out of the total number of trees, starting with a zero diameter.

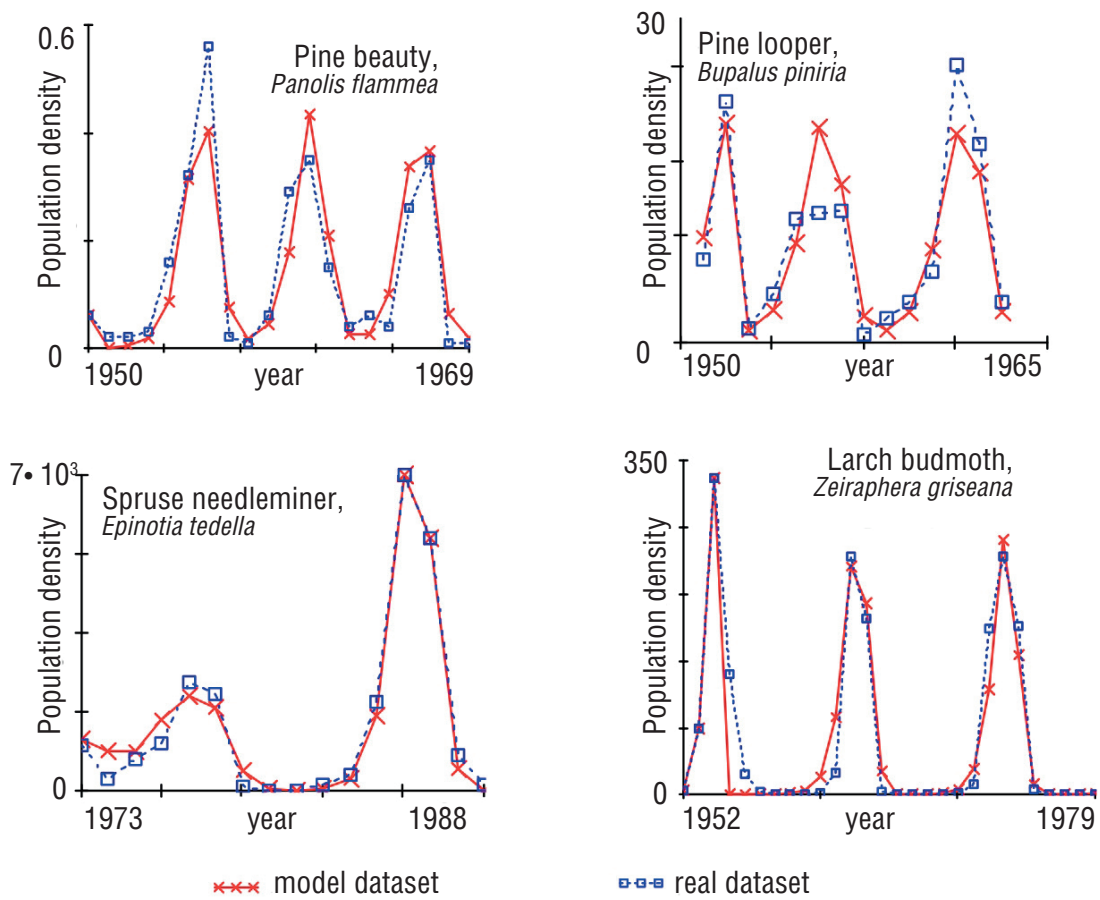


Fig. 7. The description of the insects population dynamics by the Moran – Riker model with a lag of 1 year (upper row) and 2 years (lower row).

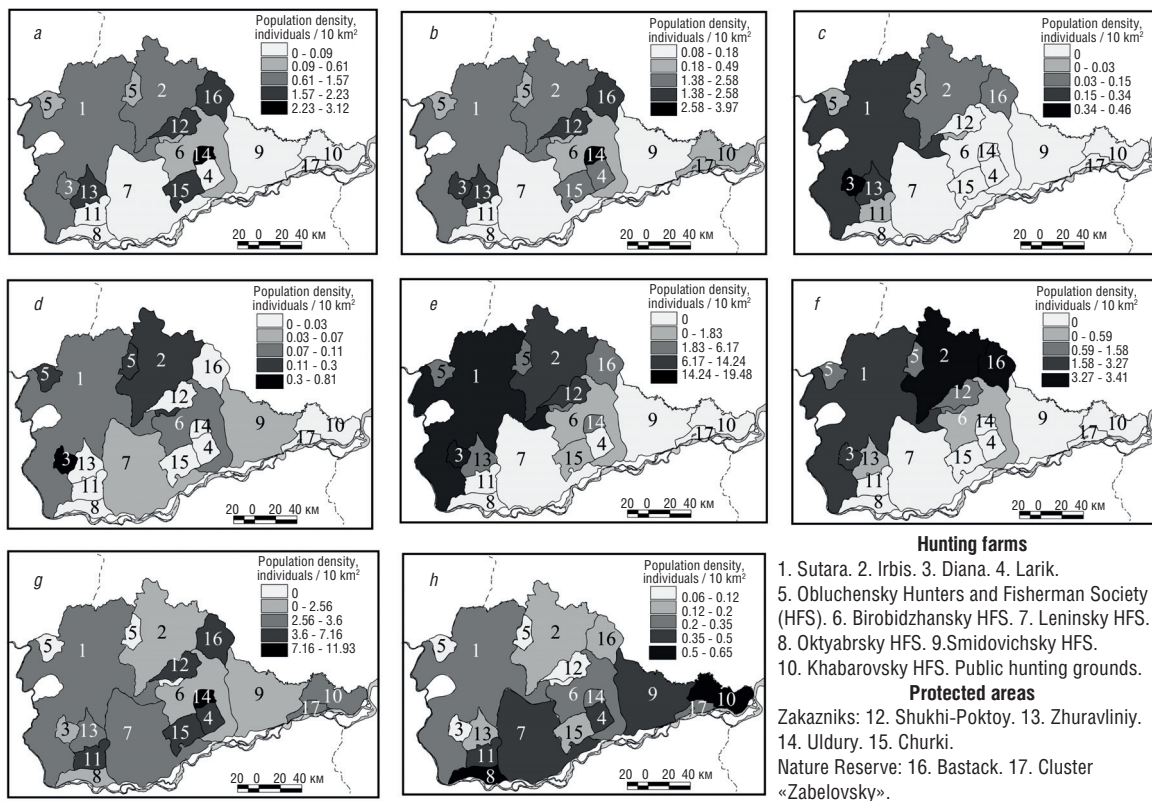


Fig. 8. Spatial distribution of the hunting mammals, including red deer (a), wild boar (b), elk (c), brown bear (d), squirrel (e), sable (f), roe deer (g), fox (h) on the territory of the Jewish Autonomous Region.

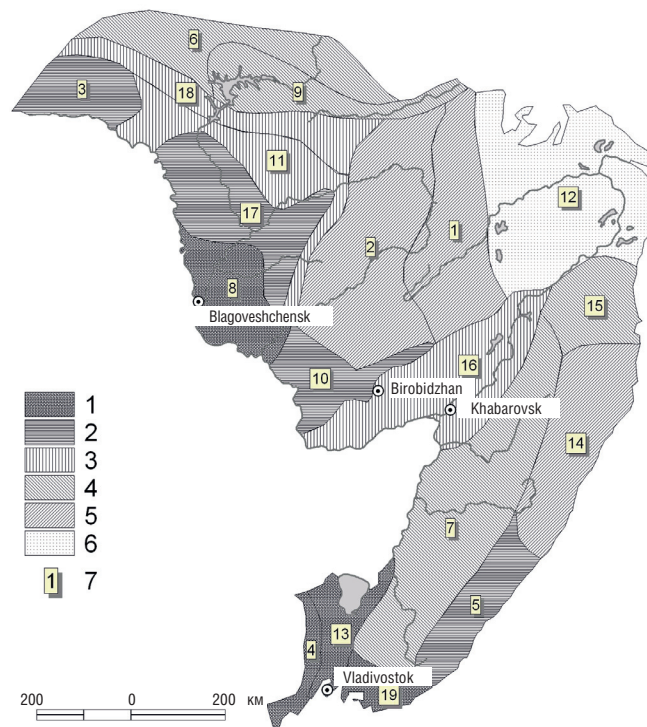


Fig. 9. The southern Russian Far East physiographic provinces fragmentation by road network. 1–6 – fragmentation level (Meff, km/km²): 1) 1 515–4 317; 2) 4 318–7 692; 3) 7 693–11 251; 4) 11 252–26 283; 5) 26 284–41 153; 6) 41 154–897 723. 7 – Physiographic provinces: 1) Badzhalsko-Yam-Alinskaya, 2) Bureinsko-Turanskaya, 3) Verkhneamurskaya, 4) East Manchurian mountains, 5) Vostochno-Sikhote-Alinskaya, 6) Gilyuy-Tokskaya, 7) Zapadno-Sikhote-Alinskaya, 8) Zeysko-Bureinskaya, 9) Zeysko-Udskaya, 10) Malokhingyanskaya, 11) Mamynskaya, 12) Nizhneamurskaya, 13) Prikhankayskaya, 14) Samarginskaya, 15) Severo-Sikhote-Alinskaya, 16) Sredneamurskaya, 17) Srednezeyskaya, 18) Tukuringra-Jagdinskaya, 19) Uzhno-Sikhote-Alinskaya.

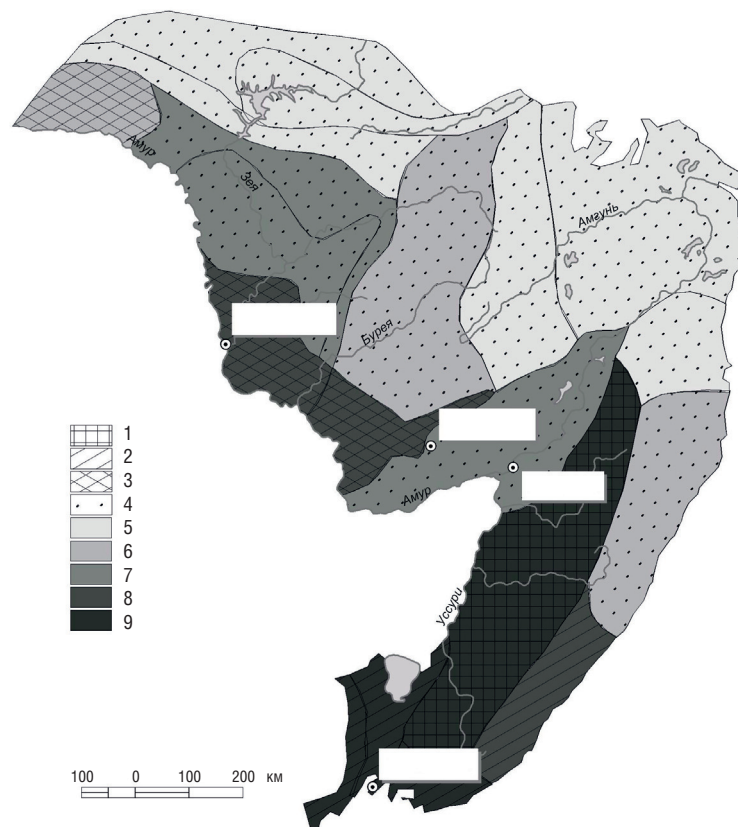


Fig. 10. Grouping the southern physiographic provinces of Russian Far East according to relative threats to biodiversity and conservation opportunities. 1–4 – conservation mammal species richness priority setting: 1 – conservation area for biodiversity protection; 2 – taking corrective measures in environmental management to reduce the biodiversity threat; 3 – paying attention to individual species under threat; 4 – special measures are not needed. 5–9 – Mammal species richness, number of species: 5) 40–48; 6) 49–68; 7) 69–79; 8) 80–101; 9) 102–146.

References

1. **A.N. Kolobov**
Lesovedenie, 2014, №5, 72 (in Russian).
2. **A.N. Kolobov, E.Ya. Frisman**
Ecological Complexity, 2016, 27, 29.
DOI: 10.1016/j.ecocom.2015.10.002.
3. **V.V. Zagreyev, V.I. Sukhikh, A.Z. Shvidenko, N.N. Gusev, A.G. Moshkalev**
All-Union Regulations for Scaffolding [Obshchesoyuznye normativy dlya taksatsii lesov], RF, Moscow, Kolos Publ., 1992, 195 pp. (in Russian).
4. **F. Schwerdtfeger**
Entomology, 1952, 34(2), 216.
5. **V.G. Sukhovolsky, O.V. Tarasova**
In Proc. *The materials of the International seminar "Mathematical Models in Theoretical Ecology and Agriculture"*, dedicated to the memory of Professor Ratmir Alexandrovich Poluektov (Poluektov's Reading), [Materialy Mezhdunarodnogo seminara "Matematicheskie modeli v teoreticheskoy ekologii i zemledelii", posvyashchennogo pamyati professora Ratmira Aleksandrovicha Poluektova (Poluektovskiyeh chtenia)], (St. Petersburg, October 14–16, 2014), RF, St. Petersburg, AFI, 2014, pp. 97–99 (in Russian).
6. **Information for Hunters' Area. The official portal of government bodies of the Jewish Autonomous Region. Hunting register for 2011–2018**, [Informatsiya dlya okhotnikov oblasti. Ofitsial'nyy portal organov gosudarstvennoy vlasti Yevreyskoy avtonomnoy oblasti. Okhotkhozaystvennyy reyestr za 2011–2018 gg.]. (<http://www.eao.ru/isp-vlast/upravlenie-po-okhrane-i-ispolzovaniyu-obektov-zhivotnogo-mira-pravitelstva-eao/inaya-informatsiya--2/informatsiya-dlya-okhotnikov-oblasti/?print=Y>) (in Russian).
7. **B.A. Mikhaylovskiy, A.S. Zalesov, N.N. Rychkova**
In Proc. *Field Estimation and Biological Resources Development [Promyslovaya otsenka i osvoyeniye biologicheskikh resursov]*, USSR, Kirov, 1988, pp. 43–59 (in Russian).
8. **O.L. Revutskaya, D.M. Fetisov**
Regional Problems [Regionalnye problemy], 2015, 18(4), 52 (in Russian).
9. **O.L. Revutskaya, D.M. Fetisov**
Regional Problems [Regionalnye problemy], 2016, 19(2), 20 (in Russian).
10. **Map of Physiographic Zoning of the USSR: mb: 1:8 000 000 [Karta fiziko-geograficheskogo rayonirovaniya SSSR: m-b 1:8 000 000]**, Eds N.A. Gvozdetsky, G.S. Samoylova, USSR, Moscow, GUGK, 1986 (in Russian).
11. **J.A.G. Jaeger**
Landscape Ecol., 2000, 15(2), 115. DOI: 10.1023/a:1008129329289.
12. **T. Li, F. Shilling, J. H. Thorne, F. Li, H. Schott, R. Boynton, A.M. Berry**
Landscape Ecol., 2010, 25(6), 839. DOI: 10.1007/s10980-010-9461-6.
13. **A.N. Kolobov, E.S. Lonkina, E.Y. Frisman**
Siberian J. Forest Sci., 2015, 3, 45 (in Russian).
DOI: 10.15372/SJFS20150305.
14. **O. Tahvonnen, T. Pukkala, O. Laiho, E. Lähde, S. Niinimäki**
Forest Ecology and Management, 2010, 260(1), 106.
DOI: 10.1016/j.foreco.2010.04.006.
15. **A. Xabadia, R. Goetz**
J. Forest Econ., 2010, 16(1), 63. DOI: 10.1016/j.jfe.2009.06.002.
16. **A. Yasuda, T. Yoshida, H. Miya, B. Harvey**
J. Forest Res.-JPN, 2013, 18(5), 398. DOI: 10.1007/s10310-012-0362-1.
17. **S.A. Bakhvalov, E.V. Koltunov, V.V. Martem'yanov**
Factors and Ecological Mechanisms of Population Dynamics of Forest Phyllophagous Insects [Faktory i ekologicheskie mekhanizmy populyatsionnoy dinamiki lesnykh nasekomykh-fillofagov], Ed. M.V. Shternshis, RF, Novosibirsk, SB RAS Publ., 2010, 299 pp. (in Russian).
18. **P. Turchin**
Complex Population Dynamics: A Theoretical / Empirical Synthesis, USA, NJ, Princeton, Princeton University Press, 2003, 456 pp.
19. **L.V. Nedorezov, D.L. Sadykova**
Ecol. Model., 2015, 297, 26. DOI: 10.1016/j.ecolmodel.2014.11.003.
20. **G.P. Neverova, E.Y. Frisman**
J. Mathematical Biology and Bioinformatics, 2015, 10(2), 309 (in Russian).
DOI: 10.17537/2015.10.309.
21. **G.P. Neverova, I.P. Yarovenko, E.Y. Frisman**
Ecol. Model., 2016, 340(24), 64. DOI: 10.1016/j.ecolmodel.2016.09.005.
22. **A.I. Vorontsov**
Forest Entomology [Lesnaya entomologia], USSR, Moscow, Vysshaya shkola, 1982, 384 pp. (in Russian).
23. **P.B. Yurgenson**
Biological Basis of Hunting in Forests [Biologicheskie osnovy okhotnichego khozyaystva v lesakh], USSR, Moscow, Lesnaya promyshlennost, 1973, 176 pp. (in Russian).
24. **I.S. Sheremet'yev, V.E. Panasenko**
Vestnik of the Far East Branch of the RAS, 2013, 2, 41 (in Russian).
25. **Medico-Ecological Atlas of the Khabarovsk Territory and the Jewish Autonomous Region [Mediko-ekologichesky atlas Khabarovskogo kraya i Evreyskoy avtonomnoy oblasti]**, RF, Khabarovsk, Voen.-kartogr. fabrika MO RF, 2005, 112 pp. (in Russian).
26. **D.M. Fetisov**
Vestnik of the Far East Branch of the RAS, 2016, 1(185), 38 (in Russian).

Геномные исследования для сохранения осетровых: анализ наследования полиплоидных локусов и разработка панели маркеров для идентификации гибридов осетровых и продукции из них*

Н.С. Мюге, А.Е. Барминцева

Представлены результаты анализа аллельного наследования полиморфных микросателлитных локусов, на экспериментальных скрещиваниях выявлен уровень пloidности и степень диплоидизации генома для много- и малохромосомных видов осетровых. Представлены результаты разработки системы идентификации белуги (*Huso huso*) и ее гибридов (наиболее коммерчески ценная продукция осетроводства), гибридных особей амурского осетра (*Acipenser schrenckii*) и калуги (*Huso dauricus*) (наиболее востребованный в настоящее время гибрид, активно выращиваемый в Китае и поставляемый на российский рынок), а также предложен ядерный генетический маркер для идентификации русского (*Acipenser gueldenstaedtii*) и сибирского (*A. baerii*) осетров в межвидовых гибридах. Результаты исследований нашли применение в реализации программы Росрыболовства по генетическому мониторингу искусственного воспроизводства осетровых видов рыб, а также в практике проведения видовой ДНК-идентификации черной икры и другой продукции осетровых как от чистых видов, так и от гибридных аквакультурных стад.

Ключевые слова: осетровые, полиплоидия, ДНК-идентификация.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №15-29-02766).

Осетровые рыбы представляют большой интерес для изучения генетических и эволюционных процессов. Предполагается, что отряд Acipenseriformes появился в палеонтологической летописи около 200 млн лет назад во время юрского периода [1, 2]. В настоящее время почти все осетровые находятся на грани исчезновения в связи с чрезмерной эксплуатацией и потерей привычной среды обитания и естественных нерестилищ [3, 4]. Эти «живые ископаемые» важны для понимания эволюции позвоночных в целом, однако если не будет предпринято решительных мер для их спасения, останется не так много времени для их изучения. В настоящее время в России промышленный и любительский лов осетровых запрещен (за исключением некоторых популяций стерляди (*Acipenser ruthenus*) и сибирского осетра в реке Лене), а вылов осуществляется только для целей воспроизводства и научных исследований. Всё семейство осетровых Acipenseridae включено в списки Конвенции о международной торговле видами дикой фауны и флоры, находящимися под угрозой исчезновения (CITES) [5], осетровые внесены также в различные категории Международной Красной книги (IUCN) [6].

На настоящий момент искусственное воспроизводство осетровых в нашей стране является основным источником пополнения естественных популяций. Мероприятия по поддержанию численности вида должны учитывать сохранение его устойчивости, в значительной мере обусловленной его генетической гетерогенностью, и, соответственно, требуют знаний об эволюционно сформировавшейся популяционной структуре вида. Область генетических исследований, направленная на сохранение и поддержание исчезающих видов или видов, численность которых нарушена из-за перелома и других антропогенных факторов, выделяется в настоящее время в отдельную научную дисциплину, называемую природоохранной генетикой (conservation genetics) [7]. Методы и подходы, применяемые



МЮГЕ

Николай Сергеевич

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии
Институт биологии развития
им. Н.К. Кольцова



БАРМИНЦЕВА

Анна Евгеньевна

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии
Институт биологии развития
им. Н.К. Кольцова

в природоохранной генетике, позволяют избежать непоправимых ошибок в деле восстановления утерянного поголовья осетровых видов рыб по всему их ареалу.

Генетические исследования, проводимые ранее на осетровых видах рыб, выявили ряд особенностей, таких как замедленный консервативный характер кариологической, биохимической и молекулярной эволюции [8–10], а также полиплоидию – увеличенное количество хромосом в кариотипе осетровых (число хромосом варьирует от 116 до 360 у разных видов) [11–14].

Осетровые являются ценными в хозяйственном отношении рыбами, а черная икра, получаемая от осетровых, – одним из самых полезных продуктов животного происхождения [15]. Осетровая икра всегда была не только дорогим деликатесом, но и знаменитым российским брендом. «Икра русского осетра, возможно, больше дала для международных отношений, чем все русские сановники вместе взятые за всю историю. Эта простая, на первый взгляд, еда стоит в одном ряду с такими общемировыми ценностями, как жемчуга, соболя, старое серебро и кубки Челлини» (Джеймс Бёрд, американский кулинар и писатель, цитируется по [16]).

Изучение организации генома осетровых рыб имеет ряд особенностей, связанных, прежде всего, с их полиплоидным происхождением, которое играет важную роль в эволюции и филогенетическом разнообразии рыб. В процессе эволюции таксона полногеномная дупликация может происходить неоднократно и независимо в различных ветвях [17].

По данным некоторых авторов, осетровые рыбы характеризуются сравнительно медленной молекулярной эволюцией, скорость накопления мутаций в их ядерных генах меньше, чем у костистых рыб Teleostei [10, 18]. Осетровые выделяются среди других рыб большой морфологической пластичностью и исключительно широко распространенной межвидовой гибридизацией

даже между удаленными в систематическом отношении таксонами [19].

Было выдвинуто несколько гипотез о механизмах полиплоидизации осетровых. Одна из них предполагает автополиплоидию общего 60-хромосомного предка и дальнейшую вторичную дупликацию генома у различных дивергентно разошедшихся видов [13, 18]. Это могло произойти около 150–200 млн лет назад, поскольку видов семейства Acipenseridae с 60 хромосомами к настоящему времени не существует. Фонтана с соавт. [13] предположили четыре события полиплоидизации в эволюции осетровых видов рыб. Васильев с соавт. [14, 20] выдвинули гипотезу о том, что полиплоидизация аллоплоидного типа происходила минимум три раза с периодической межвидовой гибридизацией.

Для изучения генетического полиморфизма видов, уровня плоидности и механизмов наследования наравне с митохондриальными маркерами широко используются ядерные маркеры, в частности, микросателлитные локусы (STR), изучение их аллельного состава. Именно эти регионы ДНК, находящиеся под давлением отбора, эволюционируя с более высокой по сравнению с ядерными белок-кодирующими генами скоростью, постепенно накапливают наследуемые в потомстве дифференциальные признаки. Микросателлитные локусы обладают менделевским кодоминантным наследованием, их локус-специфичный анализ позволяет проводить межвидовую, внутривидовую (популяционную) и индивидуальную идентификацию особей [21]. STR-локусы широко распределены по всему геному. У рыб микросателлитные локусы встречаются приблизительно каждые 10 000 пар нуклеотидов (п. н.) [22].

Особенностью мутационного процесса в микросателлитах является изменение длины последовательности, как правило, на целый повторяющийся элемент (2–6 п. н.), и эти изменения протекают с достаточно высокой скоростью [21].

Одним из ограничений этого метода является возможность использовать одни и те же локусы только для близких видов [21, 23]. Однако низкая скорость молекулярной эволюции ядерной ДНК позволяет использовать одни и те же локусы на широком круге видов осетровых [24]. Практически все праймеры, разработанные на одном из видов осетровых, амплифицируются на всех других видах с различиями в диапазоне и степени полиморфности данного локуса. Двадцать пар праймеров, сделанных для русского осетра и других видов, были амплифицированы на 10 различных видах осетровых [25].

Тетрасомное, редуцированное (дуплицированное дисомное) и октасомное наследование описано для различных видов осетровых во многих

работах. Исследуя плоидность Acipenseriformes, Людвиг с соавт. [12] на примере шести микросателлитных локусов показал, что все виды с ~120 хромосомами – функциональные диплоиды, а с ~240 хромосомами – функциональные тетраплоиды. Пятковит с соавт. [26] исследовал микросателлиты озерного осетра (*Acipenser fulvencis*) и на основе полученных данных сделал вывод о тетрасомном наследовании локусов у этого вида, хотя он также обнаружил локусы, которые давали не более двух аллелей. Другие исследователи на шести малохромосомных видах осетровых (севрюга (*A. stellatus*), белуга, стерлядь, шип (*A. nudiiventris*), атлантический (*A. sturio*) и европейский осетры (*A. oxyrinchus*) показали дисомное наследование локусов, а на четырех многохромосомных видах (русский, персидский (*A. persicus*), сибирский и адриатический (*A. naccarii*) осетры) – тетрасомное. Фоп-Баят [27], анализируя гаплоидное потомство сибирского осетра, обнаружила и ди-, и тетра-, и октаплоидное наследование. Хавелка с соавт. [28] на примере анализа 11 микросателлитных локусов показали не только «традиционное» дисомное наследование для видов со 120 хромосомами и тетрасомное для видов с 250 хромосомами, но и обнаружили для четырех исследованных локусов тетрасомное наследование для первых и октасомное – для вторых.

Таблица 1. Характеристика тестируемых скрещиваний

№п/п	Самка	Плоидность	Самец	Плоидность	Число личинок	Плоидность
1	<i>Acipenser baerii</i>	4n	<i>A. baerii</i> (облученный)	—	48	2n
2	<i>A. baerii</i>	4n	<i>A. baerii</i>	4n	48	4n
3	<i>A. baerii</i>	4n	<i>A. ruthenus</i>	2n	93	3n
4	<i>A. gueldenstaedtii</i>	4n	<i>A. gueldenstaedtii</i>	4n	8	4n
5	<i>A. ruthenus</i>	2n	<i>Huso huso</i>	2n	14	2n
6	<i>A. stellatus</i>	2n	<i>A. ruthenus</i>	2n	14	2n
7	<i>A. stellatus</i>	2n	<i>A. stellatus</i>	2n	11	2n
8	<i>A. ruthenus</i>	2n	<i>H. huso</i>	2n	14	2n

В результате анализа имеющихся литературных данных можно сделать вывод о том, что вопрос о плоидности представителей семейства Acipenseridae остается открытым и широко обсуждаемым в научной литературе. Нами показано тетрасомное наследование для всех шести многохромосомных видов осетровых (русский, сибирский, персидский, калуга, амурский, сахалинский (*A. mikadoi*) осетры), обитающих в России на пяти микросателлитных локусах, а также для ряда локусов октаплоидное и тетраплоидное наследование для много- и малохромосомных видов соответственно.

Изучение характера наследования паралогичных копий в исследованных ядерных локусах, определение механизма дисомного, тетрасомного и октасомного наследования дуплицированных локусов

Для тестирования микросателлитных локусов и анализа механизмов наследования по каждому из них были сделаны экспериментальные скрещивания на различных видах осетровых видов рыб, обладающих разной плоидностью. Скрещивания проведены в осетровых хозяйствах ОРТ РТФ «Диана» (Вологодская обл.); ФГБНУ «Биос» (Астраханская обл.), ФГБНУ ВНИИПРХ (Конаково, Московская обл.). От производителей брали фрагмент спинного плавника, молодь фиксировали на день вылупления из яйца, чтобы избежать возможного смешивания подвижных личинок. Характеристика экспериментальных скрещиваний представлена в таблице 1.

Мы провели тестирование (тест на χ^2 -квадрат распределения гамет в потомстве) 16 ранее опу-

бликованных микросателлитных локусов на характер их наследования – дисомный, тетрасомный, диплоидизированный тетрасомный или октасомный (с разной степенью диплоидизации последнего) (табл. 2), а также на соответствие наследования аллелей в экспериментальных скрещиваниях распределению по Харди – Вайнбергу, отсутствию нуль-аллелей и степени полиморфизма у данного вида.

Также анализ распределения аллелей позволил выявить часто встречающиеся аномалии при гаметогенезе, а именно – нерасхождение при гаметогенезе самки части сестринских хроматид, в результате до 10% потомков образуют нехарактерные пента- и три-, а также додекаплоидные формы в зависимости от плоидности родителей, участвовавших в скрещивании.

В результате был составлен один мультиплекс, состоящий из пяти ми-

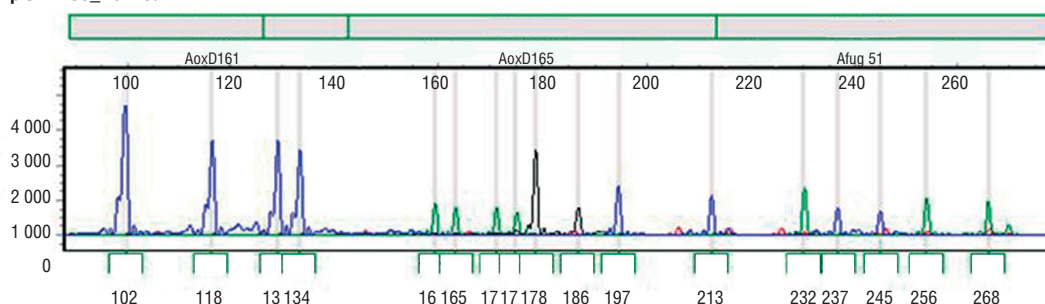
кросателлитных локусов: Afug41, Afug51, AoxD161, AoxD165, An20 (рис. 1), которые: имеют не более 4n генотипов для сибирского осетра; не имеют нуль-аллелей; имеют высокую воспроизводимость амплификации; соответствуют равновесию Харди – Вайнберга; имеют наибольший аллельный полиморфизм (высокая информативность локуса); амплифицируются в мультиплексной ПЦР; имеют тетра nukлеотидный повтор.

Данная панель микросателлитных локусов используется для генотипирования осетровых, в том числе с целью позитивной идентификации и осуществления прослеживаемости происхождения продукции в Науч-

Таблица 2. Характер наследования тестируемых локусов

Локусы	Нуль-аллель	Характер наследования локусов
AoxD161	–	тетрасомное диплоидизированное
Afug63	+	тетрасомное диплоидизированное
Afug41 An20 AoxD165 Afug51 AoxD234	–	тетрасомное независимое
Afug67	+	тетрасомное независимое
Afug65 Ape32	–	октасомное независимое
Afug113 An40	–	октасомное диплоидизированное
Afug112	+	диплоидное
Afug135	–	на разных стадиях у разных видов
Afug95 Afug174	–	неполиморфные локусы

Sample 1: 285_A04.fsa



Sample 1: 165_E04.fsa

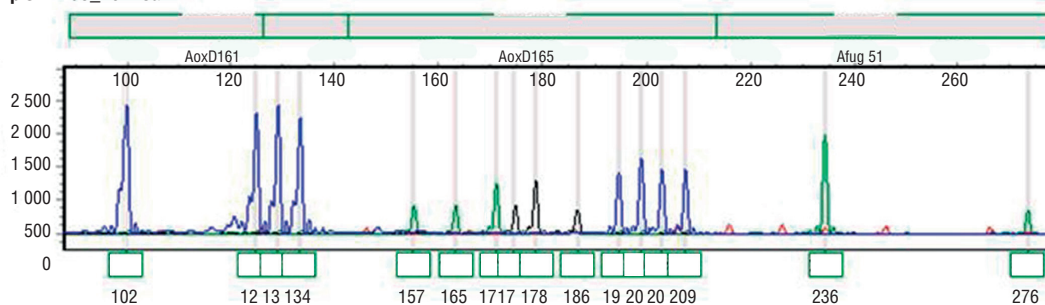


Рис. 1. Пример амплификации мультиплекса по пяти микросателлитным локусам у двух особей сибирского осетра на приборе капиллярного электрофореза ABI 3130.

ном органе СИТЕС в отношении осетровых видов рыб. Она является основным инструментом в определении чистых видов и гибридов осетровых, внедрена и активно используется в трех молекулярно-генетических лабораториях, занимающихся генетикой осетровых в России (в институтах ФГБНУ «АзНИИРх», ФГБНУ «КаспНИИРх», ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья»).

Исследования характера наследования и пloidности микросателлитных локусов легли в основу разработанной авторами программы ТРА v.2 (Tetraploid parentage analysis), которая позволяет произвести идентификацию молоди осетровых к конкретной паре ранее генотипированных производителей. Данный метод идентификации происхождения внедрен в программу генетического мониторинга искусственного воспроизводства осетровых Каспийского бассейна, осуществляемого совместно научными институтами Росрыболовства и осетровыми рыбозаводами (ОРЗ) ФГБУ «Главрыбвод» Астраханской области. В рамках данной программы ежегодно, в течение ряда последних лет, проводится генотипирование всех производителей русского осетра, участвующих в нерестовой кампании на всех шести ОРЗ Астраханской области. Одновременно в ходе весенней нерестовой кампании фиксируются схемы скрещиваний (сперма какого самца использовалась при оплодотворении каких самок).

Учетные траловые съемки молоди осетровых на нагульных кормовых мелководьях Каспийского моря, проводимые ежегодно в сентябре Каспийским филиалом ФГБНУ «ВНИРО», позволяющие с использованием микросателлитного генотипирования собранной в рейсе рыбы и идентификации родительской пары в программе ТРА провести количественную оценку скатившихся из Волги и перешедших на активное питание мальков, оценить темпы роста и смертности молоди осетровых в первые годы жизни. В ходе данных работ показана высокая доля молоди осетровых заводского происхождения (для русского осетра – до 78%), а также разработано научное обоснование для оптимизации искусственного воспроизводства путем выпуска укрупненной (более 6 г) в сравнении с выпускаемой сейчас стандартной (2–3 г) навеской. Данные рекомендации учтены в находящейся сейчас в процессе согласования новой редакции приказа Минсельхоза №25 от 30.01.2015 г., регламентирующей работу предприятий по искусственному воспроизводству водных биоресурсов, в том числе и осетровых рыбозаводных заводов. Результаты исследования характера наследования микросателлитных локусов, выполненные в рамках данного проекта, также вошли в диссертационную работу А.Е. Барминцевой [29].

Разработка тест-системы для идентификации осетровых гибридного происхождения

Видовая идентификация черной икры и другой продукции из осетровых имеет первостепенное значение в целях мониторинга торговли аквакультурной продукцией и борьбы с реализацией незаконно добытых (браконьерских) уловов. До настоящего времени существует система видовой идентификации продукции из осетровых, основанная на ПЦР с видоспецифичными праймерами на контрольный участок митохондриальной ДНК, принятая в нескольких ДНК-лабораториях при национальных научных органах СИТЕС [30]. Однако массовое развитие аквакультурного осетроводства привело к появлению значительной доли икры и осетрины гибридного происхождения, и тем самым идентификация продукции только по митохондриальным маркерам становится недостаточной и требуется разработка тест-систем, позволяющих идентифицировать как особей гибридного происхождения, так и продукцию от этих особей.

Разработка тест-системы для идентификации белуги и гибридов на основании ядерных маркеров

Высокая цена икры белуги, частое использование икры, полученной от гибридных форм и выдаваемой за наиболее дорогостоящую икру белуги, определяют необходимость разработки ядерных ДНК-маркеров на этот вид.

В ходе анализа транскриптома осетров и последующего секвенирования ядерных генов нами были получены последовательности интрона 166 рибосомального белка S6 (RPS6). В одном из паралогичных кластеров нами выявлен видоспецифичный однонуклеотидный полиморфизм (SNP), характерный только для белуги, что позволило разработать тест-систему, основанную на идентификации этого полиморфизма в тестируемой продукции.

Нами были разработаны праймеры INT166-F 5'-TTCATGGGGAAACCCCTGCTT3' и INT166-R 5'-ATCCTCTGGGTGAGGAGTG-3', базирующиеся на краях экзонов и амплифицирующие полную последовательность интрона.

Был разработан SNP-специфичный праймер INT166_huso-F 5'-CATAACATTGCACTGAATGTTATA-3', позволяющий (совместно с INT166_group A_R 5'-CTTTCGTTGATTTAGGAAATGGT3') получить продукт только при наличии в тестируемом образце ДНК белуги. Проведенная валидация тест-системы на 386 образцах осетровых, относящихся к 11 видам (все виды осетровых, использующиеся в настоящее время в аквакультуре) показала высокую видоспецифичность и достоверность разработанного метода; результаты опубликованы [31].

Разработка тест-системы идентификации калуги, амурского осетра и их гибридов с использованием SNP-маркеров

Истощение запасов осетровых Каспийского моря привело к тому, что браконьерский промысел переместился в бассейн реки Амур и икра амурского осетра и калуги стала поступать по тем же путям сбыта, ранее налаженным нелегальными торговцами для реализации браконьерской продукции из Каспия. Кроме того, бурное развитие аквакультуры осетровых в Китае привело к перепроизводству и попаданию больших партий дешевой китайской аквакультурной икры на российский рынок, часто перепакованной с указанием на российское аквакультурное происхождение. Одной из наиболее популярных форм осетровых является гибрид калуги и амурского осетра. Хотя определение чистых видов давно налажено с использованием митохондриальных маркеров, видовая идентификация гибридной продукции возможна только с использованием маркеров, локализованных в ядерной ДНК. Ранее нами был разработан метод идентификации гибридов по присутствию характерных аллелей в пане-

ли из шести тетраплоидных микросателлитных локусов, однако данная панель не во всех случаях позволяла идентифицировать гибриды между этими видами [32]. В связи с этим нами была предпринята попытка разработки тест-системы для идентификации амурского осетра, калуги и их гибрида с использованием SNP-маркеров.

Координаты интронных участков рибосомального гена L8 (ген RPL8) были выявлены путем сравнения последовательностей, полученных при анализе транскриптома осетра и интрон-экзонной структуры этого гена у костистых рыб – данио (*Danio rerio*) и фуку (*Takifugu rubripes*). Были составлены праймеры, фланкирующие интроны 4 и 5 RP4L8_F – RP4L8_R (GAAAGTAATCTCCTCTGCCAAC – AATACGACCACCACCAGCAA) и RP5L8_F RP5L8_R (GTCCGTGGTGTGGCTATGAA – AATGTGCTGATGGTTACCACC), получены последовательности интронов и проведен поиск диагностических однонуклеотидных полиморфизмов. На интроне 4 выявлен SNP, характерный только для калуги, и разработаны SNP-специфичные праймеры RP4L8_Hda u_F (CAAGTTCAGAACACAAACAAAGGA) и обратный праймер RP4L8_Hda u_R (TGGACTATTTTCTCAAGACAAATGC). В интроне 5 этого же гена был выявлен однонуклеотидный полиморфизм, характерный для амурского осетра, и были созданы праймеры, предположительно специфичные для этого вида: RP5L8_groupA_F (TCCGTGGTGTGGCTATGATT) и обратный RP5L8_Asch_R (AGTGCAATAAACTACTTCTGTG). Использование данных праймеров предполагает наличие ПЦР-продукта длиной 213 пар оснований (п. о.) для ДНК калуги и 146 п. о., если присутствует ДНК амурского осетра.

Для верификации тест-системы мы провели ПЦР-амплификацию с разработанными праймерами на 176 образцах калуги, 332 образцах амурского осетра и 31 образце икры гибрида этих двух видов. Кроме того, новая тест-система была апробирована на 317 особях, принадлежащих к 10 видам осетровых (65 *Huso huso*, 38 *Acipenser gueldenstaedtii*, 5 *A. persicus*, 52 *A. baerii*, 36 *A. naccarii*, 11 *A. transmontanus*, 40 *A. fulvescens*, 26 *A. stellatus*, 15 *A. sinensis* и 29 *A. ruthenus*). Одновременно была проведена диагностика этих же образцов с применением анализа полиморфизма микросателлитных локусов [32]. Результаты массового анализа показали высокую, хотя и не 100% достоверность определения видовой принадлежности. Также нами было показано, что ни по одному из маркеров на калугу и амурского осетра нет полной видоспецифичности и что каждый маркер, хоть и с низкой частотой, но встречается в другом виде. Учитывая, что, согласно реконструкции филогенетических отношений по митохондриальной ДНК, калуга и амурский осетр не являются сестринскими видами, присутствие маркеров другого вида говорит о посто-

янной природной гибридизации, происходившей в прошлом и, возможно, продолжающейся в настоящее время. Так как оба вида входят в программу искусственного воспроизводства и ежегодно на Анюйском и Владимирском осетровых рыбозаводах (ФГБНУ «Амуррыбвод») получают и выпускают в реку до 10 млн штук молоди, генетическая верификация производителей является особенно актуальной. Нами было проведено генотипирование всех производителей на этих двух заводах, использованных в получении потомства в 2015 и 2016 гг. (эти особи вошли в число выборок по тестированию тест-системы), и были составлены рекомендации по поддержанию видовой чистоты ремонтно-маточных стад калуги и амурского осетра; результаты разработки тест-системы опубликованы [33].

Разработка тест-системы идентификации сибирского и русского осетров и гибридов с использованием SNP-маркеров

В ходе проведенного в рамках другого проекта ddRAD секвенирования сибирского осетра, белуги и стерляди [34] был выявлен анонимный SNP-маркер, обнаруженный только у сибирского осетра, но имеющий альтернативный аллель у двух других видов. Нами были разработаны аллель-специфичные прай-

меры на данный SNP и проведена верификация с целью выявления видоспецифичности данного однонуклеотидного полиморфизма.

По результатам тестирования более 600 особей 12 видов (*Acipenser baerii*, *A. gueldenstaedtii*, *A. ruthenus*, *A. schrenckii*, *A. stellatus*, *A. transmontanus*, *A. persicus*, *Huso huso*, *H. dauricus*, *Acipenser naccarii*, *A. fulvescens* и *A. sinensis*) разработанные нами праймеры 395_ABCCACAAAACAACAAAACA-TATGGAG и 395_uni CCTTGGGCT-AGTCTTCATGCC давали видоспецифичный ПЦР-продукт только у сибирского и русского осетров, при этом амплификация у других видов не происходила. Эти данные позволяют расширить используемую панель диагностических локусов для идентификации межвидовых гибридов осетровых с целью контроля оборота черной икры на международном рынке и контроля соблюдения конвенции СИТЕС в отношении торговли продукцией из осетровых; результаты этой работы также опубликованы [35].

Литература

1. L. Grande, W.E. Bemis
J. Vertebr. Paleontol., 1991, 11, Suppl. 1, 1.
DOI: 10.1080/02724634.1991.10011424.
2. W.E. Bemis, E.K. Findeis, L. Grande
Env. Biol. Fish., 1997, 48, 25. DOI: 10.1023/A:1007370213924.
3. Р.П. Ходоревская, А.А. Романов
В Сб. Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: Материалы докл. IV Межд. научно-практической конференции (РФ, Астрахань, 13–15 марта 2006 г.), РФ, Москва, Изд-во ВНИРО, 2006, с. 12–15.
4. Г.М. Палатников, Р.Ю. Касимов
Осетровые – современные динозавры, Азерб. Респ., Баку, 2008, 70 с.
5. C. Raymakers
J. Appl. Ichthyol., 2006, 22(1), 53.
DOI: 10.1111/j.1439-0426.2007.00929.x.
6. C. Raymakers, C. Hoover
J. Appl. Ichthyol., 2002, 18(4–6), 629.
DOI: 10.1046/j.1439-0426.2002.00398.x.
7. R. DeSalle, G. Amato
Nature Rev. Genet., 2004, 5, 702. DOI: 10.1038/nrg1425.
8. M. Lanfredi, L. Congiu, M.A. Garrido-Ramos, R. de la Herran, M. Leis, M. Chicca, R. Rossi, J. Tagliavini, C. Ruiz Rejon, M. Ruiz Rejon, F. Fontana
Chromosome Res., 2001, 9(1), 47. DOI: 10.1023/a:1026739616749.
9. R. de la Herran, F. Fontana, M. Lanfredi, L. Congiu, M. Leis, R. Rossi, C. Ruiz Rejon, M. Ruiz Rejon, M.A. Garrido-Ramos
Mol. Biol. Evol., 2001, 18(3), 432.
DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a003820.
10. J. Krieger, P.A. Fuerst
Mol. Biol. Evol., 2002, 19(6), 891.
DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a004146.
11. V.J. Birstein, A.I. Poletaev, B.F. Goncharov
Cytometry, 1993, 14(4), 377. DOI: 10.1002/cyto.990140406.
12. A. Ludwig, N.M. Belfiore, C. Pitra, V. Svirsky, I. Jenneckens
Genetics, 2001, 158(3), 1203.
13. F. Fontana, L. Zane, A. Pepe, L. Congiu
B Fish Cytogenetics, Eds E. Pisano, C. Ozof-Costaz, F. Foresti, B.G. Kapoor, USA, NH, Enfield, Science Publishers Inc., 2007, p. 385.
14. V.P. Vasil'ev
B Biology. Conservation and Sustainable Development of Sturgeons. Fish & Fisheries Series, FRG, Dordrecht, Springer Publ., 2009, 29, 97. DOI: 10.1007/978-1-4020-8437-9_6.
15. S.R. Fain, D.J. Straughan, B.C. Hamlin, R.M. Hoesch, J.P. LeMay
Conserv. Genet., 2013, 14(4), 855. DOI: 10.1007/s10592-013-0481-z.
16. И. Сэффрон
Икра. Светлое прошлое и темное будущее великого деликатеса, РФ, Москва, Изд. «КоЛибри», 2006, 360 с.
17. B.K. Mable, M.A. Alexandrou, M.I. Taylor
J. Zool., 2011, 284(3), 151. DOI: 10.1111/j.1469-7998.2011.00829.x.
18. V.J. Birstein, R. Hanner, R. DeSalle
B Sturgeon Biodiversity and Conservation, FRG, Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1997, p. 127.
19. Н.И. Николокин
Отдаленная гибридизация осетровых и костистых рыб (теория и практика), СССР, Москва, Пищевая промышленность, 1972, 335 с.
20. V.P. Vasil'ev, E.D. Vasil'eva, S.V. Shedko, G.V. Novomodny
J. Ichthyol., 2010, 50(10), 950. DOI: 10.1134/S0032945210100048.
21. H. Ellegren
Nat. Rev. Genet., 2004, 5(6), 435. DOI: 10.1038/nrg1348.
22. J.M. Wright
B Molecular Biology Frontiers, Ser. Biochemistry and Molecular Biology of Fishes, Vol. 2, NL, Amsterdam, Elsevier Sci. Publ., 1993, p. 58.
23. Ю.П. Алтухов, Е.А. Салменкова
Генетика, 2002, 38(9), 1173.
24. B. May, C.C. Krueger, H.L. Kincaid
Can. J. Fish. Aquat. Sci., 1997, 54(7), 1542. DOI: 10.1139/cjfas-54-7-1542.

25. J. Rajkov, Z. Shao, P. Berrebi
J. Hered., 2014, **105**(4), 521. DOI: 10.1093/jhered/esu027.

26. J.D. Pyatskowitz, C.C. Krueger, H.L. Kincaid, B. May
Genome, 2001, **44**(2), 185. DOI: 10.1139/g00-118.

27. D. Fopp-Bayat
Aquacult. Res., 2008, **39**(16), 1787.
 DOI: 10.1111/j.1365-2109.2008.02059.x.

28. M. Havelka, M. Hulák, D.A. Bailie, P.A. Prodöhl, M. Flajšhans
J. Appl. Ichthyol., 2013, **29**(4), 704. DOI: 10.1111/jai.12224.

29. А.Е. Барминцева
 Автореф. дис. канд. биол. наук, ВНИРО, РФ, Москва, 2018, 26 с.
 (<http://idbras.ru/dis/16042018/avtoreferat.pdf>).

30. Н.С. Мюге, А.Е. Барминцева, С.М. Расторгуев, В.Н. Мюге, В.А. Барминцев
Генетика, 2008, **44**(7), 913.

31. E. Boscarì, N. Vitulo, A. Ludwig, C. Caruso, N.S. Mugue, R. Suciù, D.F. Onara, C. Papetti, I.A.M. Marino, L. Zane, L. Congiu
Food Control, 2017, **75**, 145.
 DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.11.039.

32. А.Е. Барминцева, Н.С. Мюге
Генетика, 2013, **49** (9), 1093.
 DOI: 10.7868/S0016675813090038.

33. E. Boscarì, A. Barmintseva, S. Zhang, H. Yue, C. Li, S.V. Shedko, D. Lieckfeldt, A. Ludwig, Q.W. Wei, N.S. Mugue, L. Congiu
Food Control, 2017, **82**, 243.
 DOI: 10.1016/j.foodcont.2017.07.001.

34. M. Havelka, T. Fujimoto, S. Hagihara, S. Adachi, K. Arai
Sci. Rep., 2017, **7**, 1694. DOI: 10.1038/s41598-017-01768-3.

35. M. Havelka, E. Boscarì, A. Sergeev, N. Mugue, L. Congiu, K. Arai
Anim. Genet., 2019, **50**, 115. DOI: 10.1111/age.12733.

English

Genomic Research for Sturgeon Conservation: Analysis of the Inheritance of Polyploid Loci and the Development of a Marker Panel to Identify Sturgeon Hybrids and Their Products*

Nikolai S. Mugue

Russian Federal Research Institute
 of Fisheries and Oceanography
 17 V. Krasnoselskaya Str., Moscow, 107140, Russia
 Koltzov Institute of Developmental Biology
 26 Vavilov Str., Moscow, 119034, Russia
 mugue@mail.ru

Anna E. Barmintseva

Russian Federal Research Institute
 of Fisheries and Oceanography
 17 V. Krasnoselskaya Str., Moscow, 107140, Russia
 Koltzov Institute of Developmental Biology
 26 Vavilov Str., Moscow, 119034, Russia
 bae69@mail.ru

Abstract

Analysis of allelic inheritance of polymorphic microsatellite loci was carried out in the study of experimental crosses to assess ploidy level and degree of diploidization of the genomes for high- and low-chromosome number sturgeon species. Species identification markers for Beluga (*Huso huso*) and its hybrids (the most commercially valuable sturgeon products), Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) and Kaluga (*Huso dauricus*) hybrid (nowadays the most popular hybrid, massively farmed in China and supplied to the Russian market) are presented, as well as a nuclear genetic marker for identification Russian (*Acipenser gueldenstaedtii*) and Siberian (*A. baerii*) sturgeons in its hybrids. Results of the presented research have been implemented in the Program for genetic monitoring of sturgeon restocking, conducted by Federal Fishery Agency, as well as in the practice of DNA-based species identification of caviar and other sturgeon products from both pure species and hybrids grown in sturgeon fish farms.

Keywords: sturgeons, polyploidy, DNA-identification.

*The work was financially supported by RFBR (project 15-29-02766).

Images & Tables

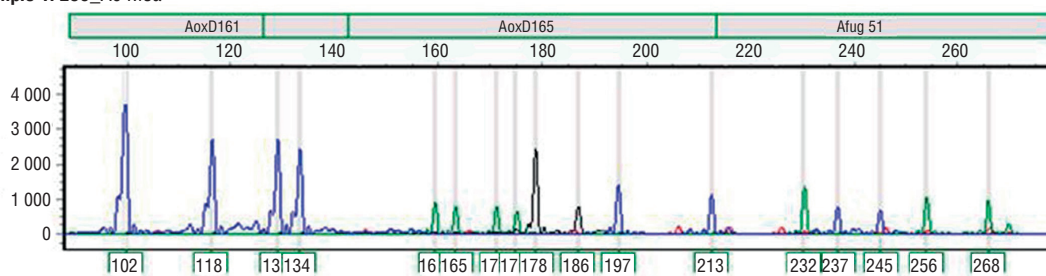
Table 1. Characterization of tested cross-breedings

N ₂	Female	Ploidy	Male	Ploidy	Number of larvae	Ploidy
1	<i>Acipenser baerii</i>	4n	<i>A. baerii</i> (облученный)	–	48	2n
2	<i>A. baerii</i>	4n	<i>A. baerii</i>	4n	48	4n
3	<i>A. baerii</i>	4n	<i>A. ruthenus</i>	2n	93	3n
4	<i>A. gueldenstaedtii</i>	4n	<i>A. gueldenstaedtii</i>	4n	8	4n
5	<i>A. ruthenus</i>	2n	<i>Huso huso</i>	2n	14	2n
6	<i>A. stellatus</i>	2n	<i>A. ruthenus</i>	2n	14	2n
7	<i>A. stellatus</i>	2n	<i>A. stellatus</i>	2n	11	2n
8	<i>A. ruthenus</i>	2n	<i>H. huso</i>	2n	14	2n

Table 2. The inheritance pattern of the tested loci

Loci	Null allele	Locus inheritance pattern
AoxD161	–	Tetrasomal diploidized
Afug63	+	Tetrasomal diploidized
Afug41 An20 AoxD165 Afug51 AoxD234	–	Tetrasomal independent
Afug67	+	Tetrasomal independent
Afug65 Ape32	–	Octasomal independent
Afug113 An40	+	Octasomal diploidized
Afug112	+	Diploid
Afug135	–	At different stages in different species
Afug95 Afug174	–	Non-polymorphic loci

Sample 1: 285_A04.fsa



Sample 1: 165_E04.fsa

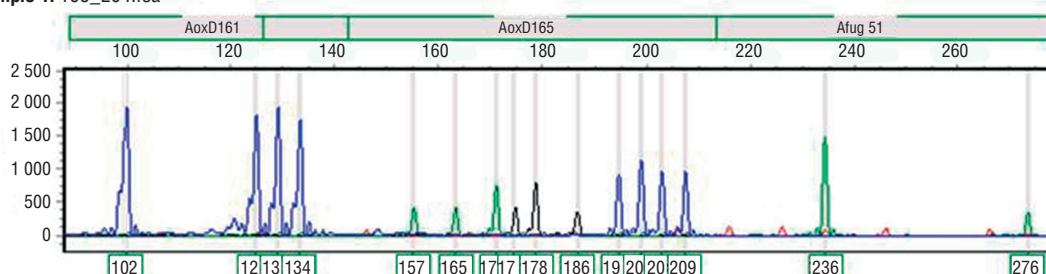


Fig. 1. Example of allele report for multiplex PCR with five microsatellite loci for two Siberian Sturgeon specimens (AB3130 sequencer).

References

1. L. Grande, W.E. Bemis
J. Vertebr. Paleontol., 1991, **11**, Suppl. 1, 1.
DOI: 10.1080/02724634.1991.10011424.
2. W.E. Bemis, E.K. Findeis, L. Grande
Env. Biol. Fish., 1997, **48**, 25. DOI: 10.1023/A:1007370213924.
3. R.P. Khodorevskaya, A.A. Romanov
In *Proc. IV Int. Conf. "Sturgeon aAquaculture: Achievements and Perspectives for Development"* (RF, Astrakhan, 13–15 March, 2006), RF, Moscow, VNIRO Publ., 2006, pp. 12–15 (in Russian).
4. G.M. Palatnikov, R.U. Kasimov
Osetrovyye – sovremenniki dinozavrov [Sturgeons – Contemporaries of Dinosaurs], Rep. Azerb., Baku, 2008, 70 p. (in Russian).
5. C. Raymakers
J. Appl. Ichthyol., 2006, **22**(1), 53.
DOI: 10.1111/j.1439-0426.2007.00929.x.
6. C. Raymakers, C. Hoover
J. Appl. Ichthyol., 2002, **18**(4–6), 629.
DOI: 10.1046/j.1439-0426.2002.00398.x.
7. R. DeSalle, G. Amato
Nature Rev. Genet., 2004, **5**, 702. DOI: 10.1038/nrg1425.
8. M. Lanfredi, L. Congiu, M.A. Garrido-Ramos, R. de la Herran, M. Leis, M. Chicca, R. Rossi, J. Tagliavini, C. Ruiz Rejon, M. Ruiz Rejon, F. Fontana
Chromosome Res., 2001, **9**(1), 47. DOI: 10.1023/a:1026739616749.

9. R. de la Herran, F. Fontana, M. Lanfredi, L. Congiu, M. Leis, R. Rossi, C. Ruiz Rejon, M. Ruiz Rejon, M.A. Garrido-Ramos *Mol. Biol. Evol.*, 2001, **18**(3), 432. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a003820.
10. J. Krieger, P.A. Fuerst *Mol. Biol. Evol.*, 2002, **19**(6), 891. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a004146.
11. V.J. Birstein, A.I. Poletaev, B.F. Goncharov *Cytometry*, 1993, **14**(4), 377. DOI: 10.1002/cyto.990140406.
12. A. Ludwig, N.M. Belfiore, C. Pitra, V. Svirsky, I. Jenneckens *Genetics*, 2001, **158**(3), 1203.
13. F. Fontana, L. Zane, A. Pepe, L. Congiu *In Fish Cytogenetics*, Eds E. Pisano, C. Ozof-Costaz, F. Foresti, B.G. Kapoor, USA, NH, Enfield, Science Publishers Inc., 2007, p. 385.
14. V.P. Vasil'ev *In Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons. Fish & Fisheries Series*, FRG, Dordrecht, Springer Publ., 2009, **29**, 97. DOI: 10.1007/978-1-4020-8437-9_6.
15. S.R. Fain, D.J. Straughan, B.C. Hamlin, R.M. Hoesch, J.P. LeMay *Conserv. Genet.*, 2013, **14**(4), 855. DOI: 10.1007/s10592-013-0481-z.
16. I. Saffron *Caviar: The Strange History and Uncertain Future of the World's Most Coveted Delicacy*, USA, Broadway, 2002, 288 pp.
17. B.K. Mable, M.A. Alexandrou, M.I. Taylor *J. Zool.*, 2011, **284**(3), 151. DOI: 10.1111/j.1469-7998.2011.00829.x.
18. V.J. Birstein, R. Hanner, R. DeSalle *In Sturgeon Biodiversity and Conservation*, FRG, Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1997, p. 127.
19. N.I. Nikoljukin *Otdalennaya gibrizatsia osetrovyykh i kostistykh ryb (teoria i praktika) [Distant Hybridization in Acipenseridae and Teleostei (Theory and Practice)]*, USSR, Moscow, 1972, 335 pp. (in Russian).
20. V.P. Vasil'ev, E.D. Vasil'eva, S.V. Shedko, G.V. Novomodny *J. Ichthyol.*, 2010, **50**(10), 950. DOI: 10.1134/S0032945210100048.
21. H. Ellegren *Nat. Rev. Genet.*, 2004, **5**(6), 435. DOI: 10.1038/nrg1348.
22. J.M. Wright *In Molecular Biology Frontiers, Ser. Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, Vol. 2, NL, Amsterdam, Elsevier Sci. Publ., 1993, p. 58.
23. Y.P. Altukhov, E.A. Salmenkova *Rus. J. Genet.*, 2002, **38**, 989. DOI: 10.1023/A:1020288812170.
24. B. May, C.C. Krueger, H.L. Kincaid *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1997, **54**(7), 1542. DOI: 10.1139/cjfas-54-7-1542.
25. J. Rajkov, Z. Shao, P. Berrebi *J. Hered.*, 2014, **105**(4), 521. DOI: 10.1093/jhered/esu027.
26. J.D. Pyatskowitz, C.C. Krueger, H.L. Kincaid, B. May *Genome*, 2001, **44**(2), 185. DOI: 10.1139/g00-118.
27. D. Fopp-Bayat *Aquacult. Res.*, 2008, **39**(16), 1787. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2008.02059.x.
28. M. Havelka, M. Hulák, D.A. Bailie, P.A. Prodöhl, M. Flajšhans *J. Appl. Ichthyol.*, 2013, **29**(4), 704. DOI: 10.1111/jai.12224.
29. A.E. Barmintseva *PhD Thes. (Biology) [Dissertation for the Degree of a Candidate of Biol. Sci.]*, VNIRCO, RF, Moscow, 2018, 26 p. (in Russian).
30. N.S. Mugue, A.E. Barmintseva, S.M. Rastorguev, V.N. Mugue, V.A. Barmintsev *Rus. J. Genet.*, 2008, **44**(7), 793. DOI: 10.1134/S1022795408070065.
31. E. Boscari, N. Vitulo, A. Ludwig, C. Caruso, N.S. Mugue, R. Suci, D.F. Onara, C. Papetti, I.A.M. Marino, L. Zane, L. Congiu *Food Control*, 2017, **75**, 145. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.11.039.
32. A.E. Barmintseva, N.S. Mugue *Rus. J. Genet.*, **49** (9), 950. DOI: 10.1134/S1022795413090032.
33. E. Boscari, A. Barmintseva, S. Zhang, H. Yue, C. Li, S.V. Shedko, D. Lieckfeldt, A. Ludwig, Q.W. Wei, N.S. Mugue, L. Congiu *Food Control*, 2017, **82**, 243. DOI: 10.1016/j.foodcont.2017.07.001.
34. M. Havelka, T. Fujimoto, S. Hagihara, S. Adachi, K. Arai *Sci. Rep.*, 2017, **7**, 1694. DOI: 10.1038/s41598-017-01768-3.
35. M. Havelka, E. Boscari, A. Sergeev, N. Mugue, L. Congiu, K. Arai *Anim. Genet.*, 2019, **50**, 115. DOI: 10.1111/age.12733.

Почва как природный банк микробного разнообразия: новые подходы и актуальные аспекты*

Н.А. Манучарова, В.С. Чепцов, А.А. Белов, Е.А. Воробьева, Г.М. Зенова, А.Л. Степанов

Разработаны методы выделения и хранения астробиологически значимых микроорганизмов, устойчивых к длительному воздействию стрессов в природных экосистемах и обитающих в экстремальных эконишах. Проведены модельные эксперименты, позволяющие выявлять разнообразные адаптационные возможности микроорганизмов за пределами планетного варьирования воздействующих физико-химических факторов в условиях, приближенных к конкретным целевым объектам астробиологии. В образцах многолетнемерзлых грунтов Антарктиды, находящихся в природных условиях, способствующих длительной (7.5 тыс. лет) «консервации» микробных сообществ, где без процедур реактивации не выявляются культивируемые формы, реактивировано прокариотное сообщество. В качестве доминантов в микробном комплексе выступают группы Proteobacteria, Actinobacteria и Firmicutes. Инициация реактивированного микробного комплекса путем внесения в образец субстрата приводит к возрастанию доли метаболически активной биомассы (до 50%), что определяется целевым ресурсом. Применение методики инициации реактивированного сообщества позволило выявить, что число функциональных генов, маркирующих процессы биodeградации ксенобиотиков, возрастает от современных почвенных местообитаний к погребенным. Наибольшее число функциональных генов, маркирующих процессы биodeградации, обнаружено в образцах многолетнемерзлых грунтов, что говорит о высоком скрытом биотехнологическом потенциале реликтовых микробных сообществ.

Ключевые слова: почва, почвенные микроорганизмы, нанобактерии, астробиология, экстремальные местообитания, функциональные гены-деструкторы.

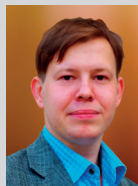
**Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №15-29-02499).*

Современная биотехнология рассматривает почву как главный природный банк при поиске культур микроорганизмов с любыми необходимыми свойствами. Выяснение свойств почв, способствующих формированию и сохранению биоразнообразия, выделение консорциумов микроорганизмов, обладающих биотехнологическим потенциалом (способность к азотфиксации, гидролизу природных полимеров и ксенобиотиков, синтезу вторичных метаболитов) – важнейшая научная проблема современной микробиологии. Для сохранения и развития биоразнообразия существенное значение имеет протекторная функция почвы как сложной гетерогенной и гетерофазной среды, обеспечивающей поддержание биохимических потоков, функциональную активность микроорганизмов и их консорциумов, физиологические переходы организмов

в различные формы покоя в зависимости от воздействующих физических и химических факторов. Взаимодействие микроорганизмов со средой ведет к формированию множества специфических зон обитания, в том числе так называемых экстремальных, где вследствие адаптивных процессов активизируются универсальные и вырабатываются уникальные специфические механизмы поддержания жизни. Систематическое изучение этого потенциала почвы началось лишь недавно, ознаменовалось серией открытий и привело к смене парадигмы и необходимости развития новых направлений



МАНУЧАРОВА
Наталья Александровна
профессор,
Московский государственный
университет
им. М.В. Ломоносова



ЧЕПЦОВ
Владимир Сергеевич
Московский государственный
университет
им. М.В. Ломоносова



БЕЛОВ
Андрей Антонович
Московский государственный
университет
им. М.В. Ломоносова



ВОРОБЬЕВА
Елена Алексеевна
Московский государственный
университет
им. М.В. Ломоносова



ЗЕНОВА
Галина Михайловна
профессор,
Московский государственный
университет
им. М.В. Ломоносова



СТЕПАНОВ
Алексей Львович
профессор,
Московский государственный
университет
им. М.В. Ломоносова

исследования возможностей жизни в ее естественной среде обитания. Одно из перспективных и многообещающих направлений – астробиология, имеющая целью изучение пределов существования земной формы жизни, возможности ее адаптации и распространения в космической и инопланетной среде, а также поиск альтернативных вариантов биологической жизни. Астробиологический аспект природных исследований несет в себе новые фундаментальные знания и огромный биотехнологический потенциал. Наш авторский коллектив много лет проводит именно такие исследования. Собрана уникальная информация по характеристике микроорганизмов и микробных сообществ, обитающих в широком интервале экологических условий суши. Большое внимание мы уделили изучению воздействия ионизирующих излучений (гамма-излучение, облучение высокоэнергичными электронами), ультрафиолетового излучения, температуры, низкого давления, солей и сильных окислителей как ключевых параметров земных экосистем на ранних стадиях эволюции, инопланетных грунтов и открытого космоса, на естественные микробные сообщества и чистые культуры микроорганизмов.

Целью данной работы была сравнительная функциональная характеристика и анализ потенциальной активности естественных прокариотных комплексов современных почв и реликтовых экотопов (погребенных палеопочв и многолетнемерзлых осадочных пород) при воздействии экологических и экстремальных физических и химических факторов.

Объекты и методы

В работе использованы образцы современных почв: каштановые, дерново-подзолистые аридного климата: серозем (пустыня Негев, Израиль) и горная серо-коричневая почва (по классификации WRB почва относится к типу Xerosols, горная пустыня у подножия горной системы Атлас, Марок-

ко); погребенных: подкурганые каштановые почвы и палеовулканические почвы центральной Камчатки, а также многолетнемерзлых осадочных пород Антарктиды (район Сухих Долин). Из списка объектов ясно, что многие образцы характеризуются экстремальными условиями для жизни населяющих организмов. Целевыми объектами исследования были микробные сообщества и микроорганизмы, населяющие исследованные экотопы.

При выполнении исследований применяли широкий набор микробиологических методов: классические методы посева на плотные среды с многочисленными авторскими модификациями; молекулярно-биологические методы идентификации как культивируемых чистых культур микроорганизмов, так и анализ тотальной микробной ДНК, выделенной из анализируемых образцов; метод флюоресцентной гибридизации клеток *in situ* (FISH), модифицированный авторами; метод газовой хроматографии. Используемый комплексный методологический подход позволяет получить наиболее полную характеристику микробного сообщества (включая некультивируемые формы) с точки зрения молекулярно-генетического анализа молекул (ДНК и РНК) и физиологического состояния представителей отдельных таксонов сообщества. Метод *in situ* гибридизации с рРНК-специфичными флуоресцентно-мечеными олигонуклеотидными зондами (FISH – fluorescent *in situ* hybridization) широко используется для изучения микробных сообществ в морских и пресноводных экосистемах, активированном иле и биореакторах, торфах и ризосфере растений, а также множестве других природных и антропогенных сред [1–3]. Преимущество этого метода состоит в том, что на основе идентификации микроорганизмов по последовательности нуклеотидов гена 16S рРНК удастся исследовать метаболически активное микробное разнообразие без культивирования на питательные среды.

Аmplификацию фрагментов гена 16S рРНК осуществляли с помощью вырожденных праймеров, комплиментарных последовательностям как бактерий, так и архей: PRK341F (CCTACGGGRBGCASCAG) и PRK806R (GGACTACYVGGGTATCTAAT). Полученные ПЦР-фрагменты очищали на колонках QIAquick (согласно протоколу производителя). Каждый ПЦР-фрагмент был растворен в 50 мкл ТАЕ-буфера; полученного материала было достаточно для дальнейшего анализа. Секвенирование полученных ампликонов проводили с использованием прибора GS FLX (Roche, Швейцария) по протоколу Titanium с использованием набора GS FLX Titanium Sequencing Kit XL+ и пикотитровальной пластины GS Titanium Pico Titer Plate Kit 70–75. Были получены ПЦР-фрагменты препаратов метагеномной ДНК с помощью вырожденных праймеров PRK341F и PRK806R, созданы библиотеки,

пригодные для секвенирования, и далее определены нуклеотидные последовательности переменных фрагментов генов 16S рРНК при помощи пиросеквенатора. Анализ полученных данных проводили при помощи Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME) [4]. При помощи инструментов программы осуществляли:

- 1) проверку качества секвенирования и создание библиотеки сиквенсов;
- 2) удаление синглтонов и последовательностей, относящихся к растительным хлоропластам;
- 3) определение филогенетического состава сообществ на разных таксономических уровнях при помощи базы данных разнообразия гена RDP 9 classifier [5] и построения филогенетического дерева при помощи алгоритма FastTree [6];
- 4) расчет показателей общего разнообразия прокариотных сообществ (альфа-разнообразия): видового богатства, индекса Шеннона, индекса Chao1, оценивающего предположительное реальное количество ОТЕ в сообществе, индекса филогенетического разнообразия (PD) [7]. При расчете индексов разнообразия прибегали к нормализации данных по образцу с минимальным числом полученных сиквенсов;
- 5) анализ сходства структуры бактериальных сообществ (бета-разнообразия) выполняли при помощи метрики Брея – Кертиса [8].

Визуализация результатов анализа бета-разнообразия получена при помощи построения двумерных диаграмм по методу главных компонент. Статистический анализ достоверности различий между группами проводили при помощи непараметрического метода permutational ANOVA/MANOVA (PERMANOVA) [9]. Функциональное разнообразие генов в микробных сообществах было предсказано при помощи программы PICRUSt [10]. На первом этапе выполнено предсказание встречаемости генов для каждого отдельно взятого организма согласно референсному филогенетическому древу Greengenes phylogenetic tree of 16S sequences [11]. Затем проводили сопоставление предсказанных генов для каждого таксона с относительной встречаемостью данного таксона в образце, оцененному по 16S рРНК. Таким путем осуществляли оценку встречаемости гена в образце. Для сопоставления 16S рРНК с уже секвенированными полными геномами была использована база бактериальных и архейных геномов IMG database [12]. Дальнейшая обработка результатов выполнена в программе QIIME [5]. При помощи инструментов программы осуществляли удаление синглтонов и нормализацию данных по образцу с наименьшим количеством определенных генов.

Структуру микробного комплекса в исследуемых образцах определяли методом микрокосмов с иницированием микробной сукцессии увлажнением и/или внесением питательного ресурса (хитина, пектина, крах-

мала, целлюлозы) [13]. Для образцов многолетнемерзлых осадочных пород грунтов дополнительно проводили комплекс процедур, направленных на регидратацию клеток и активацию клеточного метаболизма (добавкой метилрезорцина, дрожжевого автолизата), как описано ранее [14–15]. Если процедуры реактивации «законсервированных» микробных сообществ приводят к восстановлению их метаболической активности, то последующая инициация селективным субстратом прокариотных комплексов с определенной активностью обеспечивает функциональную нагрузку сообщества за счет введения в систему целевого ресурса. В зависимости от поставленных биотехнологических задач можно получать сообщества с различными функциональными направлениями и использовать их с целью выделения активных продуцентов и получения управляемых систем.

Штаммы хранили методом низкотемпературной инкубации (–86°C).

Облучение образцов проводили разными способами: на гамма-установках; облучение ускоренными электронами; УФ-излучением при низком давлении [16–17].

Результаты и обсуждение

Последовательное применение процедур реактивации клеток для покоящегося сообщества с последующей инициацией развития физиологической группы гидролитиков позволило обнаружить прокариотный комплекс, способный к реверсии метаболической деятельности. В образцах криосферы и погребенных палеопочв реактивировано прокариотное мезофильное органотрофное сообщество. С помощью молекулярно-биологического метода гибридизации клеток определена биомасса метаболически активных прокариот и ее доля от общей микробной биомассы. Биомасса активных форм микроорганизмов в современной почве значительно превышала биомассу в почвах, погребенных как в контрольных образцах, так и в образцах с субстра-

том. При оценке долевого распределения активной микробной биомассы было выявлено, что в неактивированных образцах она в целом уменьшалась по мере увеличения возраста и глубины залегания образца и составляла от 42% в современной почве до 10% в многолетнемерзлых грунтах.

При внесении субстрата во всех исследуемых образцах доля метаболически активных гидролитических организмов возрастала по сравнению с контролем. В образцах погребенных почв происходит наращивание доли активных прокариот до двух раз по сравнению с контрольными образцами. В образцах многолетнемерзлых грунтов при инициации микробного сообщества доля функциональных клеток возрастала наиболее интенсивно – от 10% в контроле до 50% в опытном варианте (рис. 1).

Таким образом, обнаружено, что потенциальная активность микробного гидролитического сообщества реликтовых почв выше по сравнению с современными каштановыми почвами. Впервые методом FISH установлено, что доля метаболически активных клеток прокариот при внесении полисахарида в погребенные почвы достигает 50% от всего выявляемого прокариотного сообщества и реагирует на внесение субстрата более интенсивно по сравнению с современными.

Методом высокопроизводительного секвенирования, после проверки его качества, формирования ОТЕ и удаления синглтонов, получены 53 794 сиквенса, которые использовались для дальнейшего анализа. Из них на каждый образец приходится от 1 884 до 11 626 сиквенсов, в среднем примерно 6 724 нуклеотидные последовательности на образец. Длина сиквенсов после обработки (удаления олигонуклеотидных идентификаторов и служебных последовательности) варьировала в примерных пределах от 400 до 932 нуклеотидных оснований, в среднем составляя около 461 нуклеотидного основания.

Метагеномный анализ показал, что прокариотное сообщество исследуе-

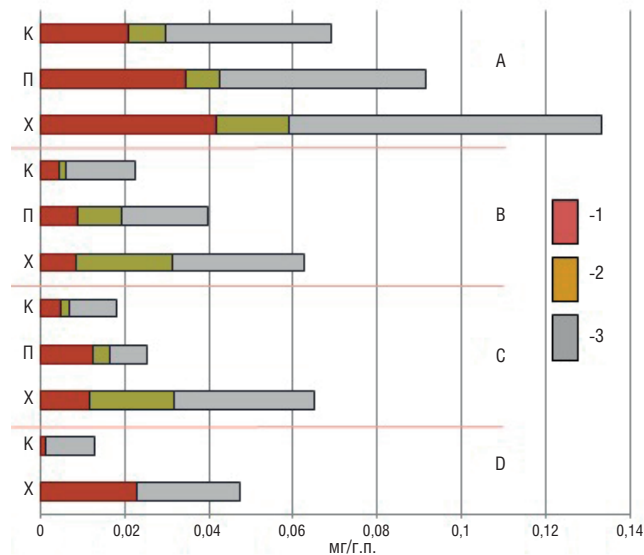


Рис. 1. Значения активной биомассы одноклеточных и мицелиальных прокариот при увлажнении и при внесении субстрата (на 10 суток эксперимента) в современной почве (A); почве, погребенной 3 500 лет назад (B); почве, погребенной 4 500 лет назад (C); многолетнемерзлом грунте (D).

K – контрольные образцы, П – образцы с пектином, X – образцы с хитином: в современной почве (A); почве, погребенной 3 500 лет назад (B); почве, погребенной 4 500 лет назад (C); многолетнемерзлом грунте (D). 1 – активные одноклеточные прокариоты, 2 – активные мицелиальные прокариоты, 3 – неактивные прокариоты.

мых образцов представлено преимущественно представителями домена Bacteria. Домен Archaea был минорным и составлял не более 2% от всех последовательностей. Во всех исследуемых образцах индекс отношения Archaea/Bacteria варьирует в пределах от 0 до 0.4. Предварительное исследование библиотеки клонов архей на основе амплификационной ДНК с помощью специфических праймеров на фрагмент v3-v5 бактериального

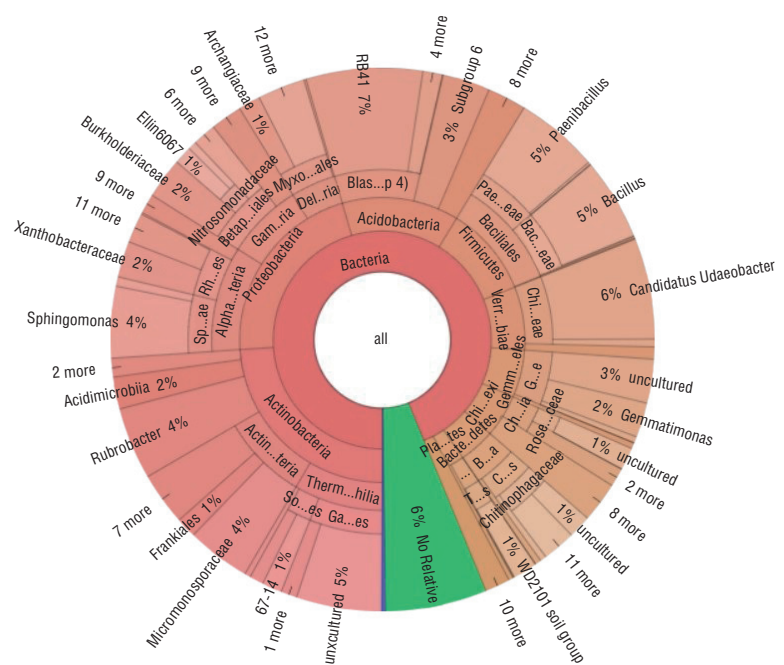


Рис. 2. Филогенетическая карта структуры прокариотной компоненты каштановой остаточно-солонцеватой почвы.

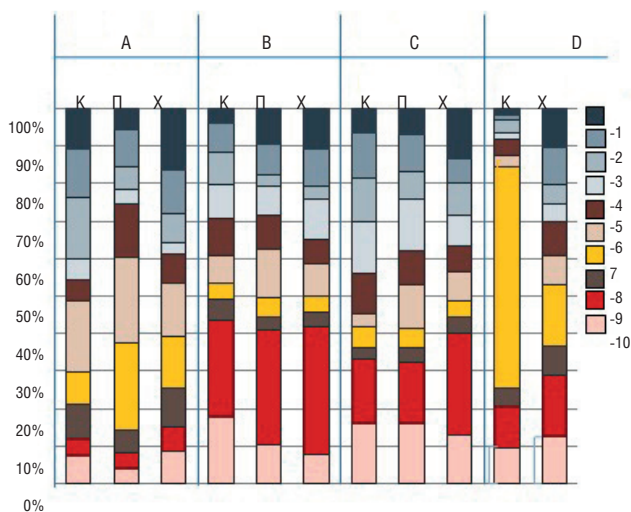


Рис. 3. Долевое распределение филюмов домена Bacteria (Метод FISH, физиологически активное сообщество) в современной почве (A); почве, погребенной 3 500 лет назад (B); почве, погребенной 4 500 лет назад (C); мерзлой осадочной породе (D): 1 – Alphaproteobacteria, 2 – Betaproteobacteria, 3 – Gammaproteobacteria, 4 – Deltaproteobacteria, 5 – Deltaproteobacteria, 6 – Bacteroidetes, 7 – Acidobacteria, 8 – Verucomicrobia, 9 – Actinobacteria, 10 – Firmicutes. К – контрольные образцы, П – образцы с пектином, Х – образцы с хитином.

гена 16S рРНК показало присутствие фрагментов, наиболее близких к представителям филюма Euryarchaeota, принадлежавшего семейству Halobacteriaceae.

Бактериальный комплекс современных почв достаточно разнообразен и характеризуется наличием всех рассматриваемых филюмов при доминировании метаболически активных представителей Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria (рис. 2).

Интересно отметить, что среди актинобактерий стрептомицеты не всегда оказывается доминирующей группой в контрольных образцах каштановых

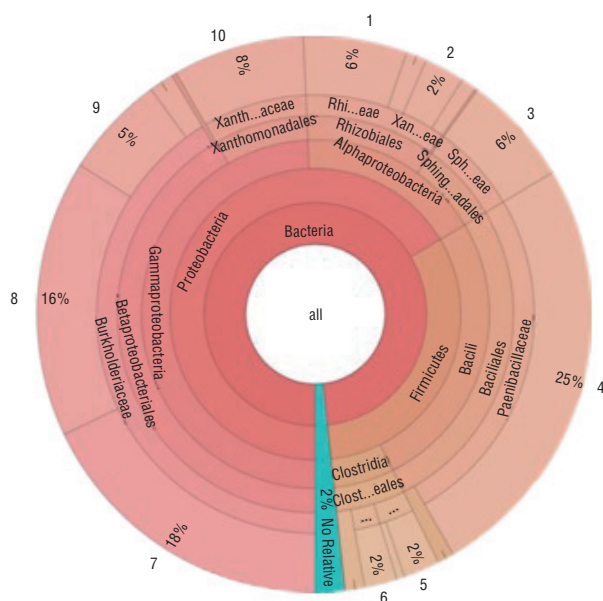


Рис. 4. Филогенетическая карта структуры прокариотной компоненты древней мерзлоты в варианте с хитином: 1 – Mesorhizobium, 2 – Bradyrhizobium, 3 – Sphingomonas, 4 – Brevibacillus, 5 – uncultured, 6 – Clostridium sensu stricto, 7 – Cupriavidus, 8 – Variovorax, 9 – Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia, 10 – Lysobacter.

почв. В современной почве доминирует подпорядок Micromonosporineae род Micromonospora. В классе Alphaproteobacteria доминирующими являются порядки Rhizobiales и Sphingomonadales. Видовое разнообразие закономерно уменьшалось по мере увеличения возраста погребения в ряду современная почва – почва, погребенная 3 500 лет назад, – почва, погребенная 4 500 лет назад, – мерзлая осадочная порода. При внесении субстрата альфа-разнообразие уменьшалось за счет выхода в доминанты определенных родов (видов). Для реликтовых почв при добавлении субстрата отмечается возрастание биомассы метаболически активных представителей группы Actinobacteria (рис. 3). Метагеномным анализом установлена смена доминантов на родовом уровне представителей внутри этого филюма при сравнении контрольных и опытных вариантов. Если в контрольной погребенной почве доминирует род Pseudonocardia, то при добавлении хитина на первый план выходят стрептомицеты. Представители филюма Bacteroidetes род Chitinophaga и Brevundimonas также реагируют на внесение полисахарида увеличением численности, этот эффект проявляется сильнее по мере перехода от современных к погребенным образцам. В почвах, погребенных 4 500 лет назад, род Chitinophaga составляет до 3.3% от всех определяемых последовательностей в образцах с внесением субстрата, а род Brevundimonas – до 2.8–3.9%.

При рассмотрении образцов древней мерзлоты также следует отметить сильную перестройку структуры комплекса: все филогенетические группы сообщества так или иначе реагируют на внесение субстрата. Полными доминантами в гидролитическом сообществе становятся представители Proteobacteria и Firmicutes (рис. 4).

Для подробного изучения доминирующих родов гидролитического сообщества был проведен анализ теплокарты, построенной на основании доли последовательностей, относящихся к роду, в зависимости от общего

количества последовательностей после выравнивания. Всего были выявлены 39 родов, доминировавших в разной степени в изучаемых образцах (рис. 5).

В образцах современных почв доминировали типичные роды почвенных бактерий – *Streptomyces*, *Rubrobacter*, *Chitinophaga*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Paenibacillus*, *Devosia*, *Rhodoplanes*, *Kaistobacter*, *Sphingomonas*, *Janthinobacterium*, *Steroidobacter*, *Lysobacter*, *Thermomonas*. При внесении субстрата в доминанты выходили роды *Agromyces*, *Bacillus*, *Solibacillus*, *Sphingobium*, *Variovorax*, *Acinetobacter*. Все роды являются убиквитарными, ни один род не может быть охарактеризован как облигатный гидролитик. Прокариотное сообщество погребенных почв характеризуется доминированием представителей филума Actinobacteria, которое становится более выраженным при внесении субстрата. Среди родов привлекают внимание род *Phenylobacterium* [18], эффективно разлагающий хлоридазон, антипирин и пирамидон, являющиеся активными, трудноразлагаемыми компонентами гербицидов, и род *Janthinobacterium*, известный своими бактерицидными, фунгицидными и вирусцидными свойствами благодаря

	A	B	C	D		A	B	C	D
Saccharothrix					Phenylobacterium				
Agromyces	■				Devosia				■
Streptomyces			■		Rhodoplanes				■
Rubrobacter			■		Sphingobium	■	■		
Chitinophaga			■		Sphingomonas				■
Bacillus	■				Achromobacter				■
Brevibacillus			■	■	Variovorax	■			■
Paenibacillus			■		Cupriavidus				■
Bacillus (rRNA g.2)	■				Janthinobacterium			■	
Paenisporosarcina			■		Acinetobacter	■			
Solibacillus	■				Steroidobacter				
Clostridium				■	Lysobacter			■	■
Sedimentibacter				■	Thermomonas				■
Mycoplana			■						

Рис. 5. Доминирующие роды прокариотного гидролитического сообщества в исследуемых образцах: современная почва (А); почва, погребенная 3 500 лет назад (В); почва, погребенная 4 500 лет назад (С); мерзлая осадочная порода (D).

высокому содержанию виолацеина в клетках [19]. Также стоит отметить доминирование рода *Chitinophaga*, являющегося продуцентом нового антибиотика фальцитидина, обладающего активностью в отношении малярии, в образцах с субстратом [20]. Мерзлая осадочная порода отличается по родовому составу от почв. Так, доминирующим родом в образцах грунтов становится *Sediminibacterium*, отсутствовавший в почвенных образцах. Гидролитической активностью обладали роды *Clostridium*, *Sedimentibacter*, *Rhodoplanes*, *Cupriavidus*.

В целом доминантные роды гидролитического сообщества различаются в современных почвах, погребенных почвах и многолетнемерзлых грунтах, хотя присутствуют и общие доминанты. При внесении субстрата в современных почвах в доминанты выходили роды *Agromyces*, *Bacillus*, *Solibacillus*, *Sphingobium*, *Variovorax*, *Acinetobacter*, в погребенных – *Streptomyces*, *Rubrobacter*, *Chitinophaga*, *Paenibacillus*, *Mycoplana*, *Janthinobacterium*, в мерзлой осадочной породе – *Clostridium*, *Sedimentibacter*, *Rhodoplanes* и *Cupriavidus*.

Анализ методом главных компонент с применением метрики Брея – Кертиса на уровне сходства 97% достоверно разделил исследуемые образцы на четыре кластера – современная почва (контрольные образцы и образцы с субстратом), погребенные почвы и многолетнемерзлые осадочные породы (рис. 6). Такое разделение указывало на то, что при внесении субстрата доминанты гидролитического сообщества различались в образцах разного возраста погребения.

При анализе функционального генетического разнообразия сообщества методом восстановления полного метагенома по данным высокопроизводительного секвенирования гена 16S рРНК было выявлено, что количество генов, маркирующих способность сообщества к биодеградации ксенобиотиков, выше в погребенных почвах и древней мерзлоте по сравнению с современными почвами (рис. 7). Внесение субстрата увеличивает долю генов, ответственных за деградацию

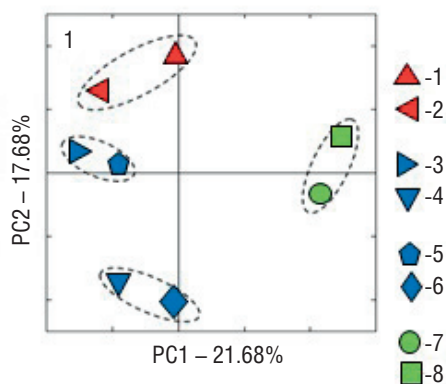


Рис. 6. Подобие структуры прокариотных сообществ (PC1, PC2) исследуемых образцов по методу Брея – Кертиса в виде двумерных диаграмм (метод главных компонент) при формировании ОТЕ на уровне сходства 97% (1) – современная каштановая почва; 2 – современная каштановая почва, инкубированная с хитином; 3 – почва, погребенная 3 500 лет назад; 4 – почва, погребенная 3 500 лет назад, инкубированная с хитином; 5 – почва, погребенная 4 500 лет назад; 6 – почва, погребенная 4 500 лет назад, инкубированная с хитином; 7 – древняя мерзлота; 8 – древняя мерзлота, инкубированная с хитином.

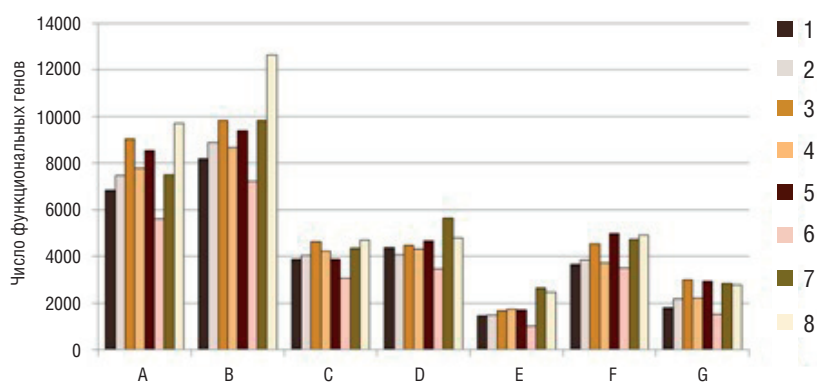


Рис. 7. Биодegradация ксенобиотиков: А – аминокислоты, В – бензоат, С – капролактамы, D – хлороалканы/хлороалкены, E – хлороциклогексан/хлоробензол, F – нафталин, G – ПАУ. Исследуемые образцы: 1 – современная каштановая почва; 2 – современная каштановая почва, инкубированная с хитином; 3 – почва, погребенная 3 500 лет назад; 4 – почва, погребенная 3 500 лет назад, инкубированная с хитином; 5 – почва, погребенная 4 500 лет назад; 6 – почва, погребенная 4 500 лет назад, инкубированная с хитином; 7 – древняя мерзлота; 8 – древняя мерзлота, инкубированная с хитином.

ксенобиотиков. Так, например, при внесении полисахарида повышается количество генов, ответственных за деградацию полициклических ароматических углеводов. Тем не менее стоит заметить, что присутствие функционального гена не обязательно означает его активность, однако позволяет говорить о потенциальной возможности к осуществлению процессов, кодируемых данными генами. Наибольшее число функциональных генов, маркирующих процессы биодegradации ксенобиотиков, обнаружено в образцах мерзлых осадочных пород, что говорит о высоком биотехнологическом потенциале реликтовых микробных сообществ.

Наибольшее число генов (>50%) во всех исследуемых образцах было определено как кодирующие белки различных метаболитных путей. Далее следуют гены, кодирующие процессинг генетической информации (15–18%) и взаимодействие сообщества с окружающей средой (13–17%). Наибольшее число функциональных генов метаболитических путей кодирует синтез аминокислот и энергетический метаболизм. Уровень процессинга генетической информации снижен в мерзлых осадочных породах по сравнению с погребенными и современными почвами, а уровень процессинга сигналов окружающей среды повышен. Поскольку оценка производилась после реактивации микробного сообщества, такое распределение функций косвенно подтверждает увеличение активности сообществ по мере увеличения глубины залегания и возраста образцов. Также в мерзлоте повышено содержание генов, кодирующих процессы клеточной смерти и клеточного роста по сравнению с погребенными и современными почвами. В целом практически все процессы в древней мерзлоте Антарктиды снижены по сравнению с почвами, однако, как отмечено выше, потенциальная

способность к биодegradации ксенобиотиков наибольшая в исследованном ряду образцов и возрастает от современных почв к древней мерзлоте, что говорит о высоком биотехнологическом потенциале погребенных местообитаний.

Использованные в работе методы реактивации покоящихся форм с последующей инициацией микробной сукцессии позволяют применить экологический подход к труднореактивируемым сообществам, исследовать развитие микробного комплекса в условиях сохранения его целостности. Примененный комплекс методов классической микробиологии и новых молекулярно-биологических методов позволяет наиболее полно охарактеризовать и сопоставить потенциальную метаболическую активность прокариотных сообществ современных почв и сообществ, длительно законсервированных в различных природных условиях.

Реликтовые почвы, по-видимому, впервые стали объектом изучения метагеномики. Анализ данных высокопроизводительного секвенирования гена 16S рРНК и последующее восстановление функционального генетического комплекса позволило выявить основных доминантов гидролитического сообщества древних почв и многолетнемерзлых осадочных пород. Предположительно, доминанты древних гидролитических сообществ могут обладать более высокой активностью по сравнению с их коллекционными аналогами. Из образцов погребенных почв выделены штаммы, которые обладают высокой гидролитической активностью и могут быть использованы в дальнейшем для биотехнологических целей (например, для создания биопрепаратов при борьбе с фитопатогенами).

Выявленное возрастание потенциальной активности сообществ по мере увеличения степени «законсервированности» сообществ открывает возможности для биотехнологического использования штаммов, выделенных

из погребенных и многолетнемерзлых местообитаний. С другой стороны, полученные данные интересны для астробиологического анализа последствий и закономерностей длительной консервации микробной жизни в природных, возможно, инопланетных условиях.

В последнее время проводятся модельные эксперименты, позволяющие выявлять разнообразные адаптационные возможности микроорганизмов за пределами планетного варьирования воздействующих физико-химических факторов, в условиях, приближенных к конкретным целевым объектам астробиологии. Например, гипотетический прогноз эволюции марсианской биосферы, потенциально возникшей на раннем этапе, необходимо подразумевает анализ воздействия ионизирующей космической радиации (в числе других важнейших факторов, лимитирующих проявление и поддержание жизни: доступность жидкой воды, градиент температуры, давления и т. д.). В подповерхностных слоях грунта, не доступных ультрафиолету, этот фактор приобретает основной лимитирующий статус. Длительное его воздействие приводит к гибели микроорганизмов вследствие накопления смертельной дозы или, напротив, к адаптивной эволюции при наличии репаративных возможностей в клетках.

Таким образом, для астробиологического прогноза возможности обнаружения биологической жизни в грунте Марса одним из ключевых является вопрос о предельных дозах ионизирующей радиации для микробных сообществ *in situ* в природных экотопах в первую очередь в местообитаниях с дефицитом доступной воды, а также в экосистемах, испытывающих периодическую или длительную консервацию. В связи с этим одним из направлений работы явилось изучение совместного воздействия гамма-ионизирующего излучения в дозе 100 кГр, низкой температуры (-50°C) и низкого давления (1 торр) как ключевых параметров марсианского грунта и открытого

космоса на естественное бактериальное сообщество серозема из пустыни Негев (Израиль). Принято считать, что микроорганизмы (за исключением некоторых резистентных видов) неустойчивы к воздействию ряда таких экстремальных факторов, как ионизирующее излучение, УФ-излучение, низкое давление. Однако исследования последних лет пополняют список устойчивых видов. При этом до сих пор остаются невыясненными пределы устойчивости естественных микробных сообществ, но становится очевидно, что природная среда обладает протекторными свойствами по отношению к населяющим ее микроорганизмам.

В ходе нашей работы было исследовано воздействие различных видов ионизирующей радиации, низких температур, низкого давления и ультрафиолетового излучения на естественные бактериальные сообщества, населяющие экстремальные, но различные по физико-химическим условиям местообитания. Установлено, что во всех исследованных экотопах реакция микробных сообществ на облучение ионизирующей радиацией сходна: часть популяций переходит в некультивируемое (возможно, покоящееся) состояние, другая часть, напротив, активизируется. Следствием этих процессов является перестройка таксономической структуры сообществ. При этом, как правило, происходит некоторое угнетение отдельных доминантных и субдоминантных популяций, что создает условия для роста минорных видов. Однако в целом структура сообществ и их биоразнообразие сохранялись. Наибольшую устойчивость и активность проявили бактерии родов *Deinococcus*, *Methylococcus*, *Clostridium* и *Arthrobacter*. В работе показано, что после воздействия экстремальных нагрузок микробные сообщества сохранили высокое функциональное разнообразие и метаболическую активность.

Воздействие ускоренных электронов имело больший ингибирующий эффект, чем облучение гамма-излучением в тех же дозах; это выражалось в резком угнетении потенциальной метаболической активности микробных сообществ и снижении численности прокариот *in situ*.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что радиорезистентность природных микробных сообществ существенно недооценена. Показано, что устойчивость микроорганизмов в естественной гетерогенной органоминеральной среде существенно превосходит устойчивость в чистой культуре, что может быть связано как с взаимодействием клетки с окружающей ее органоминеральной средой, так и с внутри- и межпопуляционными взаимодействиями.

В ходе исследования было показано, что природные микробные сообщества способны сохранять высокую численность живых клеток, потенциальную метаболическую активность и биоразнообразие при длительном

воздействию низких давлений, в том числе в сочетании с облучением ультрафиолетом. Предполагается возможность сохранения метаболической активности *in situ* некоторыми микробными популяциями при давлении 1.4 Па.

Расчет показал, что слоя реголита толщиной 1 мм достаточно для защиты гипотетических микробных сообществ от УФ-излучения на поверхности Марса. При транспорте микроорганизмов в открытом космосе в составе метеоритов (обломков пород) диаметром более 2 мм воздействие УФ-излучения не должно лимитировать длительность сохранения жизнеспособности микроорганизмами.

Экстраполяция доз ионизирующего излучения, примененных в эксперименте, на интенсивность излучения в поверхностном слое марсианского реголита и в открытом космосе позволяет предполагать возможность сохранения потенциальных внеземных микробных сообществ в анабиотическом состоянии в течение не менее 1.5 млн лет в поверхностном слое реголита Марса и в течение не менее 20 тыс. лет в космических условиях в составе метеоритов. Такой результат дает экспериментально подтвержденные основания для расширенного анализа гипотезы транспермии (длительное путешествие метеоритов, несущих жизнь, в пределах Солнечной системы), а также более оптимистичного анализа потенциального существования биосфер на целом ряде объектов Солнечной системы. Настоящее исследование в целом расширяет существующие представления о пределах устойчивости биосистем и подтверждает важность роли естественной среды для обеспечения выживания микроорганизмов при экстремальных нагрузках. Следует отметить, что большинство экстремальных воздействий, изученных в ходе исследования, не привели к стерилизации образцов, и выяснение пределов устойчивости микробных сообществ является следующим этапом работы.

Результаты исследования могут быть применены при планировании астробиологических миссий (выбор мест высадки посадочных модулей), при разработке приборов для автоматических космических аппаратов и для развития карантинных мер в планетных исследо-

ваниях с учетом диапазона устойчивости микробных сообществ земного типа к экстремальным воздействиям. Выделенные штаммы устойчивых бактерий перспективны для биотехнологических исследований.

В нашей работе была впервые всесторонне исследована устойчивость микробных сообществ *in situ* при воздействии совокупности наиболее существенных космических факторов. Исследование позволяет прогнозировать возможность формирования инопланетных биосфер земного типа и потенциальную продолжительность сохранения жизнеспособности микроорганизмов в инопланетных условиях и в открытом космосе, что вносит вклад в фундаментальные научные представления о возможностях появления жизни на планетах и ее распространении в космосе.

Одним из важных результатов исследования микробных сообществ экстремальных местообитаний является создание коллекции микроорганизмов, обладающих высокой устойчивостью, в том числе к совокупному воздействию космических факторов. Созданная уникальная коллекция ценных культур почвенных микроорганизмов широко используется для проведения самых разнообразных работ по экологии, физиологии, биохимии и генетике микроорганизмов, а также для целей биотехнологии. Разработаны методы выделения и хранения астробиологически значимых микроорганизмов, устойчивых к длительному воздействию стрессов в природных экосистемах.

Литература

1. W. Manz, R. Amann, W. Ludwig, M. Vancanneyt, K.H. Schleifer
Microbiology, 1996, **142**, 1097.
2. A. Neef, R. Amann, H. Schlesner, K.H. Schleifer
Microbiology, 1998, **144**, 3257.
3. R. Rabus, H. Wilkes, A. Schramm, G. Harms, A. Behrends, R. Amann, F. Widdel
Environ. Microbiol., 1999, **1**(2), 145.
DOI: 10.1046/j.1462-2920.1999.00014.x.
4. J.G. Caporaso, J. Kuczynski, J. Stombaugh, K. Bittinger, F.D. Bushman, E.K. Costello, N. Fierer, A.G. Peña, J.K. Goodrich, J.I. Gordon, G.A. Huttley, S.T. Kelley, D. Knights, J.E. Koenig, R.E. Ley, C.A. Lozupone, D. McDonald, B.D. Muegge, M. Pirrung, J. Reeder, J.R. Sevinsky, P.J. Turnbaugh, W.A. Walters, J. Widmann, T. Yatsunenko, J. Zaneveld, R. Knight
Nat. Methods, 2010, **7**(5), 335. DOI: 10.1038/nmeth.f.303.
5. Q. Wang, G.M. Garrity, J.M. Tiedje, J.R. Cole
Appl. Environ. Microbiol., 2007, **73**(16), 5261.
DOI: 10.1128/AEM.00062-07.
6. M.N. Price, P.S. Dehal, A.P. Arkin
PLoS One, 2010, **5**(3), 9490.
DOI: 10.1371/journal.pone.0009490.
7. D.P. Faith, A.M. Baker
Evol. Bioinform. Online, 2006, **2**, 121.
8. J.R. Bray, J.T. Curtis
Ecol. Monogr., 1957, **27**(4), 325. DOI: 10.2307/1942268.
9. M.J. Anderson
Austral. Ecol., 2001, **26**(1), 32.
DOI: 10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x.
10. M. Langille, J. Zaneveld, J.G. Caporaso, D. McDonald, D. Knights, J. Reyes, J. Clemente, D. Burkepille, T.R. Vega, R. Knight, R. Beiko, C. Huttenhower
Nat. Biotechnol., 2013, **31**(9), 814. DOI: 10.1038/nbt.2676.
11. T.Z. DeSantis, P. Hugenholtz, N. Larsen, M. Rojas, E.L. Brodie, K. Keller, T. Huber, D. Dalevi, P. Hu, G.L. Andersen
Appl. Environ. Microbiol., 2006, **72**(7), 5069.
DOI: 10.1128/AEM.03006-05.
12. V.M. Markowitz, I.-M.A. Chen, K. Palaniappan, K. Chu, E. Szeto, Y. Grechkin, A. Ratner, B. Jacob, J. Huang, P. Williams, M. Huntemann, I. Anderson, K. Mavromatis, N.N. Ivanova, N.C. Kyrpides
Nucleic Acids Res., 2012, **40**, D115. DOI: 10.1093/nar/gkr1044.
13. N.A. Manucharova, E.M. Kol'tsova, A.L. Stepanov, E.V. Demkina, V.A. Demkin, G.I. El'Registan
Microbiology, 2014, **83**(5), 674.
DOI: 10.1134/S002626171405018X.
14. A.L. Mulyukin, A.N. Kozlova, V.V. Sorokin, N.E. Suzina, T.A. Cherdyntseva, I.B. Kotova, A.M. Gaponov, A.V. Tutel'yan, G.I. El'-Registan
Microbiology, 2015, **84**(6), 751.
DOI: 10.1134/S0026261715060077.
15. N.A. Kryazhevskikh, E.V. Demkina, N.A. Manucharova, V.S. Soina, V.F. Gal'chenko, G.I. El'Registan
Microbiology, 2012, **81**(4), 435. DOI: 10.1134/S0026261712040108.
16. V.S. Cheptsov, E.A. Vorobyova, N.A. Manucharova, M.V. Gorlenko, A.K. Pavlov, M.A. Vdovina, V.N. Lomasov, S.A. Bulat
Extremophiles, 2017, **21**(6), 1057. DOI: 10.1007/s00792-017-0966-7.
17. V.S. Cheptsov, E.A. Vorobyova, G.A. Osipov, N.A. Manucharova, L.M. Polyanskaya, M.V. Gorlenko, A.K. Pavlov, M.S. Rosanova, V.N. Lomasov
Aims Microbiology, 2018, **4**(3), 541.
DOI: 10.3934/microbiol.2018.3.541.
18. S.J. McIlroy, P.H. Nielsen
B *The Prokaryotes*, Eds E. Rosenberg, E.F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, F. Thompson, FRG, Berlin Heidelberg, Springer Verlag, 2014, pp. 863–890.
19. F. Pantanella, F. Berlutti, C. Passariello, S. Sarli, C. Morea, S. Schippa
J. Appl. Microbiol., 2007, **102**(4), 992.
DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.03155.x.
20. B. Somanadhan, S.R. Kotturi, C. Yan Leong, R.P. Glover, Y. Huang, H. Flotow, A.D. Buss, M.J. Lear, M.S. Butler
J. Antibiot., 2013, **66**(5), 259.
DOI: 10.1038/ja.2012.123.

English

Soil as Natural Bank of Microbial Diversity: New Approaches and Actual Aspects*

Nataliya A. Manucharova

Professor,
Lomonosov Moscow State University
1–12 Leninskie Gory, Moscow, GSP-1,
119991, Russia
manucharova@mail.ru

Vladimir S. Cheptsov

Lomonosov Moscow State University
1–12 Leninskie Gory, Moscow, GSP-1,
119991, Russia
cheptcov.vladimir@gmail.com

Andrey A. Belov

Lomonosov Moscow State University
1–12 Leninskie Gory, Moscow, GSP-1,
119991, Russia
and.ant.be@gmail.com

Elena A. Vorobyova

Lomonosov Moscow State University
1–12 Leninskie Gory, Moscow, GSP-1,
119991, Russia
el.vb0247@gmail.com

Galina M. Zenova

Professor,
Lomonosov Moscow State University
1–12 Leninskie Gory, Moscow, GSP-1,
119991, Russia
zenova38@mail.ru

Aleksey L. Stepanov

Professor,
Lomonosov Moscow State University
1–12 Leninskie Gory, Moscow, GSP-1,
119991, Russia
stepanov_aleksey@mail.ru

Abstract

Methods have been developed for isolating and storing astrobiologically significant microorganisms that are resistant to long-term stress in natural ecosystems that live in extreme eco-systems. Model experiments have been carried out that make it possible to identify various adaptive capabilities of microorganisms beyond the planetary variation of the acting physicochemical factors under conditions close to specific target objects of astrobiology. In the samples of permafrost soils of Antarctica, where natural conditions contribute to the long-term (7.5 thousand years) "conservation" of microbial communities, and the cultivated forms are not identified without reactivation procedures, the prokaryotic community was reactivated. Proteobacteria, Actinobacteria and Firmicutes groups are dominant in the microbial prokaryotic complex. Initiation of a reactivated microbial complex by adding chitin to the sample leads to an increase in the proportion of metabolically active biomass (up to 50%), which is determined by the target resource. It was revealed that the number of functional genes marking biodegradation processes of xenobiotics increases from modern soils to buried ones. The greatest number of functional genes marking biodegradation processes of xenobiotics was found in samples of permafrost soils, which indicates a high biotechnological potential of relic microbial communities.

Keywords: soil, soil microorganisms, nanobacteria, astrobiology, extreme habitats, functional genes-destroyers.

*The work was financially supported by RFBR (project 15-29-02499).

Images & Tables

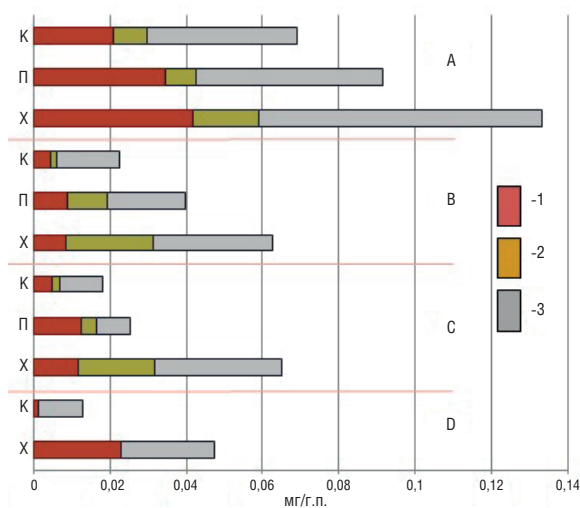


Fig. 1. Values of active biomass of single-celled and mycelial prokaryotes under wetting and substrate application (for 10 days of the experiment) in modern soil (A); soil buried 3,500 years ago (B); soil buried 4,500 years ago (C); permafrost soil (D). K – control samples, P – samples with pectin, X – samples with chitin in: modern soil (A), soil buried 3,500 years ago (B), soil buried 4,500 years ago (C), permafrost soil (D). 1 – Active unicellular prokaryotes, 2 – active mycelial prokaryotes, 3 – inactive prokaryotes.

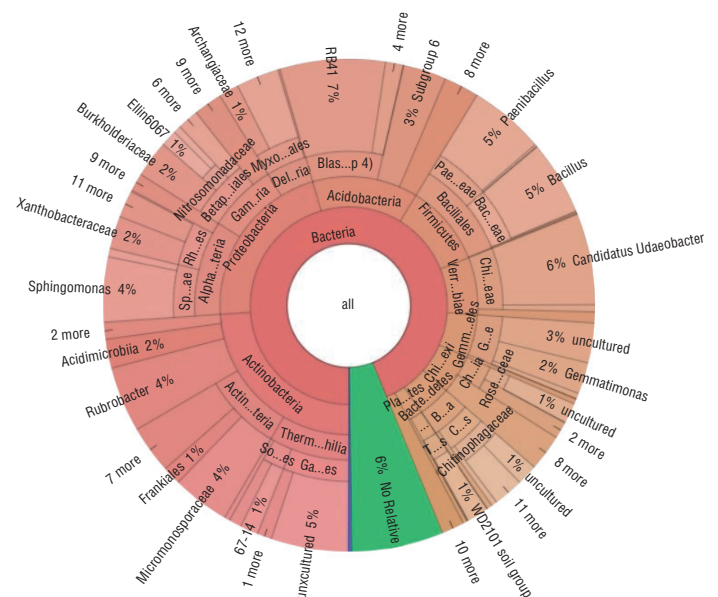


Fig. 2. Phylogenetic map of the structure of the prokaryotic component of kastanozem alkaline soil.

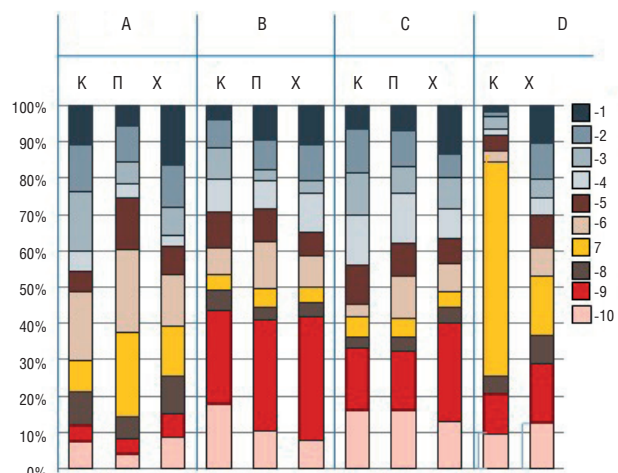


Fig. 3. Percentage of phylum of the bacteria domain (FISH Method, physiologically active community) in modern soil (A); soil buried 3,500 years ago (B); soil buried 4,500 years ago (C); permafrost soil (D): 1 – Alphaproteobacteria, 2 – Betaproteobacteria, 3 – Gammaproteobacteria, 4 – Deltaproteobacteria, 5 – Deltaproteobacteria, 6 – Bacteroidetes, 7 – Acidobacteria, 8 – Verrucomicrobia, 9 – Actinobacteria, 10 – Firmicutes. K – control samples, P – samples with pectin, X – samples with chitin.

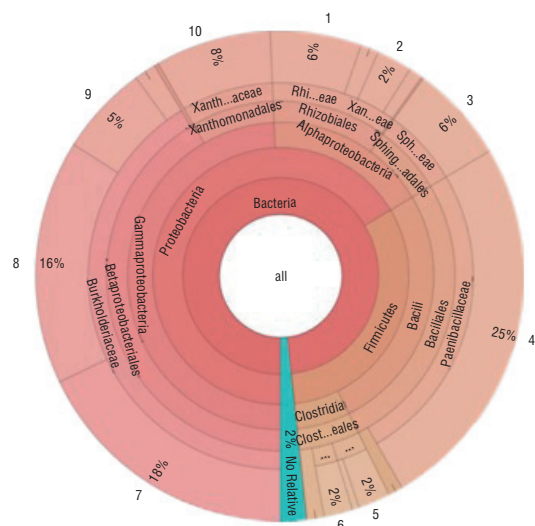


Fig. 4. Phylogenetic map of the structure of the prokaryotic component of permafrost (with chitin): 1 – Mesorhizobium, 2 – Bradyrhizobium, 3 – Sphingomonas, 4 – Brevibacillus, 5 – uncultured, 6 – Clostridium sensu stricto, 7 – Cupriavidus, 8 – Variovorax, 9 – Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia, 10 – Lysobacter.

	A	B	C	D		A	B	C	D
Saccharothrix					Phenylobacterium				
Agromyces					Devosia				
Streptomyces					Rhodoplanes				
Rubrobacter					Sphingobium				
Chitinophaga					Sphingomonas				
Bacillus					Achromobacter				
Brevibacillus					Variovorax				
Paenibacillus					Cupriavidus				
Bacillus (rRNA g.2)					Janthinobacterium				
Paenisporosarcina					Acinetobacter				
Solibacillus					Steroidobacter				
Clostridium					Lysobacter				
Sedimentibacter					Thermomonas				
Mycoplana									

Fig. 5. Dominant genera of the prokaryotic hydrolytic community in the studied samples: modern soil (A), soil buried 3,500 years ago (B), soil buried 4,500 years ago (C), permafrost soil (D).

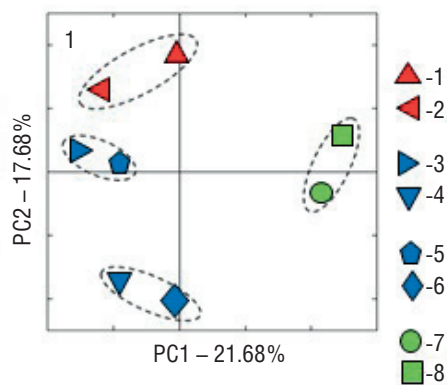


Fig. 6. Similarity of the structure of prokaryotic communities of the studied samples by the Bray – Curtis method: 1 – modern kastanozem soil; 2 – modern kastanozem soil incubated with chitin; 3 – soil buried 3,500 years ago; 4 – soil buried 3,500 years ago, incubated with chitin; 5 – soil buried 4,500 years ago; 6 – soil buried 4,500 years ago, incubated with chitin; 7 – permafrost soil; 8 – permafrost soil incubated with chitin.

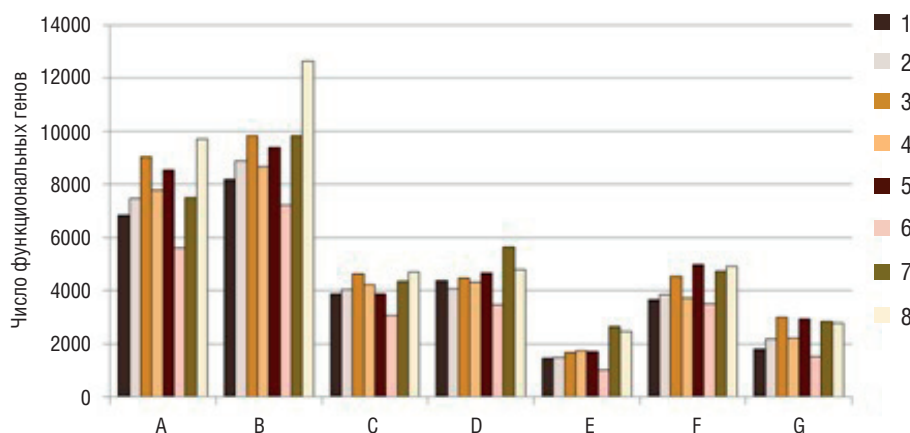


Fig. 7. Biodegradation of xenobiotics: A – aminobenzoate, B – benzoate, C – caprolactams, D – chloroalkanes/chloroalkenes, E – chlorocyclohexane/chlorobenzene, F – naphthalene, G – PAHs. Samples studied: 1 – modern kastanozem soil; 2 – modern kastanozem soil incubated with chitin; 3 – soil buried 3,500 years ago; 4 – soil buried 3,500 years ago, incubated with chitin; 5 – soil buried 4,500 years ago; 6 – soil buried 4,500 years ago, incubated with chitin; 7 – permafrost soil; 8 – permafrost soil incubated with chitin.

References

1. W. Manz, R. Amann, W. Ludwig, M. Vancanneyt, K.H. Schleifer *Microbiology*, 1996, 142, 1097.
2. A. Neef, R. Amann, H. Schlesner, K.H. Schleifer *Microbiology*, 1998, 144, 3257.
3. R. Rabus, H. Wilkes, A. Schramm, G. Harms, A. Behrends, R. Amann, F. Widdel *Environ. Microbiol.*, 1999, 1(2), 145. DOI: 10.1046/j.1462-2920.1999.00014.x.
4. J.G. Caporaso, J. Kuczynski, J. Stombaugh, K. Bittinger, F.D. Bushman, E.K. Costello, N. Fierer, A.G. Peña, J.K. Goodrich, J.I. Gordon, G.A. Huttley, S.T. Kelley, D. Knights, J.E. Koenig, R.E. Ley, C.A. Lozupone, D. McDonald, B.D. Muegge, M. Pirrung, J. Reeder, J.R. Sevinsky, P.J. Turnbaugh, W.A. Walters, J. Widmann, T. Yatsunenko, J. Zaneveld, R. Knight *Nat. Methods*, 2010, 7(5), 335. DOI: 10.1038/nmeth.f.303.
5. Q. Wang, G.M. Garrity, J.M. Tiedje, J.R. Cole *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007, 73(16), 5261. DOI: 10.1128/AEM.00062-07.
6. M.N. Price, P.S. Dehal, A.P. Arkin *PLoS One*, 2010, 5(3), 9490. DOI: 10.1371/journal.pone.0009490.
7. D.P. Faith, A.M. Baker *Evol. Bioinform. Online*, 2006, 2, 121.
8. J.R. Bray, J.T. Curtis *Ecol. Monogr.*, 1957, 27(4), 325. DOI: 10.2307/1942268.
9. M.J. Anderson *Austral. Ecol.*, 2001, 26(1), 32. DOI: 10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x.
10. M. Langille, J. Zaneveld, J.G. Caporaso, D. McDonald, D. Knights, J. Reyes, J. Clemente, D. Burkepile, T.R. Vega, R. Knight, R. Beiko, C. Huttenhower *Nat. Biotechnol.*, 2013, 31(9), 814. DOI: 10.1038/nbt.2676.
11. T.Z. DeSantis, P. Hugenholtz, N. Larsen, M. Rojas, E.L. Brodie, K. Keller, T. Huber, D. Dalevi, P. Hu, G.L. Andersen *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, 72(7), 5069. DOI: 10.1128/AEM.03006-05.
12. V.M. Markowitz, I.-M.A. Chen, K. Palaniappan, K. Chu, Szeto E., Y. Grechkin, A. Ratner, B. Jacob, J. Huang, P. Williams, M. Huntemann, I. Anderson, K. Mavromatis, N.N. Ivanova, N.C. Kyrpides *Nucleic Acids Res.*, 2012, 40, D115. DOI: 10.1093/nar/gkr1044.
13. N.A. Manucharova, E.M. Kol'tsova, A.L. Stepanov, E.V. Demkina, V.A. Demkin, G.I. El'Registan *Microbiology*, 2014, 83(5), 674. DOI: 10.1134/S002626171405018X.
14. A.L. Mulyukin, A.N. Kozlova, V.V. Sorokin, N.E. Suzina, T.A. Cherdyntseva, I.B. Kotova, A.M. Gaponov, A.V. Tutel'yan, G.I. El'-Registan *Microbiology*, 2015, 84(6), 751. DOI: 10.1134/S0026261715060077.
15. N.A. Kryazhevskikh, E.V. Demkina, N.A. Manucharova, V.S. Soina, V.F. Gal'chenko, G.I. El'Registan *Microbiology*, 2012, 81(4), 435. DOI: 10.1134/S0026261712040108.
16. V.S. Cheptsov, E.A. Vorobyova, N.A. Manucharova, M.V. Gorlenko, A.K. Pavlov, M.A. Vdovina, V.N. Lomasov, S.A. Bulat *Extremophiles*, 2017, 21(6), 1057. DOI: 10.1007/s00792-017-0966-7.
17. V.S. Cheptsov, E.A. Vorobyova, G.A. Osipov, N.A. Manucharova, L.M. Polyanskaya, M.V. Gorlenko, A.K. Pavlov, M.S. Rosanova, V.N. Lomasov *Aims Microbiology*, 2018, 4(3), 541. DOI: 10.3934/microbiol.2018.3.541.
18. S.J. McIlroy, P.H. Nielsen *In The Prokaryotes*, Eds E. Rosenberg, E.F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, F. Thompson, FRG, Berlin Heidelberg, Springer Verlag, 2014, pp. 863–890.
19. F. Pantanella, F. Berlutti, C. Passariello, S. Sarli, C. Morea, S. Schippa *J. Appl. Microbiol.*, 2007, 102(4), 992. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.03155.x.
20. B. Somanadhan, S.R. Kotturi, C. Yan Leong, R.P. Glover, Y. Huang, H. Flotow, A.D. Buss, M.J. Lear, M.S. Butler *J. Antibiot.*, 2013, 66(5), 259. DOI: 10.1038/ja.2012.123.

Актуальные направления в изучении грибов северных торфяных болот в связи с изменением климата и таянием многолетней и вечной мерзлоты*

О.А. Грум-Гржимайло, Е.Н. Биланенко, Е.Н. Бубнова, М.Л. Георгиева

Торфообразование без участия грибов невозможно, поскольку они разлагают растительный материал, состоящий из сложных фенольных соединений, до более простых веществ, доступных бактериям. Изучая грибы верховых торфяников России, расположенных в средних и северных широтах, мы фокусируемся на исследовании биоразнообразия культивируемых грибов, сравнении сообществ и особенностей функционирования микобиоты в торфяниках разных климатических зон и в заболачивающихся водоемах, образовавшихся в результате отделения от Белого моря по причине послеледникового поднятия суши и постепенно трансформирующихся из соленых озер в олиготрофные пресные болота. Создана, поддерживается и расширяется рабочая коллекция грибов, с которыми проводятся эксперименты по изучению их физиологических особенностей, участия в торфообразовании, а также описания новых видов. В последнее время мы расширили географию исследований до зоны вечной мерзлоты, из-за оттаивания которой увеличивается площадь торфяников и, как следствие, усиливается выброс парниковых газов. В данном сообщении мы приводим результаты наших исследований и формулируем задачи по изучению биоразнообразия и функционирования грибов в многолетне- и вечномерзлотных торфяниках.

Ключевые слова: грибы верховых болот, торфообразование, психрофилы и психротолеранты, изменение климата, грибы в вечной мерзлоте.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты №№15-29-02553, 13-04-10068 и 11-04-01576).

Введение

Болота – одни из важнейших экосистем в мире, поскольку они влияют на гидрологический режим, регулируя поверхностный и подземный стоки, и помогают стабилизировать климатические условия и поддерживать биоразнообразие [1]. Примерно 50% всех болот – торфяные. Они аккумулируют углерод и азот и генерируют парниковые газы (CH_4 и NO_2) и, следовательно, стимулируют глобальное потепление [2–3]. Торфяники

занимают около 3–4% поверхности суши Земли и при этом содержат до одной трети всего органического углерода почвы, из которого на долю северных торфяников приходится 20–30%, что составляет $455 \cdot 10^{15}$ г [3–4]. Углерод накапливается в торфе по причине низкой первичной продуктивности и, одновременно, медленного разложения растительного материала из-за недостатка кислорода, высокой влажности, низких значений *pH* и температуры, наличия ингибирующих сложных фенольных соединений из тканей растительности болот [4]. Такие экстремальные условия ограничивают функционирование и видовое разнообразие сообществ



ГРУМ-ГРЖИМАЙЛО
Ольга Алексеевна

Беломорская биологическая станция им. Н.А. Перцова
Биологического факультета
МГУ им. М.В. Ломоносова



БИЛАНЕНКО
Елена Николаевна

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова



БУБНОВА
Екатерина Николаевна

Беломорская биологическая станция им. Н.А. Перцова
Биологического факультета
МГУ им. М.В. Ломоносова



ГЕОРГИЕВА
Марина Леонидовна

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова,
НИИ по изысканию новых
антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе

торфообразователей (бактерий и грибов), разлагающих органические вещества, и приводят к их захоронению с растительными тканями – торфообразованию [5–7].

Происхождение северных торфяников напрямую связано с поднятием поверхности Земли в результате послеледникового движения земной коры. В таких местах торфяники образуются из солоноватых морских прибрежных озер и постепенно трансформируются в олиготрофные болота, расширяя их общую площадь [8]. Поскольку значительная часть северных торфяников расположена в зоне вечной мерзлоты, то из-за ее оттаивания заболоченная площадь также увеличивается. Расширение пространства торфяников и потепление ускоряют выброс парниковых газов [9–11].

В северных широтах преобладают олиготрофные верховые болота, доминирующими растениями которых являются сфагновые мхи, известные как трудно разлагаемый материал и как ингибиторы роста микроорганизмов из-за своего химического состава [5]. Согласно экспериментальным данным, в процессе торфообразования грибы активны в основном на начальной стадии деградации растительных тканей из-за их мощного ферментативного аппарата, способного разрушать сложные фенольные вещества, а бактерии подключаются к процессу разложения на стадии более простых веществ. Выявлено, что грибы активнее функционируют в поверхностных аэробных слоях торфяников, тогда как роль бактерий возрастает в более глубоких слоях с анаэробными условиями [4].

Торфяники высоких широт являются чрезвычайно сложной средой для жизнедеятельности микроорганизмов [11]. Несмотря на то что грибы выполняют роль инициаторов формирования торфа, данных о биоразнообразии грибов и способности их к функционированию в северных торфяниках, особенно в зонах многолетней и вечной мерзлоты, крайне мало [4, 11–15]. Однако известно, что существуют психрофильные и психротолерантные виды грибов, способные к жизнедеятельности даже при отрицательных температурах [11]. Кроме того, в регионах вечной мерзлоты во время короткого лета обычно активизируется оттаивающий верхний слой торфяников. То есть в данных экотопах можно ожидать две функциональные группы микроорганизмов: медленно растущие и постоянно активные при температуре ниже нуля и бурно развивающиеся в оттаивающих слоях торфа в течение короткого летнего периода [11].

Актуальная в наше время проблема изменения климата напрямую связана с торфяниками, поскольку за счет активности микробных сообществ из торфа выделяются парниковые газы [2]. Потепление влияет на структуру и функционирование микробных и растительных сообществ торфяников, а изменение взаимодействия между ними дестабилизирует функциониро-

вание данных экосистем. Получается замкнутый круг: из-за увеличения площади торфяников усиливается выделение парниковых газов, ускоряется потепление и изменяется состав сообществ торфяников и их структура, и скорость выделения парниковых газов постоянно растет [7].

В последнее время в мировой науке резко возрос интерес к изучению причин таяния почв многолетней и вечной мерзлоты и функционирования в них микробных сообществ [8, 15, 16]. Несмотря на то, что участие микроорганизмов в процессах, сопровождающих трансформацию почв, является очевидным, крайне мало данных о грибах, обитающих в зонах многолетней и вечной мерзлоты и зонах их оттаивания.

По упомянутым причинам мы расширили научные интересы от изучения грибов торфяников умеренной и северной широт до крайнего севера, и следующим шагом в развитии этого научного направления мы видим изучение грибов болот, расположенных в зонах многолетней и вечной мерзлоты.

В представляемой статье мы приводим:

- основные результаты исследования микобиоты торфяников, расположенных в средней полосе и северных широтах;

- сравнительный анализ сообществ культивируемых грибов заболочивающихся прибалтийских водоемов, находящихся на разных стадиях отделения от моря и трансформации в олиготрофные болота;

- филогенетический анализ и физиологические особенности некоторых групп грибов;

- имеющийся задел и план дальнейшего исследования грибов торфяников, расположенных в зонах многолетней и вечной мерзлоты.

Материалы и методы

Объекты исследования

Пять водоемов разной степени заболоченности, расположенных на побережье Кандакшского залива Белого моря в

окрестностях Беломорской биологической станции (ББС) имени Н.А. Перцова МГУ имени М.В. Ломоносова – озера Верхнее, Круглое, Ершовское Верхнее, Ершовское Нижнее и Кисло-Сладкое. Данные водоемы в разное время отделились от Белого моря, располагаются на различной высоте относительно уровня моря и находятся на разных стадиях трансформации от полупресных озер до олиготрофных верховых болот. Подробное местоположение и описание прибаломорских объектов приведено в более ранних публикациях [4–5, 8, 13].

Были изучены торфяники трех верховых болот, расположенных в средней полосе России в национальном парке (НП) «Смоленское Поозерье». Подробное описание данных объектов приведено в предыдущих публикациях [17–18].

Проведен анализ микобиоты торфяника, расположенного в зоне спорадической многолетней мерзлоты на территории Кольского полуострова. Это ерниково-морозково-голубиковое болото на западном побережье озера Умбозера, в дельте реки Майвальтайок, с обширными мочажинными комплексами, заполненными водой ($pH = 5.2$, $Sal = 19$ мг/л).

Отбор, хранение и посев образцов

Торф стерильно отбирали с помощью торфяного бура с глубины от 4 до 0.5 м каждые 0.5 м (одна колонка с одного болота). В деятельном слое (до 0.5 м) ножом отбирали образцы торфа через каждые 0.1 м, очеса, живой части сфагнома.

Образцы придонного глубинного и поверхностного ила прибаломорских болот отбирали с разной глубины каждые 0.5 м стерильно методом дайвинга и фридайвинга, с поверхности дна и с глубины ~0.3 м в каждой точке отбора.

На торфянике в зоне спорадической многолетней мерзлоты было выполнено четыре почвенных разреза глубиной 0.5–1 м, в двух из них – до слоя вечной мерзлоты.

В зависимости от удаленности места отбора образцы для хранения либо замораживали (торф из НП «Смоленское Поозерье» и мерзлотного болота), либо хранили в холодильнике при температуре +4°C в течение 1–2 суток (прибаломорские болота).

Образцы сеяли методом разведения на стандартные и селективные агаризованные среды, учитывая свойства конкретных образцов (pH , соленость, олиготрофность) [4–5, 8, 13, 17, 19–20].

Учет, изоляция, идентификация грибов

Учет выросших колоний, изоляцию на пробирки с питательной средой и посев на диагностические среды проводили поэтапно в течение 1–2 недель инкубации посевов при температуре 21–23°C.

Микроскопировали и фотографировали при помощи световых микроскопов марок Микмед-2, Leica DM 2500, Carl Zeiss Axioskop 40 FL.

Идентификацию грибов по морфолого-культуральным признакам проводили с использованием отечественных и зарубежных определителей. Для молекулярной идентификации анализировали нуклеотидные последовательности регионов ITS1-5.8S-ITS2, 28S и 18S рДНК. Более подробно использованные для молекулярной идентификации методы описаны ранее [4–5, 8].

Названия таксонов и их положение в системе приводятся в соответствии с новейшим изданием Словаря грибов Эйнсворта и Бисби [21].

Изучение физиологических особенностей грибов

Подробное описание экспериментов дано в предыдущей работе [5], здесь приводим основные моменты.

Для исследования сфагновых мхов разной степени деструкции с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) веточки мха фиксировали в 2.5% растворе глутаральдегида в фосфатном буфере, обезвоживали в серии растворов этанола (30%→50%→70%→96%) и в ацетоне, с последующим высушиванием в критической точке и напылением слоев углерода и металла. Исследовали образцы с помощью СЭМ марки Jeol (JSM-6380, Япония).

Для изучения способности роста микромицетов в условиях гипоксии на агаризованную глюкозо-пептонную среду сеяли 51 вид грибов в двух повторностях. Одну из них помещали в специальные герметично закрывающиеся пластиковые боксы («BioMerieux Co», Франция), где анаэробноз создавали с помощью генераторов анаэробной атмосферы – пакетов-газогенераторов «GENbox anaer» («BioMerieux Co», Франция), а другую оставляли на воздухе (контроль). Анаэробноз контролировали индикаторами на основе резазурина («Oxoid Limited», Англия). Инкубирование проводили в термостате при температуре 25°C в течение месяца.

Для анализа линейной скорости роста грибов при разных значениях pH использовали стеклянные трубки со средой сусло – агар (СА) на основе цитратного, карбонатного и фосфатного буферов со значениями pH от 3 до 10. Сеяли 36 изолятов наиболее распространенных в прибалтийских болотах микромицетов в двух повторностях, инкубировали в течение месяца на свету при температуре 23 °С, регулярно отмечали край растущих колоний и анализировали полученные результаты с помощью графиков скорости роста (мм/сутки), построенных в программе Excel.

Исследование особенностей роста на разных источниках углерода проводили путем посева 36 изолятов часто встречающихся в прибалтийских болотах грибов на агаризованные среды с фосфатными буферами (pH 6, pH 8) в двух повторностях. Использовались следующие углеводы и полифенолы, соответствующие химическому составу сфагновых мхов: глюкоза, арабиноза, ксилоза, галактоза, фруктоза, манноза, целлобиоза, сахароза, галактуроновая кислота, ксилан березовый, пектин яблочный, гуаран, целлюлоза, хитин, лигнин и таниновая кислота. Контролем служили среды без сахаров. Инкубирование и анализ результатов проводили как в предыдущем эксперименте.

Обработка результатов

Методы и программы, примененные для статистической обработки (расчет частоты встречаемости вида, удельного обилия рода, индексы альфа- и бета-разнообразия), молекулярного и филогенетического анализа подробно описаны в предыдущих работах [4–5, 8, 20].

Результаты и обсуждение

Результаты по изучению биоразнообразия культивируемых грибов исследованных торфяников подробно описаны в предыдущих публикациях [4–5, 8, 17–20, 22], поэтому в данной работе мы сфокусируемся на основных аспектах, неопубликованных данных и дискуссионных вопросах.

Сравнительный анализ микобиоты прибалтийских болот

Нами было показано, что специфика видового состава грибов разных компонентов исследованных водоемов обусловлена, прежде всего, их происхождением [4, 8, 20]. Все болота полуострова Киндо имеют морское происхождение [23]. Отшнуровывающиеся от моря озера глубиной 5–6 м становятся меромиктическими, менее глубокие (1–5 м) могут превратиться в пресные озера, а самые мелкие (до 1 м) – выродиться в марши [23]. Максимальная глубина исследованных нами озер, которые давно отделились от моря (Верхнее, Круглое и Ершовское Верхнее), составляет 2.0–2.5 м. Можно

предположить, что процесс их образования был одинаковым и шел по пути отделения от моря, заболачивания и постепенного опреснения. Озера Кисло-Сладкое и Ершовское Нижнее пока имеют связь с морем, их глубина менее 5 м, есть пресный сток, и можно предположить, что развиваться они будут также: от эвтрофных болот к олиготрофным через мезотрофную и верхнюю аапа-типа стадии [24]. Следовательно, смена растительных сообществ, органического состава отложений и физико-химических свойств (солености, температуры, прозрачности, турбулентности, кислотности, концентрации газов и гуминовых соединений) в таких водоемах протекает сходным образом и влияет на видовой состав живых организмов, в том числе грибов.

Анализ данных методом соответствий выделенных из торфа и ила прибалтийских водоемов грибов показал, что микобиота озера Кисло-Сладкое существенно отличается по видовому составу от остальных (рис. 1). Это можно объяснить особыми физико-химическими и гидрологическими условиями, характерными для данного озера, имеющего непосредственную связь с морем и, как следствие, отличные от континентальных водоемов прибрежную растительность, альгофлору, сообщества микроорганизмов и животных, что служит источником органики для грибов. Подробное описание видового состава грибов разных компонентов исследованных водоемов опубликовано ранее [4–5, 8, 20]. По результатам анализа данных методом соответствий видно, что состав грибов в торфе озер Верхнее, Круглое и Ершовское во многом сходен, несмотря на разный возраст торфяников и их положение относительно уровня моря (рис. 2). Такая стабильность сообщества микромицетов, по-видимому, обусловлена главным образом общностью специфического субстрата – сфагнума. Сфагновые мхи – трудно разлагаемый растительный материал, что связано с прочностью структурных компонентов

клеточной стенки, наличием ингибирующих фенольных соединений, а также с недостатком кислорода в толще торфяной залежи [5]. Торф озера Кисло-Сладкое представляет собой маломощную молодую залежь, органический состав и другие свойства которой сильно отличаются от остальных исследованных торфяников.

Ил – более динамичная система. Интересно, что микобиота ила озера Кисло-Сладкое ближе всего к илу озера Верхнее. Такой результат предположительно можно объяснить наличием в иле давно отделившегося от моря озера обычных для морских местообитаний грибов из родов *Acremonium*, *Sarocladium*, *Tolyprocladium*, *Cladosporium*. Известно, что виды данных родов широко распространены во многих местообитаниях, и их нельзя считать индикаторами морских условий, однако из ила исследованных болот они изолированы в большем количестве, чем из торфа, что может косвенно указывать на сохранение определенного сходства условий в придонном иле рассмотренных озер. Наиболее уникальная микобиота ила в озере Ершовское Верхнее, предположительно, из-за сильного отличия подводной картины от других озер – здесь обильно произрастают водные растения, корнями которых густо пронизан ил, и на дне обитает много крупных бокоплавов и пиявок. По данным диатомового анализа илы заторфованного перешейка полуострова Киндо, на котором расположены озера Ершовские, тоже отличаются от остальных болот, так как содержат очень богатые таксономически диатомовые ассоциации, состоящие преимущественно из солоноватоводно-морских видов диатомей [25].

Значения коэффициентов сходства видового разнообразия Сьёренсена (от 0.21 до 0.42 для торфа и от 0.02 до 0.15 для ила) и Жаккара (от 0.12 до 0.26 для торфа и 0.01 до 0.08 для ила) подтверждают высокую степень сходства состава видов грибов в торфе, как более стабильной системе, чем ил [5]. Мы предполагаем, что в органическом со-

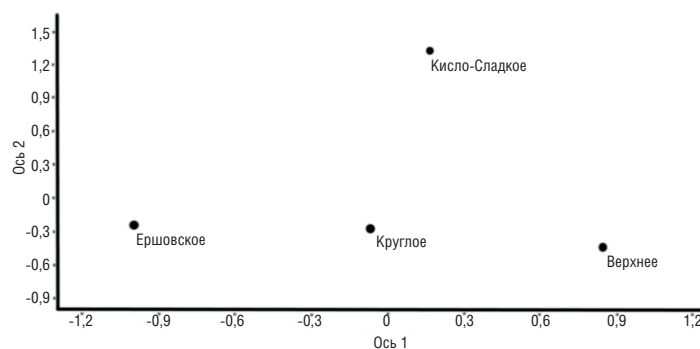


Рис. 1. Ординация заболачивающихся водоемов полуострова Киндо по видовой структуре микромицетов в сфагновом торфе и иле методом соответствий (Correspondence Analysis) по пространственной частоте 107 видов микромицетов.

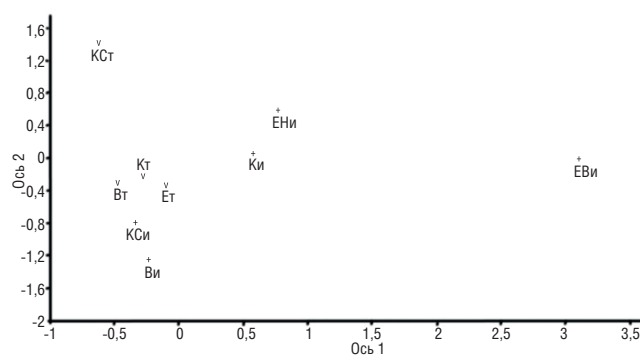


Рис. 2. Ординация заболачивающихся водоемов полуострова Киндо по видовой структуре микромицетов в сфагновом торфе и иле методом соответствий (Correspondence Analysis); Вт, Кт, Ет, КСт – торф болот Верхнее, Круглое, Ершовское, Кисло-Сладкое соответственно; Ви, Ки, ЕНи, ЕВи, КСи – ил озера Верхнее, Круглое, Ершовское Нижнее, Ершовское Верхнее, Кисло-Сладкое соответственно.

ставе сфагнового торфа исследованных болот создаются селективные условия для роста и функционирования ограниченной группы грибов. Придонный ил более изменчив из-за различий в поступлении органики (отмершие части растений, трупы животных, бактерии, водоросли) и большей подверженности внешним физико-химическим и гидрологическим воздействиям. В отличие от торфа в иле присутствуют морские отложения.

Наши исследования показали, что на уровне таксонов высокого ранга (отделы и классы грибов) сообщества грибов изученных водоемов имеют сходные черты. По мере отдаления от моря изменяется представленность разных родов и, как следствие, порядков грибов, происходит смена доминирующих видов и в торфе, и в иле болот. Мы также выяснили, что микобиота разных озер имеет небольшое сходство, а одинаковых видов грибов больше в одном компоненте (торфе или иле) разных болот, чем в торфе и иле одного [5].

Все заболачивающиеся водоемы полуострова Киндо представляют собой относительно молодые изменяющиеся сообщества, что подтверждается значениями для торфа и ила индексов биоразнообразия Шеннона (от 3.13 до 3.97) и выровненности системы (от 0.73 до 0.99). Минимальные значения индексов доминирования для

торфа озера Верхнее указывают на то, что торфяная залежь этого самого старшего из всех (7780 ± 110 лет) водоема – наиболее стабильная система, в которой сформировалось относительно постоянное сообщество с наибольшим разнообразием грибов. В озере Круглое (4380 ± 80 лет), предположительно, из-за особого гидрологического режима, отмечено их наименьшее разнообразие. Микобиота озер Ершовские (810 ± 40 лет), в одном из которых сохранился придонный солевой слой, разнообразна и обильна, преимущественно включает виды, характерные для сформировавшихся болот, в сочетании с небольшим количеством типичных для морских местообитаний грибов. Озеро Кисло-Сладкое представляет собой многокомпонентную систему с разнообразием условий, что отражает исследованная микобиота [8, 20].

Нами отмечено относительно невысокое видовое разнообразие и количественное содержание зачатков грибов по сравнению с торфяниками умеренных широт и Al – Fe гумусовыми подзолами побережья Кандалакшского залива Белого моря. По числу видов наиболее широко представлен анаморфный род *Penicillium*, преимущественно представители секций *Monoverticillata* (*P. glabrum*, *P. spinulosum*, *P. thomii*, *P. restrictum*, *P. vinaceum*) и анаморфные виды рода *Talaromyces* (*T. funiculosus*), *T. diversus*, *T. verruculosus*). Виды рода *Oidiodendron* изолированы из образцов очеса и торфа, причем *O. griseum* отмечен в значительном количестве. Характерно присутствие большого количества стерильного мицелия. Полученные нами результаты показывают, что грибные комплексы торфяников отражают условия исследованного экотопа. Выявлены виды микромицетов, известные как деструкторы сфагновых мхов (например, *Oidiodendron griseum*, *O. tenuissimum*, *T. funiculosus*, *P. spinulosum*, *P. thomii*), а также виды, паразитирующие на личинках двукрылых насекомых (*Tolypocladium inflatum*, *Beauveria bassiana*), в частности, кровососущих комаров, которых много в исследованном районе. Часть выделенных в этом регионе видов относится к психротолерантным (*Pseudogymnoascus pannorum*, *Tolypocladium* spp.). Нами отмечен факт увеличения разнообразия видов грибов и количественного содержания их зачатков (предположительно в виде спор) в самых глубоких слоях торфяных болот.

Филогенетический анализ и особенности физиологии некоторых групп грибов

Для наиболее распространенных групп грибов Ascomycota и видов, имеющих неясное таксономическое положение (*Dothideomycetes* и *Leotiomycetes*), мы провели филогенетический анализ.

Во всех компонентах исследованных прибрежных водоемов хорошо представлены

виды из *Ophiocordycipitaceae*, *Cordycipitaceae* и *Clavicipitaceae* – известные ассоциациями с насекомыми грибы, преимущественно виды р. *Tolypocladium* (*T. inflatum*, *T. cylindrosporium*, *T. geodes*, *T. nubicola*, *T. tundrense*), р. *Beauveria* (*B. bassiana*, *B. brongniartii*, *Beauveria* sp.), *Parengyodontium album*, *Cordyceps* sp., *Metapochonia bulbillosa*. Анаморфные виды рода *Cordyceps* являются типичными сапротрофами, часто выделяемыми из почв холодных областей. Вид *T. inflatum*, самый распространенный в нашем исследовании, был изолирован из всех компонентов заболочивающихся водоемов, что говорит о его приспособленности к широкому спектру условий и способности функционировать в разных экологических нишах. *T. geodes* был изолирован из образца глубинного ила (2.3 м) озера Верхнее, а *M. bulbillosa* – с живой части и очеса сфагнома. Для вида *M. bulbillosa* отмечена способность к разложению сфагнома, то есть его выделение с живой части и очеса мха не случайно [26]. Существуют данные о психротолерантности видов рода *Tolypocladium* [27]. Кроме того, вышеперечисленные виды известны как энтомопатогенные, некоторые из которых используются в практике биоконтроля. Указывается способность к активному паразитизму *T. inflatum* на личинках комаров, плотность которых в исследованных местообитаниях высока [28].

Анализ результатов особенностей роста грибов на разных источниках углерода показал, что *T. cylindrosporium* предпочтительно использует сложные полисахариды, а виды *T. inflatum*, *T. geodes*, *Metapochonia bulbillosa* растут примерно одинаково на средах со всеми источниками углерода. Все четыре вида способны к разрушению хитина – компонента покровов насекомых и клеточных стенок грибов. Возможно, эти виды паразитируют на других грибах [5].

Среди стерильных изолятов, которые с помощью молекулярных мето-

дов удалось идентифицировать до ранга порядка или выше, большинство видов из отдела Ascomycota попали в Leotiomycetes (в основном в Helotiales) и Dothideomycetes (в основном в Pleosporales). На филогенетическом дереве изоляты из Pleosporales распределились по семействам Sporormiaceae, Phaeosphaeriaceae, Massarinaceae [5]. Для семейств Phaeosphaeriaceae и Massarinaceae характерно присутствие морских видов грибов, близко расположенных к нашим изолятам (*Bissothecium circinans* и *Loratospora aestuarii*) [29]. Примечательно, что изоляты, попавшие в эти клады, были выделены из озер Кисло-Сладкое и Ершовское Нижнее, которые еще не потеряли связь с морем, а значения *pH* образцов преимущественно составляли от 8 до 8.5 [5]. Ревизия грибов из класса Leotiomycetes показала, что данная группа полифилетична. Представители Helotiales тоже были разнесены по разным кладам [30]. Наши изоляты из Helotiales в основном были выделены из образцов придонного ила и разошлись по разным семействам. Многие объединились в группы, таксономическое положение которых внутри порядка определить не удалось [5].

В озере Кисло-Сладком наиболее представительными – как по числу видов, так и по частоте встречаемости и численности – были *Acremonium* spp. и *Sarocladium* spp.; их удалось выделить практически из всех компонентов озера: *A. potronii* – из образцов грунта литорали, осокового торфа и придонного ила, *S. strictum* – из сфагнового и осокового торфа, *A. charticola*, *A. fuci*, *S. implicatum* – из грунта литорали, *Acremonium* spp. и *Sarocladium* spp. – из грунта литорали, сфагнового и осокового торфа. В давно отделившихся от моря сформировавшихся болотах эти виды встречались единично. Высокая представленность родов *Acremonium*, *Sarocladium* и

Emericellopsis в заболачивающихся водоемах Кандакшского залива Белого моря служит, в дополнение к данным диатомового анализа, геологических и гидрологических исследований, еще одним доказательством их морского происхождения. Таким образом, грибы можно использовать для дополнительной диагностики условий образования многолетних донных отложений.

По результатам анализа роста при разных значениях *pH* среди изолятов видов *Acremonium* и *Sarocladium* есть факультативные акалофилы и нейтрофилы; один изолят из клады *Emericellopsis* был отнесен к факультативным ацидофилам. Облигатных ацидофилов среди видов данных родов не выявлено, что не удивительно для грибов, способных к обитанию в морских условиях. В качестве источников углерода протестированные виды родов *Acremonium* и *Sarocladium* могут использовать как простые, так и сложные вещества в широком диапазоне *pH*. Результаты эксперимента по изучению линейной скорости роста 19 штаммов при разных значениях температуры (6–25 °C) показали, что все

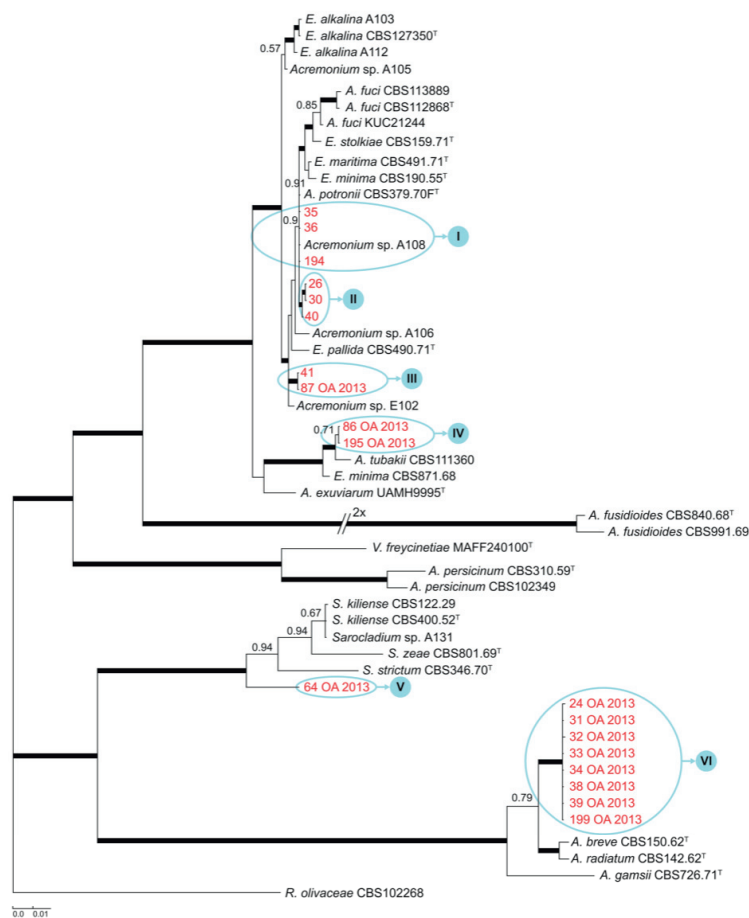


Рис. 3. Филогенетическое положение изолятов видов рода *Acremonium* (красный шрифт) на основе анализа участков трех генов: 28S rDNA ITS (включая 5.8S rDNA) и β-tub с использованием Байесовского метода (BI, 3M generations, 30% burning). Ветви, выделенные жирной линией, обозначают поддержку PP>0.94. Т – типовые штаммы. Для штаммов, выделенных эллипсом и обозначенных римскими цифрами, представлены графики на следующем рисунке (рис. 4).

они способны к росту в примененном диапазоне значений температуры, однако с их повышением скорость роста также увеличивается (рис. 3 и 4). Таким образом, виды родов *Acremonium* и *Sarocladium* способны к росту и активному функционированию в разнообразных условиях окружающей среды, которые особенно характерны для водоемов, отделяющихся от моря и еще не потерявших с ним связь.

В результате эксперимента по изучению способности к росту грибов в условиях гипоксии визуальный рост отмечен у четырех из 52 исследованных видов: *Trichoderma viride*, *Talaromyces funiculosus*, *Beauveria bassiana* и светлого стерильного мицелия. При недостатке воздуха у колоний отсутствовала пигментация, морфология мицелия была аномальной (неравномерная толщина, скрученность гиф), снизилась интенсивность конидиогенеза, появились новые свойства (способности к почкованию у *T. funiculosus* и бродильного запаха у *T. viride*), диаметр колоний *B. bassiana* и *T. funiculosus* сильно уменьшился по сравнению с таковыми, существовавшими в аэробных условиях [5].

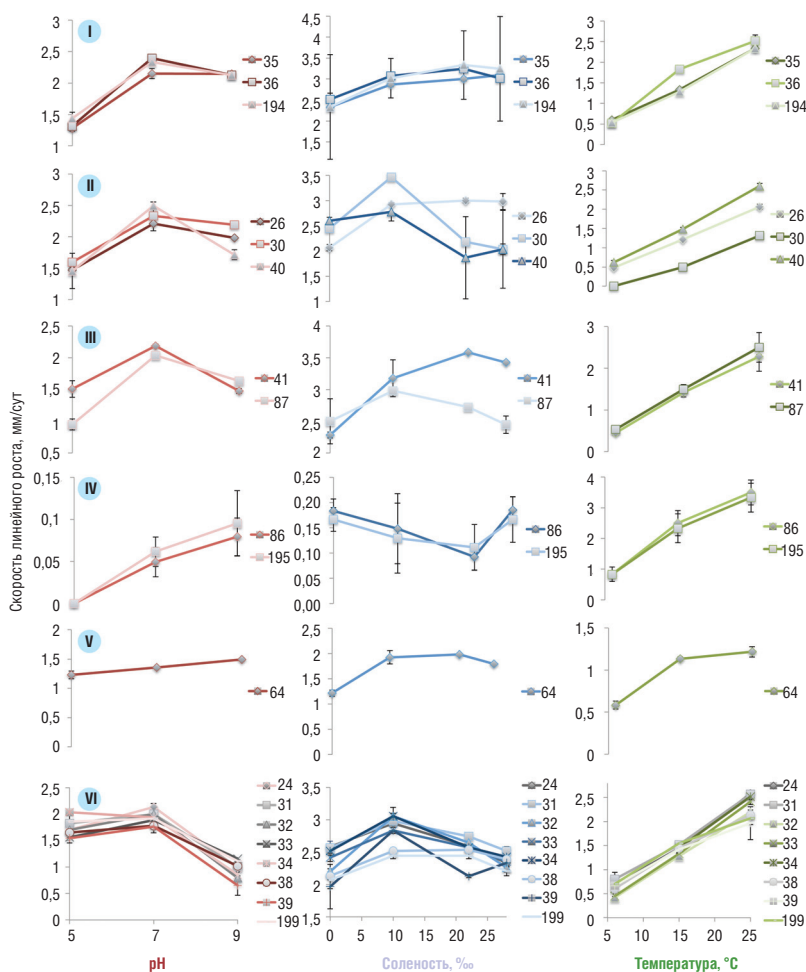


Рис. 4. Графики скорости роста протестированных групп грибов при разных значениях pH, солености и температуры (в трех повторностях). Римскими цифрами обозначены группы протестированных грибов, соответствующих таковым на филогенетическом дереве (рис. 3).

Эксперимент по изучению линейной скорости роста грибов при разных значениях pH позволил разделить исследованные изоляты на четыре группы: облигатные ацидофилы, факультативные ацидофилы, нейтрофилы и факультативные алкалофилы [5]. Больше всего среди протестированных видов облигатных ацидофилов, растущих в диапазоне значений pH от 3 до 7 (8), с оптимумом pH 3–6, что неудивительно, учитывая кислотность болотных экосистем. В большинстве случаев наблюдалась корреляция между оптимальными значениями pH для роста гриба и pH образца, из которого он был выделен.

По способности разлагать сахара разного состава протестированные нами виды также разделились на четыре группы, в соответствии с которыми можно оценить возможное участие видов в процессе деструкции сфагновых мхов: предпочтительно использующие простые сахара, предпочтительно использующие полисахариды, растущие примерно одинаково на всех средах и растущие на ограниченном количестве источников углерода. Результаты указывают на то, что в процессе деструкции растительных остатков существует сукцессия грибов. Это показали также результаты двухлетнего эксперимента канадских микологов по скорости разложения сфагновых мхов грибами. На ранней стадии деструкции наиболее активны виды, лизирующие простые сахара, на средней и поздней стадиях преобладают виды грибов, разлагающие сложные компоненты. Часть видов (к ним относятся целлюлозолитики и лигнинолитики) активны в течение всего процесса разложения сфагновых мхов [31].

Сравнительный очерк микобиоты торфяников умеренной и северной широт

Сравнение микобиоты верховых торфяников, расположенных в разных климатических зонах, показало как сходство, так и различия в видо-

вом составе грибного сообщества. В обеих климатических зонах были выявлены виды, известные как деструкторы сфагновых мхов – доминирующих растений данных экотопов. Это *Oidiodendron* spp., *Dipodascus geotrichum*, *Penicillium spinulosum*, *P. thomii*. Во всех исследованных нами торфяниках НП «Смоленское Поозерье» одним из доминирующих видов был *Talaromyces funiculosus*, частота встречаемости которого достигала 20–30%, а количество КОЕ – порядка 10^4 КОЕ на 1 г сухой массы образца. В исследованных торфяниках около ББС данный вид был выделен из всех болот, в одном из них доминировал (частота встречаемости до 100%, численность КОЕ до порядка 10^6 КОЕ на 1 г сухой массы образца). В целом в торфяниках НП «Смоленское Поозерье» выше видовое разнообразие грибов рода *Penicillium*. Из северных торфяников в значительном количестве были выделены психротолерантные виды грибов (*Pseudogymnoascus rannorum*, *Tolyposcladium inflatum*, *T. geodes*) и грибы, ассоциированные с насекомыми (*Tolyposcladium* spp. и *Beauveria* spp.), а из болот средней полосы – характерные для более южных местообитаний виды рода *Aspergillus* [18].

Микобиота болота, расположенного в зоне со спорадической многолетней мерзлотой, сходна с другими болотными системами (в частности, с изученными нами болотами побережья Белого моря) и включает многие виды, характерные для сформировавшихся болот. Однако видовое разнообразие изученного болота представлено меньшим числом таксонов, в то время как представленность отдельных родов выше. Так, например, выявлены 13 видов рода *Oidiodendron*, представители которого давно известны как деструкторы сфагновых мхов, особенно характерные для

олиготрофных водоемов (неопубликованные данные).

Численность жизнеспособных зачатков грибов в торфе верховых болот составляет 10^2 – 10^6 КОЕ на 1 г сухой массы образца, с высоким содержанием зачатков грибов в верхних частях профиля и значительным уменьшением КОЕ с глубиной (кроме самых глубинных слоев, накапливающих споры) [4, 5, 8, 17–20].

В целом видно, что для торфяников верховых болот, расположенных в северных широтах, характерны специфические особенности структуры комплексов культивируемых микромицетов. Они проявляются как в составе видов грибов, так и в количественных показателях.

Следует отметить, что сравнение результатов по двум регионам трудно проводить вполне корректно из-за разницы в методических приемах исследования. В случае анализа торфяников окрестностей ББС посеы проводились непосредственно после сбора образцов, в то время как образцы торфа болот НП предварительно замораживали до начала исследования. Кроме того, торфяники ББС изучали в течение четырех сезонов, а болота НП – один сезон. Но даже это не помешало отметить основные особенности, характерные для конкретных болот, а также выявить тенденции изменения микобиоты торфяников от средней полосы к северным регионам.

Обзор проведенной нами работы показывает, что структура грибного компонента торфяников зависит от различных факторов, включающих как органический состав субстрата, так и весь спектр физико-химических свойств данных местообитаний. В дальнейших исследованиях микобиоты болот мы считаем необходимым продолжить использование традиционных микологических методов учета и выделения грибов из субстратов, применяя и традиционные, и селективные среды и условия, дополнив их всесторонним анализом особенностей экофизиологии изолятов, а также метабаркодинговым анализом образцов. Кроме того, до настоящего времени были слабо затронуты аспекты изучения ассоциаций между конкретными видами растений, животных, бактерий и грибов, образуемых ими в торфяниках, что несомненно расширит наше понимание роли грибов в экосистемах северных болот.

Имеющийся задел и план дальнейшего исследования грибов торфяников, расположенных в зонах многолетней и вечной мерзлоты

Процесс потепления, оттаивания и деградации вечной мерзлоты фиксируется на протяжении по-

следних десятилетий с использованием специальных приборов и отражен в документах международной программы, известной как Глобальная наземная сеть вечной мерзлоты (GTN-P). На среднегодовую температуру верхнего активного слоя многолетней мерзлоты оказывают влияние даже относительно кратковременные изменения климата (десятилетия). Таяние вечной мерзлоты оказывает глобальное влияние как на изменения климата вследствие выброса парниковых газов в атмосферу, так и на созданную человеком инфраструктуру. Проблема, несомненно, сложна и многопланова. Она имеет как климатическую, так и неклиматическую составляющую, так как не всегда вечная мерзлота отвечает одинаково на климатическое потепление. Недавние исследования показали, что неклиматические факторы, такие как изменения растительности и гидрологического режима, могут в значительной степени определять реакцию вечной мерзлоты на глобальное потепление [32]. Среди сложных взаимосвязанных процессов повышение скорости микробной деструкции и, как следствие, эмиссию углекислого газа или метана можно считать важнейшими. Понимание и прогнозирование происходящих процессов невозможно без оценки деятельности микроорганизмов, среди которых грибы являются основными деструкторами органики в экстремальных условиях вечной мерзлоты – низких температур, недостатка кислорода в болотных экосистемах, обилия фенольных соединений вследствие деструкции сфагновых мхов [4, 5].

В данной области науки наиболее перспективным направлением следует считать мониторинг грибных сообществ болотных экосистем северных регионов. Площадь болот России составляет более трети площади болот мира (1.39 млн км²), из них 65% территорий болот и 78% заболоченных земель расположены в зоне многолетней мерзлоты [33]. Таких условий нет более ни в одной из стран мира, с чем связан повышенный интерес многих зарубежных ученых к проведению здесь своих исследований [16, 34, 35]. Однако данных мониторинга этой составляющей критически недостаточно для адекватной оценки и моделирования происходящих процессов, что обусловило необходимость и актуальность проводимого нами исследования.

На протяжении 12 лет нами ведутся работы по оценке участия грибов в динамике трансформации болотных экосистем в связи с послеледниковым поднятием суши. Мы показали на примере заболоченных водоемов побережья Кандалакшского залива Белого моря специфику комплексов грибов в северных регионах; выявили деструкторов

сфагновых мхов и энтомопатогенные виды; доказали способность развития доминирующих видов в широком диапазоне значений *pH*; выявили виды, способные функционировать при низких температурах и в условиях дефицита кислорода. Мы предположили, что грибы могут быть индикаторами стадий происходящих многолетних процессов, связанных с поднятием суши, опреснением образовавшихся водоемов и их заболачиванием.

Для получения объективной информации и создания адекватной картины динамики сообщества грибов в условиях глобального процесса таяния многолетней и вечной мерзлоты считаем необходимым запланировать следующие этапы работы:

1. Расширение ареала исследований для выявления общих закономерностей и особенностей структуры сообщества грибов в болотных системах северных регионов.

В настоящий период исследуются 68 образцов из болот, расположенных около или в зонах многолетней и вечной мерзлоты. К болоту Кольского полуострова, расположенному в зоне спорадической многолетней мерзлоты, мы добавили еще 5 болот на данном полуострове, расположенные по трансекте от Кандалакшского залива (таежная зона) до восточной части Мурманской области (тундровая зона) примерно через каждые 100 км, а также объекты в Республике Коми (Верхне-Интинское крупнобугристое болото), в Северо-Восточной Сибири (Кольма) и на острове Малый Таймыр (Море Лаптевых, зона вечной мерзлоты, 78°07'00'' с. ш., 107°13'00'' в. д.; образцы отобраны участниками комплексной экспедиции «Открытый океан: архипелаги Арктики – 2019, Северная Земля»).

2. Расширение комплекса используемых методов, позволяющих выявить как культивируемые, так и некультивируемые грибы.

Необходимо проведение и культурального, и метабаркодингового анализа данных образцов. Таким путем мы сможем оценить эффективность применения культуральных и молекулярных методов и сравнить результаты, полученные каждым из них. Это позволит планировать методологию дальнейшей работы по наиболее полному изучению биоразнообразия грибов.

3. Выявление основных деструкторов сфагновых мхов в условиях низких температур с помощью молекулярных методов.

В образцах сфагновых мхов из Верхне-Интинского крупнобугристого болота был обнаружен темный мицелий, полностью пронизывающий пораженный мох, его не удалось выделить в культуру [36]. Необходимы молекулярные исследования образцов пораженного сфагнового мха для выявления гриба-деструктора.

4. Анализ зависимости структуры сообщества грибов от состава сообщества растений.

Группа зарубежных болотоведов в течение ряда лет изучает растительные сообщества, их сукцессию, динамику интенсивности выделения парниковых газов в болотных массивах Северо-Восточной Сибири в зоне вечной мерзлоты [16, 34, 35]. Видовой состав грибов напрямую зависит от растительного материала, из которого образуется торф, поэтому мы совместно начинаем метабаркодинговый анализ образцов из данных экотопов с целью продолжить данные исследования и проследить динамику изменения микобиоты вместе со сменой видового состава растительного сообщества.

5. Создание коллекции грибов, функционально значимых в условиях болотных экосистем зоны вечной мерзлоты.

По результатам запланированной работы мы сможем получить новые результаты, отражающие особенности функционирования сообщества грибов в условиях вечной мерзлоты. Полученные данные будут важны как для фундаментальной науки, так и для использования на практике.

Литература

1. *Wetlands International*. (<https://www.wetlands.org>).
2. S.-Y. Kim, C. Freeman, N. Fenner, H. Kang *Appl. Soil Ecol.*, 2012, 57, 23. DOI: 10.1016/j.apsoil.2012.02.015.
3. A. Asemaninejad, R.G. Thorn, Z. Lindo *Microb. Ecol.*, 2017, 73, 521. DOI: 10.1007/s00248-016-0875-9.
4. O.A. Grum-Grzhimaylo, A.J.M. Debets, E.N. Bilanenko *Mycologia*, 2016, 108(2), 233. DOI: 10.3852/14-346.
5. O.A. Грум-Гржимайло
Дис. канд. биол. наук, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 2013, 242 с.
6. O.A. Грум-Гржимайло, Е.Н. Биланенко
Микология и фитопатология, 2010, 44(6), 485.
7. V.E. Jassey, G. Chiapusio, P. Binet, A. Buttler, F. Laggoun-Defarge, F. Delarue, N. Bernard, E.A. Mitchell, M.-L. Toussaint, A.-J. Francez, D. Gilbert
Global Change Biol., 2013, 19(3), 811. DOI: 10.1111/gcb.12075.
8. O.A. Grum-Grzhimaylo, A.J.M. Debets, E.N. Bilanenko
Polar Biol., 2018. (http://wsbs-msu.ru/res/DictionaryAttachment/1066/DOC_FILENAME/Grum-Grzhimaylo2018_Article_MosaicStructureOfTheFungalComm.pdf). DOI: 10.1007/s00300-018-2347-9.
9. M.R. Turetsky, B.W. Abbott, M.C. Jones, K.W. Anthony, D. Olefeldt, E.A.G. Schuur, C. Koven, A.D. McGuire, G. Grosse, P. Kuhry, G. Hugelius, D.M. Lawrence, C. Gibson, A.B.K. Sannel
Nature, 2019, 569, 32. DOI: 10.1038/d41586-019-01313-4.
10. S. Sjögersten, S. Caul, T.J. Daniell, A.P.S. Jurd, O.S. O'Sullivan, C.S. Stapleton, J.J. Titman
Soil Biology & Biochemistry, 2016, 98, 42. DOI: 10.1016/j.soilbio.2016.03.016.
11. I. Altshuler, J. Goordial, L.G. Whyte
В *Psychrophiles: From Biodiversity to Biotechnology*, Ed. R. Margesin, Switzerland, Cham, Springer International Publishing AG, 2017, pp. 153–179. DOI 10.1007/978-3-319-57057-0_8.
12. А.В. Головченко, Т.А. Семёнова, А.В. Полякова, Л.И. Инишева
Микробиология, 2002, 71(5), 667.
13. А.В. Качалкин, И.Ю. Чернов, Т.А. Семёнова, А.В. Головченко
В Сб. мат. Четвертой научной школы «Болота и биосфера» (РФ, Томск, 12–15 сентября 2005 г.), РФ, Томск, Изд-во ЦНТИ, 2005, с. 208–215.
14. N.V. Filippova, M.N. Thormann
Mires and Peat, 2014, 14, Art. 08. (<http://www.mires-and-peat.net/>, ISSN 1819-754X).
15. P. Binet, S. Rouifed, V.E.J. Jassey, M.-L. Toussaint, G. Chiapusio
Soil Biol. Biochem., 2017, 105, 153. DOI: 10.1016/j.soilbio.2016.11.020.
16. A.L. Nauta, M.M.P.D. Heijmans, D. Blok, J. Limpens, B. Elberling, A. Gallagher, B. Li, R.E. Petrov, T.C. Maximov, J. van Huissteden, F. Derendse
Nature Climate Change, 2015, 5, 67. DOI: 10.1038/NCLIMATE2446.
17. Е.Н. Биланенко, О.А. Грум-Гржимайло
В Сб. Историко-культурное наследие и природное разнообразие: опыт деятельности охраняемых территорий: Материалы юбилейной научно-практической конференции, посвященной 15-летию Национального парка «Смоленское Поозерье» (РФ, Смоленск, 8–10 июня 2007 г.), РФ, Смоленск, Изд. «Смоленская городская типография», 2007, с. 25–41.
18. E.N. Bilanenko, O.A. Grum-Grzhimaylo
Nature Conservation Research. Заповедная наука, 2016, 1(2), 90. DOI: 10.24189/ncr.2016.019.
19. O.A. Грум-Гржимайло, Е.Н. Биланенко
В Мат. конф. Экспедиционные исследования: состояние и перспективы: Первые международные научные чтения имени Н.М. Пржевальского (РФ, Пржевальское, 2–4 октября 2008 г.), РФ, Смоленск, Изд. «Смоленская городская типография», 2008, с. 90–95.
20. O.A. Грум-Гржимайло, Е.Н. Биланенко
Микология и фитопатология, 2012, 46(5), 297.
21. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. (<http://www.indexfungorum.org>).

Images & Tables

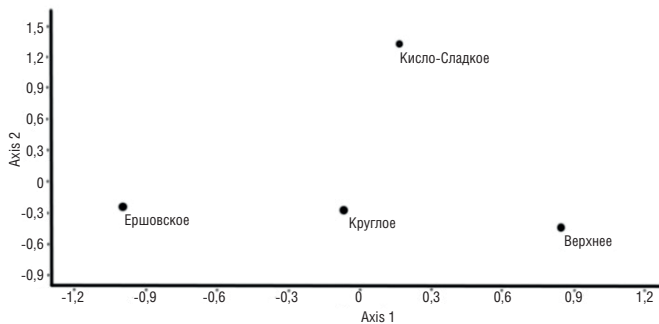


Fig. 1. The ordination of swampy water bodies of the Kindo Peninsula by the species structure of micromycetes in sphagnum peat and silt constructed by the Correspondence Analysis method to the spatial frequency of 107 micromycetes species.

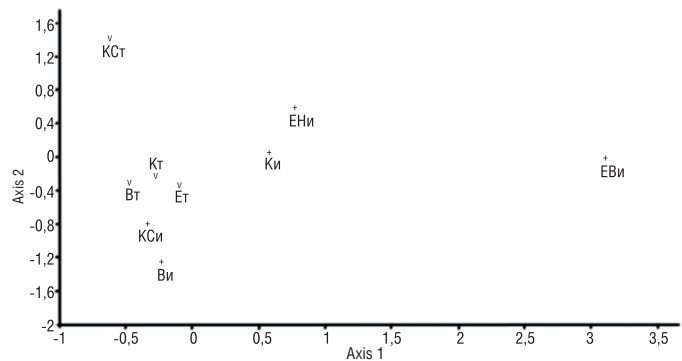


Fig. 2. The ordination of swampy water bodies of the Kindo Peninsula by the species structure of micromycetes in sphagnum peat and silt constructed by the Correspondence Analysis method; Вm, Km, Em, КСm – peat of the Verkhnee, Krugloe, Ershovskoe, Kисло-Sladkoe bogs, respectively; Вu, Ku, ЕHu, ЕВu, КСу – silt of the Verkhnee, Krugloe, Ershovskoe Nizhnee, Ershovskoe Verkhnee, Kисло-Sladkoe lakes, respectively.

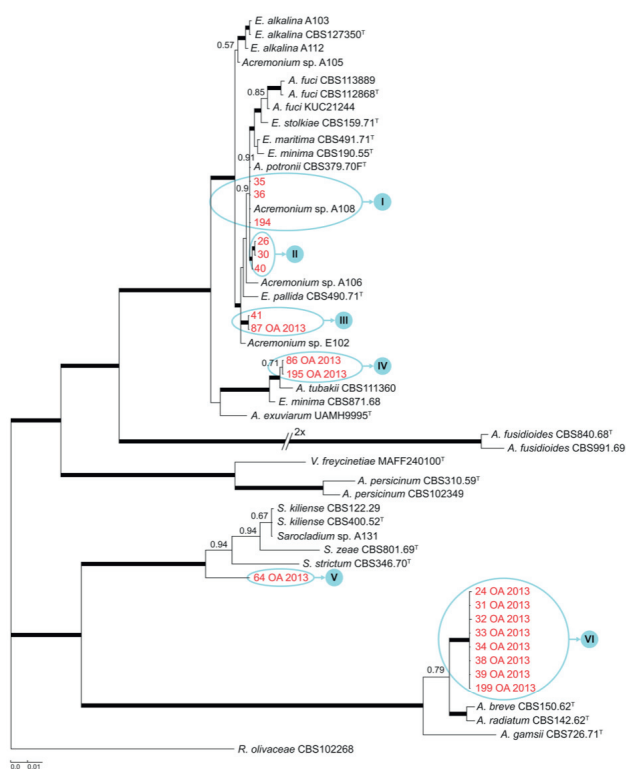


Fig. 3. Three-gene phylogeny of the isolates of species of the genus *Acremonium* based on partial sequences for 28S rDNA, ITS (including 5.8S rDNA) and β -tub genes. All studied strains are in red. Bayesian topology is displayed with the PP support values over each node. Thickened branches indicate strong support (PP > 0.94). T – type/ex-type strains. For strains marked with an ellipse and indicated by Roman numerals, the graphs are presented in the following figure (Fig. 4).

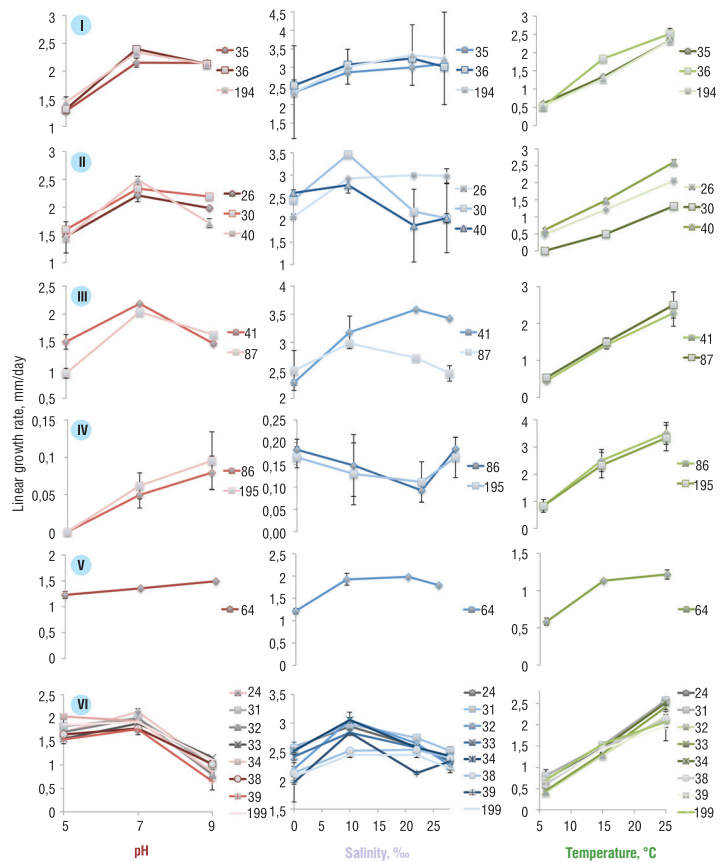


Fig. 4. Growth patterns of the representative strains at different pH, salinity and temperature. Means of three biological replicates (\pm SD). Roman numerals denote the groups of tested fungi corresponding to those on the phylogenetic tree (Fig. 3).

References

1. *Wetlands International*. (<https://www.wetlands.org>).
2. S.-Y. Kim, C. Freeman, N. Fenner, H. Kang
Appl. Soil Ecol., 2012, 57, 23. DOI: 10.1016/j.apsoil.2012.02.015.
3. A. Asemaninejad, R.G. Thorn, Z. Lindo
Microb. Ecol., 2017, 73, 521. DOI: 10.1007/s00248-016-0875-9.
4. O.A. Grum-Grzhimaylo, A.J.M. Debets, E.N. Bilanenko
Mycologia, 2016, 108(2), 233. DOI: 10.3852/14-346.
5. O.A. Grum-Grzhimaylo
PhD Thes. (Biology) [Dissertation for the Degree of a Candidate of Biological Sciences], Lomonosov MSU, RF, Moscow, 2013, 242 pp. (in Russian).
6. O.A. Grum-Grzhimaylo, Ye.N. Bilanenko
Mikologiya i fitopatologiya, 2010, 44, 485 (in Russian).
7. V.E. Jassey, G. Chiapusio, P. Binet, A. Buttler, F. Laggoun-Defarge, F. Delarue, N. Bernard, E.A. Mitchell, M.-L. Toussaint, A.-J. Francez, D. Gilbert
Global Change Biol., 2013, 19(3), 811. DOI: 10.1111/gcb.12075.
8. O.A. Grum-Grzhimaylo, A.J.M. Debets, E.N. Bilanenko
Polar Biol., 2018. (http://wsbs-msu.ru/res/DictionaryAttachment/1066/DOC_FILENAME/Grum-Grzhimaylo2018_Article_MosaicStructureOfTheFungalComm.pdf). DOI: 10.1007/s00300-018-2347-9.
9. M.R. Turetsky, B.W. Abbott, M.C. Jones, K.W. Anthony, D. Olefeldt, E.A.G. Schuur, C. Koven, A.D. McGuire, G. Grosse, P. Kuhry, G. Hugelius, D.M. Lawrence, C. Gibson, A.B.K. Sannel
Nature, 2019, 569, 32. DOI: 10.1038/d41586-019-01313-4.
10. S. Sjögersten, S. Caul, T.J. Daniell, A.P.S. Jurd, O.S. O'Sullivan, C.S. Stapleton, J.J. Titman
Soil Biology & Biochemistry, 2016, 98, 42. DOI: 10.1016/j.soilbio.2016.03.016.
11. I. Altshuler, J. Goordial, L.G. Whyte
In *Psychrophiles: From Biodiversity to Biotechnology*, Ed. R. Margesin, Switzerland, Cham, Springer International Publishing AG, 2017, pp. 153–179. DOI: 10.1007/978-3-319-57057-0_8.
12. A.V. Golovchenko, T.A. Semenova, A.V. Polyakova, L.I. Inisheva
Microbiology [Mikrobiologiya], 2002, 71(5), 575. DOI: 10.1023/A:1020514904709.
13. A.V. Kachalkin, I.YU. Chernov, T.A. Semonova, A.V. Golovchenko
In *Sbornik materialov Chetvertoy nauchnoy shkoly «Bolota i biosfera» [Proc. IV Scientific School "Swamps and Biosphere"]*, RF, Tomsk, 12–15 September, 2005), RF, Tomsk, TsNTI Publ., 2005, pp. 208–215 (in Russian).
14. N.V. Filippova, M.N. Thormann
Mires and Peat, 2014, 14, Art. 08. (<http://www.mires-and-peat.net/>, ISSN 1819-754X).
15. P. Binet, S. Roufied, V.E.J. Jassey, M.-L. Toussaint, G. Chiapusio
Soil Biol. Biochem., 2017, 105, 153. DOI: 10.1016/j.soilbio.2016.11.020.
16. A.L. Nauta, M.M.P.D. Heijmans, D. Blok, J. Limpens, B. Elberling, A. Gallagher, B. Li, R.E. Petrov, T.C. Maximov, J. van Huissteden, F. Derendse
Nature Climate Change, 2015, 5, 67. DOI: 10.1038/NCLIMATE2446.
17. E.N. Bilanenko, O.A. Grum-Grzhimaylo
In *Proc. Istoriko-kulturnoe nasledie i prirodnoe raznoobrazie: opyt deyatel'nosti okhranyaemykh territory: Materialy yubileynoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 15-letiyu Natsionalnogo parka "Smolenskoye Poozere"* (RF, Smolensk, 8–10 June, 2007) [Materials of the Jubilee Scientific and Practical Conference Dedicated to the 15th Anniversary of the Smolensk Lake District National Park], RF, Smolensk, Smolenskaya Gorodskaya Tipografiya Publ., 2007, pp. 25–41 (in Russian).
18. E.N. Bilanenko, O.A. Grum-Grzhimaylo
Nature Conservation Research, 2016, 1(2), 90. DOI: 10.24189/ncr.2016.019.
19. O.A. Grum-Grzhimaylo, E.N. Bilanenko
In *Proc. Ekspeditsionnye issledovaniya: Sostoyaniye i perspektivy (Pervye mezhdunarodnye chteniya imeni N.M. Przheval'skogo [Expeditionary Research: Status and Prospects: First International Scientific Readings Named after N.M. Przhevalsky]*, RF, Smolensk, 2008, pp. 90–95 (in Russian).
20. O.A. Grum-Grzhimaylo, E.N. Bilanenko
Mikologiya i Fitopatologiya [Mycology and Phytopathology J.], 2012, 46(5), 297 (in Russian).
21. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. (<http://www.indexfungorum.org>).
22. E.N. Bubnova, O.A. Grum-Grzhimaylo, O.P. Konovalova, O.E. Marfenina
Vestnik Moskovskogo universiteta, Ser. 16, Biologiya [Moscow University Biological Sciences Bulletin], 2014, 16(1), 29 (in Russian).
23. A.N. Pantyulin, Ye.D. Krasnova
In *Geologiya morey i okeanov: Mat. XIX Mezhdunarodnoy nauch. konf. (Shkoly) po morskoy geologii [Proc. Geology of the Seas and Oceans: Materials of the XIX International Scientific. Conf. (Schools) in Marine Geology]* (RF, Moscow, 14–18 November, 2011), Vol. III, RF, Moscow, GEOS Publ., 2011, pp. 241–245 (in Russian).
24. E.S. Olyumina
In *Materialy nauch. konf. posvyashchennoy 70-letiyu Belomorskoy biologicheskoy stantsii im. N.A. Pertsova [Proc. Int. Sci. Conf.: 70th Anniversary of Pertsov White Sea Biological Station]* (RF, WSBS, 9–10 August, 2008), RF, Moscow, "Grif & Co", 2008, pp. 207–212 (in Russian).
25. O.S. Shilova
Golotsenovye diatomei bolot Kolskogo poluostrova i Severo-Vostochnoy Karelii [Holocene Diatoms of Swamps of the Kola Peninsula and North-East Karelia], RF, Moscow, MAKS Press, 2011, 177 pp. (in Russian).
26. M.N. Thormann
Ecological Studies, 2006, 188, 101.
27. J. Bisset
Can. J. Bot., 1983, 61(5), 1311. DOI: 10.1139/b83-139.
28. E.N. Bubnova
PhD Thes. (Biology) [Dissertation for the Degree of a Candidate of Biological Sciences], Lomonosov MSU, RF, Moscow, 2005, 145 pp.
29. C.L. Schoch, P.W. Crous, J.Z. Groenewald, E.W.A. Boehm, T.I. Burgess, J. Gruyter, G.S. Hoog, L.J. Dixon, M. Grube, C. Gueidan, Y. Harada, S. Hatakeyama, K. Hirayama, T. Hosoya, S.M. Huhndorf, K.D. Hyde, E.B.G. Jones, J. Kohlmeyer, Å. Li, Y.M. Krusu, R. Lücking, H.T. Lumbsch, L. Marvanová, J.S. Mbatshou, A.H. McVay, A.N. Miller, G.K. Mugambi, L. Muggia, M.P. Nelsen, P. Nelson, C.A. Owensby, A.J.L. Phillips, S. Phongpaichit, S.B. Pointing, V. Pujade-Renaud, H.A. Raja, E.R. Plata, B. Robbertse, C. Ruibal, J. Sakayaroj, T. Sano, L. Selbmann, C.A. Shearer, T. Shirouzu, B. Slippers, S. Suetrong, K. Tanaka, B. Volkman-Kohlmeyer, M.J. Wingfield, A.R. Wood, J.H.C. Woudenberg, H. Yonezawa, Y. Zhang, J.W. Spatafora
Stud. Mycol., 2009, 64, 1. DOI: 10.3114/sim.2009.64.01.
30. Z. Wang, M. Binder, C.L. Schoch, P.R. Johnston, J.W. Spatafora, D.S. Hibbett
Mol. Phylogenet. Evol., 2006, 41(2), 295. DOI: 10.1016/j.ympev.2006.05.031.
31. M.N. Thormann, R.S. Currah, S.E. Bayley
Plant Soil, 2003, 250(2), 323. DOI: 10.1023/A:1022845604385.
32. O. Anisimov, S. Reneva
Ambio, 2006, 35(4), 169. DOI: 10.1579/0044-7447(2006)35[169:PACCTR]2.0.CO;2.
33. A.A. Sirin
In *Ekologiya i geografiya rasteniy i rastitelnykh soobshchestv: Mat. IV Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii [Proc. IV Int. Sci. Conf.: Ecology and Geography of Plants and Plant Communities]* (RF, Yekaterinburg, 16–19 April, 2018), RF, Ekaterinburg, Gumanitarny Univ. Publ., 2018, pp. 893–897.
34. K. van Huissteden, M. Heijmans, J. Dean, O. Meisel, A. Goovaerts, F.-J. Parmentier, G. Schaepman-Strub, L.B. Marchesini, A. Kononov, T. Maximov, A. Borges, S. Bouillon
Geophys. Res. Abstracts, EGU General Assembly, 2017, Vol. 19, EGU2017-5661.
35. B. Li, M.M.P.D. Heijmans, D. Blok, P. Wang, S.V. Karsanaev, T. Maximov, J. van Huissteden, F. Berendse
Plant Soil, 2017, 420, 147. DOI: 10.1007/s11104-017-3369-8.
36. M.Ya. Voytehov, O.A. Grum-Grzhimaylo
In *Mat. konf. "X Galkinskije chteniya" [Proc. Conf. "X Galkin Readings"]* (RF, Snt Peterburg, 4–6 February, 2019), RF, Snt Peterburg, SPbGETU "LETI" Publ., 2019, pp. 27–29 (in Russian).

Коллекции Зоологического института РАН как важный инструмент и информационная основа фундаментальных биологических исследований*

Н.Б. Ананьева, Л.Л. Войта, М.Г. Волкович, М.Б. Дианов, С.Г. Медведев, К.Д. Мильто, Е.А. Петрова, С.Ю. Синева, И.С. Смирнов, Р.В. Смирнов, Р.Г. Халиков, А.В. Халин

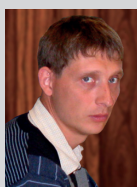
Создана оригинальная информационно-поисковая система по образцам фондовых коллекций Зоологического института РАН. Программно-информационно-поисковая система реализуется посредством клиент-серверной СУБД корпоративного уровня Microsoft SQL Server 2016 Service Pack 1, веб-сервера Microsoft Internet Information Services 10.0 и универсального веб-интерфейса (технология ASP, кросс-платформенный скриптовый язык JavaScript, технологии JQuery и Ajax). Классификатор содержит 146 695 записей о таксонах 40 таксономических рангов, включая 33 036 синонимов. Получены более 13 000 высококачественных изображений коллекционных образцов и сопутствующих материалов (оригинальные этикетки, каталожные карточки и т. п.): погонофоры (Pogonophora) – 553, жуки (Coleoptera) – 1 134, бабочки (Lepidoptera) – 1 451, блохи (Siphonaptera) – 193, перепончатокрылые (Hymenoptera) – 3 083, двукрылые (Diptera) – 1 038, мошки (Simuliidae) – 307, мокрецы (Ceratorogonidae) – 360, морские звезды (Asterozoa) – 414, офиуры (Ophiurozoa) – 392, морские ежи (Echinozoa) – 140, голотурии (Holothurozoa) – 359, земноводные (Amphibia) – 705, пресмыкающиеся (Reptilia) – 2 023, млекопитающие (Mammalia) – 869. Общий объем полученных графических изображений составляет 23.5 Гб. Оцифрованные материалы по типовым образцам фондовых коллекций размещены в публичном доступе в сети Интернет на специализированном веб-сайте по фондовым коллекциям (<https://www.zin.ru/collections/>).

Ключевые слова: коллекции, Зоологический институт, изучение биоразнообразия, информационные системы, цифровые музеи.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты №№ 15-29-02457 и 19-54-54003).



АНАНЬЕВА
Наталья Борисовна
профессор,
Зоологический институт РАН



ВОЙТА
Леонид Леонидович
Зоологический институт РАН



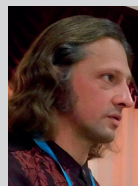
ВОЛКОВИЧ
Марк Габриэлевич
Зоологический институт РАН



ДИАНОВ
Михаил Борисович
Зоологический институт РАН



МЕДВЕДЕВ
Сергей Глебович
профессор,
Зоологический институт РАН



МИЛЬТО
Константин Дмитриевич
Зоологический институт РАН



ПЕТРОВА
Екатерина Анатольевна
Зоологический институт РАН



СИНЕВ
Сергей Юрьевич
Зоологический институт РАН



СМИРНОВ
Игорь Сергеевич
Зоологический институт РАН



СМИРНОВ
Роман Владимирович
Зоологический институт РАН



ХАЛИКОВ
Роман Григорьевич
Зоологический институт РАН



ХАЛИН
Алексей Владимирович
Зоологический институт РАН

Настоящее сообщение посвящено проекту по созданию эффективной структурно-функциональной модели и информационной системы уникальной, крупнейшей в Российской Федерации зоологической коллекции, а также разработке информационных технологий в области изучения и представления информации о зоологических коллекциях.

Зоологический институт Российской академии наук (ЗИН РАН) содержит главную в стране и одну из крупнейших в мире зоологических коллекций, все элементы которой (единицы хранения, научные материалы, образцы, экспонаты, зоологические объекты, образцы тканей для молекулярно-генетических исследований) находятся в постоянном изучении отечественными и зарубежными специалистами [1–6]. В ЗИН РАН было решено создать собственную информационную систему по образцам фондовых коллекций, инфологическая структура которой соответствует уровню существующих электронных ресурсов мировых зоологических центров, а в ряде аспектов его превосходит. В качестве модельных групп для проведения работ по согласованию структуры каталога образцов и созданию интегрированных информационных систем образцов фондовых коллекций были избраны следующие группы наземных и водных беспозвоночных: для типа членистоногие (Arthropoda) модельные группы выделены среди обширного (более одного миллиона видов) класса насекомых (Insecta) – отряд блохи (Siphonaptera), отряд чешуекрылые (Lepidoptera), отряд жесткокрылые, или жуки (Coleoptera), семейство комаров (Culicidae) отряда двукрылые (Diptera); среди класса ракообразных (Crustacea) – бокоплавы, или амфиподы, или разноногие раки (Amphipoda) надотряда Peracarida; морские беспозвоночные типа иглокожих (Echinodermata) и класса погонофор (Pogonophora); а также три класса позвоночных животных: земноводные (Amphibia), пресмыкающиеся (Reptilia) и млекопитающие (Mammalia).

Была создана оригинальная информационно-поисковая система по образцам фондовых коллекций ЗИН РАН с инфологической структурой, построенной по технологии «Клиент-сервер». Программно-информационно-поисковая система реализуется посредством клиент-серверной СУБД корпоративного уровня Microsoft SQL Server 2016 Service Pack 1, веб-сервера Microsoft Internet Information Services 10.0 и универсального веб-интерфейса (технология ASP, кросс-платформенный скриптовый язык JavaScript, технологии JQuery и Ajax). Коллекционный каталог информационной системы в среде СУБД Microsoft SQL Server 2016 включает 80 основных и вспомогательных таблиц и 240 специализированных элементов программирования SQL.

Выполнены работы по оптимизации и расширению функционала таксономического классификатора животных Animalia (<https://www.zin.ru/zoodiv/animals.asp>)

и его интеграция с веб-сайтом по фондовым коллекциям (<https://www.zin.ru/collections/>). Оцифровка различных групп типовых фондовых коллекций живых организмов потребовала существенного пополнения таксономического классификатора новыми таксонами и выполнения ревизий уже представленных в классификаторе групп таксонов. В ходе выполнения проекта в классификатор внесены более 15 000 записей таксонов различных таксономических рангов, включая более 7 000 синонимов. Таким образом, на данный момент классификатор содержит 146 695 записей о таксонах 40 таксономических рангов, включая 33 036 синонимов [7–8].

Реализована оптимизация модуля информационно-поисковой системы иерархического классификатора административных объектов – аудит имеющихся в классификаторе данных, пополнение классификатора новыми административными объектами, приведение административного деления стран и регионов мира в соответствие с текущими представлениями. На данный момент классификатор включает 9 150 записей об административных объектах 25 иерархических рангов. Реализация функционала экспорта коллекционных данных с использованием унифицированного международного стандарта Darwin Core (<http://rs.tdwg.org/dwc/>) обеспечивает интеграцию информационно-поисковой системы в глобальные международные распределенные информационные системы по биоразнообразию. На специализированном веб-сайте по фондовым коллекциям (<https://www.zin.ru/collections/>) выложены полные данные о коллекционных образцах в виде документов в формате XML. Механизм экспорта коллекционных данных унифицирован для всех модельных групп коллекций и является полностью двуязычным.

Произведена оптимизация унифицированных алгоритмов обработки графических изображений коллекционных образцов и сопутствующих материалов с учетом существенного



Рис. 1. Класс Pogonophora. Зоологический институт РАН. POGS-179-1. *Galathealinum brachiosum* Ivanov, 1961, Голотип. Самка. Сбор «Витязь» ноябрь-декабрь 1958 г. Восточная часть Тихого океана. Западное побережье Канады и побережье штата Орегон (США). Глубина 1 233–2 601 м. Собран З.А. Филатовой.

увеличения количества изображений препаратов коллекционных образцов, полученных путем микрофотографирования (в том числе многослойного) с использованием специализированных цифровых камер высокого разрешения в составе комплексов оптических стереомикроскопов Leica [9, 10]. Выполнена дигитализация (оцифровка, получение изображений объектов хранения в электронном виде) 3 459 коллекционных образцов типовых экземпляров: погонофоры (Pogonophora) – 155 (рис. 1), жуки (Coleoptera) – 513 (рис. 2 и 3), бабочки (Lepidoptera) – 634, блохи (Siphonaptera) – 96 (рис. 4), перепончатокрылые (Hymenoptera) – 563, двукрылые (Diptera) – 441 (рис. 5), мошки (Simuliidae) – 115, мокрецы (Ceratopogonidae) – 110, морские звезды (Asteroidea) – 84, офиуры (Ophiuroidea) – 53 (рис. 6 и 7), морские ежи (Echinoidea) – 22, голотурии (Holothuroidea) – 61, земноводные (Amphibia) – 118, пресмыкающиеся (Reptilia) – 325 (рис. 8), млекопитающие (Mammalia) – 169 (рис. 9 и 10). Получены более 13 000 высококачественных изображений коллекционных образцов и сопутствующих материалов (оригинальные этикетки, каталожные карточки, конверты, единицы хранения и т. п.): погонофоры (Pogonophora) – 553, жуки (Coleoptera) – 1 134, бабочки (Lepidoptera) – 1 451, блохи (Siphonaptera) – 193, перепончатокрылые (Hymenoptera) – 3 083,



Рис. 2. Класс Insecta. Отряд Coleoptera. Зоологический институт РАН. INS_COL_0000046. *Onthophagus strnadi* Kabakov, 1996. Голотип. Вьетнам, провинция Винь Фу, Там Дао. 12–24.5.1989 г. Собран Я. Стрнадом.



Рис. 3. Класс Insecta. Отряд Coleoptera. Зоологический институт РАН. INS_COL_0000354. *Scintillatrix achaica* Brandl, 1986. Голотип. Греция, Калаврита. 04.06.1985 г. Собран П. Брандлом.



Рис. 4. Класс Insecta. Отряд Siphonaptera. Зоологический институт РАН. ZISP_INSI_13188. *Frontopsylla subula* Wagner. Голотип. Самка *Alactaga mongolica*. Забайкальский край, Борзинский район, село Соктуй Читинской железной дороги. 12.06.1925 г. Собран Б. Виноградовым и С. Оболенским.

двукрылые (Diptera) – 1 038, мошки (Simuliidae) – 307, мокрецы (Ceratopogonidae) – 360, морские звезды (Asteroidea) – 414, офиуры (Ophiuroidea) – 392, морские ежи (Echinoidea) – 140, голотурии (Holothuroidea) – 359, земноводные (Amphibia) – 705, пресмыкающиеся (Reptilia) – 2 023, млекопитающие (Mammalia) – 869. Общий объем полученных графических изображений составляет 23.5 Гб.

Оцифрованные материалы по типовым образцам фондовых коллекций опубликованы в публичном



Рис. 5. Класс Insecta. Отряд Diptera. Зоологический институт РАН NS_DIP_0000354. *Tabanus semenovi* Olsufjev, 1937. Голотип. Арсланбобский горный массив, урочище Ак-Терек, Ферганский хребет, 1500 м над уровнем моря, Ферганская область, Кыргызстан. 28.07.1935 г. Собран Н.В. Корженевской.



Рис. 8. Класс Reptilia. Отряд Sauria. Зоологический институт РАН. ZISP 23430. *Acanthosaura nataliae* Orlov, Truong et Sang, 2006. Голотип. Собран Н.Л. Орловым 05.1995 г. Деревня Чам Лап. 40 км к северо-западу от г. Каннак, горы Чуонг Шон. Дождевой полидоминантный лес, средний ярус леса, стволы крупных деревьев, высота 900 м над уровнем моря.

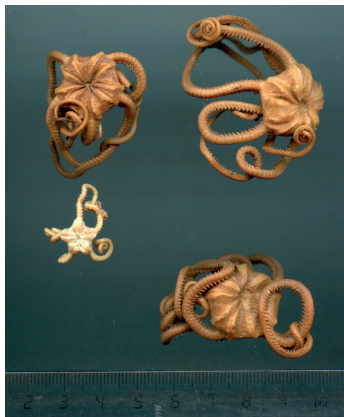


Рис. 6. Класс Orhiuroidea. Зоологический институт РАН 14109-3. Змеехвостка *Amphiasantha derjugini* Djakonov, 1949. Синтипы. 4 экземпляра собраны В.Л. Вагиным 21.09.1949 г. в Курило-Сахалинской экспедиции, на судне «Витязь», в Охотском море с глубины 820 м.



Рис. 7. Класс Orhiuroidea. Зоологический институт РАН 14305-1. Змеехвостка *Asteronux niger* Djakonov, 1954. Синтипы. 4 экземпляра собраны Г.У. Линдбергом 14.09.1949 г. в Курило-Сахалинской экспедиции, на судне «Топорок», у острова Итуруп, Тихий океан, с глубины 273–303 м.



Рис. 9. Класс Mammalia. Отряд Proboscidea. Зоологический институт РАН ZISP 2710. *Mammuthus primigenius* (Blumenbach, 1799). Неотип. Собран Л.А. Портенко в 1948 г., берег р. Мамонтова, приток р. Шренк, бассейн Нижняя Таймыра, п-ов Таймыр. Красноярский край, Таймырский Долгано-Ненецкий район, Россия.



Рис. 10. Класс Mammalia. Отряд Perissodactyla. Зоологический институт РАН ZISP 1523. *Equus przewalskii* (Blumenbach, 1799). Голотип. Собран Н.А. Пржевальским в 1878 г. Джунгария, окрестности Гучена, пески Канабо, Китай, Синьцзян-Уйгурский автономный район.

доступе в сети Интернет на специализированном веб-сайте по фондовым коллекциям (<https://www.zin.ru/collections/>). Его объем составляет 150 HTML-страниц с включенными в них вызовами специализированных ASP-страниц с серверными и клиентскими скриптами, обеспечивающими публикацию структурированного динамического контента из единого серверного хранилища в среде СУБД Microsoft SQL Server.

Учитывая первостепенное значение публичного веб-сайта для широкого распространения данных о фондовых коллекциях ЗИН РАН, в ходе выполнения проекта проведена оптимизация основных разделов сайта в соответствии со стандартами протокола Open Graph (<http://ogp.me>) для обеспечения полноценной интеграции уникального контента сайта с различными общеупотребительными и специализированными социальными сетями и корректного его цитирования в них. С использованием имеющейся серверной инфраструктуры ЗИН РАН реализовано развертывание специализированного сетевого сервиса – точки публикации данных GBIF (Integrated Publishing Toolkit, IPT, <https://www.gbif.org/ipr>) – <http://ipt.zin.ru:8080/ipr/>. Выполнена отладка алгоритмов выборочной публикации данных по коллекционным образцам ЗИН РАН на портале консорциума GBIF (Global Biodiversity Information Facility, <https://www.gbif.org>).

Информационно-поисковая структура созданной информационно-поисковой системы по образцам фондовых коллекций ЗИН РАН соответствует уровню существующих электронных ресурсов мировых зоологических центров, а в ряде аспектов его превосходит. Используемые программные алгоритмы основаны на передовых отечественных (стандарт ZOOCOD для иерархических классификаторов) и мировых (стандарты геореференсирования точек находок National Science Foundation (<http://manisnet.org/GeorefGuide.html>) алгоритмах. Прикладные интерфейсы онлайн-картирования Google Maps

API (<https://developers.google.com/maps/>), международный стандарт Darwin Core (<http://rs.tdwg.org/dwc/>) используются для обмена данными по биоразнообразию, что обеспечивает интеграцию информационно-поисковой системы в глобальные распределенные онлайн-ресурсы по биоразнообразию.

Оригинальная модульная структура коллекционного каталога позволяет гибко расширять информационно-поисковую систему новыми группами типовых фондовых коллекций при максимальном сохранении принципов нормализации реляционных баз данных. Выполнение проекта начиналось с восьми модельных групп коллекций, на данный момент их число возросло до пятнадцати. Полностью сохраняется универсальность глобальных модулей (библиотека изображений, регистрация в каталоге GenBank, промеры коллекционных образцов, палеонтологические сведения для образцов вымерших таксонов и др.). Для всех модулей, включая иерархические тезаурусы и словарные таблицы, в полном объеме поддерживается двуязычность – значения в них хранятся на русском и английском языках.

Специализированный веб-сайт по фондовым коллекциям (<https://www.zin.ru/collections/>) выполнен в современном лаконичном стиле. В отличие от большинства ресурсов аналогичной тематики он не содержит сложных форм поисковых запросов с многочисленными полями и выпадающими списками значений. Веб-сайт по фондовым коллекциям имеет богатый функционал, обеспечивающий удобство работы с ним как профессиональных зоологов, так и широкой научной общественности. Ключевая особенность индивидуальных страниц коллекционных экземпляров – наличие у каждой из них постоянного единого указателя ресурса (Uniform Resource Locator, URL, например, https://www.zin.ru/collections/Diptera/specimen.html?Catalog_UID=1344878350940351 или https://www.zin.ru/collections/Mammalia/specimen.html?Catalog_UID=1357763442066745), что позволяет использовать прямые ссылки на любой из оцифрованных коллекционных образцов фондовых коллекций ЗИН РАН. Подобный механизм однозначного указания адресов существенно повышает удобство цитирования индивидуальных страниц образцов фондовых коллекций.

Все страницы коллекционных образцов снабжены динамически собираемой навигационной строкой, содержащей полный путь от таксона верхнего ранга данной группы коллекций до родительского таксона данного коллекционного образца. Все промежуточные звенья такой строки являются активными ссылками – переход по ним осуществляет выборку из коллекционного каталога по критерию выбранной таксономической группы. При этом такие ссылки-фильтры (например, https://www.zin.ru/collections/Coleoptera/catalog.html?taxon_id=1344562869706687 или <https://www.zin.ru/collections/>

Lepidoptera/catalog.html?taxon_id=1036943401973071) также имеют уникальные адреса и обладают преимуществами, отмеченными выше для адресов страниц коллекционных экземпляров.

Веб-сайт по фондовым коллекциям ЗИН РАН реализован в двух языковых версиях – русской и английской. При этом английская версия полностью дублирует русскую как в части представления фактических данных, так и по функциональным возможностям. Полноценная двуязычность сайта существенно повышает востребованность данного ресурса зарубежными коллегами, переводя доступность сведений о фондовых коллекциях ЗИН РАН, включая важнейшие данные о типовых экземплярах, на качественно новый уровень.

Функционал веб-сайта с фондовыми коллекциями включает механизм экспорта результатов выборки коллекционных образцов – неотъемлемый атрибут профессиональных научных веб-ресурсов, позволяющий исследователям выполнять пакетную загрузку интересующих материалов для дальнейшей обработки и интерпретации в своих исследованиях. Для экспорта применяется унифицированный международный стандарт Darwin Core (<http://rs.tdwg.org/dwc/>) и выгрузка полных данных о коллекционных образцах в документы формата XML. Механизм экспорта коллекционных данных унифицирован для всех модельных групп коллекций и является полностью двуязычным.

Таксономической основой информационно-поисковой системы служит иерархический классификатор беспозвоночных и позвоночных животных Animalia (<https://www.zin.ru/zoodiv/animals.asp>), выполненный в стандарте ZOOCOD 4. Технически классификатор включает более 30 основных и вспомогательных таблиц в среде СУБД Microsoft SQL Server 2016 и около 160 специализированных элементов программирования SQL (скалярные и табличные функции, хранимые процедуры, триггеры и пр.). ZOOCOD 4 остается актуальной версией стандарта представления таксономической иерархии в реляционных базах данных, разработанного в ЗИН РАН, и на сегодняшний день не имеет отечественных и зарубежных аналогов.

Зоологический институт РАН – один из ведущих мировых центров в области зоологии, его обширные фондовые коллекции и типовые образцы в них имеют огромную научную ценность. В такой ситуации выбор групп коллекций для оцифровки типовых образцов приобретает особое значение. Можно выделить три группы коллекций, работы по дигитализации которых в ходе выполнения проекта не имеют аналогов в мире как с точки зрения таксономического охвата, так и с точки зрения результатов оцифровки. Это погонофоры (<https://www.zin.ru/collections/Pogonophora/>), мокрецы (<https://www.zin.ru/collections/Ceratopogonidae/>) и мошки (<https://www.zin.ru/collections/Simuliidae/>). Уникаль-

ная по объему и научной значимости типовая коллекция погонофор полностью оцифрована и опубликована онлайн. Оцифрованные типовые коллекции мокрецов и мошек, уникальные, прежде всего, по представленности кровососущих мокрецов и мошек Голарктики, отличаются библиотекой высококачественных изображений препаратов образцов и их отдельных фрагментов (крылья, гениталии и пр.). Данные изображения получены с использованием передовых методик многослойного микрофотографирования препаратов с последующей обработкой серий изображений специализированными программными средствами.

В ходе выполнения проекта в различных группах коллекций (жуки, бабочки, перепончатокрылые, земноводные, пресмыкающиеся, млекопитающие) широко применялись передовые мировые стандарты гео-референсирования точек находок, разработанные для международных проектов National Science Foundation по созданию распределенных коллекционных баз данных (<http://manisnet.org/GeorefGuide.html>). Это позволило интерпретировать первичные данные оригинальных этикеток и картировать типовые местности с использованием общепринятого мирового прикладного интерфейса онлайн-картирования Google Maps API (<https://developers.google.com/maps/>).

Внедрение в инфологическую структуру информационно-поисковой системы полноценной поддержки специализированного международного стандарта Darwin Core (<http://rs.tdwg.org/dwc/>) и отладка в среде СУБД Microsoft SQL Server инструментария виртуальных таблиц позволили перевести на совершенно иной уровень интеграцию информационно-поисковой системы в глобальные Международные распределенные информационные системы по биоразнообразию. Важнейшей из таких систем на сегодняшний день является портал международного научного консорциума GBIF (Global Biodiversity Information

Facility, <https://www.gbif.org>), а наиболее технологичным решением для интеграции – специализированный сетевой сервис публикации данных (Integrated Publishing Toolkit, IPT, <https://www.gbif.org/ipt>). Стандарт Darwin Core используется для экспорта выборок полных коллекционных данных на веб-сайте по фондовым коллекциям (<https://www.zin.ru/collections/>).

В ходе выполнения проекта на портале GBIF (https://www.gbif.org/dataset/search?publishing_org=c14b9ce2-9545-4376-8a3b-6741558c256a) с использованием собственной инсталляции IPT ЗИН РАН (<http://ipt.zin.ru:8080/ipt/>) выполнены публикации в формате электронных каталогов пяти наборов данных (датасетов) по образцам типовых коллекций ЗИН РАН: бабочек семейства *Cosmopterigidae* (<https://doi.org/10.15468/sbga6b>), жуков-златок подсемейства *Polycestinae* (<https://doi.org/10.15468/c3eork>), бесхвостых амфибий семейств *Bufo* и *Megophryidae* (<https://doi.org/10.15468/crgfcq>), погонофор класса *Pogonophora* (<https://doi.org/10.15468/1mlkdp>) и морских звезд класса *Asteroidea* (<https://doi.org/10.15468/3vvua7>). Все пять датасетов [11–15] выполнены в стандарте Darwin Core и состоят из двух взаимосвязанных частей – таксономического списка (checklist, Darwin Core Taxon) и данных о коллекционных образцах (Darwin Core Occurrence). Таким образом, несмотря на то, что Россия до сих пор не является даже ассоциированным членом консорциума GBIF, ЗИН РАН в рамках выполнения настоящего проекта становится полноценным участником данной глобальной международной распределенной информационной системы по биоразнообразию.

Наряду с постоянной индексацией созданного ресурса по фондовым коллекциям ведущими поисковыми системами сети Интернет и возможностью поиска при помощи глобальных поисковых систем отдельных коллекционных образцов фондовых коллекций ЗИН РАН, всё большее значение в широком распространении сведений

о фондовых коллекциях приобретают различные социальные сети и специализированные сетевые сообщества. В связи с этим для основных разделов веб-сайта была впервые реализована поддержка стандартов международного протокола Open Graph (<http://ogp.me>) и выполнена валидация полученных результатов с помощью специальных инструментов для разработчиков в глобальных социальных сетях. Дигитализация коллекционных образцов выполняется с применением широкого спектра методов: сканирование образцов и сопутствующих материалов на планшетных CCD-сканерах высокого разрешения; специализированная фотосъемка (макросъемка); получение микроскопических изображений объектов с использованием цифровых камер высокого разрешения в составе комплексов оптических стереомикроскопов Leica. Большую роль в получении высококачественных изображений коллекционных образцов малых размеров и препаратов образцов играет метод многослойной фотосъемки с последующей обработкой серий изображений специализированными программами. В ходе выполнения проекта данный метод применялся не только при микрофотографировании препаратов под микроскопом, но и при макросъемке, позволяя расширить круг подлежащих оцифровке коллекционных образцов и получить для них графические материалы высокого качества.

Всего за период работ над проектом была подготовлена 21 публикация: 11 статей в рецензируемых журналах (из них 10 статей в международных системах цитирования), три статьи в сборниках и материалах конференций, два тезиса докладов и пять электронных публикаций. Результаты были представлены на семи международных конгрессах и совещаниях и трех всероссийских, включая две отчетные научные сессии Зоологического института РАН. Полученные в результате работы над проектом данные имеют большое значение для развития междисциплинарных направлений изучения биоразнообразия и развития информационных технологий и полностью соответствуют теме исследования, то есть создают эффективную структурно-функциональную модель и информационную систему крупнейшей в России зоологической коллекции Зоологического института РАН. По этому проекту авторами подготовлены ресурсы в интернете по адресам: <http://www.zin.ru/zoodiv/animals.asp> и <http://www.zin.ru/collections/>.

Применяемые коллекционные базы данных позволяют оперативно и эффективно работать с различными частями коллекций, например, исследовать «золотой фонд» коллекции Зоологического института, а именно, сборы XIX века первопроходцев-исследователей Центральной Азии Н.М. Пржевальского, П.К. Козлова, В.И. Роборовского и зоолога и путешественника Н.А. Зарудного из Ирана, среди кото-

рых сотни типовых экземпляров беспозвоночных и позвоночных животных. Среди других научных материалов, хранящихся в Зоологическом институте, интересны обширные исторически значимые коллекции из Северной Америки, которые были собраны в XIX столетии российскими экспедициями, в том числе А.Г. Вознесенского, а также сборы сухопутной экспедиции Г.И. Лангсдорфа в Бразилию, в которой участвовал энтомолог Эдуард Менетрие. Перспективны и возможности анализа коллекций, собранных в различных регионах мира, в частности, такая работа проводится со сборами из Юго-Восточной Азии, послужившими основной для расширения современных представлений о биоразнообразии животного мира.

В ходе работы над проектом был разработан алгоритм усовершенствования принципов и методов современной работы с коллекционными фондами, позволяющий, в частности, наладить строгий учет первичной информации по всем вновь поступающим и хранящимся в коллекции объектам, улучшить условия труда научно-технического персонала (хранителей) и минимизировать ошибки в наборах данных о единицах хра-

нения, что планируется применить в текущей работе с коллекциями. Одна из актуальнейших научных проблем, а также необходимое условие модернизации зоологических коллекций и алгоритмов их исследования – развитие информационных систем по биоразнообразию (включая библиотеки высококачественных изображений объектов хранения) и разработка основ создания структуры этих систем с последующим интегрированием в международные распределенные информационно-поисковые системы. Проект Зоологического института РАН по созданию эффективной структурно-функциональной модели и информационной системы уникальной, крупнейшей в Российской Федерации зоологической коллекции мы рассматриваем как важный шаг в этом направлении.

Литература

1. **Н.Б. Ананьева, С.А. Подлипаев, О.Н. Пугачев**
Природа, 2002, №8 (1044), 1.
2. **А.Ф. Алимов, Н.Б. Ананьева, М.Б. Дианов, А.Л. Лобанов, О.Н. Пугачев, А.Ю. Рысс, И.С. Смирнов, Р.Г. Халиков**
В Мат. юбилейной отчетной научной сессии, посвященной 185-летию Зоологического института РАН, (Россия, Санкт-Петербург, 13–16 ноября 2017 г.), РФ, С.-Петербург, Зоологический институт РАН, 2017, с. 5–8.
3. **И.С. Смирнов, Н.Б. Ананьева, А.Л. Лобанов, А.В. Неелов, Б.И. Сиренко, А.А. Голиков, Р.Г. Халиков, Е.П. Воронина**
В Мат. II Международной конференции «Природная среда Антарктики: современное состояние изученности» (Респ. Беларусь, к. п. Нарочь, 18–21 мая 2016 г.), Респ. Беларусь, Минск, Изд. Конфидо, 2016, с. 319–323.
4. **V.V. Anikin, S.A. Sachkov, V.V. Zolotuhin**
Fauna Lepidopterologica Volgo-Uralensis: from P. Pallas to present days, Ser. Proc. Museum Witt, Vol. 7, 2017, 693 pp.
5. **С.Ю. Синева**
Энтомологическое обозрение, 1990, 69(1), 118.
6. **С.Ю. Синева**
Каталог роскошных узкокрылых молей (Lepidoptera, Phycitidae) мировой фауны, Сер. Труды Зоологического института РАН, т. 293, РФ, С.-Петербург, ЗИН РАН, 2002, 184 с.
7. **В.А. Кривохатский, А.Л. Лобанов, Г.С. Медведев, С.А. Белокобыльский, М.Б. Дианов, И.С. Смирнов, Р.Г. Халиков**
Труды Русского энтомологического общества, 2003, 74, 59.
8. **С.Г. Медведев, Р.Г. Халиков**
Паразитология, 2016, 60(6), 471.
9. **Р.Г. Халиков, Н.Л. Орлов**
В Мат. Первого съезда Герпетологического общества им. А.Н. Никольского (РФ, Пушино-на-Оке, 4–7 декабря 2000 г.), РФ, Пушино-Москва, Изд. МГУ, 2001, с. 309–312.
10. **Р.Г. Халиков**
В Мат. Российско-китайского семинара «Исследование и охрана амфибий и рептилий Евразии: результаты и перспективы сотрудничества» (РФ, Санкт-Петербург, 29 июля – 3 августа, 2009 г.), РФ, Санкт-Петербург, Зоологический институт РАН, CAS Chengdu Institute of Biology, 2009, с. 19.
11. **S.Yu. Sinev, A.A. Golikov, R.G. Khalikov**
Catalogue of the Type Specimens of Cosmopterigidae (Lepidoptera: Gelechioidea) from Research Collections of the Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, 2016. (<https://www.gbif.org/dataset/8d431c96-9e2f-4249-8b0a-d875e3273908>). DOI: 10.15468/sbga6b.
12. **M.G. Volkovitch, A.A. Golikov, R.G. Khalikov**
Catalogue of the Type Specimens of Polycestinae (Coleoptera: Buprestidae) from Research Collections of the Zoological Institute, Russian Academy of Sciences. (<https://www.gbif.org/dataset/b267ac9b-6516-458e-bea7-7643842187f7>). DOI: 10.15468/c3eork.
13. **K.D. Milto, N.B. Ananjeva, A.A. Golikov, R.G. Khalikov**
Catalogue of the Type Specimens of Bufonidae and Megophryidae (Amphibia: Anura) from Research Collections of the Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, 2016. (<https://www.gbif.org/dataset/5c7bf05c-2890-48e8-9b65-a6060cb75d6d>). DOI: 10.15468/crgfcq.
14. **R.V. Smirnov, A.A. Golikov, R.G. Khalikov**
Catalogue of the Type Specimens of Pogonophora (Annelida; seu Polychaeta: Siboglinidae) from Research Collections of the Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, 2017. (<https://www.gbif.org/dataset/c05b97bc-e172-40e9-9d42-9df0f93a6e65>). DOI: 10.15468/1mlkdp.
15. **I.S. Smirnov, R.G. Khalikov**
Catalogue of the Type Specimens of Sea Stars (Asteroidea, Echinodermata) from Research Collections of the Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, 2018. (<https://www.gbif.org/ru/dataset/31f8727c-debb-4c38-bb89-0eb2594537a9>). DOI: 10.15468/3vva7.

English

The Collection of the Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences as an Important Tool and Informational Basis of Fundamental Biological Researches*

Natalia B. Ananjeva
Professor,
Zoological Institute, RAS
1 Universitetskaya Emb.,
St.-Petersburg, 199034, Russia
Natalia.Ananjeva@zin.ru

Leonid L. Voyta
Zoological Institute, RAS
1 Universitetskaya Emb.,
St.-Petersburg, 199034, Russia
Leonid.Voyta@zin.ru

Mark G. Volkovich
Zoological Institute, RAS
1 Universitetskaya Emb.,
St.-Petersburg, 199034, Russia
polycest@zin.ru

Mikhail B. Dianov
Zoological Institute, RAS
1 Universitetskaya Emb.,
St.-Petersburg, 199034, Russia
Mikhail.Dianov@zin.ru

Sergey G. Medvedev
Professor,
Zoological Institute, RAS
1 Universitetskaya Emb.,
St.-Petersburg, 199034, Russia
smedvedev@zin.ru

Konstantin D. Milto
Zoological Institute, RAS
1 Universitetskaya Emb.,
St.-Petersburg, 199034, Russia
coluber@zin.ru

Ekaterina A. Petrova
Zoological Institute, RAS
1 Universitetskaya Emb.,
St.-Petersburg, 199034, Russia
mammut2003@mail.ru

Sergey Yu. Sinev
Zoological Institute, RAS
1 Universitetskaya Emb.,
St.-Petersburg, 199034, Russia
Sergey.Sinev@zin.ru

Igor S. Smirnov
Zoological Institute, RAS
1 Universitetskaya Emb.,
St.-Petersburg, 199034, Russia
smiris@zin.ru

Roman V. Smirnov
Zoological Institute, RAS
1 Universitetskaya Emb.,
St.-Petersburg, 199034, Russia
Roman.Smirnov@zin.ru

Roman G. Khalikov
Zoological Institute, RAS
1 Universitetskaya Emb.,
St.-Petersburg, 199034, Russia
Roman.Khalikov@zin.ru

Aleksei V. Khalin
Zoological Institute, RAS
1 Universitetskaya Emb.,
St.-Petersburg, 199034, Russia
hallisimo@yandex.ru

Abstract

An original information retrieval system has been created for samples of research collections of the Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences. Software-based information retrieval system is implemented through the Microsoft SQL Server 2016 Service Pack 1 client-server DBMS of the corporate level, Microsoft Internet Information Services 10.0 web server and universal web interface (ASP technology, cross-platform scripting language JavaScript, JQuery and Ajax technologies). The classifier contains 146,695 taxon records of 40 taxonomic ranks, including 33,036 synonyms. More than 13,000 high-quality images of collection samples and related materials (original labels, catalog cards, etc.) were obtained: shoulder strap (Pogonophora) – 553, beetles (Coleoptera) – 1,134, butterflies (Lepidoptera) – 1,451, fleas (Siphonaptera) – 193, Hymenoptera – 3,083, Diptera – 1,038, midges (Simuliidae) – 307, biting midges (Ceratopogonidae) – 360, Starfish (Asteroidea) – 414, ophiurans (Ophiuroidea) – 392, sea urchins (Echinoidea) – 140, holothurians (Holothuroidea) – 359, amphibians (Amphibia) – 705, reptiles (Reptilia) – 2,023, mammals (Mammalia) – 869. The total amount of the resulting graphic images reaches 23.5 GB. The digitized materials on standard samples of stock collections are publicly available on the Internet on a specialized website for stock collections (<https://www.zin.ru/collections/>).

Keywords: research collections, Zoological Institute, study of biodiversity, original information retrieval systems, digital museums.

*The work was financially supported by RFBR (projects 15-29-02457 and 19-54-54003).

Images & Tables



Fig. 1. Class Pogonophora. Zoological Institute, Russian Academy of Sciences. PogS-179-1. *Galathealinum brachiosum* Ivanov, 1961. Holotype. Female. Det. A.V. Ivanov. "Vityaz". 04.12.1958. Pacific Ocean, off the west coast of Oregon (U.S.A.). Depths 1,233–2,601 m. Coll. Z.A. Filatova.



Fig. 2. Class Insecta. Ordo Coleoptera. Zoological Institute, Russian Academy of Sciences. INS_COL_0000046. *Onthophagus strnadi* Kabakov, 1996. Holotype. Vietnam, Vinh Phuc Province, Tam Dao. 12–24.5. 1989. Coll. Jan Strnad.



Fig. 3. Class Insecta. Ordo Coleoptera. Zoological Institute, Russian Academy of Sciences. INS_COL_0000354. *Scintillatrix achaica* Brandl, 1986. Holotype. Graecia, Kalavrita. 04.06.1985. Coll. P. Brandl.



Fig. 4. Class Insecta. Ordo Siphonaptera. Zoological Institute, Russian Academy of Sciences. ZISP_INSI_13188. *Frontopsylla subula* Wagner, 1929. Holotype. Female. Alactaga mongolica. Zabaikalsky Krai. Borzin District. Saktui Chita Railway 12.06.1925. Coll. B. Vinogradov and S. Obolensky.



Fig. 5. Class Insecta. Ordo Diptera. Zoological Institute, Russian Academy of Sciences. INS_DIP_0000354. *Tabanus semenovi* Olsufjev, 1937. Holotype. Arslanbobskyi mountain massive, urochische Ak-Terek, Fergana mountain range, 1500 m asl., Ferganskaya oblast, Kyrgyzstan, 28.07.1935 z. Coll. N.V. Korzhenevskaya.



Fig. 6. Class Ophiuroidea. Zoological Institute, Russian Academy of Sciences. 14109-3. *Amphiacantha derjugini* Djakonov, 1949. Brittle star *Amphiacantha derjugini* Djakonov, 1949. Syntypes. 4 specimens collected by V.L. Vagin 21.09.1949 in the Kuril-Sakhalin Expedition on vessel "Vityaz", Pacific Ocean, Sea of Okhotsk, from a depth of 820 m.



Fig. 7. Class Ophiuroidea. Zoological Institute, Russian Academy of Sciences. 14305-1. Brittle star *Asteronyx niger* Djakonov, 1954. Syntypes. 4 specimens collected by G.Yu. Lindberg 14.09.1949 in the Kuril-Sakhalin Expedition on vessel "Toporok", Pacific Ocean, Kasatka Bay, Iturup Island, from depths of 273–303 m.



Fig. 8. Class Reptilia. Ordo Sauria. Zoological Institute, Russian Academy of Sciences. ZISP 23430. *Acanthosaura nataliae* Orlov, Truong et Sang, 2006. Holotype. Coll. N.L. Orlov, 05.1995. Tram Lap Village, 40 km northwest of Kannack Town, Truong Son (Annamite) Mountains, rain polydominant forest, inhabit mid-levels of the forest, often on trunks of large trees, 900 m asl.



Fig. 9. Class Mammalia. Ordo Proboscidea. Zoological Institute, Russian Academy of Sciences. ZISP 2710. *Mammuthus primigenius* (Blumenbach, 1799). Neotype. Coll. L.A. Portenko, 1948, on the bank of Mamontovaya River, tributary of Schrenk River, Taymyr. Krasnoyarskiy kray, Taymyrsky Dolgano-Nenetsky District, Russia.



Fig. 10. Class Mammalia. Ordo Perissodactyla. Zoological Institute, Russian Academy of Sciences. ZISP 1523. *Equus przewalskii* (Blumenbach, 1799). Holotype Coll. N.A. Przhevalsky in 1878. Dzungaria, environment of Guchen. Kanabo sands China, Xinjiang Uygur Autonomous Region.

References

1. N.B. Ananjeva, S.A. Podlipayev, O.N. Pugachev
Priroda, 2002, № 8 (1044), 1.
2. A.F. Alimov, N.B. Ananjeva, M.B. Dianov, A.L. Lobanov, O.N. Pugachev, A.Yu. Ryss, I.S. Smirnov, R.G. Khalikov
In Proc. Anniversary Reporting Scientific Session Dedicated to the 185th Anniversary of the Zoological Institute of the RAS, [Materialy yubileynoy otchetnoy nauchnoy sessii, posvyashchennoy 185-letiyu Zoologicheskogo instituta RAN], (Russia, St. Petersburg, 13–16 November, 2017), RF, St. Petersburg, RAS Zoological Institute, 2017, pp. 5–8 (in Russian).
3. I.S. Smirnov, N.B. Ananjeva, A.L. Lobanov, A.B. Neelov, B.I. Sirenko, A.A. Golikov, R.G. Khalikov, E.P. Voronina
In Proc. IInd International Conference “The Antarctic Environment: The Current State of Knowledge” [Materialy II Mezhdunarodnoi konferentsii “Prirodnaya sreda Antarktiki: sovremennoye sostoyaniye izuchennosti”], (Republic of Belarus, Naroch, 18–21 May, 2016), RB, Minsk, Konfido Publ., 2016, pp. 319–323 (in Russian).
4. V.V. Anikin, S.A. Sachkov, V.V. Zolotuhin
Fauna Lepidopterologica Volgo-Uralensis: from P. Pallas to present days, Ser. Proc. Museum Witt, Vol. 7, 2017, 693 pp.
5. S.Yu. Sinev
Entomol. Rev., 1990, 69(1), 118 (in Russian).
6. S.Yu. Sinev
Catalog of Cosmet Moths (Lepidoptera, Phycitidae) of the World Fauna [Katalog roskoshnykh uzkokrylykh moy (Lepidoptera, Phycitidae) mirovoy fauny], RF, St. Petersburg, ZIN RAS, 2002, 184 pp. (in Russian).
7. V.A. Krivokhatsky, A.L. Lobanov, G.S. Medvedev, S.A. Belokobylsky, M.B. Dianov, I.S. Smirnov, R.G. Khalikov
Proc. Russ. Entomol. Soc., 2003, 74, 59 (in Russian).
8. S.G. Medvedev, R.G. Khalikov
Parazitologiya [Rus. Parasitology J.], 2016, 60(6), 471.
9. R.G. Khalikov, N.L. Orlov
In Proc. 1st Meeting of the Nikolsky Herpetological Society “The Problems of Herpetology” [Materialy Pervogo sezda Gerpetologicheskogo obshchestva im. A.M. Nikolskogo] (RF, Pushchino-na-Oke, 4–7 December, 2000), RF, Pushchino–Moscow, MSU Publ., 2001, pp. 309–312 (in Russian).
10. R.G. Khalikov
In Proc. Sino-Russian Seminar “Study and Conservation of Amphibians and Reptiles: Results and Plans of Cooperation” (RF, Snt Petersburg, 29 July – 3 August, 2009), RF, Snt Petersburg, Publ. RAS Zoological Institute, CAS Chengdu Institute of Biology, 2009, p. 19.
11. S.Yu. Sinev, A.A. Golikov, R.G. Khalikov
Catalogue of the Type Specimens of Cosmopterigidae (Lepidoptera: Gelechioidea) from Research Collections of the Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, 2016. (<https://www.gbif.org/dataset/8d431c96-9e2f-4249-8b0a-d875e3273908>). DOI: 10.15468/sbga6b.
12. M.G. Volkovits, A.A. Golikov, R.G. Khalikov
Catalogue of the Type Specimens of Polycestinae (Coleoptera: Buprestidae) from Research Collections of the Zoological Institute, Russian Academy of Sciences. (<https://www.gbif.org/dataset/b267ac9b-6516-458e-bea7-7643842187f7>). DOI: 10.15468/c3eork.
13. K.D. Milto, N.B. Ananjeva, A.A. Golikov, R.G. Khalikov
Catalogue of the Type Specimens of Bufonidae and Megophryidae (Amphibia: Anura) from Research Collections of the Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, 2016. (<https://www.gbif.org/dataset/5c7bf05c-2890-48e8-9b65-a6060cb75d6d>). DOI: 10.15468/crgfcq.
14. R.V. Smirnov, A.A. Golikov, R.G. Khalikov
Catalogue of the Type Specimens of Pogonophora (Annelida; seu Polychaeta: Siboglinidae) from Research Collections of the Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, 2017. (<https://www.gbif.org/dataset/c05b97bc-e172-40e9-9d42-9df0f93a6e65>). DOI: 10.15468/1mlkdp.
15. I.S. Smirnov, R.G. Khalikov
Catalogue of the Type Specimens of Sea Stars (Asteroidea, Echinodermata) from Research Collections of the Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, 2018. (<https://www.gbif.org/ru/dataset/31f8727c-debb-4c38-bb89-0eb2594537a9>). DOI: 10.15468/3vvua7.

Открытая электронная база данных по нейроморфологии как перспективный ресурс для научных исследований и образовательного процесса*

О.В. Зайцева, Е.Е. Воронежская

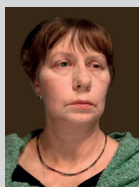
Интенсивное развитие нейронаук в последние годы требует систематизации новых знаний, включения их в существующие классические представления и представления в современном цифровом формате. Сотрудниками учреждений Академии наук и университетов России (ЗИН РАН, ИБР РАН, СПбГУ) создается интерактивный «Атлас по нейроморфологии животных», где каталогизированы и сведены в единую информационную базу коллекции аннотированных препаратов нервной системы представителей животных разных таксономических групп и географических зон России. Помимо этого в Атласе представлены такие разделы, как: методы изучения нервной системы; характеристика групп животных; биографии классиков российской нейроморфологии (А.А. Заварзина, Г.А. Невмываки, С.И. Плотниковой и др.); описание процессов развития и эволюции нервной системы; рекомендуемая литература. Сайт представлен на русском и английском языках. Создаваемый Атлас по охвату групп животных и строгому систематизированному подходу является уникальным в нашей стране и в мире. Электронная база данных Атласа дает возможность дополнять материалы по всем его разделам. Организация коллекций гистологических препаратов в нашем Атласе позволяет использовать его как комплексную базу для научных исследований и образовательного процесса разных уровней сложности.

Ключевые слова: нервная система, оцифрованные изображения, коллекции гистологических препаратов, биоразнообразие, общеобразовательный сайт.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №15-29-02650).

В последнее десятилетие всё более важным становится системный подход к решению задач во всех областях науки. Проведение экспериментальных биомедицинских, биотехнологических, фармакологических и экологических исследований требует наличия информации о нормальном состоянии и естественном разнообразии основных структур и функциональных систем организмов. В последние годы ассортимент востребованных модельных объектов расширяется, всё активнее начинают использоваться различные беспозвоночные животные, низшие позвоночные, разные стадии эмбрионального и личиночного развития. Поиск необходимой информации по различным группам животных среди огромного массива выходящих научных статей требует значительных затрат времени и усилий. В связи с этим растет потребность в упорядочивании и объединении существующих и вновь получаемых данных по биологии, фармакологии, экологии и медицине. Одним из эффективных решений этой проблемы является создание систематизированных тематических баз данных.

В настоящее время во многих российских научно-образовательных учреждениях собраны и хранятся уникальные коллекции микроскопических препаратов, изготовленных основоположниками сравнительной морфологии, эмбриологии и физиологии, их учениками и последователями и использованных в классических и современных работах. Эти коллекции непрерывно пополняются и расширяются. Они включают препараты нервных и мышечных тканей, целых мелких животных – представителей широкого ряда беспозвоночных и позвоночных животных как взрослых форм, так и зародышевых стадий. Структурирование и объединение имеющегося материала в единую общедоступную базу оцифрованных морфологических данных необходимо для бережного



ЗАЙЦЕВА
Ольга Викторовна
Зоологический институт РАН



ВОРОНЕЖСКАЯ
Елена Евгеньевна
Институт биологии развития
им. Н.К. Кольцова РАН

сохранения и упрощения доступа к информации о разнообразии организации животных, собранных в различных географических зонах России от Баренцева моря и Арктики до Дальнего Востока. Существующие в настоящее время сходные зарубежные базы данных содержат ограниченный набор объектов, при этом доступ к информации зачастую предоставляется только зарегистрированным пользователям.

Целью нашей работы была организация структурированной базы данных о строении центральной и периферической нервной системы, сенсорных органов, нейромышечных взаимоотношений, деталей строения нервных и нейросекреторных клеток у модельных представителей беспозвоночных и позвоночных животных. Для реализации такого междисциплинарного проекта были объединены усилия и опыт коллектива специалистов: биологов различных специализаций, специалистов по микроскопии и информационным технологиям. В результате удалось реализовать идею о научном использовании депозитариев коллекций, интегрированных в информационные системы, провести оцифровку коллекций и размещение фактической информации в открытом доступе в интернете.

Материалы и методы

Для составления общей оцифрованной коллекции гистологических препаратов был отобран материал, наиболее полно и качественно иллюстрирующий организацию нервной и мышечной систем конкретных видов животных. Препараты, приготовленные разными методами, дополняют друг друга и дают наиболее полное представление об организации выбранных структур. В работе использованы образцы, полученные с применением комплекса классических и современных гистологических и иммуногистохимических методик, многие из которых ранее не применялись на представителях большей части выбранных для исследования групп животных.

С целью выявления локализации и морфологических особенностей основных нервных элементов, а также общей структурной организации нервных центров, рецепторных органов и иннервации мускулатуры животных представлены образцы, полученные с помощью общегистологических окрасок, путем суправитальной окраски метиленовым синим, нескольких методик импрегнации азотнокислым серебром и окраски по Нисслю. При получении препаратов беспозвоночных животных использованы оригинальные модификации импрегнации азотнокислым серебром по Гольджи – Колонье, разработанные О.В. Зайцевой специально для конкретных таксономических групп. Для демонстрации общей архитектоники нервных центров и сенсорных структур, а также для выявления медиаторной специфичности образующих их компонентов представлены препараты, полученные с помощью иммуногистохимических методов с применением антител к серотонину, нейропептидам (FMRF-амиду, нейротензину, субстанции P), ацетилхолинтрансферазе и тубулину, в сочетании со световой и конфокальной сканирующей микроскопией. Для демонстрации колокализации различных нейротрансмиттеров даны препараты, полученные путем двойного или тройного мечения. Распределение катехоламинов в нервной системе иллюстрировано препаратами, полученными с помощью флуоресцентных гистохимических методов выявления (конденсация с глиоксиловой кислотой или формальдегид-глутаром). Для демонстрации организации мускулатуры использованы препараты, полученные с помощью гистохимического метода эпифлуоресценции фаллоидина, позволяющего выявить миофибриллы мышц. Препараты с двойным маркированием фаллоидином и антителами к нейротрансмиттерам позволили проиллюстрировать особенности нейромышечных взаимоотношений и иннервацию мускулатуры стенки тела и внутренних органов животных. С целью иллюстрации общей анатомической и/или гистологической организации определенных отделов нервной системы для части объектов даны препараты, окрашенные классическими гистологическими методами: гематоксилином и эозином, железным гематоксилином по Гейденгайну, по Маллори и др. При необходимости, например, для уточнения тонких деталей исследуемых отделов нервной системы животных, привлечены оцифрованные фотографии препаратов, полученных с помощью электронной микроскопии.

Нейрогистологические методы импрегнации серебром являются классическими методами исследования нервной системы. С их помощью были получены результаты, сыгравшие важную роль в формировании современных представлений о citoархитектонике и нейрональных взаимоотношениях в ЦНС, экстеро- и интрарецепторных системах, а также в нервной систе-

ме пищеварительного тракта позвоночных животных. На беспозвоночных эти методы в мировой практике применялись в последнее время редко, поскольку трудны для воспроизведения и требуют тщательной отработки условий проведения реакции для каждого нового объекта исследования. Гистохимические методики можно считать традиционными в области исследований нервной системы, они дают адекватную морфологическую картину общего расположения регуляторных элементов. Иммуногистохимические методики обладают более узкой специфичностью, что позволяет уточнить результаты гистохимических реакций и картировать расположение отдельных нервных и эндокринных клеток. Двойное и тройное флуоресцентное маркирование нервных и мышечных элементов в сочетании с конфокальной сканирующей микроскопией является современным общепризнанным подходом к изучению комплексной взаимосвязи нервной и мышечной систем и дает наиболее полное представление об их пространственной организации и взаимоотношениях.

Следует отметить, что максимальная глубина сканирования обычного конфокального микроскопа составляет в среднем около 60–70 мкм, а большинство выбранных нами для изучения объектов имеет достаточно крупные размеры, включая как отдельных животных, так и части их тела и органы. Поэтому получение тотальных препаратов нервной и мышечной систем немертин, моллюсков, кишечнорастворимых и асцидий требует определенного подхода. Для дальнейшего улучшения полученного на микроскопе сигнала использован целый ряд алгоритмических методов обработки изображений (деконволюция, методы улучшения контрастности изображения и др.). В процессе работы над Атласом усовершенствована и доработана методика трехмерной реконструкции биологических объектов с применением как специализированных программ для биомедицинских исследований (Avizo, Amira, Slicer), так и стандартных программных пакетов для обработки изображений и трехмерных реконструкций (Photoshop, Maya, 3D Max, Imaris). Комплексное применение указанных методик позволило построить морфологические реконструкции самого высокого качества и получить ранее недоступную информацию о мышечной и нервной системах исследуемых объектов.

Оцифровка препаратов производилась на профессиональном оборудовании: микроскопах фирм Leica, Zeiss и Keyence BZ-9000, оснащенных соответствующим программным обеспечением. После оцифровки коллекционный материал представлен сериями (стеками) фотографий, полученных при различных гистологических и иммуноцитохимических окрасках

нервных и мышечных элементов. Часть образцов для лучшего восприятия структур и их взаимодействий представлена в виде трехмерных реконструкций или анимированных рядов стеков. Для получения реконструкций использованы стандартные программные пакеты обработки и анализа изображений. Реконструкции создавались как в автоматическом, так и в ручном режиме – при помощи сегментации (выделения областей на фотографиях) различных структур. Это дает возможность в дальнейшем наиболее информативные трехмерные реконструкции представлять в виде анимаций или в интерактивной форме, дающей возможность поворота объектов и выделения различных структур на реконструкции. Оцифрованные фотографии оригинальных препаратов снабжены описанием на русском и английском языках.

Веб-сайт проекта размещен на веб-портале Зоологического института РАН. Программная платформа – Microsoft Internet Information Services v. 10.0. Сервер баз данных – Microsoft SQL Server v. 2016 SP1.

Результаты и обсуждение

В процессе создания «Атласа по нейроморфологии животных» последовательно выполнялся ряд поставленных задач. Во-первых, была проведена систематизация имеющихся коллекций нейрогистологических препаратов, составлен список авторов коллекций, определены места хранения препаратов, разобраны коллекции постоянных препаратов, приготовленных классиками российской нейроморфологии. Проведена компоновка препаратов в тематические группы, которые затем представляются как разделы сайта. К каждой тематической группе подобран начальный иллюстративный материал, написаны краткие аннотации. Составлен каталог, включающий 30 коллекций. В частности: нервные и мышечные системы

низших билатеральных животных (автор О.И. Райкова); коловраток (авторы Е.А. Котикова, О.И. Райкова); мшанок (автор К.В. Шунькина); гистологические препараты нервной системы немуртин (автор О.В. Зайцева); брюхоногих моллюсков (автор О.В. Зайцева); две коллекции кольчатых червей (авторы Ю.П. Лагутенко и Г.А. Невмывака); взрослых погонофор (академик А.В. Иванов и др.); эмбриологические препараты погонофор (академик А.В. Иванов, М.А. Гуреева); головной мозг рыб, амфибий (автор Д.К. Обухов). Среди представленных коллекций пять являются наследием классиков сравнительной зоологии и нейроморфологии беспозвоночных животных: академика А.В. Иванова, М.А. Гуреевой, О.В. Бубко, академика А.А. Заварзина, С.И. Плотниковой, Г.А. Невмываки и Ю.П. Лагутенко.

Во-вторых, разработана унифицированная схема описания препаратов, относящихся к разным группам животных, для размещения их в базе данных. При описании информационных материалов были учтены следующие характеристики: данные об организациях – местах хранения препаратов (Зоологический институт РАН, Санкт-Петербургский государственный университет, Институт биологии развития, Институт биологии моря); физические идентификаторы препаратов (номер коробки, номер препарата); типы препаратов и конкретные методы их изготовления; стадии развития (яйцо, эмбрион, личинка, ювенильная особь, взрослая особь); описание органов; ключевые слова; данные о файлах с оцифрованными изображениями; текстовые описания; области применения организмов в качестве модельных объектов (биоиндикация, физиология, биология развития, биотехнология, токсикология); типы изображений (серии, фотографии, проекции, аннотированные изображения); персональные данные об авторах; таксономические справки.

Каждый конкретный препарат, представляющий определенную коллекцию, был описан согласно вышесприведенным характеристикам.

В-третьих, разработан план базы данных препаратов, позволяющий проводить постепенное ее заполнение. Очень важным оказалось привлечение на этом этапе специалистов по информатике, что позволило привести все собранные биологические данные в форму, позволяющую составить оптимальную схему корректного и емкого представления препаратов из базы данных на сайте, который будет в дальнейшем доступен пользователям. Установлены связи между разделами базы данных, позволяющие проводить поиск необходимой информации с разных страниц сайта. Проведено оформление главной страницы сайта и начальных страниц основных разделов сайта, а также краткое и развернутое описание всех коллекций.

По мере заполнения разделов сайта создан аннотированный атлас, отражающий закономерности и особенности эволюционного и онтогенетического становления и развития, пластичность и консервативность описанных систем у представителей Acoela, Plathelminthes, Rotifera, Nemertini, Mollusca, Annelida, Bryozoa, Echinodermata, Insecta и Craniata. Первая страница «Атласа по нейроморфологии животных» и его оглавление представлены на *рис. 1* и *рис. 2*.

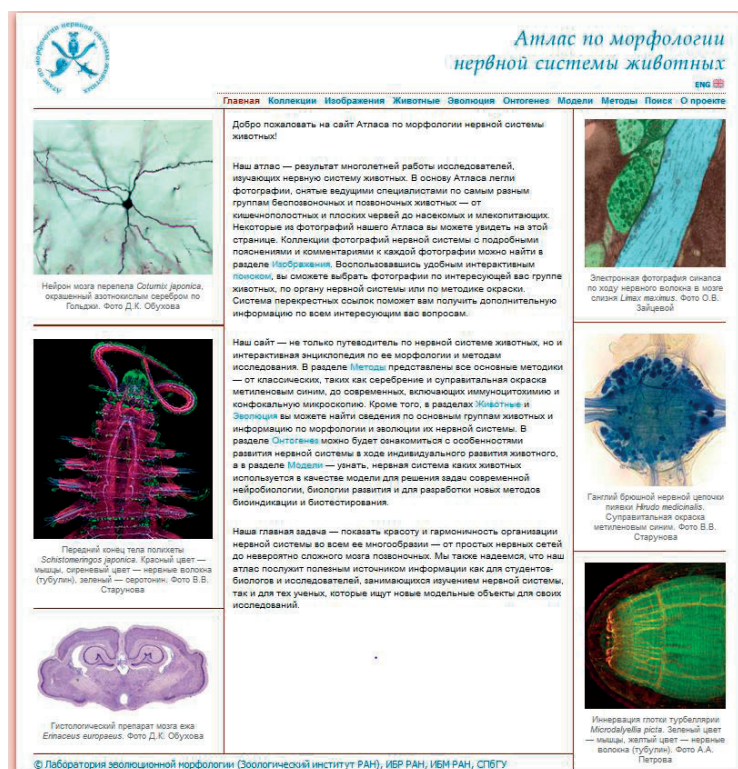


Рис. 1. Первая страница сайта «Атлас по нейроморфологии животных» (<https://www.zin.ru/projects/neuromorphology/>). Сайт организован как путеводитель по нервной системе животных и интерактивная энциклопедия по ее морфологии, эволюционному и онтогенетическому развитию, методам исследования и использованию в качестве модельных объектов для нейробиологии, биологии развития и биотехнологий.

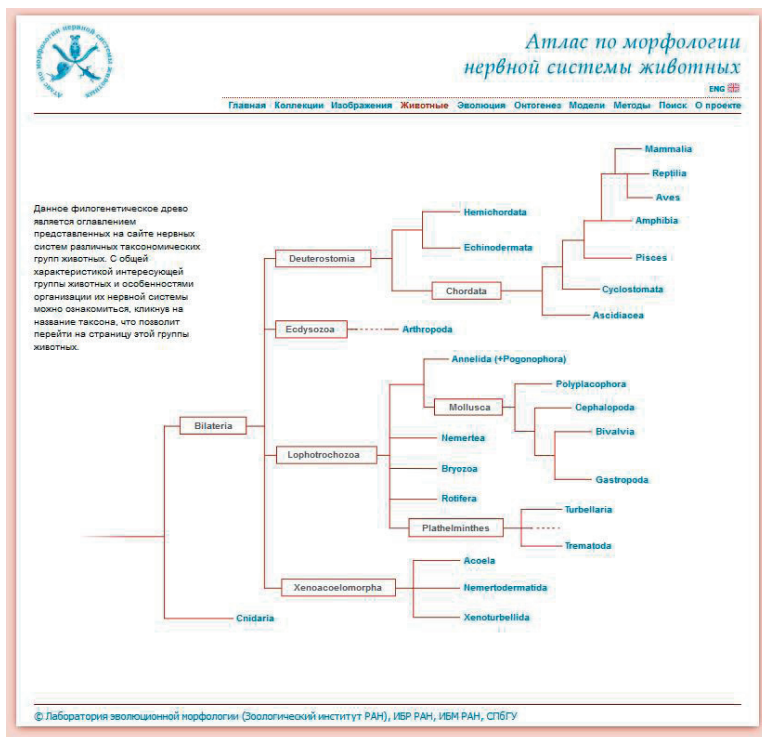


Рис. 2. Организация представленных на сайте данных о нейроморфологии разных групп животных. Каждая кнопка является активной, при клике на нее можно перейти на страницу, где представлены характеристики интересующей группы.

Рис. 3. Пример представления коллекций на сайте. Показано краткое описание конкретной коллекции. При выборе определенного раздела идет переход к его полному содержанию. Полный состав содержания приведен в тексте статьи.

Каждый раздел 30 тематических баз данных (пример см. на рис. 3), в которых собраны оцифрованные гистологические и иммуноцитохимические препараты, дополнен пояснительными текстами и обобщающими

схемами. Они дают представление об общей организации и особенностях строения основных отделов нервной системы, сенсорных структурах и нейромусcularных взаимоотношениях у разных по уровню организации и систематической принадлежности представителей беспозвоночных и позвоночных животных. Описаны оцифрованные препараты как эмбриональных стадий, так и дефинитивных структур нервной системы и сенсорных структур представителей широкого ряда таксономических групп животных. Особое внимание в базе данных уделено видам, зарекомендовавшим себя как перспективные модельные объекты для исследований в области нейробиологии, биологии развития и экологии, при разработке методов биотестирования и биоиндикации, используемые в качестве модельных объектов для фармакологии и экотоксикологии (рис. 4).

Много времени заняла работа по отбору препаратов из каждой коллекции, наиболее качественно отражающих особенности организации нервной системы и специфику используемых методов. Тщательно выбирался также участок препарата и увеличение для последующего фотографирования. Большая работа была проделана по аннотированию полученных изображений с препаратов и заведению их полного описания в базу данных по унифицированной форме.

Каждый из основных участников проекта принял участие в написании текстовых материалов для соответствующих разделов Атласа. Все разделы были дополнены списками рекомендуемой литературы.

В настоящее время в рамках осуществления государственных проектов и проектов РФФИ в России начато создание нескольких баз данных. В основе каждого такого проекта лежит структурирование и описание коллекций, собранных в ведущих учебных и научно-образовательных учреждениях. В каждом конкретном случае используются материалы определенной направленности. Материал

нашего сайта «Атлас по морфологии нервной системы животных» структурирован таким образом, чтобы дать максимально полное представление о многообразии нервных систем широкого спектра видов беспозвоночных и позвоночных животных. Соответствующим образом организована и база данных, в которую участники проекта планомерно заносят иллюстративную и текстовую информацию. Организация собственно самого сайта сконфигурирована таким образом, чтобы показать закономерности эволюционного и индивидуального развития животных на примере нервных систем.

Сходная информация размещается в немецкой базе данных по общей морфологии животных (<https://www.morphdbase.de>) [1]. Она также содержит информацию по строению представителей многих групп животных, как позвоночных, так и беспозвоночных. Однако этот сайт представляет собой именно хранилище данных, которые при этом не объединены никакой системой представлений и достаточно разрозненны. Другое собрание морфологического материала – база данных, размещенная на сайте NeuroMorpho.Org. В отличие от наших материалов в ней сконцентрированы данные о деталях клеточного строения, организации именно самих нервных клеток на разных уровнях. NeuroMorpho.Org не содержит информацию об организации, цитоархитектонике, закономерностях онто- и филогенетического развития нервной системы в целом, невозможно в ней найти и особенности распределения нейротрансмиттеров, нейромодуляторов, а также информацию о нейромышечных взаимоотношениях. Японская база данных «Invertebrate brain platform» (<https://invbrain.neuroinf.jp/modules/htmldocs/IVBPF/Top/index.html>) [2] представляет широкий спектр беспозвоночных моделей, используемых в сравнительных исследованиях и при обучении. В этой базе, в отличие от нашего Атласа, значительный упор сделан на моделях, полезных для инженерных

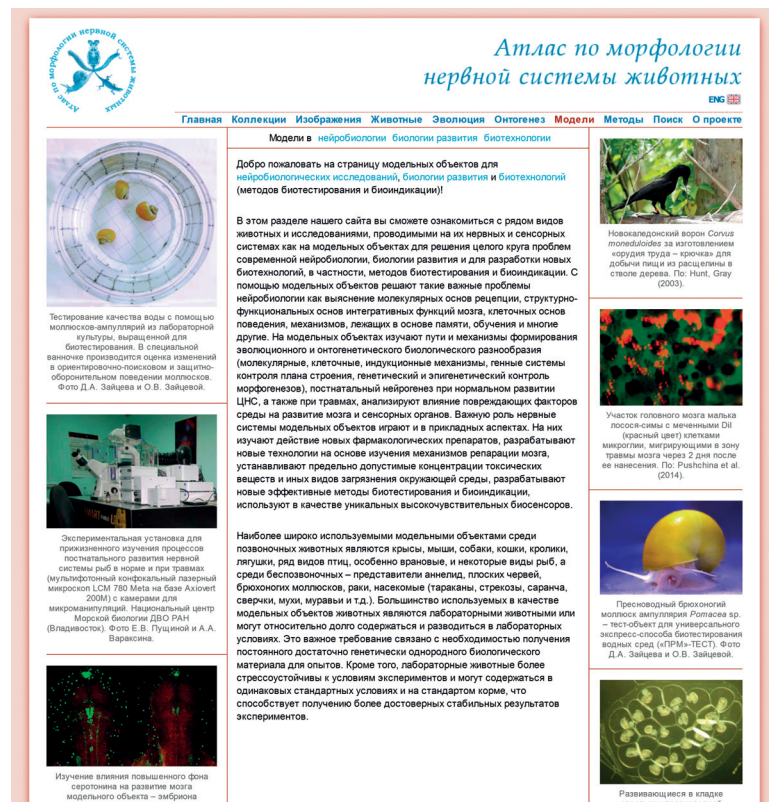


Рис. 4. Пример представления раздела по модельным животным. Дано введение в тематику, краткое текстовое описание. При выборе определенного животного идет переход к описанию его использования в биотехнологических, биомедицинских или экологических работах.

разработок и применения биоинженерных решений. Возможно, именно поэтому в японской базе данных значительно шире, чем в нашей, представлены членистоногие животные. Сформированная нами база по некоторым параметрам сходна с упомянутой выше японской, например, включает общую характеристику групп животных (таксономическое положение, общую организацию, экологические и поведенческие особенности). Однако в отличие от перечисленных баз текстовая информация у нас подана с акцентом на связи этих характеристик со строением нервной системы. Существуют также другие ресурсные атласы. Но часть из них ограничивается информацией только по нервной системе человека или модельных видов млекопитающих [3, 4], или, например, по дрозофиле [5]. В отличие от прочих баз у нас дано развернутое описание каждой коллекции, на основе которой представлен материал. Как и во всех прочих коллекциях, каждый препарат снабжен индивидуальным номером, положением в коллекции и данными автора, представившего материал. В дополнение к этому в нашей базе сформирован отдельный раздел, посвященный авторам препаратов, в котором особое внимание уделено автобиографиям классиков российской нейроморфологии. Этот раздел в настоящее время дополнен биографиями перечисленных ученых, списками их основных трудов,

а также уникальными библиографическими публикациями и малоизвестными работами. Так, оцифрованы и выложены в базе данных в электронном виде уникальные библиографические издания: книга Г.А. Невмываки, посвященная жизни и работе академика А.А. Заварзина, его коллег и учеников, «Алексей Алексеевич Заварзин», а также книга ученика Заварзина, Ю.А. Орлова «Заварзин в Перми». Выложена также одна из интереснейших работ А.А. Заварзина которая была издана уже после его смерти небольшим тиражом. Выделение такого раздела является уникальным именно для нашей базы данных.

Отдельным разделом в нашей базе идет развернутое описание методов приготовления препаратов и методологических подходов к исследованию нервной системы. Эту информацию можно получить, находясь на любом уровне сайта, что, на наш взгляд, является чрезвычайно важным не только для понимания иллюстративного материала, но также для его практического использования в научной и научно-образовательной деятельности. Кроме этого, каждый раздел дополнен списком рекомендуемой литературы, а в некоторых случаях и полными текстами статей, позволяющими более подробно ознакомиться с представленными методиками и анализом полученных с их применением результатов. Это также представляется нам важным, так как многие статьи, особенно прошлого века, написанные классиками российской нейроморфологии и сравнительной зоологии, являются уникальными и в настоящее время недоступны через сеть Интернет. Благодаря такому комплексному подходу созданная нами база данных коллекций микроскопических препаратов «Атлас по морфологии нервной системы животных» не только соответствует уровню лучших мировых аналогов, но и уникальна по имеющемуся коллекционному материалу.

Свободный доступ к информации в глобальной сети, представление большей части информации на русском и английском языках дает возможность представителям мировой научной общественности использовать накопленный материал для фунда-

ментальной науки, образовательных программ и прикладных биотехнологических разработок.

Все вместе описанные особенности созданного «Атласа по морфологии нервной системы животных» представляют пользователю не просто набор данных, подобный собранию музея, по которому посетитель бродит самостоятельно, а посещение продуманно спланированных музейных залов, в каждом из которых находится внимательный экскурсовод, готовый всегда дать подробные квалифицированные пояснения по интересующему вопросу. Подобная организация позволяет использовать наш Атлас и собранные в нем коллекции гистологических препаратов как комплексный перспективный ресурс для научных исследований и образовательного процесса самого разного уровня сложности.

Проект создания базы данных «Атлас по морфологии нервной системы животных» (расположен на базе сервера ЗИН РАН, сайт <https://www.zin.ru/projects/neuromorphology/>) поддержан грантом РФФИ №15-29-02650 и сделан с использованием оборудования ресурсных центров «Хромас» и «Развитие молекулярных и клеточных технологий» научного парка СПбГУ, а также Центра коллективного пользования «Таксон» Зоологического института РАН и ЦКП ИБР имени Н.К. Кольцова РАН (<http://www.idbras.ru>). Работа выполнялась в рамках темы Госзадания ЗИН РАН №АААА-А19-119020690076-7 и Госзадания ИБР РАН №0088-2019-0005.

Литература

1. *Morph-D-Base*. (<https://www.morphdbase.de>).
2. *Comparative Neuroscience Platform (CNS-PF)*. (https://cns.neuroinf.jp/index.php?ml_lang=en).
3. *BrainMaps.org*. (<http://brainmaps.org>).
4. *The Brainnetome Centre, Institute of Automation, Chinese Academy of Sciences*. (<http://www.brainnetome.org>).
5. *Virtual Fly Brain. A hub for Drosophila melanogaster neural anatomy and imaging data*. (<http://www.virtualflybrain.org>).

English

Open Neuromorphological Database as a Promising Resource for Research Investigation and Educational Process*

Olga V. Zaitseva
 Zoological Institute, RAS
 1, Universitetskaya Emb.,
 St.-Petersburg, 199034, Russia
 ovzaitseva@inbox.ru

Elena E. Voronezhskaya
 Koltzov Institute of Developmental
 Biology, RAS
 26, Vavilov Str., Moscow, 119334, Russia
 elena.voronezhskaya@idbras.ru

Abstract

The intensive development of neuroscience in recent years requires the systematization of new knowledge, its incorporation into existing classical ideas and presentation in a modern digital format. Employees of the institutions of the Russian Academy of Sciences and Universities (ZIN RAS, IBR RAS, St. Petersburg State University) create an interactive “Atlas on Animal Neuromorphology”, where the collections of annotated preparations of the nervous system of animals of different taxonomic groups and geographical zones of Russia are cataloged and consolidated into a compressed information base. In addition, there are sections in the Atlas: methods for studying the nervous system; characterization of animal groups; biographies of the classics of Russian neuromorphology (A.A. Zavarzin, G.A. Nevmyvaka, S.I. Plotnikova, etc.); description of the development and evolution of the nervous system; recommended literature. The website is presented in both Russian and English. The Atlas being created in terms of coverage of animal groups, a rigorous systematic approach is unique in our country and in the world. The electronic database of Atlas makes it possible to supplement the materials in all its sections. Such an organization allows us to use our Atlas and the collections of histological preparations presented in it as a comprehensive base for scientific research and the educational process of various complexity levels.

Keywords: nervous system, digital images, histological collections, biodiversity, education open access site.

*The work was financially supported by RFBR (project 15-29-02650).

Images & Tables

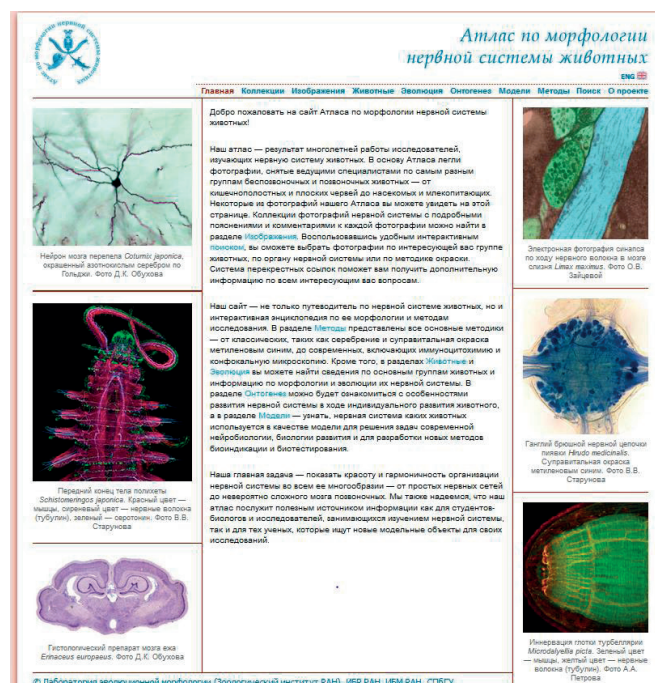


Fig. 1. First page of the interactive “Atlas of animal neuromorphology” (<https://www.zin.ru/projects/neuromorphology/>). The website is organized as a guide to the nervous system of animals and an interactive encyclopedia on its morphology, evolutionary and ontogenetic development, research methods as well as use of some representative species as model objects for neurobiology, developmental biology and biotechnology.

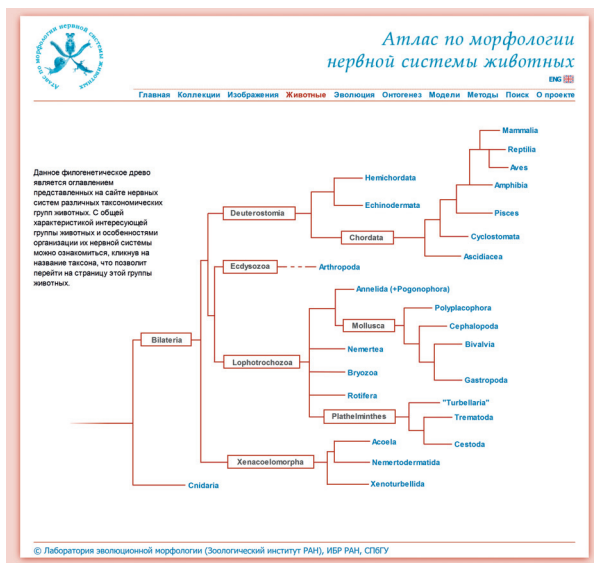


Fig. 2. Principal organization of neuromorphological data about various animals groups on the site. Each button is active; clicking on it, you can go to the page where the characteristics of the selected group are presented.

Атлас по морфологии нервной системы животных

Главная Коллекция Изображения Животные Эволюция Онтогенез Модели Методы Поиск О проекте

Нервная и мышечная системы и эмбриональные стадии развития икандрии *Polyrodium hydrotiforme* (Cnidaria, Polyrodosida)

1 Коллекция включает около 1000 постоянных гистологических препаратов эмбриональных стадий развития *Polyrodium hydrotiforme*, описанных традиционными гистологическими методами. Эта часть коллекции создана на базе ИБЦ РАН и передана на хранение в ЗИИ РАН. В коллекции входят также препараты с помощью конфокальной лазерной микроскопии изображения нервной системы и мышечных элементов временных препаратов: синапсов нервной системы, сорганизованных с помощью иммуноцитохимических методов выявления нервных клеток, содержащих серотонин, 5-НТФ, в ткани гистологического препарата с помощью флуоресцентной микроскопии. Эта часть коллекции создана на базе ЦИТ и ТАСИИ ЗИИ РАН. Изображения хранятся на сервере ЗИИ РАН (Лаборатория эволюционной морфологии) и у автора.

Полное описание коллекции: Автор(ы) коллекция: Е.В. Райкова

Нервная и мышечная системы низших билатеральных животных *Хеликозоидоиды*

2 Коллекция представляет изображения временных препаратов целых животных. Изображения получены с помощью конфокальной лазерной микроскопии. При создании коллекции использованы иммуноцитохимические методы выявления нервных элементов, содержащие серотонин и 5НТФ, в ткани гистологического препарата мышц с помощью флуоресценции. Коллекция содержит изображения центральной и периферической нервной системы, а также нервовых элементов в 10 видах животных, относящихся к 5 семействам и 3 классам Хеликозоидоиды. Работа сделана в Аю Нахати (Иран). Изображения хранятся на сервере ЗИИ РАН (Лаборатория эволюционной морфологии) и у автора.

Полное описание коллекции: Автор(ы) коллекция: О.И. Райкова, Е.А. Колесова

Fig. 3. An example of collections presentation on the website. A brief description of the specific collection is shown. If you select a specific section, there is a transition to its full content. The full content is given in the text of the article.

Атлас по морфологии нервной системы животных

Главная Коллекция Изображения Животные Эволюция Онтогенез Модели Методы Поиск О проекте

Модели в нейробиологии биологии развития биотехнологии

Добро пожаловать на страницу модельных объектов для нейробиологических исследований, биологии развития и биотехнологий (методы биотестирования и биомаркировки!)

В этом разделе нашего сайта вы сможете ознакомиться с рядом видов животных и исследований, проводимых на их нервной и сенсорной системах как на модельных объектах для решения целого круга проблем современной нейробиологии, биологии развития и для разработки новых биотехнологий, в частности, методов биотестирования и биомаркировки. С помощью модельных объектов решаются такие важные проблемы нейробиологии как выяснение молекулярных основ реакции, структурно-функциональных основ интегративных функций мозга, клеточных основ поведения, механизмов, лежащих в основе памяти, обучения и многих других. На модельных объектах изучают пути и механизмы формирования эволюционного и онтогенетического биологического разнообразия (молекулярные, клеточные, индукционные механизмы, генные системы контроля гомеостаза строения, генетический и эпигенетический контроль морфогенеза), постнатальный нейрогенез при нормальном развитии ЦНС, а также при травмах, анализируют влияние повреждающих факторов среды на развитие мозга и сенсорных органов. Важную роль играют системы модельных объектов и в прикладных аспектах. На них изучают действие новых фармакологических препаратов, разрабатывают новые технологии на основе изучения механизмов репарации мозга, устанавливают предельно допустимые концентрации токсических веществ и иных видов загрязнения окружающей среды, разрабатывают новые эффективные методы биотестирования и биомаркировки, используют в качестве уникальных высокочувствительных биосенсоров.

Наиболее широко используемыми модельными объектами среди позвоночных животных являются крысы, мыши, собаки, кошки, кролики, лягушки, ряд видов птиц, особенно воробьиные, и некоторые виды рыб, а среди беспозвоночных – представителиannelid, плоские черви, брюхоногие моллюсков, раки, насекомые (тараканы, стрекозы, саранга, сверчки, мухи, муравьи и т.д.). Большинство используемых в качестве модельных объектов животных являются лабораторными животными или могут относительно долго содержаться и разводиться в лабораторных условиях. Это важное требование связано с необходимостью получения постоянного достаточно интенсивно стандартизованного биологического материала для опытов. Кроме того, лабораторные животные более стрессоустойчивы к условиям экспериментов и могут содержаться в одинаковых стандартных условиях и на стандартном корме, что способствует получению более достоверных стабильных результатов экспериментов.

Тестирование качества воды с помощью моллюсков-ампулярий на лабораторной установке, выработанной для биотестирования. В специальной ванночке производится оценка изменений в ориентировочно-поведенческом и защитно-оборонительном поведении моллюсков. Фото Д.А. Зайцева и О.В. Зайцевой.

Экспериментальная установка для прерывистого изучения процессов постнатального развития нервной системы рыб в норме и при травмах (мультифазный конфокальный лазерный микроскоп LSM 780 Meta на базе Aliovert 200M) с камерами для микрофотографии. Научно-исследовательский центр морской биологии ИВЭ РАН (Владивосток). Фото Е.В. Пучковой и А.А. Варламова.

Изучение влияния повышенного фона серотонина на развитие мозга модельного объекта – эмбриона австралийской рыбы *Danio rerio*. Повышение концентрации серотонина биологически дифференцирует серотонинергические нейроны (зеленые) в воде. Слева – эмбрион после обработки дробящимся флуоресцентным серотонином. Справа – контроль без обработки серотонином. Фото Е.И. Ивашкина.

Новорожденный ворон *Corvus leucohalox* за 40 минут до появления птенца – крошки для добычи пищи на расчистке в створе дерева. По Hunt, Gray (2003).

Участок головного мозга малой лососевки с метками 5НТ (красный цвет) клетками микроглия, мигрирующими в зону травмы мозга через 2 дня после ее нанесения. По Рыбальской et al. (2014).

Приспособленный брюхоногий моллюск-ампулярий *Lymnaea stagnalis* – тест-объект для универсального экспресс-способа биотестирования водных сред (ТРИМ-ТЕСТ). Фото Д.А. Зайцева и О.В. Зайцевой.

Развивающаяся в клетке зародыши протоскопидной лавочковой личинки *Neobornia glauca* (капушка) – модельный объект биологии развития для изучения влияния на эмбриональные нейроморфогенез и факторы окружающей среды. Фото Е.Е. Воронковой.

© Лаборатория эволюционной морфологии (Зоологический институт РАН), ИБР РАН, СПбГУ

Fig. 4. An example of the section about model animals. The introduction to the subject and brief text description are presented. When choosing a particular animal, the transition is made to the description of its use as biotechnological, biomedical or ecological objects.

References

1. Morph-D-Base. (<https://www.morphdbase.de>).
2. Comparative Neuroscience Platform (CNS-PF). (https://cns.neuroinf.jp/index.php?ml_lang=en).
3. BrainMaps.org. (<http://brainmaps.org>).
4. The Brainnetome Centre, Institute of Automation, Chinese Academy of Sciences. (<http://www.brainnetome.org>).
5. Virtual Fly Brain. A hub for *Drosophila melanogaster* neural anatomy and imaging data. (<http://www.virtualflybrain.org>).

Выделение типовых образцов сосудистых растений, хранящихся в Гербарии имени М.Г. Попова (NSK) Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, оцифровка и размещение фактической информации в открытом доступе в интернете*

С.В. Овчинникова, О.Д. Никифорова, И.Н. Шеховцова, В.И. Трошкина

В ходе выполнения проекта выделены все типовые образцы, хранящиеся в Гербарии имени М.Г. Попова (NSK), оцифрованы 904 типовых и аутентичных гербарных образца с разрешением 600 dpi форматом А3 на специализированном сканере HerbScan, с оформлением сопроводительного материала в электронном виде и размещением фактической информации в открытом доступе в интернете на двух континентах: в Европе, в Венской базе данных «Virtual Herbaria» (<http://herbarium.univie.ac.at>), и в Америке, на портале Jstor (<http://plants.jstor.org>). Проведена лектотипификация названий 74 таксонов из семейств Rosaceae, Fabaceae, Rosaceae, Boraginaceae, Scrophulariaceae, Caryophyllaceae, Papaveraceae, Fabaceae, Geraniaceae, Primulaceae, Ranunculaceae в соответствии с требованиями Международного кодекса номенклатуры для водорослей, грибов и растений. Описаны 14 новых для науки таксонов, типовые образцы которых дополнили коллекцию типов Гербария NSK. Результаты исследований опубликованы в 56 работах в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах и представлены на 12 международных и 2 всероссийских конференциях. Выполнение этих исследований обеспечило создание каталога типовых образцов сосудистых растений Гербария имени М.Г. Попова (NSK).

Ключевые слова: типовые образцы, лектотипификация, Гербарий имени М.Г. Попова (NSK), виртуальные коллекции, «Virtual Herbaria», Jstor.

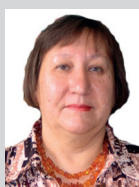
*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №15-29-02429).

В начале 1950-х гг. к ботаническому изучению побережий озера Байкал приступил только что организованный в г. Иркутске Восточно-Сибирский филиал АН СССР. Богатая флора региона оставалась необследованной, требовалось глубокое и всестороннее изучение флористического состава, географического распространения видов, решение вопросов их происхождения и развития. Осу-

ществлению этих задач посвятил последние годы своей жизни выдающийся ботанико-географ и систематик Михаил Григорьевич Попов (1893–1955) (рис. 1). В 1951 г. он основал в Отделе биологии Восточно-Сибирского филиала лабораторию флоры и геоботаники и Гербарий в ее составе, который в знак уважения к ученому был назван его именем. За пять лет, с 1951 по 1955 г., М.Г. Попов и его ученики в многочисленных маршрутах и экспедициях вдоль побережий озера Байкал собрали обширные уникальные коллекции растений, которые составили основу Гербария.



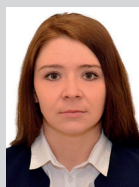
ОВЧИННИКОВА
Светлана Васильевна
Центральный сибирский
ботанический сад СО РАН



НИКИФОРОВА
Ольга Дмитриевна
Центральный сибирский
ботанический сад СО РАН



ШЕХОВЦОВА
Ирина Николаевна
Центральный сибирский
ботанический сад СО РАН



ТРОШКИНА
Виктория Игоревна
Центральный сибирский
ботанический сад СО РАН

В Гербарии имени М.Г. Попова (NSK) сосредоточены уникальные аутентичные материалы из коллекций основателя гербария профессора М.Г. Попова, выдающихся сибирских ботаников Л.И. Малышева, Г.А. Пешковой, Л.В. Бардунова, Н.С. Водопьяновой и многих других исследователей флоры России. Типовая коллекция включает материалы, выделенные при создании крупных монографий «Флора Средней Сибири», «Высокогорная флора Восточного Саяна», «Степная флора Байкальской Сибири»; крупных коллективных проектов: «Высокогорная флора Станового нагорья» и «Флора Путорана», «Флора Центральной Сибири» и многотомного издания «Флора Сибири»; последующих аналитических обработок и теоретических обобщений, выполненных сотрудниками лаборатории систематики высших сосудистых растений ЦСБС СО РАН. История становления гербария и его типовой коллекции подробно описана нами ранее [1–4].

В последние годы все большее значение придается созданию виртуальных гербариев и специальных каталогов типовых образцов растений как международных ресурсов для изучения биоразнообразия и проведения таксономических исследований. В России уже выпущены каталоги типов, хранящихся в Гербариях Московского государственного университета (МГУ, г. Москва, MW), Ботанического института имени В.Л. Комарова (БИН РАН, г. Санкт-Петербург, LE), Санкт-Петербургской лесотехнической академии (КФТА). В Гербарии MW хранится более миллиона гербарных образцов [5]. Оцифрованный гербарий доступен на сайте <https://plant.depo.msu.ru/>. В Гербарии LE проводится работа по выделению типовых образцов Сибири и



Рис. 1. Михаил Григорьевич Попов.

Дальнего Востока России [6–7]. Гербарий LE насчитывает 7 160 000 листов, это крупнейшая гербарная коллекция России (<http://www.binran.ru/collections>). Оцифровка типовых образцов проводится, но заполнение базы данных гербарных коллекций с открытым доступом через интернет осуществляется крайне медленно из-за технических проблем. Международная база «Virtual Herbaria» на сайте Венского университета (<http://herbarium.univie.ac.at/database/search.php>) объединяет виртуальные коллекции типовых образцов 37 гербариев из ботанических учреждений Европы, Азии, Южной Америки. Существенные преимущества этой базы данных заключаются в том, что она содержит полную информацию о гербарной этикетке, к ней подключен геолокационный модуль и точки сбора гербарных образцов можно увидеть на карте (рис. 2). Российские коллекции представлены шестью гербариями: SARAT (3), HERZ (200), KFTA (3721), LECB (2628), NS (64), NSK (831). Самая большая международная база данных оцифрованных типовых гербарных листов, объединяющая 300 гербарных коллекций из 75 стран мира, размещена на портале Jstor (<https://plants.jstor.org/collection/TYPSPE>), она содержит свыше 2 889 000 образцов [8–10].

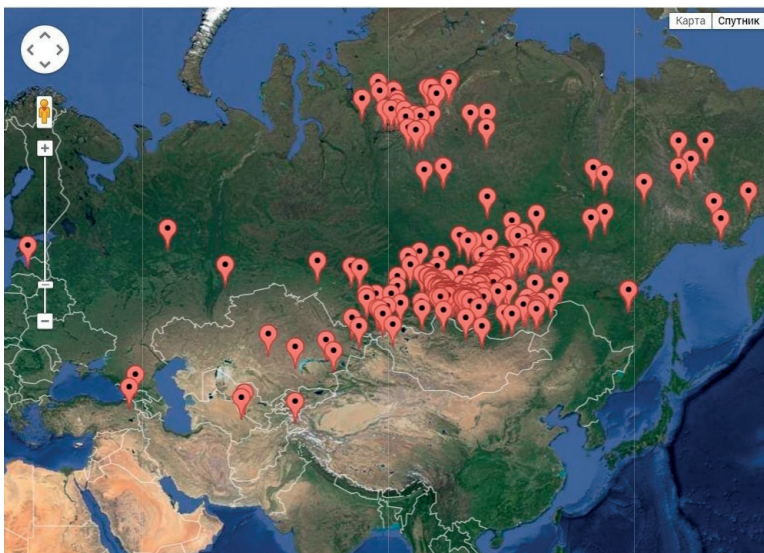


Рис. 2. Карта «locus classicus» типовых образцов NSK в базе данных «Virtual Herbaria» (спутниковый снимок).

В 2014 г. ЦСБС СО РАН присоединился к международному проекту и стал партнером Global Plants Initiative (GPI). При финансовой поддержке фонда Andrew W. Mellon (грант №41300650) был получен специализированный сканер гербарных образцов HerbScan 266. Фонд оплатил стажировку и обучение сканированию типовых образцов по международным стандартам GPI, обработке изображения, проверке качества сканирования, заполнению международных баз данных виртуальных гербариев. В 2015 г. при поддержке РФФИ были продолжены исследования по анализу коллекции, выделению типовых образцов, оцифровке и публикации полученных данных.

Проект был направлен на решение фундаментальной проблемы изучения и сохранения биологического разнообразия растений Сибири, основанного на познании выделенных эталонных образцов, именуемых в систематике типами.

В ходе выполнения проекта за период 2015–2018 гг. выделены все типовые образцы, хранящиеся в Гербарии NSK, обработаны по принятой ранее схеме, оцифрованы и большей частью выложены в сети Интернет. При этом решены вопросы по поиску части первоначального материала таксонов, описанных в Сибири, во время командировок в Гербарии LE, MW, Национального исследовательского Томского государственного университета (ТГУ, г. Томск, ТК), Главного ботанического сада РАН (ГБС, г. Москва, МНА), Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (СИФИБР СО РАН, г. Иркутск, IRK), Института биологических проблем криолитозоны СО РАН (г. Якутск, SASY), Кузбасского ботанического сада Института экологии человека Федерального исследовательского центра угля и углекислоты СО РАН (ИЭЧ ФИЦ УУХ, г. Кемерово, KUZ). В полном соответствии с планами сделано следующее:

- 1) изучены литературные источники, в которых описаны новые виды и внутривидовые таксоны (протологи);
- 2) на основе протолога уточнено типовое местонахождение таксона;
- 3) установлены соответствия «locus classicus» этикеткам ранее выделенных типовых образцов либо осуществлены поиск в общих фондах Гербария образцов, собранных автором названия таксона в классическом местонахождении, и включение этих образцов в типовую коллекцию Гербария имени М.Г. Попова (NSK);
- 4) проведена идентификация почерка на этикетке типового образца с почерком автора названия таксона или цитированного этим автором коллектора;
- 5) определены категории типовых образцов в соответствии с правилами Международного кодекса номенклатуры для водорослей, грибов и растений – International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress in Shenzhen, China, July 2017 (ICN) [11];
- 6) по результатам проведенного исследования составлены описания для каждого таксона, которые включают данные о базииониме, номенклатурную ссылку, цитату «locus classicus», современное таксономическое положение таксона, категорию типового образца, гербарную этикетку и примечания;
- 7) проведены работы по оформлению и монтировке типового гербарного материала по единому образцу в соответствии с требованиями международного стандарта с размещением штрих-кода с порядковым номером гербарного листа и акронима Гербария NSK, цветовой и масштабной шкалы. Методика подробно описана в работе [12];
- 8) проведена оцифровка 904 типовых и аутентичных гербарных образцов 340 таксонов из 116 родов и 38 семейств: Poaceae (102), Asteraceae (94), Fabaceae (104), Boraginaceae (78), Rosaceae (88), Papaveraceae (46), Ranunculaceae (40), Caryophyllaceae (42), Cyperaceae (46), Alliaceae (22), Polygonaceae (24), Portulacaceae (22), Geraniaceae (17), Saxifragaceae (14), Apiaceae (14), Brassicaceae (12), Scrophulariaceae (11), Primulaceae (9), Violaceae (9), Asparagaceae (4) и др. с разрешением 600 dpi форматом A3 на специализированном сканере HerbScan, с оформлением сопроводительного материала в электронном виде и размещением фактической информации в открытом доступе в интернете на двух континентах: в Европе, в базе данных «Virtual Herbaria» (<http://herbarium.univie.ac.at/database/results.php?s=s&page=52>)

для 831 образца, и в Америке, на портале Jstor (<http://plants.jstor.org/>), для 580 образцов.

При монографическом изучении систематики и филогении представителей семейств Boraginaceae, Caryophyllaceae, Superaceae, Poaceae, Geraniaceae, Primulaceae, Scrophullariaceae на территории Азиатской части России для исполнителей, выполнявших проект, типификация названий таксонов является одним из важных этапов работы [13–16]. Проведение типификации названий таксонов рода *Geranium* L. было одной из главных задач при выполнении аспирантской работы В.И. Трошкиной [17].

При выполнении проекта проведена лектотипификация названий 74 таксонов из семейств Poaceae (8), Fabaceae (7), Rosaceae (3), Boraginaceae (17), Superaceae (5), Caryophyllaceae (5), Geraniaceae (9) и Primulaceae (13) в соответствии с требованиями ICN [11].



Рис. 3. Реликтовый вид *Hedysarum zundukii* Peschkova на берегу озера Байкал.



Рис. 4. Эндемичный вид *Oxytropis poroviana* (Peschkova) Peschkova в Прибайкалье.

В Гербарии NSK были выделены 34 лектотипа, 47 изолектотипов, 1 изоэпитип, 1 неотип, 121 голотип, 184 изотипа, 462 паратипа, 19 синтипов и 35 аутентиков. К наиболее значимым относятся материалы по крупным семействам Poaceae, Fabaceae, Rosaceae, Boraginaceae и Superaceae. Исполнителями проекта опубликованы сведения о типовом материале 36 таксонов семейства Poaceae, хранящихся в NSK. Из коллекций выделены 104 типовых образца, в том числе 7 изолектотипов, 15 голотипов, 24 изотипа, 1 синтип и 49 паратипов, найдены 7 аутентиков. Выбраны лектотипы названий 8 таксонов: *Festuca chionobia* T.V. Egorova et Sipliv., *Hierochloa glabra* Trin. subsp. *chakassica* Peschkova, *Poa altaica* Trin. f. *subtilis* Malyshev, *P. barguzinensis* Popov, *P. botryoides* (Trin. ex Griseb.) Roshev. var. *glauccissima* Popov, *P. botryoides* var. *pendula* Popov (NSK) и лектотипы *Elymus pallidissimus* (Popov) Peschkova, *Festuca popovii* E.B. Alexeev (LE). Вместо двух невалидных таксонов предложено описание нового вида *Bromopsis malyshevii* N. Vlassova [4]. Опубликованы сведения о типовом материале 27 таксонов семейства Fabaceae, хранящемся в NSK, LE, MW. Из коллекций выделены 134 типовых образца, в том числе 9 лектотипов, 18 изолектотипов, 16 голотипов, 31 изотип, 2 синтипа, 52 паратипа и 6 аутентиков. Обозначены лектотипы названий 9 таксонов: *Astragalus chorinensis* Bunge var. *popovii* Peschkova, *Oxytropis adenophylla* Popov, *O. ircutensis* Popov, *O. oxyphylla* (Pall.) DC. var. Popov, *O. oxyphyllodes* Popov, *O. peschkovae* Popov, *O. tompudae* Popov, *Hedysarum dahuricum* (Turcz.) B. Fedtsch. var. *roseum* Peschkova, *Trifolium lupinaster* L. var. *pumilum* Popov [18, 19].

Типовая коллекция NSK включает голотипы и лектотипы 154 таксонов, что указывает на ее оригинальность. Коллекция включает типовые образцы уникальных



Рис. 5. Голотип *Vicia macrantha* Jurtzev subsp. *olchonensis* Peschkova (NSK0000423).

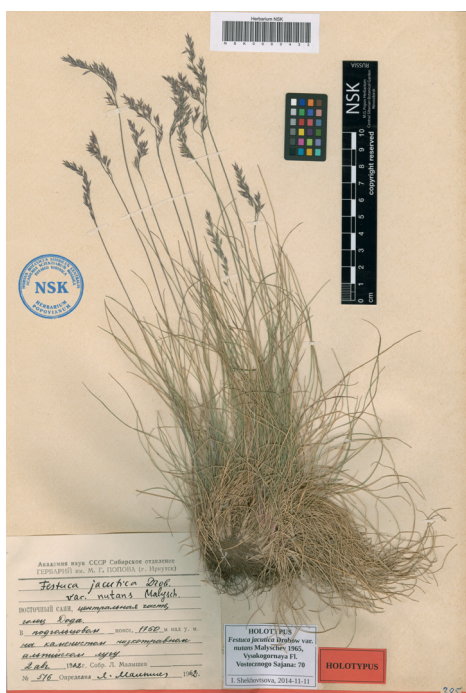


Рис. 6. Голотип *Festuca malyshevii* E.B. Alexeev (*Festuca jacutica* Drobow var. *nutans* Malyshev) (NSK0000433).

реликтовых (*Hedysarum zundukii* Peschkova (рис. 3), *Megadenia bardunovii* Popov, *Mannagettaea ircutensis* Popov (= *M. humilis* H. Smith), *Vicia tsydenii* Malyshev) и эндемичных таксонов (*Oxytropis adenophylla* Popov, *O. bargusinen-sis* Peschkova, *O. peschkovae* Popov, *O. popoviana* (Peschkova) Pesch-

kova (рис. 4), *O. tompudae* Popov, *Vicia macrantha* Jurtzev subsp. *olchonensis* Peschkova (рис. 5), *Aconogonon bargusinese* (Peschkova) J. Soják, *Potentilla ozjorensis* Peschkova, *Dracocephalum jacutense* Peschkova, *Eritrichium baicalense* Popov ex Ovczinnikova, *E. aldanense* Ovczinnikova), описанных с побережий озера Байкал, из гор Восточного Саяна, Верхоянского хребта, Станового нагорья, плато Путорана, Алданского нагорья и из других труднодоступных районов Сибири.

В настоящее время в коллекции Гербария NSK хранятся типовые образцы 70 таксонов из семейств Fabaceae, Boraginaceae, Asteraceae, Papaveraceae, Poaceae, Salicaceae, описанных М.Г. Поповым из Байкальской Сибири. Типовые образцы таксонов, описанных в монографии «Конспект флоры побережий озера Байкал», являются уникальными и хранятся только в Гербарии NSK [4, 18–23]. Из 84 таксонов, описанных профессором, доктором биологических наук Г.А. Пешковой, в Гербарии NSK представлены лектотипы, изолектотипы, голотипы, изотипы и паратипы 57 таксонов, в том числе 34 видов и 5 подвидов [3–4, 18–23]. Леонид Иванович Малышев – профессор, доктор биологических наук, один из крупнейших исследователей и организаторов изучения флоры Сибири, выдающийся ученый в области сравнительной флористики, систематики высших растений, ботанической географии и флорогенетики обнаружил более 30 новых таксонов из семейств Poaceae, Cyperaceae, Primulaceae, Ericaceae [4, 10, 24]. В основном выявленные типы относятся к таксонам, описанным Л.И. Малышевым с хребтов горной системы Восточного Саяна (рис. 6), изучением высокогорной флоры которой он занимался в течение многих лет [1].

В ходе выполнения проекта лектотипы названий таксонов ведущих семейств были обозначены в крупнейших российских и зарубежных хранилищах мира: LE, TK, MW, MHA, NS, VLA, Пражского национального музея (Narodni museum, Praha, PR), в коллекции Muséum National d’Histoire Naturelle, Paris, France (P), Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem (B). Впервые опубликован голотип *Myosotis involucrata* Stev. (= *Trigonocaryum involucratum* (Stev.) Kusn.) (*Boraginaceae*) из Гербария Ботанического музея Университета Хельсинки (H1614236) [13]. Проведена типификация 14 таксонов рода *Primula*, описанных А.Р. Франше в конце XIX века и хранящихся в Гербариях P, G, LE, K, E, BM. Для 11 таксонов выделены лектотипы, обнаружены изолектотипы и синтипы [25]. Аутентичный материал Й. Мейера по *Geranium pseudosibiricum* J. Mayer обнаружен в гербарии PR. Обозначен

лектотип названия *G. pseudosibiricum*, приведены цитаты оригинальных этикеток и протолога [26]. Пересмотрена лектотипификация названия *Carex ledebouriana* С.А. Мей. ex Trevir. (*Cyperaceae*). Доказано, что лектотип названия *C. ledebouriana* (LE01006839!) не может быть принят согласно ICN. На этом гербарном листе смонтированы растения, принадлежащие двум разным сборам, отсутствует оригинальная этикетка коллектора и не указано конкретное место сбора. В качестве нового лектотипа выбран сбор К.Ф. Ледбура с вызревшими плодами (LE01006841) [27]. Таксономические исследования позволили продолжить типификацию названий в семействе *Boraginaceae*. Обозначены лектотипы названий *Arnebia guttata* Bunge, *Echinosperrum cristatum* Bunge, хранящихся в коллекции Р, и лектотипы названий *Echinosperrum consanguineum* Fisch. et С.А. Мей., *Lithosperrum cornutum* Ledeb., *Rochelia leiocarpa* Ledeb., *Solenanthes circinnatus* Ledeb., хранящихся в LE. В результате ревизии Гербариев LE, МНА, МАГ, NSK для *Tianschaniella umbellulifera* В. Fedtsch. ex Popov, *Trigonotis olgae* В. Fedtsch. и *Eritrichium ochotense* Jurtz. et Khokhr. обозначены лектотипы, указаны изолектотипы, синтипы и паратипы [28, 29]. Впервые публикуются сведения о типовых образцах названий 12 таксонов рода *Mertensia* Roth (*Boraginaceae*), которые хранятся в секторе Сибири и Дальнего Востока Гербария LE, в том числе о четырех голотипах и семи лектотипах [30].

В ходе выполнения проекта были описаны 14 новых для науки таксонов, в том числе виды *Puccinellia tzvelevii* Ovczinnikova et Prob. (*Poaceae*) с Дальнего Востока России [31]. В семействе *Boraginaceae* описаны два новых для науки вида: *Craniospermum desertorum* Ovczinnikova et A. Korolyuk и *C. pseudotuvanicum* Ovczinnikova et A. Korolyuk, обнаруженных в Монголии. Описание новых видов обосновано проведением молекулярно-генетического анализа [14, 32]. В результате критического изучения гербарного материала азиатских видов рода *Myosotis* из секции *Alpestres* в гербариях NSK, NS, LE, SASU, собранных в высокогорьях Верхоянского хребта и прилегающих отрогов хребта Сунтар-Хаята (Республика Саха (Якутия)), описан новый вид *Myosotis verchojanica* O.D. Nikif., а также новый вид *M. kazakhstanica* O.D. Nikif., найденный на территории Республики Казахстан [33, 34]. Описаны виды *Geranium igoschinae* Troschkina (рис. 7), найденный на территории Урала и *G. malyshchevii* Troschkina (*Geraniaceae*) по материалам Л.И. Малышева, собранным на хребтах Восточного Саяна [15, 16], а также ряд разновидностей из

семейства *Caryophyllaceae* [35]. Выделенные типовые образцы пополнили коллекцию типов Гербария NSK.

Результаты исследований опубликованы в 56 публикациях: в 41 статье в рецензируемых отечественных журналах «Ботанический журнал», «Turczaninowia», «Систематические заметки по материалам Гербария имени П.Н. Крылова Томского государственного университета», «Растительный мир Азиатской России», «Ученые записки ЗабГУ» и «Новости систематики высших растений», и в международных журналах «Тахон»,



Рис. 7. Голотип *Geranium igoschinae* Troschkina (NSK0000707).

«Adansonia», «Willdenowia», «Botany Letters», «Skvortsovia»; а также представлены на 12 международных и 2 всероссийских конференциях. Принята к печати одна монография. Выполнение этих исследований обеспечило создание каталога типовых образцов сосудистых растений Гербария имени М.Г. Попова (NSK). Обнародованные данные облегчат создание монографий и флористических сводок, работ по природоохранной тематике и могут стать полезными при выполнении проекта «Флора России».

Новизна нашего исследования определяется широким применением средств компьютерной обработки данных и созданием оцифрованных изображений гербарных образцов высокого качества с разрешением 600 dpi по международным стандартам, что позволяет использовать этот уникальный материал для решения фундаментальных и практических задач, интегрировать фактические данные в информационные системы по сохранению и изучению биоразнообразия. Наши исследования сделали ценнейшие дан-

ные доступными для отечественных и зарубежных ученых, а также обеспечивают сибирским ботаникам научный приоритет в мире в этой области.

Благодарности

Выражаем искреннюю признательность Л.З. Лукмановой за сканирование типовых гербарных образцов на Herbscan 266 и к. б. н. Н.К. Ковтонок за создание виртуальной коллекции типовых образцов Гербария имени М.Г. Попова (NSK). В статье использовался материал Биоресурсной коллекции ЦСБС СО РАН «Гербарий высших сосудистых растений, лишайников и грибов (NS, NSK)», УНУ №USU 440537.

Литература

1. **В.М. Доронькин**
Ботан. журн., 2011, **96**(4), 533.
2. **С.В. Овчинникова**
Растительный мир Азиатской России, 2011, №1(7), 99.
(<http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2011-1/99.pdf>).
3. **С.В. Овчинникова**
В Сб. *Ботанические коллекции – национальное достояние России*, под ред. Л.А. Новиковой, РФ, Пенза, Изд-во ПГУ, 2015, с. 127–129.
4. **С.В. Овчинникова, О.Д. Никифорова, В.М. Доронькин, Н.В. Власова, И.Н. Шеховцова, Е.А. Пинженина**
Растительный мир Азиатской России, 2016, №1(21), 48.
(<http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2016-1/48.pdf>).
5. **А. Seregin**
Тахон, 2016, **65**(1), 205. DOI: <https://doi.org/10.12705/651.29>.
6. *Каталог типовых образцов сосудистых растений Сибири и Российского Дальнего Востока, хранящихся в Гербарии Ботанического института им. В.Л. Комарова (LE)*. Ч. 1, РФ, Москва – С.-Петербург, Товарищество научных изданий КМК, 2012, 443 с.
7. *Каталог типовых образцов сосудистых растений Сибири и Российского Дальнего Востока, хранящихся в Гербарии Ботанического института им. В.Л. Комарова (LE)*. Ч. 2, РФ, Москва – С.-Петербург, Товарищество научных изданий КМК, 2018, 500 с.
8. **G. Nelson, D. Paul, G. Riccardi, A.R. Mast**
ZooKeys, 2012, 209, 19. DOI: 10.3897/zookeys.209.3135.
9. **R. Deidre**
Тахон, 2016, **65**(6), 1465. DOI: 10.12705/656.38.
10. **Н.К. Ковтонок**
Растительный мир Азиатской России, 2017, №1(25), 98.
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2017-1(98-104).
11. **N.J. Turland, J.H. Wiersema, F.R. Barrie, W. Greuter, D.L. Hawksworth, P.S. Herendeen, S. Knapp, W.-H. Kusber, D.-Z. Li, K. Marhold, T.W. May, J. McNeill, A.M. Monro, J. Prado, M.J. Price, G.F. Smith**
International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code), ad. XIX International Botanical Congress (China, Shenzhen, July 2017), 2018. DOI: 10.12705/Code.2018.
12. **Н.К. Ковтонок**
Растительный мир Азиатской России, 2015, №3(19), 88.
(<http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2015-3/88.pdf>).
13. **О.Д. Никифорова**
Ботан. журн., 2017, **102**(5), 662.
DOI: 10.1134/S0006813617050064.
14. **J. Chacon, F. Luebert, H. Hilger, S. Ovchinnikova, F. Selvi, L. Cecchi, C.M. Williams, K. Hasenstab-Lehman, K. Sutory, M.G. Simpson, M. Weigend**
Тахон, 2016, **65**(3), 523. DOI: 10.12705/653.6.
15. **В.И. Трошкина**
Растительный мир Азиатской России, 2016, №3(23), 22.
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2016-3(22-32).
16. **В.И. Трошкина**
Растительный мир Азиатской России, 2017, №3(27), 22.
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2017-3(22-33).
17. **В.И. Трошкина**
Автореф. дис. канд. биол. наук, ЦСБС СО РАН, РФ, Новосибирск, 2019, 17 с.
18. **О.Д. Никифорова**
Сист. заметки, 2016, №113, 26.
DOI: 10.17223/20764103.113.2.
19. **С.В. Овчинникова, Е.А. Пинженина**
Растительный мир Азиатской России, 2018, №4(32), 37.
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2018-4(37-50).
20. **Н.К. Ковтонок, I.V. Belyaeva**
Skvortsovia, 2015, **2**(2), 126.
(<http://skvortsovia.uran.ru/2015/2203.pdf>).
21. **О.Д. Никифорова**
Растительный мир Азиатской России, 2016, №2(22), 14.
(<http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2016-2/14.pdf>).
22. **И.В. Хан**
Растительный мир Азиатской России, 2016, №3(23), 41.
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2016-3(41-54).
23. **С.В. Овчинникова, И.Н. Шеховцова, Е.А. Пинженина**
Растительный мир Азиатской России, 2018, №2(30), 9.
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2018-2(9-20).
24. **И.Н. Шеховцова**
Растительный мир Азиатской России, 2018, №3(31), 42.
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2018-3(42-52).
25. **Н.К. Ковтонок**
Adansonia, Sér. 3, 2017, **39**(2), 129. DOI: 10.5252/a2017n2a4.
26. **В.И. Трошкина**
Растительный мир Азиатской России, 2016, №2(22), 21.
(<http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2016-2/21.pdf>).

Images & Tables



Fig. 1. Mikhail Grigorevich Popov.

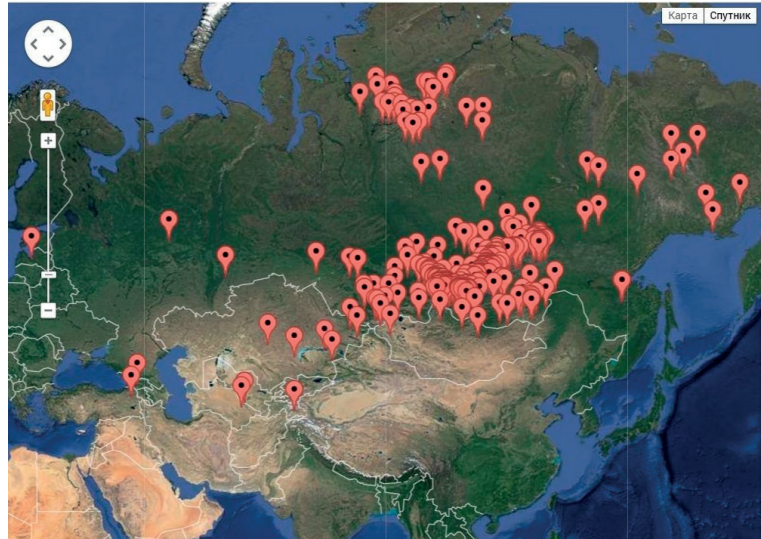


Fig. 2. Map of "locus classicus" of NSK type specimens in the "Virtual Herbaria" database (satellite imagery).



Fig. 3. Relict species *Hedysarum zundukii* Peschkova on the shore of Lake Baikal.



Fig. 4. Endemic species *Oxytropis popoviana* (Peschkova) Peschkova in the Baikal region.

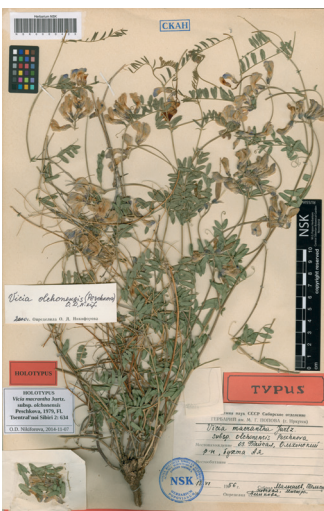


Fig. 5. Holotype of *Vicia macrantha* Jurtzev subsp. *olchonensis* Peschkova (NSK0000423).

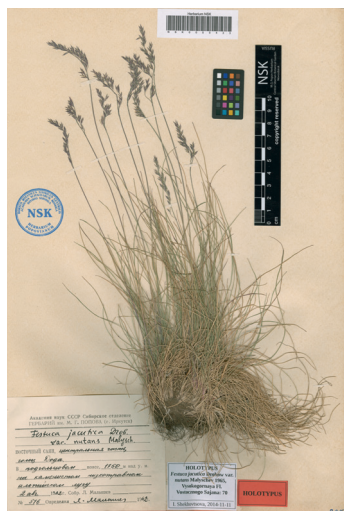


Fig. 6. Holotype of *Festuca malyshevii* E.B. Alexeev (*Festuca jacutica* Drobow var. *nutans* Malyshev) (NSK0000433).



Fig. 7. Holotype of *Geranium igoschinae* Troschkina (NSK0000707).

References

1. **V.M. Doronkin**
Botanicheskii Zhurnal [Botanical J.], 2011, **96**(4), 533 (in Russian).
2. **S.V. Ovchinnikova**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2011, №1(7), 99 (in Russian).
(<http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2011-1/99.pdf>).
3. **S.V. Ovchinnikova**
In *Botanicheskie kollekcii – natsionalnoe dostojanie Rossii [Botanical Collections – National Property of Russia]*, 2015, pp. 127–129 (in Russian).
4. **S.V. Ovchinnikova, O.D. Nikiforova, V.M. Doronkin, N.V. Vlasova, I.N. Shekhovtsova, E.A. Pingenina**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2016, №1(21), 48 (in Russian).
<http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2016-1/48.pdf>.
5. **A. Seregin**
Taxon, 2016, **65**(1), 205. DOI: <https://doi.org/10.12705/651.29>.
6. *Catalogue of the Type Specimens of the Vascular Plants from Siberia and the Russian Far East Kept in the Herbarium of Komarov Botanical Institute (LE)*, Part 1, [Katalog tipovykh obrazzov sosudistykh rasteniy Sibiri i Rossiyskogo Dalnego Vostoka, khranyashchikhsya v Gerbarii Botanicheskogo instituta im. V.L. Komarova (LE). Ch. 1], RF, Moscow – St.-Petersburg, KMK Scientific Press, 2012, 443 pp. (in Russian).
7. *Catalogue of the Type Specimens of the Vascular Plants from Siberia and the Russian Far East Kept in the Herbarium of Komarov Botanical Institute (LE)*, Part 2, [Katalog tipovykh obrazzov sosudistykh rasteniy Sibiri i Rossiyskogo Dalnego Vostoka, khranyashchikhsya v Gerbarii Botanicheskogo instituta im. V.L. Komarova (LE). Ch. 2], RF, Moscow – St.-Petersburg, KMK Scientific Press, 2018, 500 pp. (in Russian).
8. **G. Nelson, D. Paul, G. Riccardi, A.R. Mast**
ZooKeys, 2012, 209, 19. DOI: 10.3897/zookeys.209.3135.
9. **R. Deidre**
Taxon, 2016, **65**(6), 1465. DOI: 10.12705/656.38.
10. **N.K. Kovtonyuk**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2017, №1(25), 98 (in Russian).
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2017-1(98–104).
11. **N.J. Turland, J.H. Wiersema, F.R. Barrie, W. Greuter, D.L. Hawksworth, P.S. Herendeen, S. Knapp, W.-H. Kusber, D.-Z. Li, K. Marhold, T.W. May, J. McNeill, A.M. Monro, J. Prado, M.J. Price, G.F. Smith**
International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code), ad. XIX International Botanical Congress (China, Shenzhen, July 2017), 2018. DOI: 10.12705/Code.2018.
12. **N.K. Kovtonyuk**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2015, №3(19), 88 (in Russian).
(<http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2015-3/88.pdf>).
13. **O.D. Nikiforova**
Botanicheskii Zhurnal [Botanical J.], 2017, **102**(5), 662 (in Russian).
DOI: 10.1134/S0006813617050064.
14. **J. Chacon, F. Luebert, H. Hilger, S. Ovchinnikova, F. Selvi, L. Cecchi, C.M. Williams, K. Hasenstab-Lehman, K. Sutory, M.G. Simpson, M. Weigend**
Taxon, 2016, **65**(3), 523. DOI: 10.12705/653.6.
15. **V.I. Troshkina**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2016, №3(23), 22 (in Russian).
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2016-3(22–32).
16. **V.I. Troshkina**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2017, №3(27), 22 (in Russian).
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2017-3(22–33).
17. **V.I. Troshkina**
Abstr. PhD Thes. (Biology) [Abstr. of Dissertation for the degree of a Candidate of Byology Sci.], CSBG SB RAS, RF, Novosibirsk, 2019, 17 pp. (in Russian).
18. **O.D. Nikiforova**
Systematic Notes on the Materials of P.N. Krylov Herbarium of Tomsk State University, 2016, №113, 26 (in Russian).
DOI: 10.17223/20764103.113.2.
19. **S.V. Ovchinnikova, E.A. Pingenina**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2018, №4(32), 37 (in Russian).
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2018-4(37–50).
20. **N.K. Kovtonyuk, I.V. Belyaeva**
Skvortsovia, 2015, **2**(2), 126.
(<http://skvortsovia.uran.ru/2015/2203.pdf>).
21. **O.D. Nikiforova**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2016, №2(22), 14 (in Russian).
(<http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2016-2/14.pdf>).
22. **I.V. Han**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2016, №3(23), 41 (in Russian).
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2016-3(41–54).
23. **S.V. Ovchinnikova, I.N. Shekhovtsova, E.A. Pingenina**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2018, №2(30), 9 (in Russian). DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2018-2(9–20).
24. **I.N. Shekhovtsova**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2018, №3(31), 42 (in Russian).
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2018-3(42–52).
25. **N.K. Kovtonyuk**
Adansonia, Sér. 3, 2017, **39**(2), 129. DOI: 10.5252/a2017n2a4.
26. **V.I. Troshkina**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2016, №2(22), 21 (in Russian).
(<http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2016-2/21.pdf>).
27. **I.N. Shekhovtsova**
Willdenowia, 2018, **48**(3), 383. DOI: 10.3372/wi.48.48307.
28. **S.V. Ovchinnikova**
Novitates Systematicae Plantarum Vascularium, 2015, **46**, 164 (in Russian).
29. **S.V. Ovchinnikova**
Novitates Systematicae Plantarum Vascularium, 2018, **49**, 112 (in Russian). DOI: 10.31111/novitates/2018.49.112.
30. **O.D. Nikiforova, L.M. Raenko, I.V. Sokolova**
Turczaninowia, 2018, **21**(2), 117 (in Russian).
DOI: 10.14258/turczaninowia.21.2.13.
31. **S.V. Ovchinnikova, N.S. Probatova**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2015, №1(17), 33 (in Russian).
(<http://www.izdatgeo.ru/pdf/rast/2015-1/33.pdf>).
32. **S.V. Ovchinnikova, A.Yu. Korolyuk**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2016, №3(23), 33 (in Russian).
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2016-3(33–40).
33. **O.D. Nikiforova**
Botanicheskii Zhurnal [Botanical J.], 2017, **102**(8), 1150 (in Russian). DOI: 10.1134/S0006813617080075.
34. **O.D. Nikiforova**
Turczaninowia, 2018, **21**(3), 89 (in Russian).
DOI: 10.14258/turczaninowia.21.3.12.
35. **N.V. Vlasova**
Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii [Plant Life of Asian Russia], 2018, №3(31), 36 (in Russian).
DOI: 10.21782/RMAR1995-2449-2018-3(36–41).

**«ВЕСТНИК РОССИЙСКОГО ФОНДА
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ»
№ 2 (106) апрель–июнь 2020 года**

Формат 60x90½.

Подписано в печать 21.10.2020. Тираж 300 экз.

Усл. печ. л. 18,25. Заказ № 474

Отпечатано в обществе с ограниченной ответственностью

«Тамбовский полиграфический союз»

392000, г. Тамбов, Моршанское шоссе, 14А

Тел. 8(4752) 53-26-27

E-mail: info@tps68.ru

www.tps68.ru