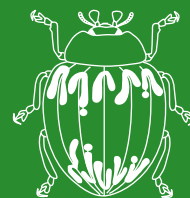




УСПЕХИ СОВРЕМЕННОЙ БИОЛОГИИ



НАУКА

— 1727 —

СОДЕРЖАНИЕ

Том 144, номер 5, 2024

К 90-летию профессора В. А. Пухальского <i>Редакционная коллегия</i>	477
Теория эволюционной роли наследуемых опухолей (<i>carcino-evo-devo</i>): история развития и современное состояние. Часть 4. Общая теория увеличения биологической сложности в прогрессивной эволюции <i>А. П. Козлов</i>	478
Концепция эволюционной эмбрионизации/дезембрионизации онтогенезов <i>И. А. Гаврилов-Зимин</i>	488
Морфофункциональные изменения структур головного мозга при депривации сна <i>В. Г. Никонорова, В. В. Криштон, С. В. Чепур, И. В. Фатеев, М. А. Юдин</i>	517
Коэволюция медоносной пчелы и человека — адаптивная эволюция двух видов <i>Р. А. Ильясов, Д. В. Богуславский, А. Ю. Ильясова, В. Н. Саттаров, А. Г. Маннапов</i>	533
Современные подходы к исследованию эффективности применения пробиотиков в аквакультуре <i>Н. И. Кочетков, Д. Л. Никифоров-Никишин, А. А. Климук, С. В. Смородинская, А. Л. Никифоров-Никишин, М. В. Марсова, А. А. Ватлин, В. А. Климов</i>	550
Организация банка биоматериалов и ДНК для популяционно-генетических исследований животных <i>В. Н. Воронкова, А. К. Пискунов, Э. А. Солошенкова, Ж. В. Самсонова, Ю. А. Столповский</i>	585

Contents

Vol. 144, No. 5, 2024

For the 90th Anniversary of Professor V. A. Pukhalsky <i>Editorial Board</i>	477
A Theory of the Evolutionary Role of Hereditary Tumors (<i>carcino-evo-devo</i>): The History and the Current State. Part. 4. A General Theory of Increasing Biological Complexity in Progressive Evolution <i>A. P. Kozlov</i>	478
The Concept of Evolutional Embryonization/Desembryonization of Ontogeneses <i>I. A. Gavrilov-Zimin</i>	488
Morphofunctional Changes in Brain Structures During Sleep Deprivation <i>V. G. Nikonorova, V. V. Chrishtop, S. V. Chepur, I. V. Fateev, M. A. Yudin</i>	517
Coevolution of Honeybees and Humans — Adaptive Evolution of Two Species <i>R. A. Ilyasov, D. V. Boguslavsky, A. Yu. Ilyasova, V. N. Sattarov, A. G. Mannapov</i>	533
Modern Approaches to Investigating the Effectiveness of Probiotics in Aquaculture <i>N. I. Kochetkov, D. L. Nikiforov-Nikishin, A. A. Klimuk, S. V. Smorodinskaya, A. L. Nikiforov-Nikishin, M. V. Marsova, A. A. Vatlin, V. A. Klimov</i>	550
Biomaterial and DNA Bank Organization for Animal Population Genetics Research <i>V. N. Voronkova, A. K. Piskunov, E. A. Soloshenkova, Y. V. Samsonova, Yu. A. Stolpovsky</i>	585



К 90-ЛЕТНЕМУ ЮБИЛЕЮ ПРОФЕССОРА В. А. ПУХАЛЬСКОГО

Девятого ноября 2024 г. мы отмечаем 90-летний юбилей известного отечественного генетика и цитогенетика растений, доктора биологических наук, профессора Виталия Анатольевича Пухальского. Его работы по изучению генов гибридной летальности у пшеницы высоко оценены международной научной общественностью, имеют большое прикладное значение. В.А. Пухальский первым обосновал и экспериментально подтвердил генетическую основу селективного оплодотворения у пшеницы, а также выполнил серию работ по изучению цитогенетических эффектов отдаленной гибридизации пшеницы. Он внес значительный вклад в развитие отечественной биотехнологии. Им впервые получены трансгенные растения, несущие ген альфа-интерферона человека. Пер-

вым в России Пухальский получил трансгенную пшеницу на основе разработанного им метода трансформации однодольных растений с использованием агробактерий. Им получены антивирусные растительные вакцины, которые до сих пор применяются в практике. Сделано многое другое. В.А. Пухальский — автор и соавтор трех монографий, более 300 научных работ, 18 учебных пособий для студентов ВУЗов, пяти авторских свидетельств и четырех патентов на изобретения.

От всей души поздравляем Вас, дорогой Виталий Анатольевич, с замечательным юбилеем и желаем Вам крепкого здоровья, счастья и творческого долголетия!

Редакционная коллегия

УДК 616-006-056

ТЕОРИЯ ЭВОЛЮЦИОННОЙ РОЛИ НАСЛЕДУЕМЫХ ОПУХОЛЕЙ (*CARCINO-EVO-DEVO*): ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ. ЧАСТЬ 4. ОБЩАЯ ТЕОРИЯ УВЕЛИЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СЛОЖНОСТИ В ПРОГРЕССИВНОЙ ЭВОЛЮЦИИ

© 2024 г. А. П. Козлов^{1, 2, 3, *}

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

² Биомедицинский центр, Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: contact@biomed.spb.ru

Поступила в редакцию 25.06.2024 г.

После доработки 25.06.2024 г.

Принята в печать 25.06.2024 г.

Новые разделы теории *carcino-evo-devo* посвящены участию опухолей в биокомпьютерных процессах, закономерностям увеличения биологической сложности и выведению формулы увеличения биологической сложности с помощью диаграмм *carcino-evo-devo*. Делается вывод о том, что новые разделы могут составить основу более общей теории — теории увеличения биологической сложности, специальной частью которой станет теория *carcino-evo-devo*.

Ключевые слова: поисковики, пространство возможностей, биокомпьютерные процессы, увеличение сложности, диаграммы *carcino-evo-devo*

DOI: 10.31857/S0042132424050011 EDN: OHFLAF

ВВЕДЕНИЕ

В самые последние годы появились новые разделы теории эволюционной роли наследуемых опухолей, посвященные диаграммам *carcino-evo-devo* (Kozlov, 2019, 2022a, 2023b), биологическим компьютерным процессам (Kozlov, 2022c) и закономерностям увеличения биологической сложности в прогрессивной эволюции (Kozlov, 2022c, 2023b, 2024). Новые разделы теории можно рассматривать как возвращение к более общим принципам, обсуждение которых было начато в наших первых теоретических статьях (Козлов, 1976, 1983; Kozlov, 1979).

В (Kozlov, 2023b) мы предложили формулу увеличения сложности организмов в прогрессивной эволюции, полученную с использованием диаграмм *carcino-evo-devo* и преобразованной диаграммы центральной догмы молекулярной биологии, развернутой в эволюционном измерении. Таким образом, был сделан шаг вперед на пути формализации закономерностей увеличения биологической сложности в прогрессивной

эволюции с использованием аппарата математической теории категорий.

Ниже мы рассмотрим эти вопросы более подробно. Для обозначения разделов используются две нумерации: нумерация разделов этой части статьи (I–III) и соответствующая сквозная нумерация разделов теории *carcino-evo-devo*, приведенная в табл. 1 из предыдущей части статьи (X–XII) (Козлов, 2024).

I (X). РОЛЬ ОПУХОЛЕЙ КАК ПОИСКОВИКОВ В ПРОСТРАНСТВЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ, УЧАСТИЕ ОПУХОЛЕЙ В БИОЛОГИЧЕСКИХ КОМПЬЮТЕРНЫХ ПРОЦЕССАХ

Мы впервые сформулировали представление об опухолях как поисковиках новых молекулярных комбинаций в разделе 10.13 нашей монографии (Kozlov, 2014). Поскольку представление о поисковиках используется компьютерными науками, нашим следующим шагом было выяснить,

какое место опухоли в качестве поисковиков занимают в биологических компьютерных процессах.

В (Kozlov, 2022c) мы рассмотрели компьютерные процессы, происходящие в природе, включая биологические компьютерные процессы. При этом было использовано представление о пространстве возможностей, впервые развитое Карлом Поппером (Popper, 1990). Мы сформулировали понятие биологического пространства возможностей, в котором происходит биологическая эволюция, и показали, что биологические компьютерные процессы осуществляются в пространстве биологических возможностей (Kozlov, 2022c).

В пространстве биологических возможностей происходит ДНК-вычисление информации о новых структурах. Процессы, происходящие в иммуноглобулиновом локусе позвоночных, являются примером ДНК-вычисления в пространстве биологических возможностей. Другим примером такого рода является возникновение эволюционно новых генов. Если только один, хотя и сложный, локус генома позвоночных может вычислить разнообразие антител, соответствующее всему разнообразию антигенов, эволюционирующий геном позвоночных может вычислить все пространство возможностей для эволюции морфологических структур позвоночных и их адаптаций к различным условиям внешней среды. Мы рассматриваем происхождение эволюционно новых генов как первоначальное ДНК-вычисление нереализованных возможностей (Kozlov, 2022c).

Эволюция генома связана с увеличением числа генов у эволюционирующих организмов. В нашей основополагающей работе (Kozlov, 1979) мы сформулировали утверждение, которое назвали принципом эволюции генетической информации: “*Progressive evolution is connected with an increase of the number of qualitatively different genes in the genomes of evolving organisms*” (Kozlov, 1979, p. 2). То есть генетическая информация у прогрессивно эволюционирующих организмов имеет тенденцию к увеличению для обеспечения увеличения структурно-функциональной сложности организмов. Связанные с этими представлениями парадоксы C-value и G-value обсуждаются в (Kozlov, 2014) и (Markov et al., 2010).

Параллельно с эволюцией генома происходит поиск пространства для экспрессии эволюционно новых генов и новых сочетаний экспрессирующихся генов (Kozlov, 2022c). Согласно теории *carcino-evo-devo* наследуемые опухоли принимают самое активное участие в этом процессе: они создают пространство возможностей — допол-

нительные клеточные массы — для экспрессии эволюционно новых генов и сочетаний генов.

В результате ДНК-вычислений генерируется информация о нереализованных биологических возможностях, которая хранится в ДНК как генетическая информация. Во время индивидуального и эволюционного развития многоклеточных организмов поиск сущностей из пространства биологических возможностей начинается с поиска в пространстве генетической информации. В существующих онтогенезах поиск необходимой генетической информации осуществляется с помощью регуляторных механизмов (Davidson, 2006). Эти механизмы оперируют в пространстве реализованных возможностей.

Особенностью эволюционного поиска новых биологических сущностей является то, что такие сущности еще не существуют. В эволюционирующих онтогенезах нужны дополнительные поисковые алгоритмы, которые могут осуществлять поиск генетической информации об эволюционных инновациях и морфологических новшествах в пространстве нереализованных возможностей.

Молекулярными механизмами, которые могли быть частью таких алгоритмов, являются генная конкуренция (Козлов, 1976; Kozlov, 1979) и стохастическая экспрессия генов (Raj, van Oudenaarden, 2008), которые уже существовали до происхождения регуляторных механизмов. Эти механизмы могли использоваться для эволюционного поиска в пространстве нереализованной генетической информации.

К клеточным и многоклеточным механизмам поиска эволюционно новых сочетаний экспрессирующихся генов, согласно теории *carcino-evo-devo*, относятся наследуемые опухоли. Стохастическая экспрессия генов является характерной для опухолевых клеток (Capp, 2011, 2017; Felts et al., 2019; Russo et al., 2021). В опухолевых клетках экспрессируются эволюционно новые гены (Kozlov, 2016, 2022d; Matyunina et al., 2019; Makashov et al., 2019). Правила совместимости серьезно отличаются в опухолях (например, эктопические синтезы (Kozlov, 2014)). Поэтому наследуемые опухоли, с их эпигенетическими особенностями, играют роль поисковиков нереализованной генетической информации. Наследуемые опухоли расширяют пространство возможностей для экспрессии эволюционно новых генов и комбинаций генов, что приводит к возникновению новых типов клеток, тканей и органов в эволюционной перспективе (Kozlov, 1996, 2010, 2014, 2019).

Итак, опухоли с присущей им пластичностью участвуют в поиске новых совместимых комбинаций генов и признаков из пространства нереализованных биологических возможностей (Kozlov, 2022c).

Принципом, в соответствии с которым происходит поиск эволюционно значимых сочетаний генов, является принцип совместимости генов (признаков), сформулированный нами в 1979 г.: *“We can thus suppose that the general principle of functional organization of the genome of both unicellular and multicellular organisms is the organization of the genome from the groups of compatible genes, with antagonistic relations between at least some genes of different compatibility groups”* (Kozlov, 1979, p. 10).

В эволюционирующих организмах продукты эволюционно новых генов должны быть совместимы с продуктами эволюционно более старых генов. Несовместимость между генами нейтрализуется путем пространственно-временного разграничения их продуктов. В многоклеточных организмах это осуществляется путем дифференцировки клеток в новых направлениях, следствием чего является происхождение новых типов клеток, тканей и органов (Козлов, 1976; Kozlov, 1979).

В результате возникает дивергентная функциональная организация генома из групп (сетей) совместимых генов, при которой несовместимые гены находятся в различных группах совместимости. Такая функциональная организация генома соответствует закономерностям онтогенеза и структурно-функциональной организации многоклеточного организма (Kozlov, 1979).

Описанные выше биокомпьютерные процессы с участием опухолей приводят к увеличению биологической сложности в процессе прогрессивной эволюции (Kozlov, 2022c).

II (XI). ПРИНЦИП УВЕЛИЧЕНИЯ СЛОЖНОСТИ

Используя терминологию Поппера, увеличение сложности происходит в пространстве возможностей и определяется предсуществующими структурами.

Мы впервые сформулировали принцип увеличения сложности в нашей работе 1979 г.: *“One of the most fundamental properties of matter is its internal capability for development, i.e. for increasing the degree of aggregation and for complication its structure. As a result of this development living matter has emerged. Living matter possesses an internal capacity for further development. The self-development of living matter is the basis of progressive biological evolution”* (Kozlov,

1979, p. 1–2). Главным в этом определении сложности является утверждение о внутренне присущей материи способности к саморазвитию и усложнению структуры, очень важное для наших будущих построений.

Увеличение сложности у живых организмов является многоуровневым процессом, который протекает относительно независимо на разных уровнях организации. Образование организмов с более высокой сложностью является результатом совпадения относительно независимых процессов, происходящих на макромолекулярном, клеточном и многоклеточном уровнях организации (Козлов, 1983; Kozlov, 1979).

Связь наследуемых опухолей с увеличением сложности организмов обсуждалась в нашей монографии в разделах 9.2, 10.6, 10.10–10.12. Основным в этом обсуждении была идея о необходимости дополнительных клеточных масс для увеличения сложности, т. е. связь избыточности и сложности. Был сделан вывод о возможности неадаптивного происхождения сложности: *“The increase in complexity of multicellular organisms may be due to non-adaptive processes, and is largely driven by nonadaptive evolutionary forces — at least at the initial stages of complexification”* (Kozlov, 2014, p. 127).

В (Kozlov, 2019) было продолжено обсуждение роли популяций организмов-опухоленосителей как переходных форм в эволюции и роли опухолей как общего механизма преодоления ограничений, связанных с развитием. Раздел *“Tumors and evo-devo”* был посвящен роли опухолей в эволюции онтогенеза. Автор писал: *“Thus, tumors may participate in evolution of ontogenesis. Participation of hereditary tumors in evolution of ontogenesis and in the origin of major evolutionary morphological novelties, or phylogenetic new formations, may become an integral part of evolutionary developmental biology, and may be called carcino-evo-devo”* (Kozlov, 2019, p. 21).

Таким образом, популяции организмов-опухоленосителей могут быть переходными формами в прогрессивной эволюции организмов к увеличению сложности (Kozlov, 1996, 2010, 2014, 2019).

В (Kozlov, 2022a,b) мы рассмотрели особенности эволюционно молодых органов и пришли к представлению об опухолеподобных органах, т. е. об относительно нестабильных эволюционно молодых органах с опухолевыми признаками, которые произошли относительно недавно с участием опухолевых процессов.

В работах (Козлов, 2023; Kozlov, 2022c, 2023a) были выделены специальные разделы, в которых рассматривался принцип увеличения сложности.

В работе (Kozlov, 2022c) мы подошли к представлениям об участии биологических компьютерных процессов в увеличении биологической сложности и дали следующее определение:

“The complexity increase in progressive evolution is realized through biological computation of the maximum number of compatible structural entities in evolving lineages of multicellular organisms. Biological computation of complexity increase involves DNA computation in the space of unrealized possibilities; stochastic gene expression and gene competition; compatibility search and incompatibility neutralization at different levels of organization; autonomous search engines and unfolding possibility spaces; unstable transitional forms and “freezing” of biologically meaningful constellations of entities, compatible within the ontogeny of multicellular organisms. The complexity of progressively evolving organisms tends to increase to a maximum and can be measured as the number of structural entities from the biological possibility space realized within the ontogeny of the multicellular organism” (Kozlov, 2022c, p. 3).

В (Козлов, 2023) увеличение сложности рассматривалось как происходящее в пространстве возможностей и определяющееся предшествующими структурами. Было дано следующее определение закона увеличения сложности в живой природе:

“В живой природе имеет место тенденция к реализации максимального числа совместимых сущностей из пространства биологических возможностей, которая осуществляется с помощью биологических компьютерных процессов и ведет к возрастанию сложности организмов в прогрессивной эволюции” (Козлов, 2023, с. 49).

В (Kozlov, 2023a) была дана схожая формулировка:

“In living nature, there is a tendency to realize the maximum number of compatible structural entities from the biological possibility space. This tendency is realized with the help of biological computational processes and autonomous search engines. The result is the increase in complexity of multicellular organisms in progressive evolution” (Kozlov, 2023a, p. 13).

Наша работа (Kozlov, 2024) уже целиком посвящена принципу увеличения сложности как фундаментальному закону природы.

В этой статье впервые в мировой литературе принцип увеличения сложности рассматривается как принцип сквозного действия от атомов до многоклеточных организмов. Впервые увеличение сложности живых организмов рассматривается как часть более общего процесса увеличения сложности, включающего неорганические уровни структурной организации — атомарный и молекулярный. Начинаясь на атомарном уровне,

закон увеличения структурной сложности действует на молекулярном и макромолекулярном уровнях, а также на уровне одноклеточных и многоклеточных организмов. Увеличение сложности очевидно на каждом из уровней структурной организации и между уровнями. Линия независимых отдельностей, участвующих в увеличении структурной сложности, следующая: атомы—молекулы—макромолекулы—одноклеточные организмы—многоклеточные организмы. Взаимодействия на различных уровнях структурной организации отличаются. В живых организмах структурная сложность становится структурно-функциональной сложностью.

Организмы представляют отличающийся от предыдущих уровень организации — структурно-функциональный уровень организации.

Организмы являются открытыми системами, и их динамическая стабильность зависит от обмена веществ и наличия источников свободной энергии. Признаки, важные для обеспечения динамической стабильности, называются функциями. Регуляция появляется одновременно с организмами и функциями. Функции и их регуляция обратными связями стабилизируют живые организмы.

В природе стабилизация за счет обратных связей впервые появляется у живых организмов.

Увеличение сложности организмов связано с возникновением новых функций и новых обратных связей. Функции становятся связанными с морфологическими структурами. Мы будем называть функции, связанные с морфологическими структурами, “структурами-функциями” (“structure-functions”).

Увеличение сложности организмов — это увеличение структурно-функциональной сложности. В организмах реализуется новый тип взаимодействий — структурно-функциональные взаимодействия. Особенностью структурно-функциональных взаимодействий является взаимодействие различных уровней структурной организации.

Увеличение структурно-функциональной сложности живых организмов является многоуровневым процессом, который состоит из совпадений относительно независимых процессов на различных структурных уровнях. Удачные совпадения стабилизируются структурно-функциональными обратными связями и сохраняются в геологическом времени благодаря дифференциальному выживанию и дифференциальному размножению (естественному отбору). Такого рода удачные совпадения называют “замороженными случаями”.

Поскольку время жизни организмов значительно короче, чем у стабильных изотопов и молекул, существование организмов в геологическом времени связано с их репродукцией. Каждое новое поколение должно выживать снова и снова. Признаки, важные для репродукции и выживания, называются адаптациями.

Избыточность (redundancy) является важным элементом процессов усложнения. Впервые об этом написали С. Оно в своей книге “Эволюция путем дубликации генов” (Ohno, 1970) для генов и мы в нашей книге “Эволюция путем неофункционализации опухолей” (Kozlov, 2014) для более высоких уровней организации.

Увеличение избыточности на отдельных уровнях структурной организации у живых организмов может не являться адаптивным. Наследуемые опухоли, до приобретения функции в результате неофункционализации, не являются адаптациями и могут быть патологиями во многих случаях. Эволюционно новые последовательности (гены) могут еще не иметь функций. Автономное увеличение избыточности на отдельных структурных уровнях может играть роль фоновых процессов, которые используются в прогрессивной эволюции.

Нестабильные переходные формы могут быть названы транзиторными, чтобы подчеркнуть их недолговечное состояние в небольших популяциях. Атипические опухолевые органы могут быть промежуточными транзиторными структурами. Организмы с атипическими опухолевыми органами могут быть “отсутствующими звеньями” (“missing links”) в палеонтологии, и их нужно искать среди ископаемых остатков.

Увеличение структурной сложности имеет место уже на атомарном и молекулярном уровнях. Поскольку атомы и молекулы не реплицируются, можно утверждать, что принцип увеличения структурной сложности является более фундаментальным принципом по отношению к естественному отбору как дифференциальному выживанию и дифференциальному размножению организмов.

Морфологические инновации и эволюционные новшества, которые приобретали функции и становились адаптивно выгодными, подвергались действию естественного отбора. То есть естественный отбор тоже участвовал в увеличении структурно-функциональной сложности организмов.

Увеличение структурной и структурно-функциональной сложности имеет свои внутренние законы, связанные в первую очередь с динамической стабильностью эволюционирующих структур. Как говорилось выше, важным прин-

ципом увеличения структурно-функциональной сложности является совместимость генов и соответствующих им признаков в онтогенезах многоклеточных организмов.

Мы полагаем, что принцип увеличения структурной и структурно-функциональной сложности может рассматриваться как фундаментальный закон природы, который реализуется при определенных условиях в некоторых областях Вселенной.

Мы также полагаем, что увеличение сложности является неотъемлемым свойством материи. Увеличение структурно-функциональной сложности в процессе прогрессивной эволюции является свойством, внутренне присущим живой материи. В этом наша теория увеличения структурно-функциональной сложности согласуется с законом градации Ламарка (Ламарк, 1935; Lamarck, 1809).

Мы считаем, что фундаментальная тенденция к увеличению структурно-функциональной сложности задает направление прогрессивной эволюции.

В (Kozlov, 2024) мы сформулировали принцип увеличения структурно-функциональной сложности с использованием терминологии биологических компьютерных процессов и представлений о многоуровневой эволюции организмов и пространстве биологических возможностей:

“In living nature, there is a tendency to realize the maximum number of compatible entities from the space of biological possibilities, which is carried out by means of biological computation and results in structural-functional complexity growth during progressive evolution of organisms. Structural-functional complexity growth is a multilevel process, which consists of frozen coincidences of the structural complexity growth events at different levels of organization in the organism as a whole” (Kozlov, 2024).

III (XII). ДИАГРАММЫ CARCINO-EVO-DEVO. ФОРМУЛА УВЕЛИЧЕНИЯ СЛОЖНОСТИ

В (Kozlov, 2019) мы предложили диаграммы, описывающие роль опухолей в эволюции развития (рис. 1a, b). Очевидно, что эти диаграммы соответствуют основным положениям (1) и (4) теории *carcino-evo-devo*, которые обсуждались в предыдущей части настоящей статьи.

Отсутствие стрелок *devo* → *evo* на *carcino-evo-devo* диаграммах (a) и (б) является важным запретом: для эволюции развития необходима переходная форма Carcino. Нормальный онтогенез не может эволюционировать из-за ограничений, связанных с развитием (developmental constraints) (Kozlov, 2019).

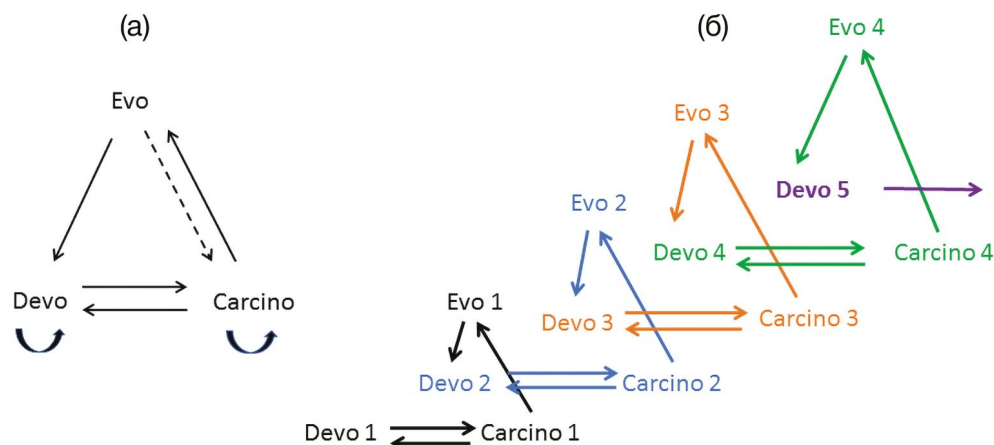


Рис. 1. Диаграммы *carcino-evo-devo*, которые показывают коэволюцию индивидуального и неопластического развития (а) и четыре последовательных шага прогрессивной эволюции с промежуточной формой Carcino (б).

(а) Основная диаграмма.

Devo — нормальные онтогенезы; Carcino — онтогенезы с наследуемыми опухолями; Evo — прогрессивная эволюция онтогенезов.

(б) Основная диаграмма, развернутая в эволюционном времени.

Devo 1 — предковый организм; Devo 2, Devo 3, Devo 4 и Devo 5 — онтогенезы с эволюционно новыми прогрессивными признаками; Carcino 1, Carcino 2, Carcino 3 и Carcino 4 — переходные формы — организмы-опухоленосители;

Evo 1, Evo 2, Evo 3 и Evo 4 — последовательные стадии прогрессивной эволюции. Стрелки обозначают участие в соответствующих процессах или существенные связи.

Изогнутые стрелки обозначают способность к репродукции.

В (Kozlov, 2022a) мы ввели диаграмму, описывающую место опухолеподобных органов и атипических опухолевых органов в эволюции развития (рис. 2). Очевидно, что эта диаграмма соответствует основному положению (3) теории *carcino-evo-devo*.

В (Kozlov, 2023b) мы вывели формулу многоуровневого ступенчатого увеличения сложности в эволюции многоклеточных организмов, которая описывает перспективные совпадения событий на разных уровнях организации, согласно теории *carcino-evo-devo* (рис. 3).

Формула (I) состоит из четырех диаграмм (i–iv), связанных математическим знаком включения $\subset$, расположенным в соответствии с положением диаграмм.

Диаграмма (i) описывает взаимодействие между процессами эволюции, протекающими на разных уровнях организации в многоклеточных организмах (Kozlov, 1979).

ММЛ — макромолекулярный уровень организации; СЛ — клеточный уровень организации; МСЛ — многоклеточный уровень организации.

Стрелки в $\text{ММЛ} \rightleftharpoons \text{СЛ} \rightleftharpoons \text{МСЛ}$ обозначают структурно-функциональные взаимодействия между уровнями и обратные связи между процессами эволюции, протекающими на разных уровнях организации.

Диаграмма (ii) — это диаграмма *carcino-evo-devo*, описывающая взаимодействия между неопластическим (Carcino), эволюционным (Evo), и индивидуальным (Devo) типами развития (по: Kozlov, 2019, с изменениями).

Диаграмма (iii) представляет модифицированную диаграмму центральной догмы, описывающую эволюцию генома и экспрессии генов (Kozlov, 2023b).

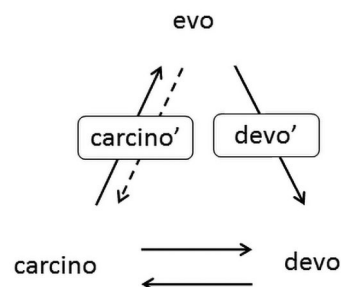


Рис. 2. Диаграмма *carcino-evo-devo*, описывающая опухолеподобные органы и атипические опухолевые органы (по: Kozlov, 2022a, с изменениями).

devo — нормальные онтогенезы; carcino — онтогенезы с наследуемыми опухолями; devo' — опухолеподобные органы; carcino' — атипические опухолевые органы.

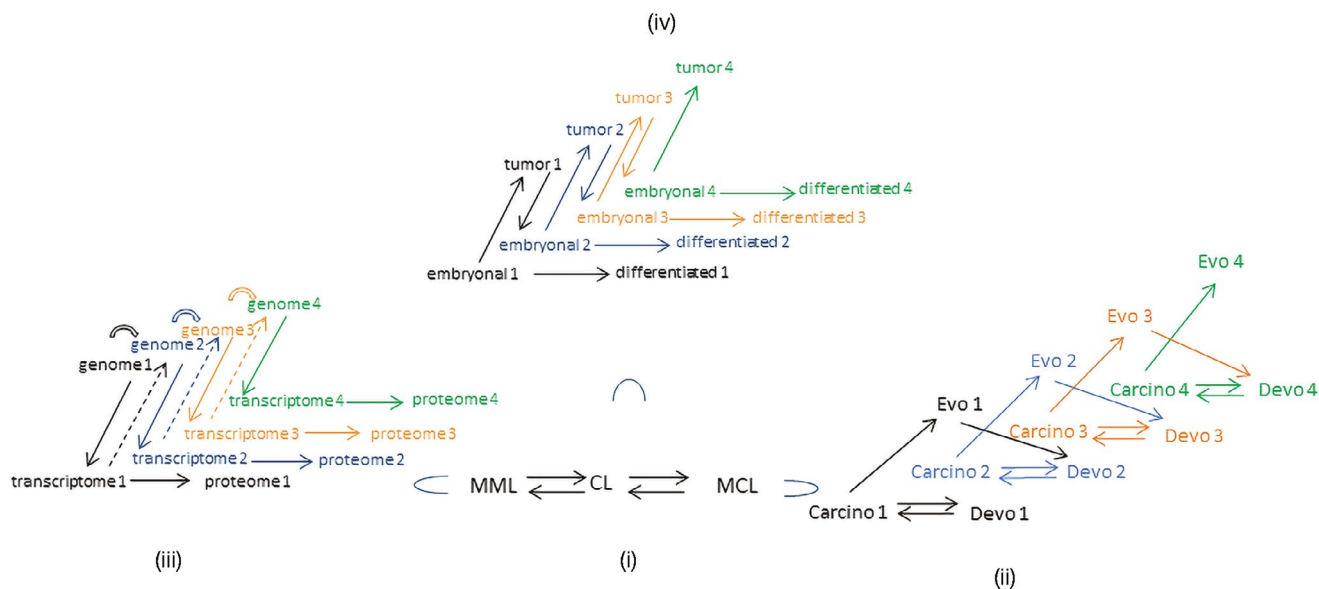


Рис. 3. Формула (I) многоуровневого ступенчатого увеличения структурно-функциональной сложности многоклеточных организмов в прогрессивной эволюции (по: Kozlov, 2023b, с изменениями).

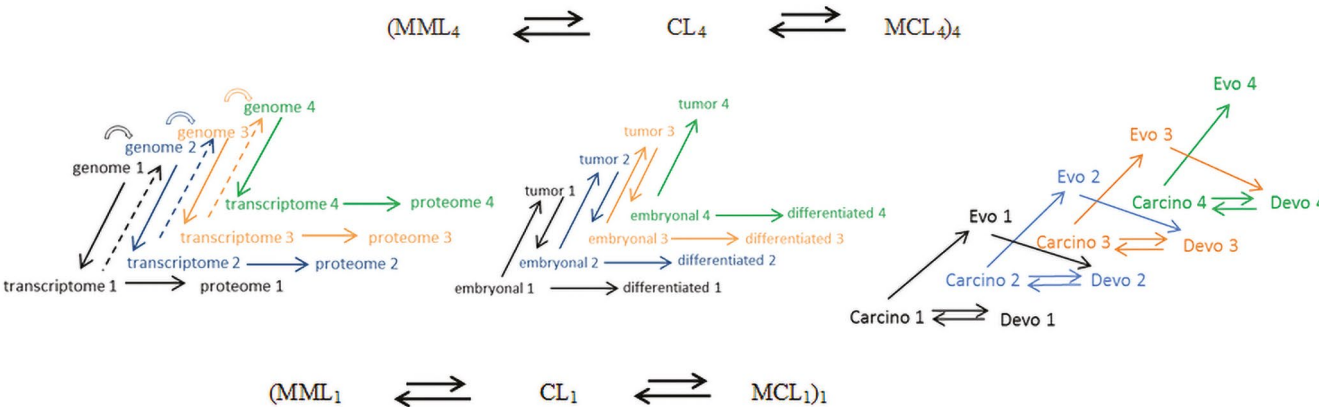


Рис. 4. Формула (II) многоуровневого ступенчатого увеличения структурно-функциональной сложности многоклеточных организмов в прогрессивной эволюции.

Диаграмма (iv) является клеточной диаграммой, описывающей происхождение новых клеточных типов (differentiated) в прогрессивной эволюции с участием опухолевых клеток как промежуточных (tumor), в соответствии с теорией *carcino-evo-devo* (Kozlov, 2023b).

Стрелки на диаграммах (ii–iv) указывают на участие в соответствующих процессах или существенные связи (Kozlov, 2019).

Насколько нам известно, это первая опубликованная формула, описывающая в рамках еди-

ного рассмотрения три основных типа биологического развития организмов (индивидуальное, эволюционное и неопластическое) и три основных уровня структурной организации (молекулярный, клеточный и многоклеточный).

На рис. 4 формула многоуровневого ступенчатого увеличения структурно-функциональной сложности живых организмов представлена в другом (симметричном) виде (формула II). Здесь диаграммы соответствуют диаграммам на рис. 3, а скобки $(MML_n \leftrightarrow CL_n \leftrightarrow MCL_n)_n$

соответствуют многоклеточным организмам, находящимся на разных стадиях прогрессивной эволюции. При этом различные уровни организации в скобках (многоклеточных организмах) взаимосвязаны друг с другом и соответствуют друг другу в структурно-функциональной сложности, что обозначено стрелками обратных связей. Различные уровни сложности связаны переходами, которые обозначены соответствующими диаграммами (ii–iv).

Формулы (I) и (II) на рис. 3 и рис. 4 описывают четыре последовательных шага в прогрессивной эволюции, т. е. четыре последовательных совпадения относительно независимых событий на трех основных уровнях организации (proteome 1, differentiated 1, Devo 1; proteome 2, differentiated 2, Devo 2; proteome 3, differentiated 3, Devo 3 и proteome 4, differentiated 4, Devo 4).

Формулы (I) и (II) многоуровневого увеличения структурно-функциональной сложности описывают все основные положения теории *carcino-evo-devo*, которые обсуждались в третьей части настоящей статьи. Они представляют исходный материал для дальнейшей формализации теории увеличения структурно-функциональной биологической сложности с помощью математической теории категорий. Эта работа нами сейчас ведется совместно со специалистами в области теории категорий.

ПРЕДСКАЗАНИЯ В НОВЫХ РАЗДЕЛАХ ТЕОРИИ

Согласно биокомпьютерному разделу нашей теории, мы можем вычислить информацию о будущих путях эволюционного развития с помощью суперкомпьютеров: “*We can perform in silico computing of future functions of evolutionarily novel genes (in silico evolution), which are in the stage of their origin (Popper’s reality in the making)*” (Kozlov, 2022c, p. 3).

Мы планируем использовать машинное обучение для анализа траектории эволюции *TSEEN*-генов рыб, описанных в (Matyunina et al., 2019), между рыбами и человеком, и происхождения прогрессивных функций у человеческих ортологов *TSEEN*-генов рыб. Полученные сведения будут использованы для предсказания будущих прогрессивных функций у *TSEEN*-генов человека. Такое вычисление будущих функций сходно с вычислением незанятых электронных орбиталей в атомной физике или с предсказанием новых элементов в периодической таблице Д.И. Менделеева. Возможность такого вычисления вытекает из фундаментальной природы принципа увеличения структурной сложности, действующего на всех уровнях структурной организации.

После вычисления будущих функций *TSEEN*-генов человека мы сможем использовать эту информацию для изучения их влияния на опухоли, в которых экспрессируются эти гены.

Организмы с атипическими опухолевыми органами могут быть “отсутствующими звеньями” (“missing links”) в палеонтологии, и их нужно искать среди ископаемых остатков (Kozlov, 2024). Хотя это предсказание было сформулировано нами еще в монографии (Kozlov, 2014), где мы привели некоторые сведения в ее поддержку, основная работа по подтверждению этого предсказания еще впереди, и автор рассчитывает на содействие в этом отношении со стороны отечественных палеонтологов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые разделы теории отличаются от предыдущих разделов. Они имеют более общий характер и привлекают новые, более общие понятия.

Представления о биокомпьютерных процессах позволяют понять явления, не всегда объяснимые в рамках традиционных описаний, например происхождение адаптивного иммунитета с его огромным разнообразием антител (Kozlov, 2019). Становится понятной роль опухолей как поисковиков в пространстве биологических возможностей. Представления о биокомпьютерных процессах использованы нами в формулировке принципа увеличения структурной сложности.

Из принципа увеличения структурной сложности следует, что увеличение структурно-функциональной сложности у живых организмов является частью более общего процесса увеличения структурной сложности, затрагивающего все уровни структурной организации. В этом смысле естественный отбор как дифференциальное выживание и дифференциальное размножение организмов является менее фундаментальным законом по сравнению с принципом увеличения структурной сложности.

Центральными положениями нашей теории увеличения сложности являются: утверждение о внутренне присущей материи способности к саморазвитию и усложнению структуры; принцип совместимости структур-функций; биокомпьютерный перебор совместимых сущностей из пространства биологических возможностей с использованием автономных поисковиков; относительная нестабильность переходных форм и многоуровневая эволюция организмов с относительной независимостью процессов, протекающих на разных уровнях структурной организации.

Диаграммы *carcino-evo-devo* позволили вывести формулы (I) и (II) многоуровневого увеличения структурно-функциональной сложности живых организмов в прогрессивной эволюции, которая описывает все основные положения теории *carcino-evo-devo*. Поскольку диаграммы используются в математической теории категорий, в настоящее время ведется совместная работа с представителями этой науки по приведению формулы увеличения сложности к виду, принятому в теории категорий.

Принцип увеличения структурной сложности как фундаментальный закон природы был впервые сформулирован нами в нашей основополагающей статье (Kozlov, 1979), в которой также была сформулирована основная гипотеза теории эволюционной роли опухолей — гипотеза эволюции путем неофункционализации опухолей. Разработав теорию *carcino-evo-devo*, мы вернулись на более высоком витке спирали к фундаментальным истокам, и в настоящее время работаем над более общей теорией увеличения структурно-функциональной сложности, специальным случаем которой является теория *carcino-evo-devo*. Ситуация напоминает известную в физике общую теорию относительности в том, что сначала мы объединили основные типы биологического развития в рамках единого рассмотрения (*carcino-evo-devo*), а затем показали, что *carcino-evo-devo* является частью еще более общего процесса увеличения сложности.

Таким образом, мы полагаем, что новые теоретические разделы, обсуждавшиеся в настоящей статье, составили основу новой, более общей теории увеличения биологической сложности.

Уже после того, как рукопись была подготовлена к печати, наше внимание привлекла статья (Maquard et al., 2021). В этой статье авторы показали, что возникновение генов, связанных с метастазированием, совпадает с переходом от бесчелюстных к челюстноротым, где переходные формы не описаны. Упомянутые гены участвуют в развитии челюстей рыб и в опухолевых процессах. Таким образом, эти данные поддерживают наше предсказание о том, что переходными формами в прогрессивной эволюции могли быть организмы-опухоленосители.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность ассистенту кафедры высшей геометрии СПбГУ А. Антонику за участие в обсуждении формулы (II).

Автор выражает благодарность эволюционной школе Санкт-Петербургского государственного

университета, онкологической школе НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, Национальному онкологическому институту США (National Cancer Institute, National Institutes of Health, USA), Санкт-Петербургскому Биомедицинскому центру, Санкт-Петербургскому политехническому университету Петра Великого и Институту общей генетики им. Н.И. Вавилова.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования с участием человека или животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Козлов А.П. Регуляторные механизмы как выражение и результат эволюции конкурентных отношений между генами. Соленостные адаптации водных организмов. Л.: Наука, 1976. С. 237–245.
- Козлов А.П. Принципы многоуровневого развития организмов. Проблемы анализа биологических систем. М.: МГУ, 1983. С. 48–62.
- Козлов А.П. Теория эволюционной роли опухолей, *carcino-evo-devo*. М.: Акварель, 2023. 72 с.
- Козлов А. П. Теория эволюционной роли наследуемых опухолей (*carcino-evo-devo*): история развития и современное состояние. Часть 3. Современное состояние теории *carcino-evo-devo* и ее взаимоотношения с другими биологическими науками // Успехи соврем. биол. 2024. Т. 144 (4). С. 374–401.
- Ламарк Ж.Б. Философия зоологии. М., Л.: Гос. изд-во биол. и мед. литературы, 1935. 292 с.
- Capp J.P. Stochastic gene expression is the driving force of cancer // BioEssays. 2011. V. 33 (10). P. 781–782.
- Capp J.P. Tissue disruption increases stochastic gene expression thus producing tumors: cancer initiation without driver mutation // Int. J. Cancer. 2017. V. 140. P. 2408–2413.
- Davidson E.H. The regulatory genome. USA, UK: Academic Press/Elsevier, 2006. 304 p.
- Felts S.J., Tang X., Willett B. et al. Stochastic changes in gene expression promote chaotic dysregulation of homeostasis in clonal breast tumors // Commun. Biol. 2019. V. 2. P. 206.
- Kozlov A.P. Evolution of living organisms as a multilevel process // J. Theor. Biol. 1979. V. 81 (1). P. 1–17.

- Kozlov A.P. Gene competition and the possible evolutionary role of tumors // *Med. Hypotheses*. 1996. V. 46 (2). P. 81–84.
- Kozlov A.P. The possible evolutionary role of tumors in the origin of new cell types // *Med. Hypotheses*. 2010. V. 74. P. 177–185.
- Kozlov A.P. Evolution by tumor neofunctionalization: the role of tumors in the origin of new cell types, tissues and organs. 1st ed. Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo: Academic Press/Elsevier, 2014. 248 p.
- Kozlov A.P. Expression of evolutionarily novel genes in tumors // *Infect. Agent. Cancer*. 2016. V. 11 (34).
- Kozlov A.P. The role of heritable tumors in evolution of development: a new theory of *carcino-evo-devo* // *Acta Naturae*. 2019. V. 11 (4). P. 65–72.
- Kozlov A.P. Mammalian tumor-like organs. 1. The role of tumor-like normal organs and atypical tumor organs in the evolution of development (*carcino-evo-devo*) // *Infect. Agent. Cancer*. 2022a. V. 17 (1). Art. 2.
- Kozlov A.P. Mammalian tumor-like organs. 2. Mammalian adipose has many tumor features and obesity is a tumor-like process // *Infect. Agent. Cancer*. 2022b. V. 17 (1). Art. 15.
- Kozlov A.P. Biological computation and compatibility search in the possibility space as the mechanism of complexity increase during progressive evolution // *Evol. Bioinf.* 2022c. V. 18. P. 1–5.
- Kozlov A.P. The theory of *carcino-evo-devo* and its non-trivial predictions // *Genes*. 2022d. V. 13 (1). P. 2347.
- Kozlov A.P. *Carcino-evo-devo*, a theory of the evolutionary role of hereditary tumors // *Int. J. Mol. Sci.* 2023a. V. 24 (10). P. 8611.
- Kozlov A.P. Diagrams describing the evolution of gene expression, the emergence of novel cell types during evolution, and *evo-devo* // *Gene Expression*. 2023b. V. 22 (3). P. 262–269.
- Kozlov A.P. Structural complexity growth as a fundamental law of nature. Multilevel increase in complexity, frozen accidents, and transitory forms in macroevolution // *Paleontol. J.* 2024. V. 58 (12). P. 1438–1448.
- Lamarck J.B. *Philosophie Zoologique*. Paris: Dentu, 1809. 718 p.
- Makashov A.A., Malov S.V., Kozlov A.P. Oncogenes, tumor suppressor and differentiation genes represent the oldest human gene classes and evolve concurrently // *Sci. Reports*. 2019. V. 9. P. 16410.
- Markov A.V., Anisimov V.A., Korotayev A.V. Relationship between genome size and organismal complexity in the lineage leading from prokaryotes to mammals // *Paleontol. J.* 2010. V. 44 (4). P. 363–373.
- Marquard S., Pavlopoulou A., Takan I. et al. A system-based key innovation-driven approach infers co-option of jaw developmental programs during cancer progression // *Front. Cell Dev. Biol.* 2021. V. 9. P. 682619. <https://doi.org/110.3389/fcell.2021.682619>
- Matyunina E.A., Emelyanov A.V., Kurbatova T.V. et al. Evolutionarily novel genes are expressed in transgenic fish tumors and their orthologs are involved in development of progressive traits in humans // *Infect. Agent. Cancer*. 2019. V. 14 (46).
- Ohno S. *Evolution by gene duplication*. N. Y.: Springer-Verlag, 1970. 150 p.
- Popper K.R. *A world of propensities: two new views of causality*. Bristol, UK: Thoemmes Antiquarian Books Ltd., 1990. P. 24–329.
- Raj A., van Oudenaarden A. Stochastic gene expression and its consequences // *Cell*. 2008. V. 135. P. 216–226.
- Russo G., Tramontano A., Iodice I. et al. Epigenome chaos: stochastic and deterministic DNA methylation events drive cancer evolution // *Cancers (Basel)*. 2021. V. 13 (8). P. 1800.

A Theory of the Evolutionary Role of Hereditary Tumors (*carcino-evo-devo*): The History and the Current State. Part 4. A General Theory of Increasing Biological Complexity in Progressive Evolution

A. P. Kozlov^{a, b, c, *}

^aVavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

^bBiomedical Center, St. Petersburg, Russia

^cPeter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia

*e-mail: contact@biomed.spb.ru

New chapters of *carcino-evo-devo* theory are devoted to tumor participation in biological computational processes; the principle of increase in biological complexity; and the formula of complexity growth in progressive evolution based on *carcino-evo-devo* diagrams. The conclusion is made that new chapters establish the basis of a more general theory — the theory of the increase in complexity, the special part of which is the *carcino-evo-devo* theory.

Keywords: search engines, possibility space, biocomputational processes, *carcino-evo-devo* diagrams

УДК 573

КОНЦЕПЦИЯ ЭВОЛЮЦИОННОЙ ЭМБРИОНИЗАЦИИ/ ДЕЗЭМБРИОНИЗАЦИИ ОНТОГЕНЕЗОВ

© 2024 г. И.А. Гаврилов-Зимин^{1, 2, *}

¹Институт истории естествознания и техники им. С.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия

²Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: coccids@gmail.com

Поступила в редакцию 17.04.2024 г.

После доработки 15.05.2024 г.

Принята в печать 15.05.2024 г.

Предпринимается попытка проанализировать и обобщить в единую систему взглядов разнообразие гипотез об эволюционном значении эмбрионизации и дезэмбрионизации онтогенезов, а также оценить вклад этих гипотез в понимание филогенеза живых организмов. В ходе такого анализа демонстрируется, что исходная (первичная) эмбрионизация развития представляла собой не адаптацию к тем или иным условиям жизни, а всего лишь один из способов построения многоклеточного тела из оогаметы путем ее палинтомического или синтомического деления. Вторичная эмбрионизация многократно возникает на базе предковых онтогенезов, в которых дробление яйцеклетки (или споры) приводит к появлению самостоятельной, но недоразвитой стадии онтогенеза, сильно отличающейся от взрослого организма; в результате эмбрионизации такие стадии оказываются частично или полностью спрятанными под яйцевыми и/или эмбриональными оболочками. Из всех вариантов эмбрионизации лишь вторичная наружная эмбрионизация (под оболочками яйца, споры, семени или плода) в большинстве изученных случаев создает впечатление прямого эволюционного ответа таксона на меняющиеся условия среды обитания. Полная эмбрионизация недоразвитых стадий онтогенеза (криптометаболия) представляет собой относительно редкое явление и, по-видимому, ограничивает возможности достижения биологического разнообразия. Обратный процесс — вторичная дезэмбрионизация, преждевременное (в сравнении с предковыми группами) завершение эмбриогенеза встречается еще реже и никогда не приводит к полному отказу от эмбрионального способа развития и возврату к архаичным протонемному или сифоносепальному способам формирования многоклеточности.

Ключевые слова: эмбриология, индивидуальное развитие, жизненный цикл, метаморфоз, криптометаболия

DOI: 10.31857/S0042132424050023 **EDN:** OHDUEN

ВВЕДЕНИЕ

Эмбрионизация (=эмбрионализация) онтогенеза — эволюционный переход к развитию организма внутри яйцевых или иных эмбриональных оболочек — и обратный процесс, дезэмбрионизация — преждевременный (в сравнении с предковыми группами) выход организма из таких оболочек — сыграли важную роль в филогенезе многих групп живых организмов. Как и многое другое в естествознании, идея о том, что личинки некоторых животных (особенно насекомых Holometabola) представляют собой зародышей, преждевременно вышедших из яиц, уходит корнями в работы Аристотеля. В его трактате

“О возникновении животных” (IV в. до н. э.) помимо обильных рассуждений о “совершенных” и “несовершенных” зачатках животных, есть и прямое утверждение о том, что насекомые: “...как бы преждевременно рождают яйца, как если бы червь [гусеница насекомых] был мягким, еще растущим яйцом” (Аристотель, 1940, с. 148). Спустя 2000 лет к этой идее, в том числе применительно к другим группам животных, обращаются многие видные зоологи, например, Вильям Гарвей (Harveus, 1651, 1653), Ян Сваммердам (Swammerdam, 1669[1758]), Рудольф Лейкарт (Leuckart, 1851), Пьер ван Бенеден (van Beneden, 1858), И.И. Мечников (Мечников, 1866, 1953), Джон Леббок (Lubbock, 1890), Томпсон Лавне

(Lowne, 1890) и др. В XX в. наиболее яркими выразителями представлений об эмбрионизации/дезэмбрионизации онтогенеза насекомых были Антонио Берлезе (Berlese, 1913), И.И. Ёжиков (1929, 1953) и А.А. Захваткин (1953а, 1953б). При этом общая эволюционная концепция, анализирующая явления эмбрионизации и дезэмбрионизации, разрабатывалась преимущественно русскоязычными эмбриологами, эволюционистами и теоретиками биологии на протяжении XX в. (Ёжиков, 1929; Шмальгаузен, 1938, 1982; Северцов, 1939; Захваткин, 1953а, 1953б, 1975; Иванова-Казас, 1975, 1977, 1978а, 1978б, 1979, 1981, 1995; Хохряков, 1981; Поливанова, 1979, 1982; Тихомирова, 1991; Notov, 2018 и др.). В зарубежной литературе эта концепция остается по сей день относительно малоизвестной, что лишь отчасти можно объяснить историческими и политическими причинами, например, существенной изоляцией русскоязычных ученых во времена СССР, отсутствием англоязычных переводов статей и книг многих авторов из советских научных школ, а также катастрофически низким финансированием большинства этих школ и издаваемых ими научных журналов.

Однако немаловажный вклад в указанное положение дел приносят также и причины, лежащие полностью в научной плоскости. Первая из этих причин — это чрезмерное смещение интересов многих современных зарубежных и отечественных биологов из области классической биологии в область молекулярно-биохимических исследований и соответствующее доминирование в научной и учебной литературе попыток объяснять эволюцию организмов исключительно процессами, происходящими на субклеточном уровне. Особенно показательно в этом смысле недавнее шеститомное англоязычное издание под редакцией Андреаса Ваннингера “Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates” (2015), в котором, вопреки названию, отсутствуют именно эволюционный и даже сравнительно-эмбриологический подходы. Этот объемный научный трактат представляет собой де-факто сборник компилятивных статей разных авторов (суммарно более 80 сотрудников) по онтогенезу отдельных групп и видов животных, не объединенных какими-либо общими эволюционными идеями и подходами. При этом статьи этого сборника переполнены подробными сведениями о том, как те или иные отдельные гены или группы генов кодируют развитие отдельных признаков единичных, изученных в этом отношении видов той или иной группы животных. Своего “крещендо” этот авангардный подход к делу достигает в пятом томе упомянутого издания, где вся эмбриология и анализ он-

тогенеза насекомых, крупнейшей группы живых организмов (более 1 000 000 видов), по которым за несколько столетий были опубликованы десятки тысяч детальных эмбриологических и онтогенетических исследований по тысячам видов из всех отрядов и подотрядов, сведены фактически к обсуждению особенностей экспрессии генов у *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830. Выгодно отличается от этого издания русскоязычная шеститомная монография “Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных” (Иванова-Казас, 1975, 1977, 1978а, 1978б, 1979, 1981), содержащая в себе огромный массив данных, опубликованных в XIX–XX вв. по эмбриологии (и, отчасти, постэмбриональному развитию), и проанализированных О.М. Ивановой-Казас именно в рамках сравнительно-эволюционного подхода. Поскольку сами по себе фактические данные по онтогенезам организмов имеют неустаревающую научную ценность, а новых работ по классической эмбриологии животных в конце XX — начале XXI в. появлялось сравнительно мало, то и указанная многотомная монография во многом сохраняет свое энциклопедическое значение для современной биологии.

Вторая сугубо научная причина заключается в том, что разнообразные идеи, касающиеся эмбрионизации/дезэмбрионизации, как сформулированные в виде обобщенных теоретических положений, так и высказанные по отношению к отдельным частным примерам эволюции онтогенеза той или иной группы организмов, не были до сих пор подвергнуты общей систематизации и унификации, что существенно затрудняет восприятие этих идей даже современными русскоязычными биологами, не говоря уже о зарубежных коллегах.

В настоящей работе я делаю попытку хотя бы отчасти устранить последнюю из упомянутых причин при очевидной невозможности как-либо купировать остальные.

Кроме того, тема эмбрионизации/дезэмбрионизации теснейшим образом связана с некоторыми другими общими вопросами эволюции онтогенезов и репродуктивных систем, которые рассматривались мною ранее (Гаврилов-Зимин, 2022, 2023; Gavrilov-Zimin, 2022, 2023). В цитируемых статьях я лишь мельком коснулся явления эмбрионизации/дезэмбрионизации, полагая подробнее рассмотреть эту тему, ее связь с общей теорией живорождения и происхождением онтогенезов многоклеточных организмов в отдельной публикации.

По мере работы над настоящей статьей предсказуемо выяснилось, что многие термины, применявшиеся и применяемые по сей день в

области эволюционной эмбриологии, использовались и используются разными авторами в разных смыслах. Особенно это касается понятий, описывающих не только эмбриологические, но и различные иные эволюционные изменения в онтогенезе разнообразных групп организмов. В этой связи представляется целесообразным предварить дальнейшее обсуждение кратким словарем, с четким указанием того, как те или иные термины понимаются в настоящей работе.

ТЕРМИНОЛОГИЯ

Гетерохрония (heterochrony [англ. здесь и далее]) — эволюционное изменение времени появления отдельных органов и целых стадий развития в ходе онтогенеза. Автором термина традиционно считается Эрнст Геккель, хотя его учитель Рудольф Вирхов употреблял этот же термин в несколько ином смысле (Norwood, 2005). В работах последующих авторов фигурировали различные интерпретации гетерохронии (см. детальный обзор у Киселева, 2023). Обсуждающиеся в настоящей статье термины “эмбрионизация” и “деэмбрионизация”, на мой взгляд, пересекаются с понятием “гетерохрония” лишь частично, поскольку подразумевают прежде всего структурные изменения стадий онтогенеза, а не просто временной сдвиг в развитии.

Гиперживорождение (hyperviviparity) — одно-временное развитие нескольких живородящих поколений внутри исходного материнского организма. Этот термин часто используется в литературе по плоским червям (Plathelminthes) — см. Cable, Harris, 2002. Поскольку в научной литературе по другим группам организмов предлагалось множество иных терминов, образованных от основы “viviparity” и живорождение само по себе демонстрирует вариации в зависимости от способа питания зародыша (плацентарное ж., внутриматочное ж., адентотрофное ж., яйцеживорождение и др.), то для явления “вложенности” поколений было бы удобнее использовать иной термин, например, *телескопическая эмбрионизация* (см. ниже). Кроме того, телескопическая эмбрионизация известна и у растений, в отношении которых употребление термина “живорождение” нецелесообразно (см. подробнее Гаврилов-Зимин, 2022; Gavrilov-Zimin, 2022).

Деэмбрионизация (desembryonization) — преждевременное, по сравнению с предковыми и/или сестринскими таксонами, завершение эмбрионального этапа развития организма. Этот термин, по-видимому, был впервые употреблен Захваткиным (1953), хотя нельзя исключать и более раннее употребление слова менее известными авторами. При этом сама суть деэмбриониза-

ции была понятна естествоиспытателям еще несколько веков назад. Так, например, смысл этого процесса на примере насекомых был сформулирован Томпсоном Лавне (Lowne, 1890), а в более туманных выражениях описан еще Аристотелем (1940) и Уильямом Гарвеем (Harvey, 1651, 1653), проводивших (хотя и ошибочно) аналогию между куколками насекомых Holometabola и “совершенными” яйцами других животных.

Живорождение (viviparity) — способ отрождения потомства многоклеточных животных, при котором развитие зародыша (а иногда и ранних личиночных стадий) проходит внутри тела матери и сопровождается получением от нее питательных веществ (см. подробнее Гаврилов-Зимин, 2022; Gavrilov-Zimin, 2022).

Криптометаболия (cryptometabolie) — полная эмбрионизация, прохождение всех недоразвитых (личиночных) стадий развития внутри яйцевых и/или эмбриональных оболочек и/или внутренних полостей тела материнского организма. В результате криптометаболии во внешнюю среду выходит организм, не имеющий принципиальных структурных отличий от взрослого, но характеризующийся меньшими размерами тела. Термин был исходно предложен И.И. Ёжиковым (Ёжиков, 1939; Jeschikov, 1936).

Личинка (larva) — предимагинальная стадия онтогенеза многоклеточных животных, отличающаяся от взрослого организма отсутствием тех или иных органов или систем органов. Эти имагинальные органы могут присутствовать у личинки в виде более или менее заметных рудиментов (зачатков), еще не имеющих функционального значения. Кроме того, личинка обычно обладает характерными для нее органами, отсутствующими у имаго. Преобразование личинки во взрослый организм происходит в результате метаморфоза. У ряда групп организмов, характеризующихся криптометаболией, личиночная стадия, а соответственно и метаморфоз отсутствуют либо исходно, либо в результате вторичного удлинения и усложнения эмбрионального развития. В эволюции живых систем личинка впервые появляется одновременно с появлением первых многоклеточных животных и соответствует так называемой синзооспоре — нераспавшейся группе зооспор при половом размножении (Захваткин, 1949; Гаврилов-Зимин, 2023; Gavrilov-Zimin, 2023).

Метаморфоз (metamorphosis) — совокупность структурных-функциональных изменений организма, сопровождающихся появлением новых органов и утратой старых, при переходе от личиночных стадий онтогенеза к имагинальной. У некоторых групп организмов такие изменения

протекают постепенно, и в этом случае говорят об эволютивном метаморфозе. Если же, наоборот, изменения происходят очень быстро, то метаморфоз называют катастрофическим (Иванова-Казас, 1975). В энтомологической литературе вместо этих названий обычно употребляются термины “неполный” и “полный” метаморфоз. У животных, утративших в результате полной эмбрионизации (криптометаболии) личиночную стадию, метаморфоз отсутствует. Заимствование зоологического термина “метаморфоз” в ботанике растений-эмбриофитов (см., например, Терёхин, 2000) представляется неудачным, поскольку жизненные циклы всех высших растений изначально и необратимо лишены личиночной стадии.

Мозаичная эмбрионизация (mosaic embryonization) — одновременное присутствие в половой системе самки эмбрионов, формирующихся по типу живорождения и яиц, развитие которых произойдет лишь после откладки во внешнюю среду. Это явление известно у тлей (Aphidinea) (см. подробнее: Попова, 1967). Термин предлагается мною здесь впервые.

Неотения (neoteny) — переход организма к половому размножению на личиночных стадиях развития или шире, на стадиях, предшествующих взрослой (в сравнении с известным полным онтогенезом того же самого вида организмов или родственных видов, родов и т.д.). Термин был введен в научный оборот Кольманном (Kollmann, 1884) при описании размножения личинок саламандр, но в дальнейшем стал широко применяться в литературе по разным группам животных и растений. В связи с тем, что в цитируемой статье Кольманна (как и в последующих его работах) отсутствует четкое определение неотении, правомочными оказываются различные последующие трактовки. Так, в сравнительной морфологии рецентных и особенно вымерших организмов при использовании термина неотения обычно упускается из виду репродуктивный аспект, что приводит к девальвации термина, полному или частичному смешению его с другими понятиями, обозначающими различные варианты гетерохроний (например, педоморфоз, реювинация и др.) (см., например, Киселев, 2023; McNamara, 1986). Если же трактовать неотению исключительно как способность к половому размножению на “инфантильных” стадиях развития, то указанная выше проблема устраняется сама собой.

Педогенез (paedogenesis) — переход организма к партеногенетическому размножению на личиночных стадиях развития. Термин предложен К. Бэром (1866) для описания репродуктивной биологии галлиц (Diptera: Cecidomyiidae).

Педоморфоз (paedomorphosis) — сохранение личиночных (ювенильных) признаков у взрослого организма, один из вариантов гетерохронии. Термин был предложен Гарстангом (Garstang, 1922, p. 97) и впоследствии часто ошибочно смешивался с педогенезом и неотенией.

Прогенез (progenesis) — младший синоним неотении. Введен в научный оборот в статье французского зоолога Альфреда Жиара, который приводил в качестве одного из примеров прогенеза размножение личинок аксолотля (Giard, 1887), т.е. того же самого организма, для которого была ранее описана неотения (см. выше). Термин часто используется без внятного указания отличий от неотении (см. обсуждение этой проблемы у Ивановой-Казас, 1997, с. 1245).

Телескопическая эмбрионизация (telescopic embryonization) — одновременное развитие нескольких (двух и более) эмбрионизированных дочерних поколений организмов внутри тела исходного материнского организма. Это явление встречается у некоторых видов вольвоксов (*Volvox* spp.), некоторых печеночных мхов (Marchantiophyta), большинства семенных растений (Spermatophyta), некоторых моногеней (Monogenea), дигеней (Digenea), камптозоидов (Kamptozoa), огнетелок (Pyrosomida) (Иванова-Казас, 1978), тлей (Aphidinea) и, возможно, еще некоторых групп организмов. Термин предлагается мною здесь впервые, хотя понятие “телескопическая вложенность поколений” (“telescopic generations”) широко употребляется в литературе по тлям (см., например, Moran, 1992). В литературе по плоским червям употребляется гораздо менее удачный термин “гиперживорождение” (“hyperviviparity”) — см. выше.

Эмбрион (embryo) — начальная стадия развития эмбрионально-многоклеточных организмов от первого деления зиготы (или партеногенетической яйцеклетки) до начала самостоятельной жизни (выход из оболочки зиготы (яйца) или отделение от материнского организма) (подробнее см. Гаврилов-Зимин, 2023; Gavrillov-Zimin, 2023).

Эмбриоид (embryoid) — аналог (в ряде случаев также гомолог) эмбриона, начальная стадия развития эмбрионально-многоклеточных организмов при бесполом моноцитном размножении от первых делений исходной клетки (споры или спороподобной клетки) до начала самостоятельной жизни (подробнее см. Гаврилов-Зимин, 2023; Gavrillov-Zimin, 2023).

Эмбрионизация (embryonization) — прохождение всех или отдельных стадий развития организма под защитой яйцевых или иных эмбриональных оболочек. Термин был предложен

Захваткиным (1949). В случае полной эмбрионизации (криптометаболии) из яйца или организма матери выходит организм, отличающийся от взрослого лишь уменьшенным размером и незначительным недоразвитием отдельных органов, которые, однако, по своему строению уже не имеют принципиальных отличий от органов взрослой особи. При неполной эмбрионизации под защитой яйцевых оболочек оказываются лишь начальные стадии онтогенеза, которые вели свободный образ жизни у предковой, по отношению к рассматриваемому таксону, группе. Шмальгаузен (1938) предлагал сходный по смыслу и звучанию термин “эмбрионализация”.

Яйцезиворождение (ovoviviparity) — способ отрождения потомства при котором развитие зародыша полностью или частично проходит внутри тела матери, но не сопровождается получением от материнского организма питательных веществ, а осуществляется за счет имеющихся в яйце запасов желтка (см. подробнее: Гаврилов-Зимин, 2022; Gavrilov-Zimin, 2022).

АРХАИЧНЫЕ ЭМБРИОГЕНЕЗЫ

Эмбрион в эволюции живых систем впервые появляется как способ формирования многоклеточного тела у сложно устроенных организмов. Недавно мною (Гаврилов-Зимин, 2023; Gavrilov-Zimin, 2023) было предложено называть такие организмы “эмбриогенно-многоклеточными”, в противовес более простым “протонемным” и “сифоносептальным” многоклеточным существам, не имеющим эмбриональной стадии в своем онтогенезе.

По-видимому, самый архаичный вариант конструкции эмбриона среди современных организмов сохраняется у харовых водорослей (Charophyceae). Их зигота (или ооспора) претерпевает два мейотических деления внутри своей оболочки, в результате чего образуется четырехъядерная клетка. Одно из дочерних гаплоидных ядер отделяется перегородкой, претерпевает еще одно деление и дает начало клеткам корня и стебля. Оставшаяся трехъядерная клетка функционирует как депозитарий питательных веществ (Голлербах, 1977). Таким образом, стадия эмбриона у харовых водорослей оказывается представлена всего лишь несколькими клетками, а затем оболочка зиготы разрывается и происходит постэмбриональный рост корня и стебля.

Несколько более сложные дисковидные и полушаровидные эмбрионы и эмбриониды известны также у некоторых бурых (Phaeophyceae) и красных (Rhodophyta) водорослей (см. подробнее, Гаврилов-Зимин, 2023; Gavrilov-Zimin,

2023). Кроме того, у многих красных водорослей, отличающихся уникальным жизненным циклом, спорофитная фаза начинается с формирования так называемого гонимобласта — совокупности многоклеточных нитей, формирующихся из оплодотворенного карпогона (аналог зиготы), сливающегося с питающими клетками материнского растения (гаметофита) (Виноградова, 1977). Клубок нитей гонимобласта, вместе с окружающими его покровными клетками формирует цистокарп — крайне своеобразный отделенный аналог плода семенных растений.

Среди зеленых водорослей (Chlorophyta s.l.) период эмбрионального развития присутствует в онтогенезе оогамных видов знаменитого рода *Volvox* Linnaeus, 1758, s.l., детально изученного в этом отношении (Захваткин, 1949; Десницкий, 2018). Мейоз, палинтомическое дробление оплодотворенной яйцеклетки и формирование дочернего многоклеточного организма у таких видов происходят внутри оболочки зиготы. При бесполом размножении дочерний вольвокс не только начальные этапы своего онтогенеза проходит внутри оболочки материнской клетки, но и в дальнейшем, покидая оболочку этой клетки, оказывается (по не вполне понятным эволюционным причинам) не в наружной среде, а во внутренней полости материнского организма, где осуществляется дальнейшее развитие и рост молодого вольвокса. Сообщается (<https://studies-in-botany.blogspot.com/2014/04/brief-knowledge-about-volvox.html>) что у некоторых видов вольвоксов (например, *Volvox carteri* Stein, 1873 и *V. africanus* West, 1910) внутри исходной материнской бластулы может содержаться до четырех вложенных дочерних бластул (рис. 1). Таким образом, развитие бесполого поколения вольвоксов происходит одновременно по типу педогенеза, телескопической эмбрионизации и криптометаболии и, вероятно, представляет собой самый архаичный вариант таких способов развития среди всех современных многоклеточных организмов. Перефразируя известную и не вполне верную с биологической точки зрения метафору американского писателя Дж. Апдайка (J. Updike) о том, что “вольвокс изобрел смерть”, можно сказать, что вольвокс “изобрел” криптометаболию и вложенность поколений.

В эволюции филогенетической линии, приведшей к появлению животных, первым эмбрионом можно считать аналогичную вольвоксам гипотетическую “синзооспору” Захваткина, различные производные которой в виде бластуллоподобных личинок сохраняются и поныне в онтогенезе губок (Porifera) и ряда других первичноводных животных (Захваткин, 1949; Иванова-Казас, 1995) — см. подробнее ниже.

Эмбрионизация

Наружная

Внутренняя

Мозаичная

(первичная/вторичная, полная (криптометаболия)/частичная)

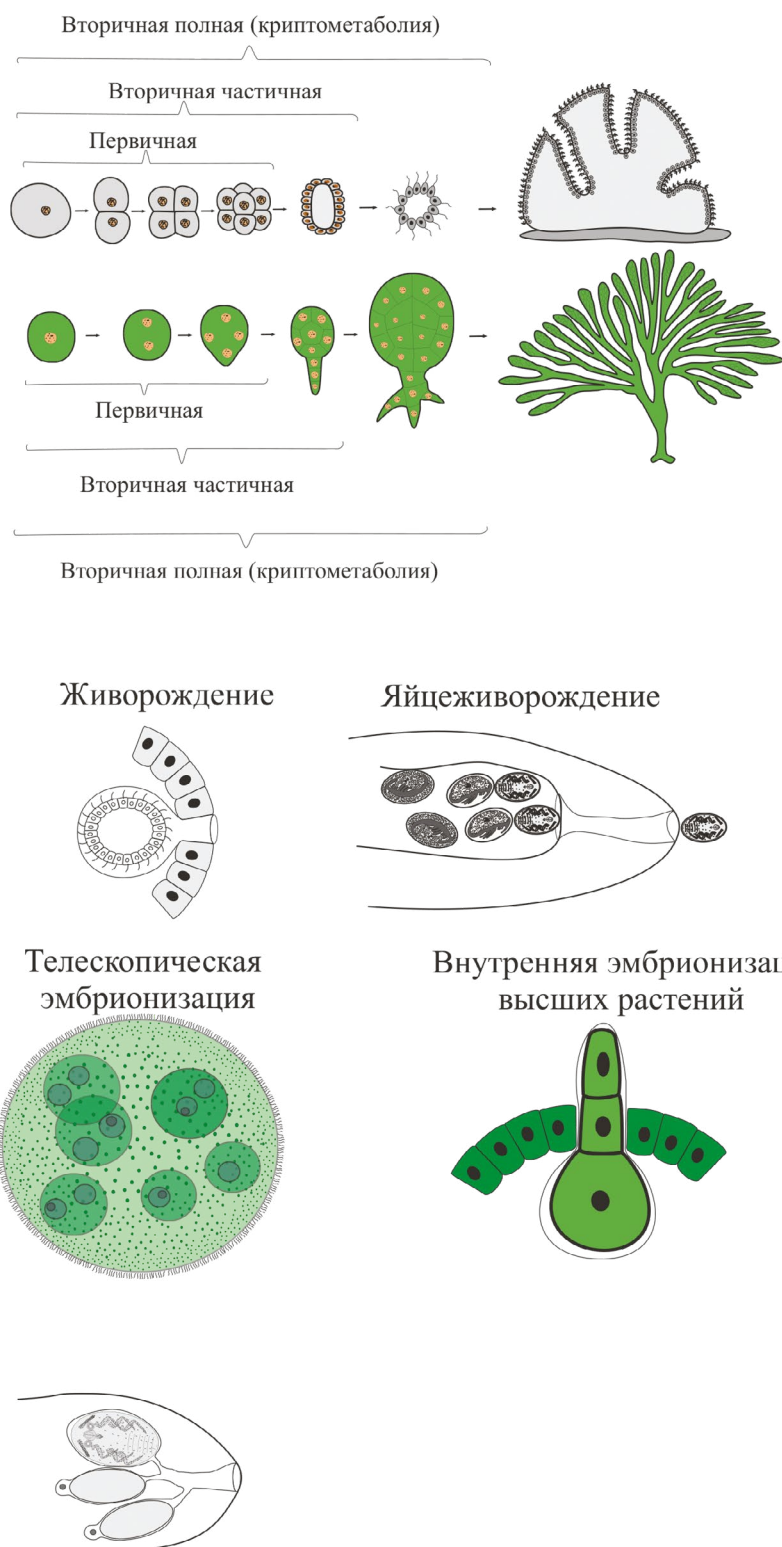


Рис. 1. Разнообразие вариантов эмбрионизации онтогенеза.

Независимое появление эмбриональной стадии в онтогенезе разных, филогенетически и экологически далеких друг от друга групп водорослей, а также у предков животных отчетливо свидетельствует о том, что эмбрионизация исходно не была адаптацией к неким условиям жизни, но представляла собой всего лишь один из трех возможных способов построения многоклеточного тела. Такую эмбрионизацию имеет смысл обозначить, как первичную, противопоставляя ее вторичной эмбрионизации, возникающей на более поздних этапах эволюции многоклеточных и связанную со смещением некогда свободноживущих стадий онтогенеза под эмбриональные оболочки (рис. 1). Обратный процесс, дезэмбрионизация, ни в каких известных случаях не приводит к полному отказу от эмбрионального способа развития и возврату к архаичным протонемному или сифоносепталному способам формирования многоклеточного тела. Рассмотрим теперь пути эволюции эмбриональной стадии развития в онтогенезе высших растений и животных.

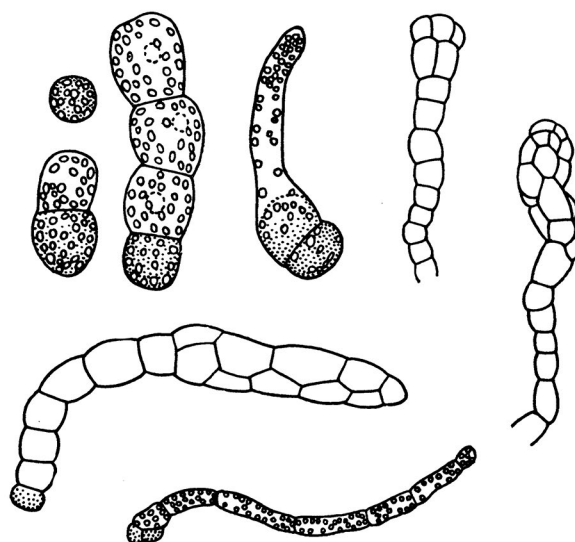


Рис. 2. Протонемный способ формирования многоклеточного тела у гаметофитов разных видов печеночных мхов (по: Абрамов, Абрамова, 1978, с изменениями).

ОБЩИЕ ТЕНДЕНЦИИ ЭМБРИОНИЗАЦИИ/ДЕЗЭМБРИОНИЗАЦИИ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ (EMBRYOPHYTA)

Общеизвестно, что в онтогенезе высших растений в той или иной форме сохраняются (за редкими исключениями — см. ниже) два принципиально разных поколения (или две фазы развития): гаплоидное (гаметофит) и диплоидное (спорофит), которые демонстрируют независимые пути эмбрионизации/дезэмбрионизации. Общее название высших растений — эмбриофиты (Embryophyta) отражает то обстоятельство, что развитие их спорофитного поколения всегда начинается с эмбриональной стадии, даже если таковая представлена всего лишь несколькими клетками, как например у вторично упрощенных паразитических растений (Терёхин, 1977, 2000). В эволюции гаметофитов аналогичной стадией можно считать эмбриоид — продукт палинтомического/синтомиического дробления споры. Однако во многих (возможно, в большинстве) случаях в онтогенезе гаметофитов высших споровых растений (Bryomorphae, Lycopodiophyta и Pteridophyta) не наблюдается даже первичной эмбрионизации, и достижение многоклеточности достигается протонемным способом (рис. 2), т.е. путем последовательного деления и роста клеток с образованием однорядной нити — протонемы (Тимонин, Филин, 2009; Гаврилов-Зимин, 2023; Nayag, Kaur, 1971; Nehira, 1983; Gavrilov-Zimin, 2023). С другой стороны, у ряда родов мохообразных, папоротникообразных

и многих плауновидных споры претерпевают палинтомическое/синтомиическое дробление внутри своей оболочки, зачастую находясь еще внутри спорангиев. Так, у мохообразных (Bryomorphae) эти споры дают начало многоклеточному эмбриоиду, из которого затем вырастает более или менее крупный гаметофит (см. обзор Nehira, 1983). У плауновидных (Lycopodiophyta) гаметофиты представлены микроскопическими организмами, в большинстве случаев образующимися в результате палинтомического или синтомиического дробления споры, а у селлагинелловых (Selaginellopsida) и полушниковых (Isoetopsida) гаметофиты и вовсе остаются внутри оболочки споры (Филин, 1978; Тимонин, Филин, 2009). У папоротникообразных (Pteridophyta) палинтомическое/синтомиическое деление споры присуще разноспоровым, тогда как равноспоровые папоротники демонстрируют протонемный характер развития гаметофита (Тимонин, Филин, 2009; Nayag, Kaur, 1971). В целом, развитие и усугубление разноспоровости (появление макроспор и микроспор) — это основной путь эмбрионизации, наблюдающейся у высших растений (см. подробнее у Хохрякова, 1981). При этом стоит отметить, что в случае развития эмбриоидных гаметофитов мохообразных наблюдается исключительно первичная эмбрионизация, затрагивающая лишь начальные этапы развития гаплоидного поколения, тогда как у гаметофитов плауновидных и папоротникообразных растений помимо первичной эмбрионизации возникает также и вто-

ричная, связанная с миниатюризацией и крайним упрощением некогда полноценно развитого гаплоидного организма.

Среди печеночных мхов (Marchantiophyta) встречаются также редчайшие в растительном мире примеры полной эмбрионизации (криптометаболии) спорофита (рис. 3), при которой последний представляет собой крошечный спорангий, скрытый в тканях гаметофита или же несколько более крупный организм, развивающийся до момента вскрытия своей спороносной коробочки внутри специального полого выроста стебля гаметофита (калиптра, целокаул, эпигоний, перигиний, “марсупий”) (Потёмкин, Софронова, 2009). У некоторых родов печеночников (например, *Sphaerocarpos* Micheli ex Boehmer, 1760, *Riccia* Linnaeus, 1753) спорангий вообще не

вскрывается, а его стенка просто резорбируется и споры попадают в полость эпигония (защитной оболочки, формируемой клетками гаметофита), который затем разрушается при общем отмирании гаметофита (Тимонин, Филин, 2009).

К сожалению, правильное понимание процессов эмбрионизации у высших растений затрудняется отсутствием однозначной реконструкции жизненного цикла их предковых форм. На эту тему в ботанической литературе существуют две конкурирующие гипотезы: гомологическая и интеркаляционная, каждая из которых имеет свои слабые места и противоречия с рядом хорошо изученных фактов (Тимонин, Филин, 2009; Taylor et al., 2005). Если исходить из гомологической гипотезы, то предки высших растений имели изоморфный цикл с похожими друг на друга гаметофитами и спорофитами. В этом случае миниатюрные спорофиты ряда печеночных мхов придется признать результатом далеко зашедшей вторичной эмбрионизации. Если же опираться на интеркаляционную гипотезу и принять в качестве исходного для высших растений гаплонтный жизненный цикл харовых водорослей, то маленькие, слабо развитые спорофиты печеночников следует считать наиболее архаичными вариантами спорофитного поколения. Случаи полной вторичной утраты спорофитного поколения известны у некоторых папоротников семейств Grammitidiaceae, Nymenophyllaceae, Vittariaceae, гаметофиты которых воспроизводятся путем вегетативного размножения (Farrar, 1990; Ebihara et al., 2008).

Примеры полностью эмбрионизированных спорофитов печеночных мхов и гаметофитов плауновидных наглядно демонстрируют, что эмбрионизация сама по себе вовсе не приводит к эволюционному успеху, как это зачастую бездоказательно постулируется в литературе (Хохряков (1981, с. 27): “...эмбрионизация является одним из универсальных признаков, обеспечивающих большие преимущества в борьбе за существование”). Так, отдел плауновидные (Lycopodiophyta) насчитывает в современной флоре всего лишь около 1 300 видов (Christenhusz, Byng, 2016), тогда как листостебельные мхи (Bryophyta s.s.) с их хорошо развитыми гаметофитами и минимально эмбрионизированными спорофитами представлены не менее 12 000 видами (<https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/9THX2>). Столь же наглядные цифры возникают при сравнении папоротникообразных (Pteridophyta) — около 10 500 видов, стголосеменными (Gymnospermae) — около 1 100 видов (Christenhusz, Byng, 2016). Между тем гаметофиты голосеменных, как хорошо известно, полностью эмбрионизированы и сокрыты под оболочкой мегаспоры, тогда как га-

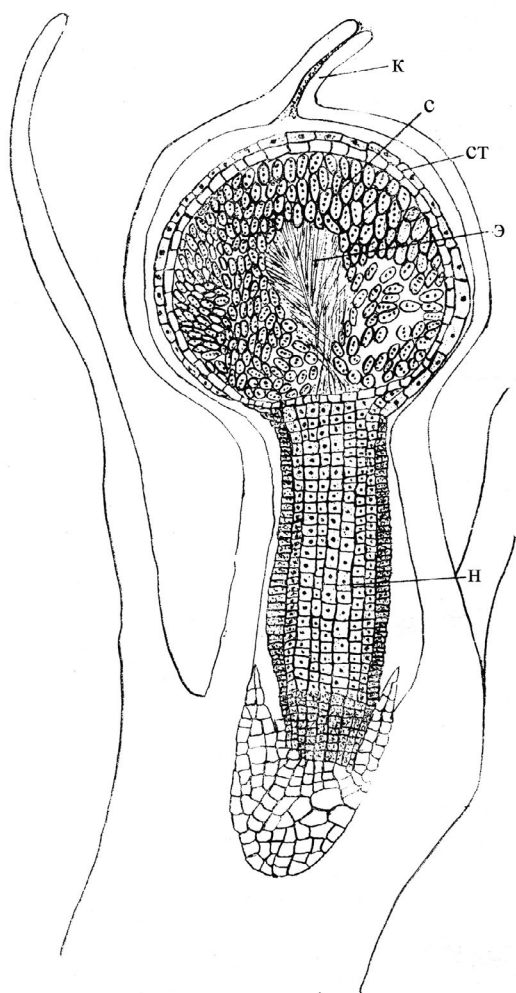


Рис. 3. Криптометаболия спорофита у печеночника *Pellia epiphylla* (Linnaeus, 1753). к — колпачок калиптры, н — ножка спорангия, с — споры, ст — стенка спорангия, э — элатеры (по: Мейер, 1982, с изменениями).

метофиты папоротников в большинстве случаев представлены хоть и небольшими, но самостоятельно живущими растениями. Огромное разнообразие покрытосеменных (Magnoliopsida), многократно превышающее таковое во всех остальных растительных таксонах, очевидно связано не с гаметофитной или спорофитной эмбрионизацией, а с комплексом иных апоморфных признаков, в частности с появлением цветка и плода, коэволюцией с животными-опылителями и другими особенностями.

В целом, развитие “семянности”, формирование дополнительных покровных оболочек развивающегося зародыша, увеличение эндосперма и перисперма целесообразно рассматривать как структурные аспекты эмбрионизации, не приводящие сами по себе к существенному пространственно-временному смещению ранее свободных стадий онтогенеза под эти оболочки. Ни в каких группах растений, кроме мохообразных, эмбрионизация спорофитного поколения не идет дальше начальных этапов онтогенеза и наоборот, большинство видов покрытосеменных производит большое количество мелких семян с крошечными (в сравнении со взрослым растением) зародышами. Максимально известных размеров достигают семена (и плоды) некоторых пальм (Arecaceae), особенно сейшельской *Lodoicea maldivica* (Gmelin, 1807) и кокосовой *Cocos nucifera* Linnaeus, 1753, но и у них собственно зародыши остаются очень мелкими, а основной объем семени занят эндоспермом (рис. 4).

Раннее прорастание семян на ветвях материнского растения, как это имеет место у так называемых живородящих растений из семейств Avicenniaceae, Arecaceae, Cymodoceaceae, Myrsinaceae, Pellicieraceae, Plumbaginaceae, Rhizophoraceae, образующих экологические сообщества мангровых зарослей, на мой взгляд, не представляет собой какого-то особого примера



Рис. 4. Строение плода кокосовой пальмы (*Cocos nucifera* Linnaeus, 1753).

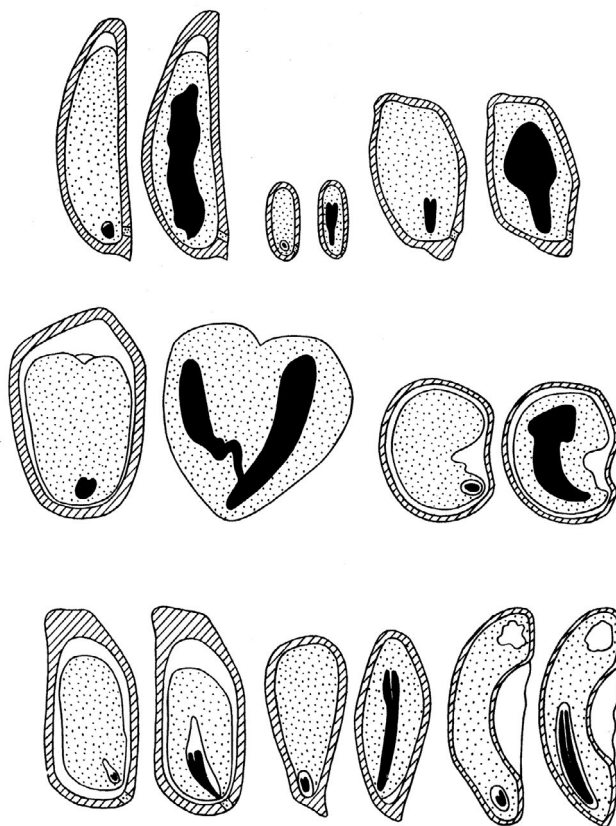


Рис. 5. Попарное сравнение семян различных цветковых растений в момент опадания с материнского растения (каждый левый рисунок в паре) и накануне прорастания (правый рисунок в каждой паре). По: Грушвицкому, 1961, с изменениями.

эмбрионизации, поскольку в этих случаях речь вовсе не идет об удлинении/усложнении эмбриогенеза. О неудачности применения термина “живорождение” по отношению к растениям см.: Гаврилов-Зимин (2022), Gavrillov-Zimin (2022).

В качестве примеров эволюционного перехода от внутренней к наружной эмбрионизации можно привести случаи так называемого доразвития зародыша внутри семян, опавших с материнского растения (рис. 5). Такие примеры известны, как среди голосеменных, так и покрытосеменных (Грушвицкий, 1961; Бутузова, 1999; Tamura, Mizumoto, 1972). У некоторых видов, например, *Anemone flaccida* Schmidt, 1868, такое “доразвитие” достигает максимального диапазона, поскольку на момент опадания семени содержат зиготу еще до начала дробления, а дальнейшее развитие зародыша происходит уже полностью независимо от материнского расте-

ния за счет питательных веществ эндосперма (Tamura, Mizumoto, 1972).

Говоря о вторичной дезэмбрионизации у растений обычно указывают на “редуцированные зародыши” ряда паразитических и некоторых водных покрытосемянных растений (рис. 6). У таких зародышей могут отсутствовать отдельные эмбриональные органы, а в некоторых случаях весь зародыш состоит всего лишь из нескольких недифференцированных клеток (Терёхин, 1977, 1997, 2000).

Возможно, специфически растительным проявлением вторичной дезэмбрионизации стоит считать наличие функционирующих хлоропластов у ряда видов цветковых растений, называемых хлорэмбриофитами, поскольку в этих случаях зародыш хотя бы частично может осуществлять самостоятельное питание. Обзор эмбриологии таких растений см. у Жуковой (1979, 1997). Примечательно, что наличие фотосинтезирующего зародыша можно рассматривать как таксономический и филогенетический признаки, так как этими признаками характеризуются обычно целые рода, подсемейства и семейства; при этом хлорэмбриофиты не обнаружены среди представителей большинства архаичных семейств покрытосемянных (Жукова, 1997).

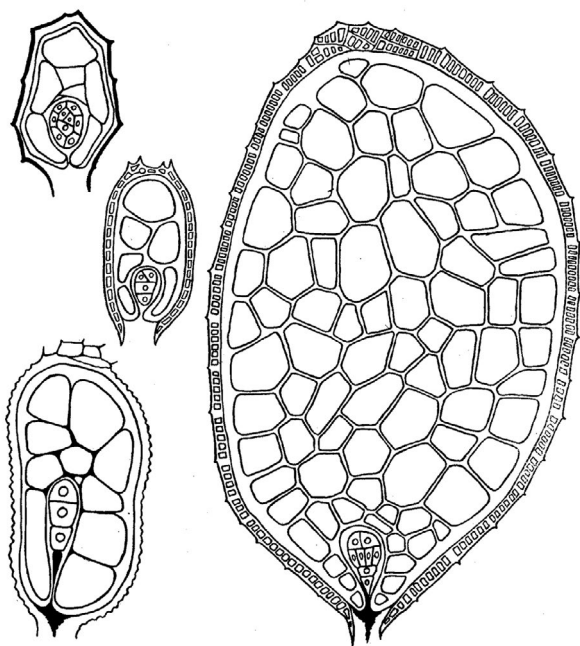


Рис. 6. Строение зрелых семян с дезэмбрионизированными зародышами, окруженными крупными клетками эндосперма, у некоторых паразитных растений из семейств Gentianaceae и Triuridaceae (по: Терехин, 1977, с изменениями).

ОСНОВНЫЕ ПРИМЕРЫ ЭМБРИОНИЗАЦИИ/ ДЕЗЭМБРИОНИЗАЦИИ У ЖИВОТНЫХ

Явления эмбрионизации и дезэмбрионизации у животных несопоставимо более разнообразны и сложны, нежели у растительных организмов. Анализу этих явлений посвящена обширная литература (цитируемая ниже), подробно пересказывать которую в настоящей статье нет необходимости. Поэтому далее основное внимание будет уделено обсуждению лишь наиболее значительных изменений эмбриональных и постэмбриональных стадий онтогенеза.

Отправной точкой для рассуждений в области эволюционной эмбриологии животных, несомненно, является вопрос об их исходном способе развития. Подробнейшие дискуссии на эту тему могут быть найдены, например, у Ёжикова (1940), Захваткина (1949), Ивановой-Казас (1975, 1995), Малахова с соавт. (2019). К настоящему времени доминирующей в литературе и хорошо подтвержденной многочисленными фактами представляется гипотеза о первичности индивидуального развития с метаморфозом. При таком развитии взрослому организму предшествует сильно отличающаяся от него личиночная стадия. Наиболее архаичным вариантом такой стадии считается синзооспора — нераспавшийся на отдельные клетки (споры) продукт палинтомического деления зиготы (Захваткин, 1949). Синзооспора не способна к самостоятельному питанию и играет роль расселительной стадии (рис. 7).

В рецентной фауне такие личинки — производные синзооспоры сохраняются, в частности, у губок (Porifera) и, в зависимости от деталей своего дальнейшего развития, носят названия бластулы, паренхимулы, дисферулы, плакулы и т. п. После кратковременного периода свободного плавания личинки оседают на грунт (или иную поверхность), где претерпевают первичный метаморфоз, сопровождающийся перемещением клеточных пластов и их дифференциацией (Захваткин, 1949; Иванова-Казас, 1975; Ересковский, 2005). Единственное известное исключение составляют представители рода *Tetilla* Schmidt, 1868 (Demospongiae: Spirophorida), развитие которых проходит без метаморфоза, и стадия свободноплавающей личинки отсутствует; в результате дробления зиготы образуется плотная морула, которая после несложного морфогенеза дает начало новой губке (Ересковский, 2005; Watanabe, 1978). Если исходить из того, что исходный онтогенез губок, как и вообще всех животных, протекал с метаморфозом, то прямое развитие *Tetilla* spp. приходится рассматривать в качестве примера вторичной полной эмбрио-

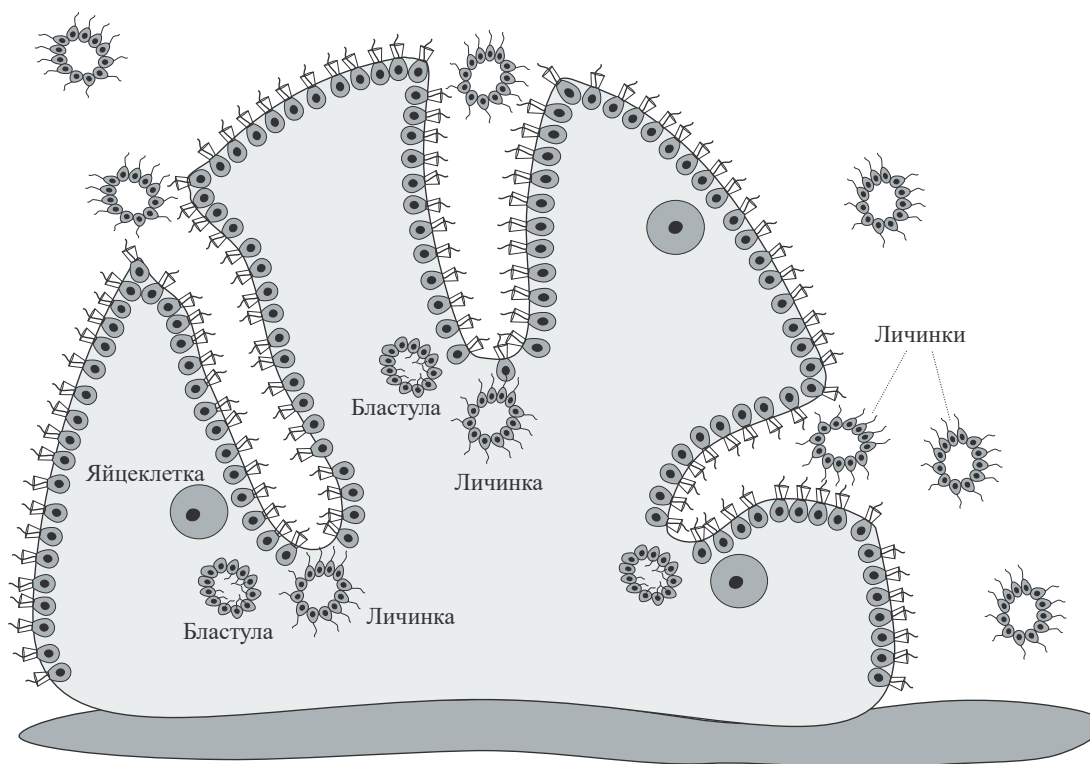


Рис. 7. Размножение с помощью примитивных личиночных стадий (синзооспор) у гипотетического предка животных (по: Гаврилов-Зимин, 2023).

низации (криптометаболии), наиболее простой и архаичной среди всех Metazoa. Во всех остальных известных случаях эмбрионизация у губок носит первичный характер, т.е. представляет собой всего лишь способ построения многоклеточного тела (по типу синзооспоры) из зиготы.

У стрекающих кишечнополостных (Cnidaria) разнообразие онтогенезов существенно превышает таковое у губок (Захваткин, 1949; Иванова-Казас, 1975; Piraino et al., 2004). В типичном случае дробление зиготы у кишечнополостных приводит к формированию свободноплавающей бластолоподобной или гастролоподобной личинки, которую называют планулой. После кратковременного плавания (от нескольких часов до нескольких дней) планула прикрепляется к подходящей подводной поверхности и претерпевает метаморфоз. В результате метаморфоза формируется прикрепленный организм — полип. От тела полипа путем полицитарного почкования отделяются медузы, представляющие собой следующую (конечную), обоеполюю стадию жизненного цикла. От этой общей схемы существуют многочисленные отклонения, связанные с утратой или существенным изменением, как эмбриональных, так и последующих стадий. Так,

у некоторых видов Anthozoa личинки обладают хорошо выраженным бластопором, окруженным ресничками, и способны к самостоятельному питанию одноклеточными организмами. Известные примеры вторичной эмбрионизации онтогенеза кишечнополостных связаны с тем, что не только процессы дробления, но и гастрюляция, а также разные этапы органогенеза у многих видов происходят внутри тела материнского организма (в гонифоре или сходных структурах), и выходящий во внешнюю среду организм оказывается почти полностью сформированным полипом (Захваткин, 1949; Иванова-Казас, 1975; Piraino et al., 2004). У пресноводных гидр умеренного климата, например у *Hydra oligactis* Pallas, 1766, развивающийся ооцит прорывает эктодерму матери, но остается прикрепленным к ее телу; после наружного оплодотворения происходит полное дробление зиготы с образованием целобластулы, а затем гастрюлы, которая выделяет хитиноидную оболочку (эмбриотеку) и в таком виде зимует. Весной из эмбриотеки выходит почти полностью сформированная молодая гидра (Brien, 1965).

Чрезвычайно своеобразный пример полной эмбрионизации (по типу облигатного живоро-

ждения) известен у паразитических наркомедуз рода *Cunina* Eschscholtz, 1829, подробно изученных еще И.И. Мечниковым (Мечников, 1955а; Иванова-Казас, 1975; Metschnikoff, 1886; Lucas, Reed, 2009). Эмбрион этих медуз развивается внутри крупной амебоидной клетки, называемой фороцитом (рис. 8). Фороцит выполняет защитную и транспортную функции, обеспечивая зародышу оптимальные условия для питания.

В небольшой по численности видов группе гребневиков (*Stenophora*) эмбриональное развитие в большинстве случаев проходит во внешней (по отношению к материнскому организму) водной среде и заканчивается выходом из яйца так называемой цидиппоидной личинки, способной к питанию и принципиально не отличающейся от взрослого гребневика; лишь у некоторых видов наблюдается метаморфоз, имеющий, вероятно, вторичный характер (Иванова-Казас, 1975; Edgar et al., 2022). У ряда ползающих и сидячих видов отмечено внутреннее оплодотворение с последующей эмбрионизацией по типу (яйце)живорождения (Иванова-Казас, 1975; Glynn et al., 2019).

Частично эмбрионизировано (по типу облигатного живорождения) развитие дициемид (*Dicyemida*) и ортонектид (*Orthonectida*), находящихся на предельно упрощенном (вследствие

паразитизма) уровне организации, возможном для многоклеточных организмов. Подробнее о размножении и онтогенезе этих групп с отсылками к специализированной литературе см.: Гаврилов-Зимин (2023), Gavrilov-Zimin (2023).

Для бескишечных турбеллярий (*Xenacoelomorpha*) характерно внутреннее оплодотворение, после которого яйца через рот или через разрыв стенки тела выводятся наружу. Из яйца выходит непитающаяся свободноплавающая личинка, дальнейшее развитие которой изучено недостаточно (Apelt, 1969; Nakano et al., 2013; Achatz et al., 2013). У нескольких видов предполагается внутренняя эмбрионизация по типу яйцеживорождения (Apelt, 1969).

Большого разнообразия и сложности достигают примеры эмбрионизации среди плоских червей (*Plathelminthes* s.s.) (Иванова-Казас, 1975; Martín-Durán, Egger, 2012). Парафилетическая группа *Archioophora*, к которой относятся монофилетические таксоны *Catenulida*, *Macrostomorpha* и *Polycladida*, характеризуется обычным для животных накоплением желтка в ооците и формированием крупной яйцеклетки. После внутреннего оплодотворения происходит откладка яиц во внешнюю среду. У большинства видов развитие полностью эмбрионизировано и протекает без личиночных стадий. Однако у не-

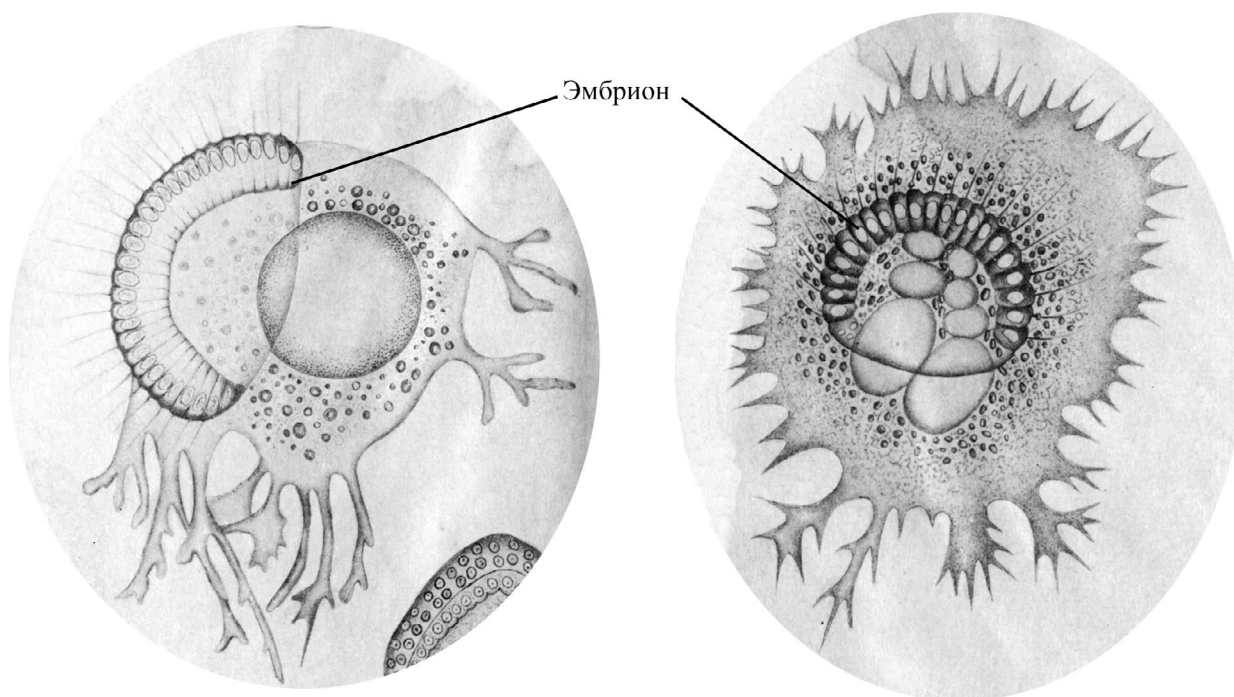


Рис. 8. Эмбрионы медузы *Cunina octonaria* McCrady, 1859 внутри амебоидных клеток-фороцитов (по: Мечников, 1955а; Metschnikoff, 1886).

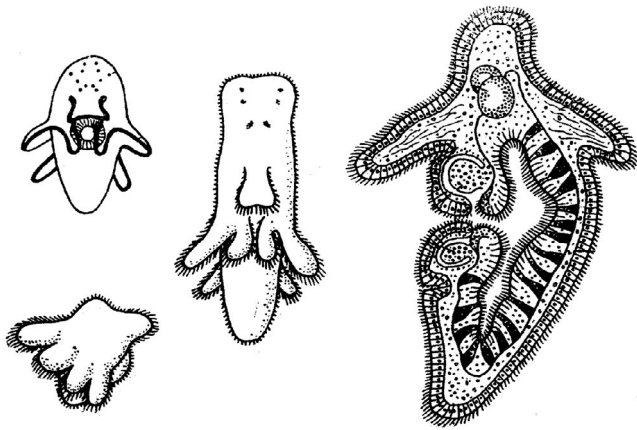


Рис. 9. Мюллеровские личинки различных видов поликладид (Polycladida) (Müller, 1850; Lang, 1884).

которых представителей Polycladida имеет место вторичная дезэмбрионизация, в результате которой из яйца выходит так называемая мюллеровская личинка (рис. 9), ведущая планктонный образ жизни. Последующее развитие такой личинки протекает без резкого метаморфоза, сопровождаясь постепенным ростом и трансформацией личиночных органов в имагинальные (Иванова-Казас, 1975).

У остальных плоских червей, объединяемых в группу Neophora, наблюдается крайне редкое среди животных явление экзолецитальности. Вместо накопления желтка внутри оогаметы, он накапливается в специальных желточных клетках, окружающих яйцеклетку и служащих для питания развивающегося зародыша. Такой способ питания эмбриона напоминает развитие за счет эндосперма (перисперма) у семенных растений. В половых путях самок Neophora формируется яйцевая капсула, состоящая из одной или нескольких мелких яйцеклеток и множества желточных клеток (рис. 10).

Оплодотворение происходит внутри яйцевой капсулы, когда она еще находится в теле материнского организма. Затем яйцевая капсула откладывается во внешнюю среду (Иванова-Казас, 1975; Martín-Durán, Egger, 2012). Развитие зародыша в ряде случаев (в отряде Tricladida) сопровождается появлением провизорных органов (“кишки”, “глотки” и др.), позволяющих эффективнее заглатывать окружающие желточные клетки. У *Bothrioplana* Braun, 1881 (монотипный отряд Bothrioplanida) отмечено редчайшее явление диоогонии, при котором продукты дробления двух разных яйцеклеток смешиваются и формируют единый зародыш (Reisinger, 1939). Из яйцевой капсулы свободноживущих червей

Neophora во внешнюю среду выходит организм, подобный взрослому червю. Таким образом, онтогенез этих червей Neophora представляется результатом полной эмбрионизации по типу экзолецитальной яйцекладности.

Существенно сложнее протекает развитие паразитических плоских червей (Neodermata), которое хорошо изучено и многократно описано в научной и учебной литературе. Их самки при половом размножении также откладывают во внешнюю среду (в протоки тела организма-хозяина) яйцевую капсулу, содержащую яйцеклетки и желточные клетки. Однако у многих видов желточные клетки в значительной степени утрачивают свое питательное значение или вовсе дегенерируют. В большинстве случаев из яйцевой капсулы в водной среде выходит непитающаяся свободноплавающая личинка (онкомирацидий, корацидий или мирацидий). У моногеней (Monogenoidea) личинка-онкомирацидий обычно сразу попадает в тело окончательного хозяи-

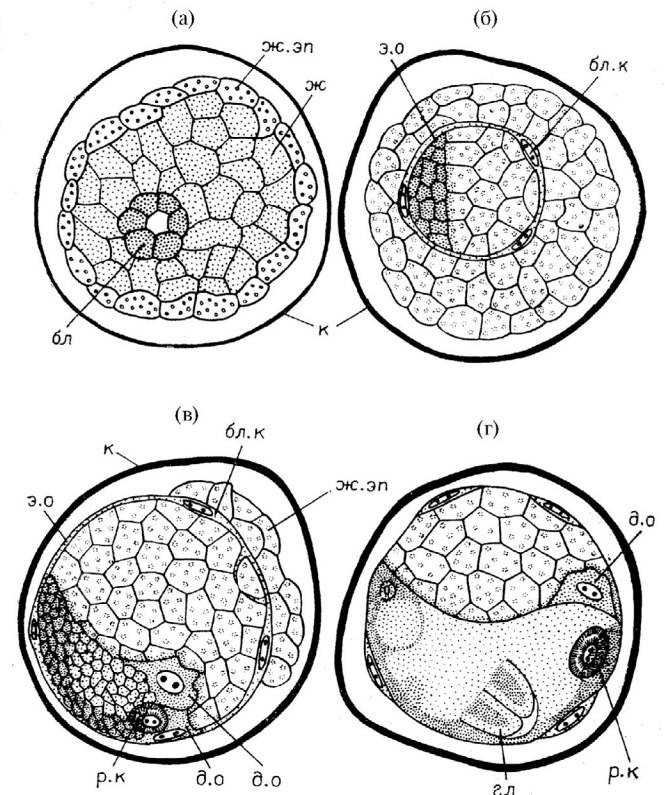


Рис. 10. Развитие зародыша *Monocelis fusca* Örsted, 1843 внутри яйцевой капсулы (а–г) — последовательные стадии развития). бл — бластула, бл.к — бластопоральная клетка, гл — глотка, д.о — дополнительная клетка оболочки, ж — желточная клетка, ж. эп — желточный эпителий, к — капсула, р.к — ресничная клетка, э.о — эмбриональная оболочка (по: Иванова-Казас, 1975; Giesa, 1966).

на, где претерпевает метаморфоз и становится взрослым червем. У цестод (Cestoda) и трематод (Trematoda) в жизненном цикле, как правило, присутствуют промежуточные хозяева, в теле которых личинка проходит еще несколько, существенно отличающихся друг от друга, стадий развития. Финальный метаморфоз осуществляется в окончательном хозяине. Таким образом, развитие Neodermata демонстрирует существенную вторичную дезэмбрионизацию по сравнению с предковой к ним группой свободноживущих червей-турбеллярий. Исключения из этой общей картины составляют примеры педогенеза, известные у некоторых паразитических червей и связанные с телескопической эмбрионизацией (=hyperviviparity), а также более простые случаи живорождения и яйцеживорождения. Так, у моногеней из рода *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 в теле материнского организма развивается один зародыш, внутри которого на более ранних этапах дробления находится зародыш второго поколения, а внутри него — третьего (Cable, Harris, 2002). Ряд видов других родов моногеней и трематод демонстрируют эмбрионизацию по типу полного или неполного яйцеживорождения (Tinsley, 1983). Кроме того, у многих цестод и трематод личиночные стадии способны к партеногенетическому размножению, при котором имеет место эмбрионизация по типу внутривителлиного живорождения (Иванова-Казас, 1975).

Подавляющее большинство видов моллюсков (Mollusca) характеризуются развитием яйца во внешней среде, выходом из этого яйца свободноплавающей лецитотрофной или планктотрофной личинки (трохофора, превелигер, велигер, глохий, перикаллимма и др.) и последующим более или менее существенным метаморфозом во взрослое животное. Однако из этого общего правила существуют многочисленные исключения, связанные, главным образом, с эмбрионизацией личиночных стадий под оболочками отложенного яйца и/или яйцевого кокона, гораздо реже — с переходом к живорождению/яйцеживорождению. Полная эмбрионизация характерна для головоногих (Cephalopoda) и многих брюхоногих моллюсков (Gastropoda), особенно перешедших к жизни в пресных водоемах и на суше (Иванова-Казас, 1977; Tompa, 1979; Köhler et al., 2004). С другой стороны, чрезвычайной степени дезэмбрионизации достигает онтогенез у брюхоногих моллюсков из рода *Patella* Linnaeus, 1758 (рис. 11); их личинка выходит из отложенного яйца на стадии бластулы (Иванова-Казас, 1977; Patten, 1886) подобно тому, как это происходит в архаичных вариантах онтогенеза губок и кишечнополостных (см. выше).

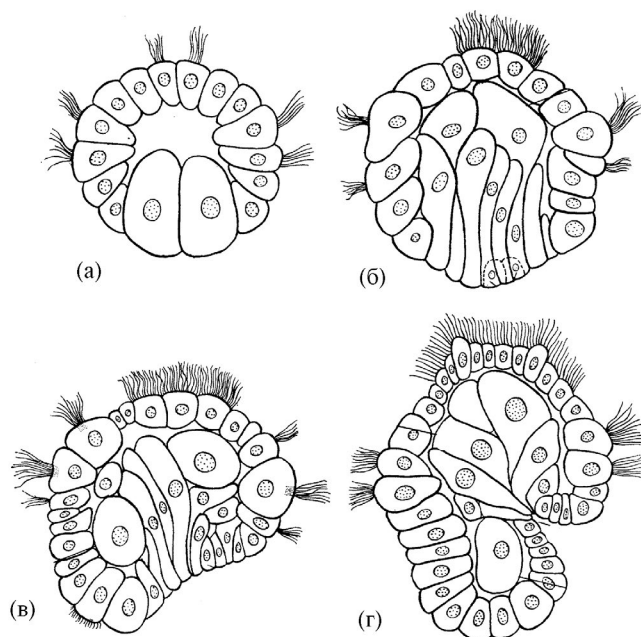


Рис. 11. Последовательные стадии развития бластулуподобной (а) и гаструлуподобной (б–г) личинки моллюска *Patella* sp. (по: Иванова-Казас, 1977; Patten, 1886).

Яйца камптозоидов (Kamptozoa или Entoprocta) обычно откладываются в полость материнского атриума, т. е. фактически во внешнюю среду. Из яйца выходит свободноживущая питающаяся личинка трохофорного типа. После периода свободной жизни личинка прикрепляется к субстрату и претерпевает метаморфоз (Nielsen, 1971). У нескольких видов отмечена частичная эмбрионизация онтогенеза по типу плацентарного живорождения — развитие эмбриона проходит полностью внутри материнского яйцевода; при этом внутри развивающегося зародыша начинается полицитное почкование эмбриоида следующего поколения. Из половых путей матери, путем разрыва стенки тела выходит свободноплавающая личинка трохофорного типа. После нескольких дней плавания из этой личинки путем разрыва тела выходит ювенильный организм следующего (полового) поколения, который становится взрослым без метаморфоза, формирует половые органы, но кроме того содержит в себе эмбриониды следующего поколения, сформировавшиеся еще до полового созревания (Nielsen, 1966). Таким образом, у некоторых камптозой имеют место примеры телескопической эмбрионизации, уже отмечавшиеся выше для других групп организмов.

Среди щупальцевых (Lophororata или Tentaculata) у большинства форонид (Phoronida) и беззамковых плеченогих (Brachiopoda:

Ескардинес) преобладает откладка яиц во внешнюю среду. Из яйца выходит свободноплавающая гастролопоподобная, а в некоторых случаях даже бластулоподобная личинка, которая постепенно развивается в более сложную питающуюся личинку. После прикрепления такой личинки к поверхности грунта она претерпевает более или менее существенный метаморфоз и становится взрослым сидячим животным. Считается, что у Ескардинес онтогенез частично эмбрионизирован, поскольку выходящая из яйца личинка во многом напоминает взрослого организм, и метаморфоз носит эволютивный характер. У замковых плеченогих (Brachiopoda: Testicardines) яйца зачастую вынашиваются в мантийной полости или в специальных выводковых сумках. Из яиц выходят непитающиеся личинки, которые покидают мантийную полость матери и некоторое время ведут свободноплавающий образ жизни; затем происходит прикрепление к грунту и метаморфоз (Иванова-Казас, 1977). У мшанок (Bryozoa) широко распространена частичная эмбрионизация по типу живорождения и яйцеживорождения. При этом из яйца выходит лецитотрофная личинка, которая после очень короткого периода (несколько часов) свободного плавания оседает на грунт и претерпевают существенный метаморфоз. У мшанок с менее эмбрионизированным онтогенезом и у яйцекладущих видов из яйца выходит планктотрофная личинка, которая может самостоятельно питаться несколько месяцев (Островский, 2009, 2011).

Онтогенез морских стрелок (Chaetognatha) в значительной степени эмбрионизирован. Из отложенного во внешнюю среду яйца выходит ювенильная стадия, которая довольно сильно отличается от имаго и первые несколько дней не питается. Дальнейший рост и развитие до стадии взрослого животного носят постепенный характер (Иванова-Казас, 1977; Terazaki, Miller, 1982).

Развитие гнатостомулид (Gnathostomulida) и гастротрих (Gastrotricha) полностью эмбрионизировано; из отложенного в воду яйца выходит молодой взрослый червь (Зоология ..., 2008).

Для большинства видов немертин (Nemertini) характерно развитие с питающейся личиночной стадией (Иванова-Казас, 1975; Maslakova, 2010). У палеонемертин (Palaeonemertini) гастролопоподобная планктонная личинка отличается от взрослого червя очень мелкими размерами, упрощенной организацией, наличием некоторых сугубо личиночных органов. Для гетеронемертин (Heteronemertini) характерна более специализированная личинка, называемая пиллидием. После некоторого периода плавания и питания такая личинка претерпевает радикальный метаморфоз, в результате которого

внутри пиллидия формируется молодой взрослый червь. По окончании метаморфоза червь прорывает оболочки пиллидия, погружается на дно и переходит к ползающему образу жизни. У некоторых видов гетеронемертин известен также особый “дезоровский” тип онтогенеза, при котором происходит полная эмбрионизация личиночной стадии внутри оболочек отложенного во внешнюю среду яйца (Иванова-Казас, 1975; Maslakova, 2010). Среди гоппонемертин (Hoplonemertini) преобладает развитие с непитающейся (лецитотрофной) личиночной стадией, а также встречаются единичные примеры эмбрионизации по типу живорождения (Иванова-Казас, 1975; Maslakova, 2010).

Развитие скалидофорных червей (Scalidophora), объединяющих приапулид (Priapulida), киноринх (Kinorhyncha) и лорицифер (Loricifera), обычно происходит вне материнского организма. Из отложенного яйца выходит питающаяся личинка, дальнейший рост которой сопровождается линьками; линяют также и взрослые особи (Адрианов, Малахов, 1994, 1996; Kristensen, 2002). Почти полная эмбрионизация онтогенеза по типу живорождения известна у приапулиды *Meiopriapululus fijiensis* Morse, 1981 (Higgins, Storch, 1991). У некоторых видов лорицифер личинки способны к педогенезу с развитием личинок следующего поколения под экзвием материнской личинки (Kristensen, 2002).

Онтогенез нематод (Nematoda) в типичном случае включает стадию отложенного яйца, несколько личиночных стадий (обычно 4 линьки) и, внешне сходный с ними, взрослый организм. У ряда видов имеет место частичная эмбрионизация онтогенеза под оболочками отложенного яйца; в этих случаях одна или две первых линьки проходят внутри яйца (Малахов, 1986). Эмбрионизация по типу живорождения известна у некоторых свободноживущих и паразитических видов (Ostrovsky et al., 2016).

Жизненный цикл волосатиков (Nematomorpha) полностью связан с паразитизмом: из отложенного во внешнюю среду яйца выходит свободноплавающая непитающаяся личинка, которая существенно отличается по морфологии от взрослого червя. Такая личинка, в случае длительного голодания во внешней среде или в теле неподходящего хозяина, может инцистироваться. Метаморфоз с превращением во взрослого червя происходит в теле окончательного хозяина (Hanelt et al., 2005). Примеров вторичной эмбрионизации онтогенеза у волосатиков нет.

Развитие коловраток (Rotatoria) полностью эмбрионизировано — личиночные стадии отсутствуют и из отложенного яйца выходит взрослый

организм. У нескольких видов эмбрионизация осуществляется по типу живорождения (Иванова-Казас, 1975; Ostrovsky et al., 2016). У родственных коловраткам скребней (*Acanthocephala*), напротив, в онтогенезе присутствуют несколько личиночных стадий, развитие и метаморфоз которых проходят внутри тела промежуточного и окончательного хозяев. При этом личинки первого возраста проходят полное эмбриональное развитие внутри оболочки яйца, когда последнее еще находится в полости тела материнского организма (Иванова-Казас, 1975; Зоология ..., 2008). Если исходить из современных представлений о происхождении скребней от неких коловраток из группы *Bdelloida* (см., например, Зоология ..., 2008), то приходится признать, что онтогенез скребней подвергся частичной дезэмбрионизации с высвобождением нескольких личиночных стадий из-под яйцевых оболочек.

Небольшая (около 160 видов) группа червеобразных морских организмов сипункулид (*Sipuncula*) демонстрирует четыре разных варианта развития: 1) из отложенного яйца выходит лецитотрофная личинка-трохофора, которая после метаморфоза становится ювенильным червем; 2) предыдущий вариант усложняется тем, что трохофора превращается во вторую личиночную стадию — лецитотрофную пелагосферу; 3) вторая личиночная стадия (пелагосфера) становится питающейся стадией — наиболее распространенный вариант онтогенеза; 4) развитие полностью эмбрионизировано и из отложенного яйца выходит ювенильный червь (Иванова-Казас, 1977; Rice, 1976).

Столь же небольшая по числу видов группа эхиурид (*Echiura*), предположительно родственная кольчатым червям, относительно однообразна по особенностям онтогенеза. Из отложенного во внешнюю среду яйца выходит планктотрофная (редко — лецитотрофная) личинка-трохофора, которая проходит постепенный (эволютивный) метаморфоз и становится взрослым червем (Иванова-Казас, 1977).

Многочетинковые кольчатые черви (*Polychaeta*) за редкими исключениями характеризуются развитием яйца во внешней среде, последующим выходом лецитотрофной или планктотрофной свободноплавающей личинки (трохофоры), которая проходит несколько стадий развития и, с более или менее существенным метаморфозом, превращается во взрослого червя. Примеры эмбрионизации развития по типу живорождения или внутри оболочек отложенного яйца среди полихет единичны. Напротив, у всех малочетинковых червей (*Oligochaeta*) развитие полностью эмбрионизировано и проходит

под защитой оболочек яйца и/или яйцевого кокона (Иванова-Казас, 1977; Зоология ..., 2008).

У погонофор (*Pogonophora*) яйца откладываются во внешнюю среду. Из яйца выходит свободноплавающая лецитотрофная личинка трохофорного типа. После оседания на грунт личинка претерпевает метаморфоз и превращается в ювенильную особь (Малахов, Галкин, 1998).

Развитие онихофор (*Onychophora*) полностью эмбрионизировано и в большинстве изученных случаев проходит либо по типу яйцеворождения, либо по типу плацентарного живорождения. У немногих яйцекладущих видов полная эмбрионизация осуществляется внутри плотных яйцевых оболочек (Mayer et al., 2015; Treffkorn et al., 2019).

У тихоходок (*Tardigrada*) онтогенез полностью эмбрионизирован под оболочками яйца, откладываемого во внешнюю среду. Из яйца выходит ювенильное животное лишь незначительно отличающееся от имаго (Иванова-Казас, 1979).

Яйца морских пауков (*Pantopoda*) развиваются во внешней среде, будучи прикрепленными к специальным конечностям самцов. Из яйца в большинстве случаев выходит личинка — протонимф, которая либо свободно плавает, либо паразитирует на гидроидных полипах; в обоих случаях личинка многократно линяет и постепенно превращается во взрослый организм. У некоторых видов стадия протонимфы эмбрионизирована под яйцевыми оболочками (Bain, 2003).

Полностью вымершие трилобиты (*Trilobita*), судя по палеонтологическим находкам, откладывали яйца во внешнюю среду и имели, как минимум, несколько свободноплавающих личиночных стадий (Laibl, 2017). Произшедшие от трилобитов мечехвосты (*Xiphosura*), представленные в современной фауне лишь несколькими видами, развиваются с частичной эмбрионизацией. Яйца откладываются во внешнюю среду. Эктодерма зародыша очень рано начинает выделять кутикулу, и ко времени закладки конечностей происходит первая линька. При этом яйцевая оболочка (хорион) лопается и сбрасывается, а объем зародыша увеличивается в 8 раз, и дальнейшее его развитие происходит под оболочкой первой кутикулы. Затем происходят вторая и третья линьки и только после этого личинка выходит наружу и начинает самостоятельную жизнь. Первая личиночная стадия оказывается непитающейся (лецитотрофной) из-за недоразвития кишечника и только после четвертой линьки приобретает недостающие структуры внутреннего и внешнего строения, становится похожей на взрослый организм и начинает пи-

тание. Затем происходит еще несколько линек пока животное не достигнет половозрелого состояния (Иванова-Казас, 1979; Kingsley, 1892; Botton et al., 2010; Naug, Rötzer, 2018).

Подавляющее большинство паукообразных (Arachnida) откладывают яйца во внешнюю среду, обеспечивая им ту или иную защиту (коконы, выводковые мешки, подземные выводковые камеры и т. п.). При этом начальные стадии онтогенеза эмбрионизированы, о чем свидетельствуют одна-две эмбриональные линьки. Первые одна-две собственно личиночные стадии не питаются и остаются под защитой кокона или иного укрытия. После выхода из укрытия и нескольких последующих линек личинка постепенно достигает взрослого состояния. Для скорпионов (Scorpiones) характерна частичная эмбрионизация по типу яйцеживорождения или плацентарного живорождения. Единичные слу-

чай яйцеживорождения известны также и у клещей (Acari). У последних онтогенез нередко бывает вторично усложнен появлением различных покоящихся личиночных стадий (Иванова-Казас, 1979).

Ракообразные (Crustacea) демонстрируют большое разнообразие онтогенезов. Типичным для них вариантом можно считать развитие яиц во внешней среде (реже в специальных выводковых сумках) и выходом из яйца сводноплавающей питающейся (реже — лецитотрофной) личинки — науплиуса. Метаморфоз носит более или менее эволютивный характер и сопровождается многочисленными линьками с последовательным образованием сегментов и их конечностей (рис. 12). При частичной эмбрионизации развития из богатых желтком яиц выходят более сложные личиночные стадии (зоа, филлосома, манка и др.) У некоторых групп наблюдается полная эмбрионизация онтогенеза (криптометаболия), в результате которой из яйца выходит животное вполне подобное имаго, за исключением лишь размеров тела и мелких деталей строения. Существенные отклонения от обычного хода онтогенеза наблюдаются также у паразитических ракообразных (Иванова-Казас, 1979; Зоология ..., 2008). Примеры эмбрионизации по типу (яйце)живорождения встречаются крайне редко (Klapow, 1970).

Развитие многоножек (Myriapoda) всегда происходит во внешней (по отношению к организму матери) среде. Начальные этапы онтогенеза эмбрионизированы. Личинки первого, а иногда и второго возрастов обычно неподвижны и не питаются. У Diplopoda и Pauropoda имеют место эмбриональные линьки и после разрыва яйцевой оболочки (хориона) зародыш продолжает развитие под плотной кутикулярной оболочкой, подобно тому, как это происходит у мечехвостов (см. выше). Эту стадию развития у многоножек нередко называют “куколкой” или “пупоидом” (рис. 13) по аналогии с куколкой насекомых, хотя онтогенетическое и эволюционное происхождение этих стадий различно. Последующие, собственно личиночные стадии многоножек подвижны и отличаются от имаго меньшим числом конечностей и рядом других признаков (Мечников, 19556; Иванова-Казас, 1981; Зоология ..., 2008; Metschnikoff, 1874; Tiegs, 1940, 1947).

Примерам эмбрионизации/дээмбрионизации у насекомых (Insecta s.s. или Hexapoda) посвящена обширная литература. Наиболее фундаментальным анализом эмбрионизации, связанной с живорождением и яйцеживорождением, остается по сей день монография Гарольда Хагана (Hagan, 1951). Краткий обзор более современных работ можно найти в моей

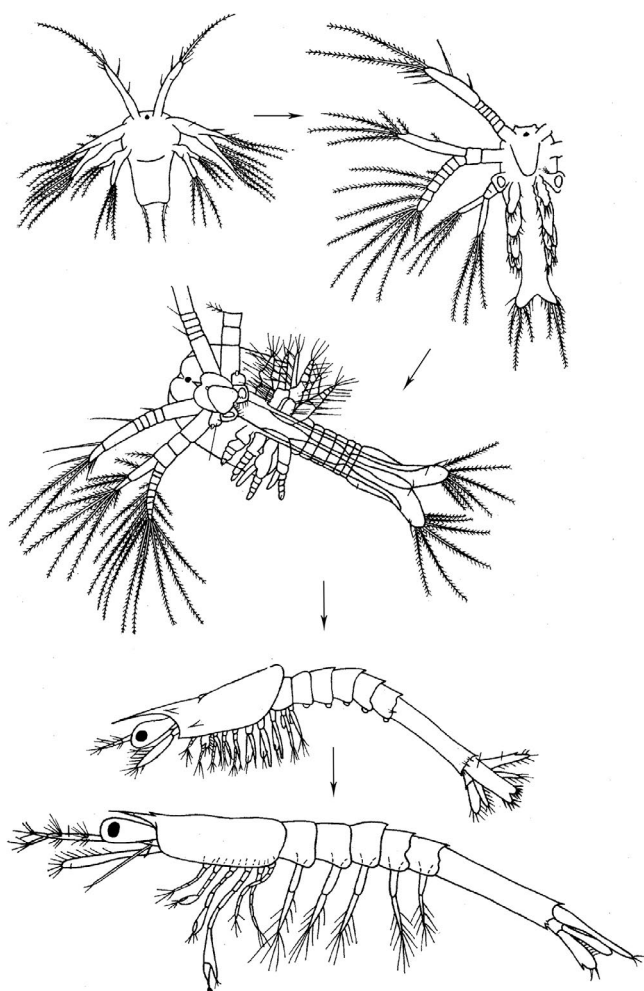


Рис. 12. Постэмбриональное развитие (от науплиуса до имаго) рака *Penaus* sp. (Иванова-Казас, 1979; Anderson, 1973).

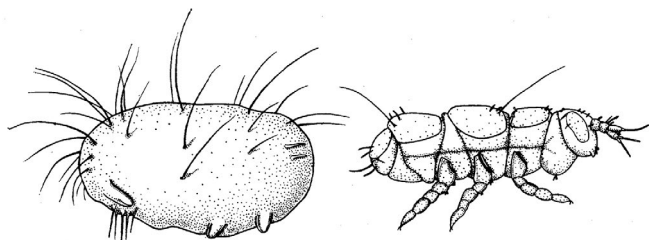


Рис. 13. “Пупоидная” стадия (слева) и первая подвижная личинка (справа) в онтогенезе многоножки *Pauropus silvaticus* Tiegs, 1943 (по: Tiegs, 1947).

недавней статье по теоретическим аспектам изучения живородящих организмов (Гаврилов-Зимин, 2022). Эмбрионизация онтогенеза насекомых под оболочками отложенного яйца обычно рассматривалась в литературе как явление иного порядка, нежели живорождение и исторически послужила отправной точкой для развития концепции эмбрионизации как таковой (см. Введение). Примечательно, что главный идеолог общей концепции эмбрионизации/дезембрионизации организмов — А.А. Захваткин, отрицал популярную в литературе идею о дезэмбрионизированности личинок насекомых с “полным” (катастрофическим) метаморфозом (Holometabola) и считал, что они соответствуют по уровню развития ранним личиночным стадиям подёнок (Ephemeroptera), тогда как в онтогенезе насекомых с “неполным” (эволютивным) метаморфозом, наоборот, произошла эмбрионизация таких стадий, и их личинки гомологичны поздним “нимфальным” стадиям в онтогенезе Ephemeroptera (Захваткин, 1953а, 1953б). Более подробный исторический обзор теорий возникновения онтогенеза насекомых можно найти, например, в статье Erezyilmaz (2006). К сожалению, А.А. Захваткин в этой статье не упомянут, а его идея приписывается Хеслоп-Харри-сону (Heslop-Harrison, 1958).

Поскольку первичная свободноплавающая личинка в онтогенезе насекомых (как и других сухопутных животных) полностью эмбрионизирована, отсутствует и первичный метаморфоз такой личинки во взрослый организм. Вместо этого, в нескольких филогенетических линиях насекомых имеет место вторично усложненный метаморфоз, характеризующийся наличием 1–3 покоящихся предимагинальных стадий (куколок); такое развитие характерно для трипсов (Thysanoptera), алейродид (Aleyrodinea), самцов кокцид (Coccinea) и большой группы отрядов, объединяемых в таксон Holometabola. В каждом из этих случаев метаморфоз протекает со своей существенной спецификой (Клюге, 2020). В остальных группах насекомых постэмбрио-

нальное развитие носит эволютивный характер, сопровождается выходом из яйца личинки, относительно похожей на имаго, и постепенным нарастанием этого сходства с каждой последующей линькой. Рассмотрим теперь более внимательно основные тенденции в эволюции онтогенеза разных отрядов насекомых.

Среди первичнобескрылых насекомых примеров эмбрионизации, связанной с живорождением или яйцеживорождением, пока не известно, и во всех изученных случаях самки этих насекомых откладывают яйца во внешнюю среду (Гаврилов-Зимин, 2022; Gavrilov-Zimin, 2022). Число личиночных стадий сильно варьирует от 2–3 до 15 (редко больше) у разных изученных видов. Как минимум, у некоторых ногохвосток (Collembola), двухвосток (Diplura) и трехвосток (Triplura) наблюдаются эмбриональные линьки. Первая кутикула выделяется на стадии бластодермы, а затем под ней образуется еще один или больше кутикулярных слоев (Иванова-Казас, 1981; Поливанова, 1982; Philiptschenko, 1912; Smith, 1961; Larink, 1972). В результате, после разрыва хориона первая постэмбриональная стадия увеличивается в размерах, но оказывается неподвижной и непитающейся, заключенной в кутикулярную капсулу (рис. 14), подобно тому, как это имеет место у некоторых групп многоножек (см. выше). Эмбриональные линьки известны также и у некоторых крылатых насекомых (Pterigota) — прямокрылых (Orthoptera), некоторых тараканов (Pandictyoptera), палочников (Spectra), пухоедов и вшей (Parasita), бабочек (Lepidoptera) (Поливанова, 1982; Клюге, 2020). Самый архаичный онтогенез среди крылатых насекомых демонстрируют поденки

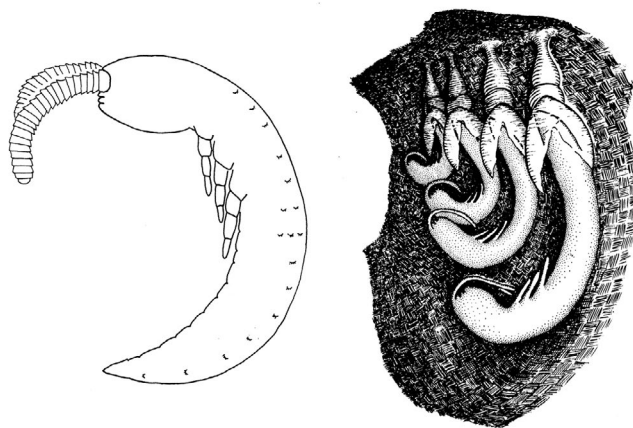


Рис. 14. Первая неподвижная личиночная стадия двухвостки *Evalljapyx facetus* Smith, 1959 (слева) и группа таких же стадий *Parajapyx isabellae* (Grassi, 1886) в подземном укрытии (справа) (по: Smith, 1961).

(Ephemeroptera), у которых число личиночных возрастов может достигать 30 и варьировать индивидуально. У стрекоз (Odonata) бывает 10–20 личиночных возрастов, у веснянок (Plecoptera) — 10–22, у верблюдов (Raphidioptera) — 10–15 (редко больше). В остальных отрядах число личиночных стадий более или менее стабилизировано и обычно не превышает десяти (Клюге, 2020). Наименьшее количество личиночных возрастов (1–2) известно у некоторых кокцид (Gavrilov-Zimin, 2021), некоторых паразитических перепончатокрылых (Hymenoptera), паразитических двукрылых (Diptera) и блох (Aphaniptera) (Клюге, 2020). По крайней мере, в ряде случаев (например, у кокцид), такое уменьшение связано не с дополнительной эмбрионизацией, но с педогенезом или неотенией, при которых утрачиваются конечные стадии онтогенеза и развитие заканчивается размножающейся личинкой.

Первые личиночные стадии крылатых насекомых обычно способны к самостоятельному питанию. Немногие, известные к настоящему времени, исключения отмечены, например, среди клопов (Heteroptera) (Rakitov, 2023). Как и в упомянутых выше случаях с некоторыми многоножками и первичнобескрылыми насекомыми, недоразвитость клопных личинок, очевидно, связана с тем, что зародыш по неким внутренним “техническим” причинам перестает умищаться внутри хориона и преждевременно выходит из яйцевых оболочек. Кроме того, у всех изученных видов веерокрылых (Strepsiptera) личинки первого возраста (планидии) не питаются и характеризуются недоразвитостью ротовых органов (Клюге, 2020; Fraulob et al., 2015). Поскольку эмбриональное развитие этих личинок связано с живорождением, а онтогенез веерокрылых, в целом, имеет чрезвычайно аберрантный характер, понять эволюционную последовательность эмбрионизаций/деэмбрионизаций в этой группе в настоящее время затруднительно. Целиком непитающиеся поколения присутствуют в сложном жизненном цикле тлей семейств Phylloxeridae, Pemphigidae и некоторых Lachnidae (Gavrilov-Zimin, 2021). Кроме того, для живородящих поколений тлей характерна телескопическая, а в некоторых случаях также мозаичная эмбрионизация (см. подробнее: Попова, 1967), но эволюционный смысл таких поколений остается по сей день малопонятным.

Крайней степени деэмбрионизации среди всех насекомых достигают личиночные стадии у некоторых паразитических перепончатокрылых (рис. 15), когда из яйца, отложенного в организм хозяина, выходит “пузыревидная” личинка, полностью лишенная зачатков конечностей и сегментации. За счет того, что кутикула такой

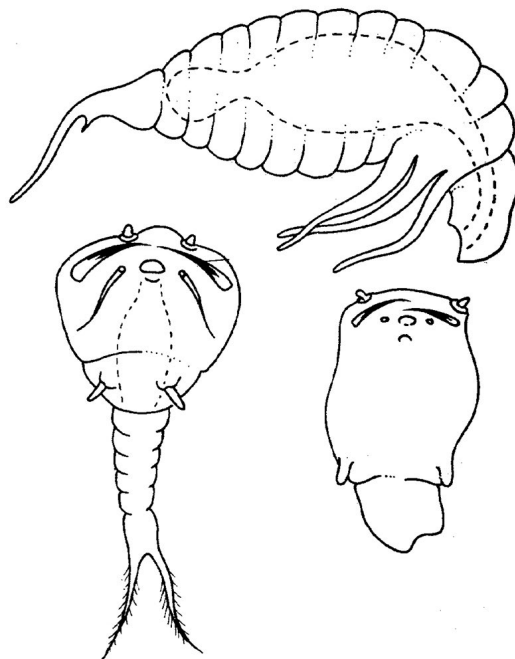


Рис. 15. Деэмбрионизованные личинки разных видов паразитических перепончатокрылых (по: Захваткин, 1975).

личинки очень тонкая, растяжимая и не препятствует росту, в таком онтогенезе сохраняются только две линьки — на куколку и на имаго (Иванова-Казас, 1961, 1981).

Из приведенного краткого обзора ясно, что эволюция онтогенезов насекомых происходила в разных направлениях и сопровождалась как многократным независимым уменьшением числа личиночных стадий, так и многократным вторичным увеличением этого числа. При этом соответствующие изменения далеко не всегда были связаны с процессами эмбрионизации/деэмбрионизации, но зависели также от утраты и/или существенной модификации предимагинальных и имагинальных стадий развития.

Эмбриональное развитие иглокожих (Echinodermata) обычно протекает во внешней среде или в выводковых сумках разной конструкции, сообщающихся с внешней средой. В большинстве случаев из яйца выходит свободно-плавающая, покрытая жгутиками бластула или гастрюла, которая вскоре преобразуется в питающуюся личинку (диплеврула, бипиннария, аурикулярия, эхиноплутеус и др.), морфология которой слегка отличается в разных группах иглокожих. После периода свободного плавания личинка претерпевает существенный метаморфоз и становится взрослым организмом. В более редких случаях из богатых желтком яиц выходят непитающиеся (лецитотрофные) личинки. Еще

реже личиночная стадия полностью эмбрионизирована (в отложенном яйце или внутри тела матери при (яйце)живорождении) и развитие взрослого организма проходит без метаморфоза (Иванова-Казас, 1978).

Большинство изученных полухордовых (Hemichordata) характеризуются откладкой яиц во внешнюю среду, выходом из яйца свободноплавающей питающейся личинки (торнарии) и последующим существенным метаморфозом во взрослое животное. Гораздо реже имеют место случаи эмбрионизации, связанные с откладкой богатых желтком яиц, выходом из них значительно более развитых лецитотрофных личинок, которые затем претерпевают упрощенный метаморфоз (Иванова-Казас, 1978; Lowe et al., 2004; Gonzalez et al., 2018).

Бесчерепные (Acrania) демонстрируют, вероятно, наиболее архаичный вариант развития среди всех хордовых. Их мелкие, бедные желтком яйца всегда откладываются во внешнюю среду. Из этих яиц выходит свободноплавающая личинка (нейрула), которая начинает самостоятельно питаться на четвертый день постэмбриональной жизни. После трех месяцев развития и роста личинка опускается на грунт и претерпевает упрощенный метаморфоз (Иванова-Казас, 1978). Среди остальных низших хордовых животных, объединяемых в таксон Tunicata (Оболочники), также преобладает вариант онтогенеза с яйцекладкой, питающейся личинкой и метаморфозом, но имеются и различные отклонения. Так, у асцидий (Ascidacea) нередко встречаются примеры вынашивания яиц в выводковых сумках и частичная эмбрионизация по типу яйцеживорождения, внутриполостного или плацентарного живорождения. Образующиеся при этом личинки более развиты (в сравнении с нейрулой), не питаются и имеют исключительно расселительное значение. После прикрепления такие личинки претерпевают существенный метаморфоз и становятся взрослыми сидячими животными (Иванова-Казас, 1978; Cloney, 1982). В единичных случаях имеет место криптометаболия и выход из яиц молодого взрослого организма (Иванова-Казас, 1978; Bates, 1995). У огнетелок (Pyrosomida) онтогенез осложнен тем, что первое дочернее поколение (циатозоиды) полностью эмбрионизировано, развивается внутри тела матери (живорождение) и характеризуется крайне упрощенным строением. Циатозоид при этом не становится самостоятельным организмом, но начинает размножаться путем полицитного почкования, образуя так называемый первичный пролиферирующий столон (рис. 16). Этот столон затем неполными перегородками подразделяется на части, которые

дают начало следующему поколению — асцидозоидам, которые остаются соединенными друг с другом и образуют колонию. Эта колония выходит из тела исходного материнского организма и начинает самостоятельное существование. Далее асцидозоиды в свою очередь приступают к почкованию, и колония разрастается (Иванова-Казас, 1978; Kowalevsky, 1875). Полностью эмбрионизировано развитие первого поколения в жизненных циклах бочоночников (Doliolida) и сальп (Salpida); у первых криптометаболия осуществляется под оболочкой отложенного яйца, а у вторых — путем плацентарного живорождения (Иванова-Казас, 1978).

Развитие первичноводных позвоночных (Vertebrata) происходит в подавляющем большинстве случаев с откладкой яиц во внешнюю среду, выходом из яйца личинки, которая сразу или по прошествии некоторого времени начинает самостоятельно питаться и прodelывает эволютивный метаморфоз, растягивающийся на длительный (месяцы и годы) период времени (Бочаров, 1988). Более краткий, но и более рез-

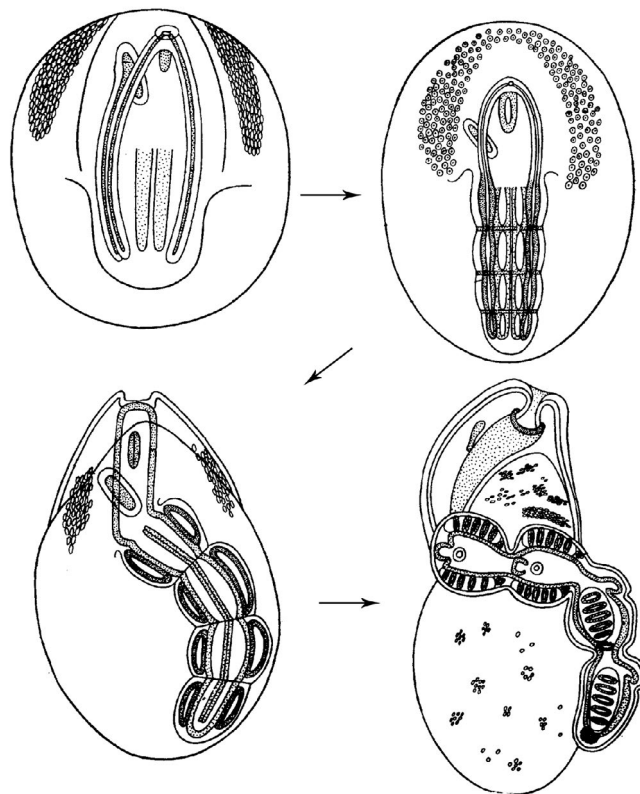


Рис. 16. Последовательные стадии развития пролиферирующего stolона внутри зародыша огнетелки *Pyrosoma* sp. (по: Kowalevsky, 1875).

кий метаморфоз происходит у бесхвостых амфибий (Anura). В очень редких случаях у амфибий наблюдается криптометаболия под оболочками отложенного яйца (Бочаров, 1988). Кроме того, у амфибий известны очень интересные примеры разительных внутриродовых отличий по характеру онтогенеза. Так, лягушка с Соломоновых островов *Cornufer guentheri* (Boulenger, 1884) в своем развитии не проходит стадию головастика, в то время как таксономически и географически ближайшие виды того же рода ((*C. guppyi* (Boulenger, 1884), *C. hedigeri* (Boulenger, 1884) и др.) сохраняют эту стадию онтогенеза (Бочаров, 1988). Примеры частичной или полной эмбрионизации по типу (яйце)живорождения среди первичноводных позвоночных также относительно малочисленны (Гаврилов-Зимин, 2022; Wourms, 1994; Blackburn, 2015). Напротив, для наземных позвоночных-амниот (Amniota) характерна более или менее полная эмбрионизация онтогенеза под оболочками отложенного яйца (большинство рептилий и птицы) или под эмбриональными оболочками в теле матери (около 20% видов скваматных рептилий + плацентарные млекопитающие). Слабо эмбрионизированными остаются личиночные стадии у однопроходных (Monotremata) и сумчатых (Marsupialia) млекопитающих (Бочаров, 1988; Kardong, 2012).

ВАРИАНТЫ ЭМБРИОНИЗАЦИИ И ИХ ЭВОЛЮЦИОННОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Приведенный выше обзор позволяет предложить классификацию различных вариантов эмбрионизации (рис. 1), чего ранее в литературе не предпринималось.

Во-первых, эмбрионизацию можно разделить на первичную и вторичную. Первичная эмбрионизация имеет место при эволюционном переходе с протонемно-многоклеточного на эмбриогенно-многоклеточный уровень организации жизни. Такое событие, по-видимому, произошло один раз в начале эволюции животных (Animalia), один раз в эволюции высших растений (Embryophyta) и многократно в эволюции разных групп водорослей (см. подробнее Гаврилов-Зимин, 2023; Gavrilov-Zimin, 2023). К вторичной эмбрионизации относятся последующие случаи смещения (в сравнении с онтогенезом предков) стадий постэмбрионального развития организмов под яйцевые и/или эмбриональные оболочки. В зависимости от количества стадий онтогенеза, подвергшихся эмбрионизации, ее можно разделить на частичную, затрагивающую лишь часть личиночного развития, или же полную, при которой из яйца или организма матери

выходит организм, принципиально не отличающийся от взрослого, но имеющий лишь меньшие размеры. Такой ювенильный организм обладает полным набором имагинальных органов тела и лишен особых личиночных приспособлений. Для полной эмбрионизации Ёжиковым (Ёжиков, 1939; Jeschikov, 1936) был предложен удобный термин “криптометаболия”, намекающий на то, что метаморфоз организмов с таким типом развития скрыт под яйцевыми и/или эмбриональными оболочками. Кроме того, эмбрионизацию можно разделить на наружную, внутреннюю и мозаичную. При наружном варианте развитие дочернего организма происходит во внешней среде под оболочками отложенного яйца, споры или семени. У Animalia таковые оболочки впервые появляются у яйцекладущих губок и в дальнейшем достигают наибольшей сложности у сухопутных животных. У растений наружная эмбрионизация известна в отношении гаметофитов ряда родов мохообразных, папоротникообразных и многих плауновидных, споры которых претерпевают палинтомическое/синтомическое дробление внутри своей оболочки, а также у ряда семенных растений, характеризующихся “доразвитием” зародыша после деления семени от материнского организма.

Внутренняя эмбрионизация у животных связана с яйцеживорождением или различными вариантами живорождения. Эти явления были мною подробно рассмотрены в специальной статье (Гаврилов-Зимин, 2022; Gavrilov-Zimin, 2023). У растений внутренняя эмбрионизация обусловлена началом развития спорофита внутри тела гаметофита и/или с полной эмбрионизацией гаметофита внутри тела материнского организма (семенные растения).

Для семенных растений, вольвоксов и нескольких групп животных (см. выше) характерна особая телескопическая эмбрионизация, при которой внутри материнского организма развиваются зародыши, уже содержащие в себе зародышей следующего поколения.

Самым редким и удивительным вариантом эмбрионизации можно считать мозаичную эмбрионизацию, известную у некоторых видов тлей (Попова, 1967). Самки этих тлей одновременно содержат в своих овариолах полностью сформированных личинок (живорождение) и готовые к откладке яйца, дальнейшее развитие которых происходит во внешней среде.

Разнообразие вариантов эмбрионизации и конкретных путей ее возникновения у разных групп организмов исключают возможность однозначной трактовки эволюционного смысла этого явления. Так, исходная (первичная)

эмбрионизация развития представляла собой не адаптацию к тем или иным условиям жизни, а всего лишь один из способов построения многоклеточного тела (Гаврилов-Зимин, 2023; Gavrilov-Zimin, 2023). Такая первичная эмбрионизация сохраняется в онтогенезе всех современных животных, всех спорофитов и многих гаметофитов высших растений, независимо от конкретных (чрезвычайно разнообразных) условий их жизни. Вторичная внутренняя эмбрионизация по типу живорождения или яйцеживорождения также не связана напрямую с условиями жизни организма, но является результатом комплекса разнообразных причин: возникновение оогамии при отсутствии каких-либо механизмов выведения неподвижной зиготы во внешнюю среду; переходы от наружного оплодотворения к внутреннему в ситуации, когда у организма еще отсутствуют специализированные половые протоки (яйцеводы) с придаточными железами и сперматеками; нарушения в хорошо развитой половой яйцекладной системе — утрата имажинальных половых органов (вследствие педогенеза, неотении, пedomорфоза), ларвальный мейоз, изменение места оплодотворения с эктодермальных частей половой системы на внутригонадное (Гаврилов-Зимин, 2022; Gavrilov-Zimin, 2022).

Эволюционное происхождение и значение телескопической эмбрионизации в разных группах, демонстрирующих такой вариант развития, вероятно, сильно различаются, и в рамках настоящей работы сделать соответствующую оценку не представляется возможным. Эта тема нуждается в дополнительных исследованиях, как теоретических, так и лабораторных.

Только вторичная наружная эмбрионизация в большинстве изученных случаев создает впечатление прямого эволюционного ответа таксона на меняющиеся условия среды обитания. В яйце животных или же споре, семени (плоде) растений, развивающихся во внешней среде, более ранний или более поздний выход эмбриона (или эмбриоида) из-под защитных оболочек уже никак не зависит от особенностей строения и функционирования материнского организма. В этой ситуации нетрудно представить себе действие механизма естественного отбора: 1) как и все другие признаки, количество желтка в яйце (питательных веществ в споре, плоде, семени) подвержено индивидуальной и межпопуляционной изменчивости; 2) если самостоятельное питание выходящих из яйцевых (споровых, семенных и пр.) оболочек организмов затруднено или вовсе невозможно, давление отбора действует в направлении увеличения размера яиц (спор, семян, плодов), неизбежного при этом уменьше-

ния их общего количества и более позднего выхода потомства из соответствующих оболочек; 3) если же, наоборот, постэмбриональные стадии способны сами обеспечить себе пропитание, то селективное преимущество получают самки, откладывающие большее количество менее богатых желтком яиц, из которых новое поколение выходит на более ранних стадиях онтогенеза. Эти две противоположные тенденции, эмбрионизация vs. дезэмбрионизация, создают гибкий механизм приспособления к условиям среды, и именно этот приспособительный аспект чаще всего обсуждается как в общей, так и частной литературе, посвященной развитию конкретных групп организмов и цитированной выше. При этом, в целом, первичную или вторичную дезэмбрионизованность развития (т.е. развития с личиночными стадиями) можно считать *“энергетически более выгодной ... и реализующейся во всех случаях, когда для этого предоставляется возможность”* (Тихомирова, 1991, с. 138). Этот тезис, вполне согласующийся с многочисленными примерами, приведенными в настоящей статье, прямо противоречит мнениям некоторых других авторов, рассуждавших об эмбрионизации как об общебиологическом явлении. Так, например, Хохряков (1981, с. 27) указывал, что *“...эмбрионизация является одним из универсальных признаков, обеспечивающих большие преимущества в борьбе за существование”*, не приводя, однако, никаких аргументов для такого утверждения. Похожим образом рассуждал и Захваткин (1953б, с. 375): *“...эмбрионизация является ведущей линией, столбовой дорогой прогрессивного развития...”*. Здесь следует уточнить, что указанные авторы смешивали различные варианты эмбрионизации, придавая им, в целом, единое эволюционное значение. Например, Захваткин (1953б, с. 375) считал живорождение (без конкретизации) *“высшей формой”* эмбрионизации, с чем никак нельзя согласиться, поскольку при плацентарном, адемотрофном и внутриполостном живорождении, равно как и при яйцеживорождении, в подавляющем большинстве случаев рождается личинка, которая дальше самостоятельно развивается и проходит метаморфоз. Максимальная же степень эмбрионизации онтогенеза достигается при криптометаболии, которая чаще всего происходит в отложенном яйце и существенно реже внутри тела матери. Нетрудно заметить, что группы организмов, характеризующиеся полной эмбрионизацией (криптометаболией), составляют скорее исключения среди общего многообразия многоклеточных и суммарно объединяют лишь ничтожную часть биоразнообразия: гаметофиты селлагинелловых (Selaginellopsida), полушниковых (Isoetopsida) и некоторых разнospоровых

папоротников, спорофиты печеночных мхов (Marchantiophyta), большинство свободноживущих плоских червей из группы Archoogophora, гнатостомулиды (Gnathostomulida), гастротрихи (Gastrotricha), коловратки (Rotatoria), малощетинковые кольчатые черви (Oligochaeta), онихофоры (Onychophora), тихоходки (Tardigrada), большинство позвоночных-амниот (Amniota), а также единичные виды/рода из ряда других групп организмов. Логично предположить, что криптометаболия этих групп организмов связана не с обретением каких-то *“больших преимуществ в борьбе за существование”*, а всего лишь с неспособностью (по разным причинам) адаптировать свои личиночные стадии к новым условиям существования, чаще всего к жизни в сухопутной внешней среде. Например, мелкие личиночные стадии наземных позвоночных вряд ли могли бы конкурировать с насекомыми, которыми переполнены все наземные биотопы (Гаврилов-Зимин, 2022, с. 242; Gavrilov-Zimin, 2022).

С другой стороны, если говорить только о наружной частичной эмбрионизации, охватывающей лишь начальные этапы развития, то такой способ развития действительно присущ подавляющему большинству растений и животных и именно его можно признать *“ведущей линией прогрессивного развития”*.

По-видимому, эмбрионизация во многих случаях приводит к рекапитуляциям признаков, поскольку спрятанные внутри яйцевых оболочек стадии развития оказываются в постоянных стабильных условиях и таким образом ограждены от прямого действия естественного отбора (Захваткин, 1953б). Это предположение не противоречит базовым принципам современной генетики и биологии развития и вполне может быть принято, несмотря на явную ошибочность *“биогенетического закона”* Дарвина–Мюллера–Геккеля в целом (см. его критику, например, Северцов, 1939; Løvtrup, 1978 и др.).

СТРУКТУРНЫЕ АСПЕКТЫ ЭМБРИОНИЗАЦИИ

В отличие от разнообразных онтогенетических гетерохроний эмбрионизация представляет собой не просто смещение стадий развития во времени, но значительные структурные изменения в строении как самого зародыша, так и окружающих его оболочек. Первичная эмбрионизация, как уже было отмечено выше, приводит к самому факту возникновения эмбриона (или эмбриоида) путем палинтомического или синтомического дробления яйцеклетки. Вторичная эмбрионизация технически обеспечивается целым комплексом принципиально новых

структурных изменений, которые можно объединить в следующие группы.

1. Увеличение количества питательных веществ в яйце или окружающих яйцеклетку структурах при наружной эмбрионизации. Самых значительных объемов в абсолютном выражении такие запасы достигают у некоторых пальм (особенно сейшельской и кокосовой) и у нелетающих птиц. У некоторых животных, например, плоских червей, объединяемых в группу Neorophora, образуются специальные *“яйцевые капсулы”*, содержащие яйцеклетку и желточные клетки, служащие для питания развивающегося зародыша.

2. Появление дополнительных защитных оболочек яйца, помимо собственной оболочки яйцеклетки. При наружной эмбрионизации у наземных животных и семенных растений такие оболочки достигают столь значительной прочности, что появляется необходимость в специальных приспособлениях для их преодоления. К таковым относятся, например, разного строения *“яйцевые крышечки”* и *“яйцевые зубы”* животных, а также проростковые *“поры”* растений, через которые корень и стебель молодого растения выходят из оболочки плода.

3. Образование дополнительных эмбриональных оболочек, таких как сероза, амнион, аллантоис и др. Функциональное и эволюционное значения этих оболочек остаются во многом дискуссионными (Поливанова, 1962; Иванова-Казас, 1981, 1995; Panfilio, 2008), но их связь с процессами эмбрионизации не вызывает сомнений.

4. Структурные изменения при различных вариантах внутренней эмбрионизации. Такие изменения особенно наглядны при плацентарном и адентотрофном вариантах живорождения. В первом варианте за счет сращения тканей материнского и эмбрионального происхождения зачастую образуются новые анатомические структуры, которые традиционно называют общим термином *“плацента”*, а во втором варианте внутри половых протоков матери формируются специальные железы, питающие потомство.

5. Формирование выводковых сумок, выводковых камер, марзупиев и сходных структур, обеспечивающих защиту эмбриональным, а в некоторых случаях также и первым постэмбриональным стадиям развития.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разнообразие проявлений эмбрионизации организмов можно четко разделить на следующие варианты: первичная эмбрионизация, воз-

никающая как результат дробления яйцеклетки, и вторичная эмбрионизация, которая, в свою очередь, разделяется на наружную (под оболочками отложенного яйца, споры, семени или плода) и внутреннюю (живорождение, яйцеживорождение, развитие гаметифита или спорифита на теле материнского растения). Кроме того, эмбрионизация может быть частичной или полной (криптометаболия). В очень редких случаях возникают телескопическая и мозаичная эмбрионизации.

Только вторичная наружная эмбрионизация представляется прямым ответом организма на меняющиеся условия среды обитания и в этом смысле может рассматриваться как адаптивный признак.

Для подавляющего большинства групп животных и растений характерна наружная частичная эмбрионизация, тогда как полная эмбрионизация (как наружная, так и внутренняя) известна лишь для немногих таксонов, суммарно составляющих ничтожную часть от общего видового разнообразия эмбриогенно-многоклеточных организмов.

Вторичная дезэмбрионизация — преждевременное (в сравнении с предковыми группами) завершение эмбриогенеза представляет собой относительно редкое явление, в сравнении с эмбрионизацией, и никогда не приводит к полному отказу от эмбрионального способа развития и возврату к более простым способам формирования многоклеточности.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Статья была подготовлена в рамках бюджетных тем Института истории естествознания и техники им. С.И. Вавилова РАН (№ 0002-2022-0019) и Зоологического института РАН (№ 122031100272-3).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аристотель*. О возникновении животных. М.—Л.: АН СССР, 1940. 250 с.
- Абрамов И.И., Абрамова А.Л.* Класс печеночники, или печеночные мхи (Marchantiopsida, или Hepaticopsida) //

Жизнь растений в 6 т. Т. 4. Мхи. Плауны. Хвощи. Папоротники. Голосеменные растения / Ред. И.В. Грушвицкий, С.Г. Жилин. М.: Просвещение, 1978. С. 60—74.

Адрианов А.В., Малахов В.В. Киноринхи: строение, развитие, филогения и система. М.: Наука, 1994. 260 с.

Адрианов А.В., Малахов В.В. Приапулиды (Priapulida): строение, развитие, филогения и система. М.: КМК, 1996. 268 с.

Бочаров Ю.С. Эволюционная эмбриология позвоночных. М.: МГУ, 1988. 232 с.

Бутузова А.Г. Формирование семени в связи с доразвитием зародыша на примере семейства Ranunculaceae Juss: Дис. ...канд. биол. наук. СПб.: БИН РАН, 1999. 267 с.

Бэр К.М. Об открытии профессором Вагнером бесполого размножения личинок, о дополнительных наблюдениях по этому предмету г. Ганина и педогенезе вообще // Приложение к X тому Зап. Импер. Акад. наук, 1866. Т. 1. С. 1—77 [Немецкий оригинал: *Baer K.H.* Ueber Prof. Nic. Wagners's Entdeckung von Larvae die sich fortpflanzen. Herr Ganin's verwandte und ergänzende Beobachtungen und über dei Paedogenese überhaupt // Bulletin de l'Académie Impériale des Sciences de St. Petersburg. 1866. B. 9. S. 64—137.].

Виноградова К.Л. Отдел красные водоросли (Rhodophyta) // Жизнь растений в 6 т. Т. 3. Водоросли. Лишайники / Ред. М.М. Голлербах. М.: Просвещение, 1977. С. 192—250.

Гаврилов-Зимин И.А. Развитие теоретических представлений о живорождении // Успехи соврем. биол. 2022. Т. 142 (3). С. 223—252.
<https://doi.org/10.31857/S0042132422030036>

Гаврилов-Зимин И.А. Репродуктивные критерии многоклеточности и исходные способы репродукции // Успехи соврем. биол. 2023. Т. 143 (6). С. 523—552.
<https://doi.org/10.31857/S0042132423060042>

Голлербах М.М. Отдел харовые водоросли (Charophyta) // Жизнь растений в 6 т. Т. 3. Водоросли. Лишайники / Ред. М.М. Голлербах. М.: Просвещение, 1977. С. 338—350.

Грушвицкий И.В. Роль недоразвития зародыша в эволюции цветковых растений // Комаровские чтения. 1961. Вып. XIV. С. 1—46.

Десницкий А.Г. Сравнительный анализ инверсии зародышей у водорослей рода *Volvox* (Volvocales, Chlorophyta) // Онтогенез. 2018. Т. 49 (3). С. 147—152.

Ёжиков И.И. Метаморфоз насекомых. М.: Тимирязевский НИИ, 1929. 52 с.

Ёжиков И.И. О типах развития многоклеточных из яйца // Сб. памяти акад. А.Н. Северцова / Ред. И.И. Шмальгаузен. М.: АН СССР, 1939. С. 261—275.

Ёжиков И.И. О ранних эмбриональных стадиях и их связи с типами постэмбрионального развития у насекомых // ДАН СССР. 1940. Т. 28 (6). С. 574—576.

Ёжиков И.И. Особенности ранних эмбриональных стадий при неполном и полном превращении насеко-

- мых // Тр. Ин-та морфол. животных. 1953. Вып. 8. С. 130–153.
- Ересковский А.В. Сравнительная эмбриология губок (Porifera). СПб.: СПбГУ, 2005. 304 с.
- Жукова Г.Я. Особенности пластидного аппарата у хлорэмбриофитов и лейкоэмбриофитов // Актуальные вопросы эмбриологии покрытосемянных растений / Ред. М.С. Яковлев. Л.: Наука, 1979. С. 104–119.
- Жукова Г.Я. Хлорофиллоносность зародыша как признак для классификации цветковых растений // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 2. / Ред. Т.Б. Батыгина. СПб.: Мир и семья, 1997. С. 461–470.
- Захваткин А.А. Сравнительная эмбриология низших беспозвоночных. М.: Советская наука, 1949. 395 с.
- Захваткин А.А. К вопросу о происхождении личинки Holometabola // Сб. научных работ А.А. Захваткина / Ред. Е.С. Смирнов. М.: МГУ, 1953а. С. 197–198.
- Захваткин А.А. Конспект курса “Эмбриология членистоногих” // Сб. научных работ А.А. Захваткина / Ред. Е.С. Смирнов. М.: МГУ, 1953б. С. 371–378.
- Захваткин Ю.А. Эмбриология насекомых. М.: Высшая школа, 1975. 328 с.
- Зоология беспозвоночных в двух томах / Ред. В. Вестхайде, Р. Ригер. М.: КМК, 2008. 935 с. [Немецкий оригинал: Westheide W., Rieger R. Spezielle Zoologie. Teil 1: Einzeller und Wirbellose Tiere. Teil 2. Wirbel und Schädeltiere. Heidelberg Berlin: Spektrum Akademischer Verlag, 2004. 922+712 s.].
- Иванова-Казас О.М. Очерки по сравнительной эмбриологии перепончатокрылых. Л.: ЛГУ, 1961. 266 с.
- Иванова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Часть 1. Простейшие и низшие многоклеточные. Новосибирск: Наука, 1975. 372 с.
- Иванова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Часть 2. Трохофорные, щупальцевые, щетинкочелюстные, погонофоры. М.: Наука, 1977. 312 с.
- Иванова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Часть 3. Иглокожие и полухордовые. М.: Наука, 1978а. 166 с.
- Иванова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Часть 4. Низшие хордовые. М.: Наука, 1978б. 166 с.
- Иванова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Часть 5. Членистоногие (ониофоры, тихоходки, пентастомиды, пантоподы, трилобиты, хелицеровые и ракообразные). М.: Наука, 1979. 224 с.
- Иванова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Часть 6. Неполноусые. М.: Наука, 1981. 207 с.
- Иванова-Казас О.М. Эволюционная эмбриология животных. СПб.: Наука, 1995. 565 с.
- Иванова-Казас О.М. Неотения как особый модус эволюции. 1. Неотения у низших Metazoa, полихет и моллюсков // Зоол. ж. 1997. Т. 76 (11). С. 1244–1255.
- Киселев Д.Н. Номенклатура и классификация гетерохроний // Тр. Геол. ин-та. 2023. Вып. 629. С. 1–260.
- Клюге Н.Ю. Систематика насекомых и принципы кладоанализа. В двух томах. М.: КМК, 2020. 1037 + X с.
- Малахов В.В. Нематоды: строение, развитие, филогения и система. М.: Наука, 1986. 215 с.
- Малахов В.В., Галкин С.В. Вестиментиферы: бескишечные беспозвоночные морских глубин. М.: КМК, 1998. 205 с.
- Малахов В.В., Богомолова Е.В., Кузьмина Т.В., Темерева Е.В. Эволюция жизненных циклов Metazoa и происхождение пелагических личинок // Онтогенез. 2019. Т. 50 (6). С. 383–397.
- Мейер К.И. Практический курс морфологии архегонийных растений. М.: МГУ, 1982. 219 с.
- Мечников И.И. Очеркявлений превращения у животных // Натуралист. 1866. Т. 2. С. 145–155.
- Мечников И.И. Очеркявлений превращения у животных // Академическое собрание сочинений. Т. 2. М.: Акад. мед. наук СССР, 1953. С. 42–55.
- Мечников И.И. Сравнительно-эмбриологические исследования // Академическое собрание сочинений. Т. 3. М.: Акад. мед. наук СССР, 1955а. С. 95–103.
- Мечников И.И. Эмбриология многоножек с удвоенными ногами // Академическое собрание сочинений. Т. 3. М.: Акад. мед. наук СССР, 1955б. С. 9–29.
- Островский А.Н. Эволюция полового размножения мшанок отряда Cheilostomata (Bryozoa: Gymnolaemata). СПб.: СПбГУ, 2009. 404 с.
- Островский А.Н. Эволюция лецитотрофных личинок у морских беспозвоночных на примере мшанок класса Gymnolaemata // Биосфера. 2011. Т. 3 (2). С. 233–252.
- Поливанова Е.Н. Эмбрионизация онтогенеза, происхождение эмбриональных линек и типы развития насекомых // Зоол. журн. 1979. Т. 58 (9). С. 1269–1280.
- Поливанова Е.Н. Функциональный аспект эмбриогенеза насекомых. М.: Наука, 1982. 188 с.
- Попова А.А. Типы приспособлений тлей к питанию на кормовых растениях. Л.: Наука, 1967. 291 с.
- Потёмкин А.Д., Софронова Е.В. Печёночники и антоцеротовые России. Т. 1. СПб.—Якутск: Бостон-Спектр, 2009. 368 с.
- Северцов А.Н. Морфологические закономерности эволюции. М.—Л.: АН СССР, 1939. 610 с.
- Терёхин Э.С. Паразитные цветковые растения. Л.: Наука, 1977. 220 с.
- Терёхин Э.С. Редуцированные и недифференцированные зародыши // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 2 / Ред. Т.Б. Батыгина. СПб.: Мир и семья, 1997. С. 449–461.
- Терёхин Э.С. Метаморфоз // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 3 /

- Ред. Т.Б. Батыгина. СПб.: Мир и семья, 2000. С. 62–69.
- Тимонин А.К., Филин В.Р. Ботаника в 4 т. Т. 4 (1). Систематика высших растений. М.: Академия, 2009. 320 с.
- Тихомирова А.Л. Перестройка онтогенеза как механизм эволюции насекомых. М.: Наука, 1991. 168 с.
- Хохряков А.П. Эволюция биоморф растений. М.: Наука, 1981. 168 с.
- Шмальгаузен И.И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М.; Л.: АН СССР, 1938. 144 с.
- Шмальгаузен И.И. Избранные труды. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М.: Наука, 1982. 383 с.
- Achatz J.G., Chiodin M., Salvenmoser W. et al. The Acoela: on their kind and kinships, especially with nemertodermatids and xenoturbellids (Bilateria incertae sedis) // Org. Divers. Evol. 2013. V. 13 (2). P. 267–286. <https://doi.org/10.1007/s13127-012-0112-4>
- Anderson D.T. 1973. Embryology and phylogeny in annelids and arthropods. Oxford: Pergamon Press, 1973. 495 p.
- Apelt G. Fortpflanzungsbiologie, Entwicklungszyklen und vergleichende Frühentwicklung acoeler Turbellarien // Marine Biol. 1969. V. 4. P. 267–325. <https://doi.org/10.1007/BF00350360>
- Bain B.A. Larval types and a summary of postembryonic development within the pycnogonids // Invertebr. Reprod. Dev. 2003. V. 43 (3). P. 193–222. <https://doi.org/10.1080/07924259.2003.9652540>
- Bates W.R. Direct Development in the Ascidian *Molgula tortiformis* (Verrill, 1871) // Biol. Bull. 1995. V. 188 (1). P. 16–22. <https://www.journals.uchicago.edu/doi/10.2307/1542063#>
- Berlese A. Intorno alle metamorfosi negli insetti // Redia. 1913. V. 9 (2). P. 121–136.
- Blackburn D.G. Evolution of vertebrate viviparity and specializations for fetal nutrition: a quantitative and qualitative analysis // J. Morphol. 2015. V. 276 (8). P. 961–990.
- Botton M.L., Tankersley R.A., Loveland R.E. Developmental ecology of the American horseshoe crab *Limulus polyphemus* // Curr. Zool. 2010. V. 56 (5). P. 550–562. <https://doi.org/10.1093/czoolo/56.5.550>
- Brien P. L'embryogenèse et la sénescence de l'Hydre d'eau douce // Mém. Acad. Belgique., Sci. 1965. V. 36. P. 1–113 (Цит. по Иванова-Казас, 1975).
- Cable J., Harris P.D. Gyrodactylid developmental biology: historical review, current status and future trends // Int. J. Parasitol. 2002. V. 32 (3). P. 255–280. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(01\)00330-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00330-7)
- Christenhusz M.J.M., Byng J.W. The number of known plants species in the world and its annual increase // Phytotaxa. 2016. V. 261 (3). C. 201–217. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.261.3.1>
- Cloney R.A. Ascidian larvae and the events of metamorphosis // Am. Zool. 1982. V. 22 (4). P. 817–826. <http://www.jstor.org/stable/3882686>
- Ebihara A., Farrar D.R. and Ito M. The sporophyte-less filmy fern of eastern North America *Trichomanes intricatum* (Hymenophyllaceae) has the chloroplast genome of an Asian species // Am. J. Bot. 2008. № 95. P. 1645–1651. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800122>
- Edgar A., Ponciano J.M., Martindale, Mark Q. Ctenophores are direct developers that reproduce continuously beginning very early after hatching // PNAS USA. 2022. V. 119 (18). P. e2122052119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2122052119>
- Erezylmaz D.F. Imperfect eggs and oviform nymphs: a history of ideas about the origins of insect metamorphosis // Integr. Comp. Biol. 2006. V. 46 (6). P. 795–807. <https://doi.org/10.1093/icb/icl033>
- Evolutionary developmental biology of invertebrates. Volumes 1–6 / Ed. A. Wanninger. Wien: Springer, 2015. 214 p.
- Farrar D.R. Species and evolution in asexually reproducing independent fern gametophytes // Syst. Bot. 1990. V. 15 (1). P. 98–111. <https://doi.org/10.2307/2419020>
- Fraulob M., Beutel R.G., Machida R., Pohl H. The embryonic development of *Stylops ovinae* (Strepsiptera, Stylopidae) with emphasis on external morphology // Arthropod Struct. Dev. 2015. V. 44 (1). P. 42–68. <https://doi.org/10.1016/j.asd.2014.10.001>
- Garstang W. The theory of recapitulation — a critical restatement of the biogenetic law // Linn. Soc. London (Zool.). 1922. V. 35. P. 81–101.
- Gavrilov-Zimin I.A. Aberrant ontogeneses and life cycles in Paraneoptera // Comp. Cytogenet. 2021. V. 15 (3). P. 253–277. <https://doi.org/10.3897/compcytogen.v15.i3.70362>
- Gavrilov-Zimin I.A. Development of theoretical views on viviparity // Biol. Bull. Rev. 2022. V. 12 (6). P. 570–595. <https://doi.org/10.1134/S2079086422060032>
- Gavrilov-Zimin I.A. Ancient reproductive modes and criteria of multicellularity // Comp. Cytogenet. 2023. V. 17. P. 195–238. <https://doi.org/10.3897/compcytogen.17.109671>
- Giard A. La castration parasitaire et son influence sur les caracteres extérieurs du sexe male chez les crustacés décapodes // Bull. scientifique, Département du Nord de la France et de la Belgique. 1887. V. 18. P. 1–28.
- Giesa S. Die Embryonalentwicklung von *Monocelis fusca* Örsted // Z. Morph. Öcol. Tiere, 1966. B. 57. S. 137–230.
- Glynn P.W., Coffman B., Primov K. et al. Benthic ctenophore (Order Platyctenida) reproduction, recruitment, and seasonality in south Florida // Invertebr. Biol. 2019. V. 138 (113). P. e12256. <https://doi.org/10.1111/ivb.12256>
- Gonzalez P., Jiang J.Z., Lowe C.J. The development and metamorphosis of the indirect developing acorn worm *Schizocardium californicum* (Enteropneusta: Spengelidae) // Front. Zool. 2018. V. 15. Art. 26. <https://doi.org/10.1186/s12983-018-0270-0>
- Hagan H.R. Embryology of viviparous insects. New York: The Ronald Press Company, 1951. 472 p.

- Hanelt B., Thomas F., Schmidt-Rhaesa A. Biology of the phylum nematomorpha // Adv. Parasitol. 2005. V. 59. P. 243–305.
[https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(05\)59004-3](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)59004-3)
- Harveus G. Exercitationes de generatione animalium. L.: Gardianis, 1651. 302 p.
- Harveus G. Anatomical exercitations, concerning the generation of living creatures: to which are added particular discourses, of births and of conceptions. L.: James Young, 1653. 566 p.
<https://quod.lib.umich.edu/e/eebo/A43030.0001.001/1?rgn=div1;view=toc>
- Haug C., Rötzer M.A.I.N. The ontogeny of *Limulus polyphemus* (Xiphosura s. str., Euchelicerata) revised: looking “under the skin” // Dev. Genes. Evol. 2018. V. 228. P. 49–61.
<https://doi.org/10.1007/s00427-018-0603-1>
- Heslop-Harrison G. On the origin and function of the pupal stadia in holometabolous Insecta // Proc. Univ. Durham Philos. Soc. Ser. A. 1958. V. 13. P. 59–79.
- Higgins R.P., Storch V. Evidence for direct development in *Meiopriapulius fijiensis* (Priapulida) // Trans. Am. Microscop. Soc. 1991. V. 110 (1). P. 37–46.
<https://doi.org/10.2307/3226738>
- Hopwood N. Visual standards and disciplinary change: normal plates, tables and stages in embryology // History of Science. 2005. V. 43 (3). P. 239–303.
<https://doi.org/10.1177/007327530504300302>
- Jeschikov I.I. Metamorphose, Cryptometabolie und direkte Entwicklung // Zool. Anz. 1936. B. 114. S. 141–152.
- Kardong K.V. Vertebrates: comparative anatomy, function, evolution. New York: McGraw-Hill, 2012. 794 p.
- Kingsley J.S. The embryology of *Limulus* // J. Morphol. 1892. V. 7 (1). P. 35–68.
<https://doi.org/10.1002/jmor.1050070104>
- Klapow L.A. Ovoviviparity in the genus *Excirrolana* (Crustacea: Isopoda) // J. Zool. 1970. V. 162. P. 359–369.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1970.tb01271.x>
- Kollmann J. Das iiberwintern von europäischen Frosch — und Tritonlawen und die Umwandlung des mexicanischen Axolotle // Verhandl. Natur. Ges. Basel. 1884. B. 7. S. 387–398.
- Kowalevsky A. Ueber dei Entwicklungsgeschichte der Pyrosomen // Archiv für Microscopische Anatomie. 1875. B. 11. S. 597–635.
- Köhler F., von Rintelen T., Meyer A., Glaubrecht M. Multiple origin of viviparity in Southeast Asian gastropods (Cerithioidea: Pachychilidae) and its evolutionary implications // Evolution. 2004. V. 58 (10). P. 2215–2226.
<https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2004.tb01599.x>
- Kristensen R.M. An introduction to Loricifera, Cyclophora, and Micrognathozoa // Integr. Comp. Biol. 2002. V. 42 (3). P. 641–651.
<https://doi.org/10.1093/icb/42.3.641>
- Laibl L. Patterns in palaeontology: the development of trilobites // Palaeontol. Online. 2017. V. 7. Art. 10. P. 1–9.
- Lang A. Die Polycladen des Golfes von Neapel // Fauna und Flora Golf. Neapel. 1884. B. 11. S. 1–688.
- Larink O. Zur Struktur der Blastoder-kutikula von *Petrobius brevistylis* und *P. maritimus* (Thysanura, Insecta) // Cytobiologie. 1972. B. 5. H. 3. S. 422–426 (Цит. по: Поливанова, 1982.).
- Leuckart R. Ueber Metamorphose, ungeschlechtliche Vermehrung, Generations-wechsel // Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie. 1851. B. 3. H. 2. S. 170–188.
- Løvtrup S. On von Baerian and Haeckelian recapitulation // Syst. Biol. 1978. V. 27 (3). P. 348–352.
<https://doi.org/10.2307/2412887>
- Lowe Ch.J., Tagawa K., Humphreys T. et al. Hemichordate embryos: procurement, culture, and basic methods // Meth. Cell Biol. 2004. V. 74. P. 171–194.
[https://doi.org/10.1016/S0091-679X\(04\)74008-X](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(04)74008-X)
- Lowne B.Th. The anatomy, physiology, morphology and development of the blow-fly (*Calliphora erythrocephala*). Part 1. L.: Porter, 1890. 350 p.
- Lubbock J. On the origin and metamorphoses of insects. L.—N.Y.: Macmillan and Co., 1890. 108 p.
- Lucas C.H., Reed A.J. Observations on the life histories of the narcomedusae *Aeginura grimaldii*, *Cunina peregrina* and *Solmissus incisa* from the western North Atlantic // Mar. Biol. 2009. V. 156. P. 373–379.
<https://doi.org/10.1007/s00227-008-1089-6>
- McNamara K.J. A guide to the nomenclature of heterochrony // J. Paleontol. 1986. V. 60 (1). P. 4–13.
- Martín-Durán J.M., Egger B. Developmental diversity in free-living flatworms // EvoDevo. 2012. V. 3. Art. 7.
<https://doi.org/10.1186/2041-9139-3-7>
- Maslakova S.A. The invention of the pilidium larva in an otherwise perfectly good spiralian phylum Nemertea // Integr. Comp. Biol. 2010. V. 50 (5). P. 734–743.
<https://doi.org/10.1093/icb/icq096>
- Mayer G., Franke F.A., Treffkorn S. et al. Onychophora // Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates 3: Ecdysozoa I: Non-Tetraconata / Ed. A. Wanninger. Wien: Springer-Verlag, 2015. P. 53–98.
https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1865-8_4
- Metschnikoff E. Embryologie der doppelfüssigen Myriapoden // Zeitsch. Wiss. Zool. 1874. B. 24. S. 253–283.
- Metschnikoff E. Embryologische Studien an Medusen. Ein Beitrag zur genealogie der primitivorgane. Wien: Hölder, 1886. 159 s.
- Moran N.A. The evolution of aphid life cycles // Annu. Rev. Entomol. 1992. V. 37. P. 321–348.
<https://doi.org/10.1146/annurev.en.37.010192.001541>
- Müller J. Ueber eine eigentümliche Wurmlarva aus der Klasse Turbellarien // Muller's Arch. Anat. Phys. 1850. S. 485–500.
- Nakano H., Lundin K., Bourlat S. et al. *Xenoturbella bocki* exhibits direct development with similarities to Acoelomorpha // Nat. Commun. 2013. V. 4. Art. 1537.
<https://doi.org/10.1038/ncomms2556>
- Nielsen C. On the life-cycle of some loxosomatidae (Entoprocta) // Ophelia. 1966. V. 3 (1). P. 221–247.
<https://doi.org/10.1080/00785326.1966.10409644>
- Nielsen C. Entoproct life-cycles and the entoproct/ectoproct relationship // Ophelia. 1971. V. 9 (2). P. 209–341.
<http://dx.doi.org/10.1080/00785326.1971.10430095>

- Notov A.A.* Embryonization of ontogeny and evolution of life cycles of modular organisms // *Paleontol. J.* 2018. V. 52. P. 1799–1805.
<https://doi.org/10.1134/S0031030118140125>
- Ostrovsky A.N., Lidgard S., Gordon D.P. et al.* Matrotrophy and placentation in invertebrates: a new paradigm // *Biol. Rev.* 2016. V. 91. P. 673–711.
<https://dx.doi.org/10.1111%2Fbrv.12189>
- Panfili K.A.* Extraembryonic development in insects and the acrobatics of blastokinesis // *Dev. Biol.* 2008. V. 313 (2). P. 471–491.
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.11.004>
- Patten W.* The embryology of *Patella* // *Arbeiten aus dem Zoologischen Instituten der Universität Wien und der Zoologischen Station in Triest.* 1886. V. 6. P. 149–174.
- Philipschenko J.* Beiträge zur Kenntnis der Apterygoten. III. Die Embryonalentwicklung von *Isotome cinerea* Nic. // *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie.* 1912. B. 103 (5). S. 519–660.
- Piraino S., De Vito D., Schmich J. et al.* Reverse development in Cnidaria // *Canad. J. Zool.* 2004. V. 82 (11). P. 1748–1754.
<https://doi.org/10.1139/z04-174>
- Rakitov R.* Aphagy and vestigial stylets in first-instar nymphs of Aradidae (Hemiptera, Heteroptera) // *Arthropod Struct. Dev.* 2023. V. 72 (2). P. 101226.
<https://doi.org/10.1016/j.asd.2022.101226>
- Reisinger E.* Die cytologische Grundlage Der parthenogenetischen Dioogonie // *Chromosoma.* 1939. V. 1. P. 531–553.
<https://doi.org/10.1007/BF01271648>
- Rice M.E.* Larval development and metamorphosis in Sipuncula // *Am. Zool.* 1976. V. 16 (3). P. 563–571.
<https://doi.org/10.1093/icb/16.3.563>
- Smith L.M.* Japygidae of North America, 8. Postembryonic Development of Parajapyginae and Evalljapyginae (Insecta, Diplura) // *Ann. Entomol. Soc. America.* 1961. V. 54. P. 437–441.
- Swammerdam J.* The book of nature or, the history of insects, biologists and their world. L.: Arno Press, 1758 (reprint of 1669). 334 p.
- Tamura M., Mizumoto J.* Stages of embryo development in ripe seeds or achenes of the Ranunculaceae // *J. Japan Bot.* 1972. V. 47 (8). P. 225–237.
- Taylor T.N., Kerp H., Hass H.* Life history biology of early land plants: deciphering the gametophyte phase // *PNAS USA.* 2005. V. 102 (16). P. 5892–5897.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0501985102>
- Terazaki M., Miller C.B.* Reproduction of meso- and bathypelagic chaetognaths in the genus *Eukrohnia* // *Mar. Biol.* 1982. V. 71. P. 193–196.
<https://doi.org/10.1007/BF00394629>
- Tiegs O.W.* The embryology and affinities of the Symphyla, based on a study of *Hanseniella agilis* // *J. Cell. Sci.* 1940. Ser. 2. V. 82 (325). P. 1–208.
<https://doi.org/10.1242/jcs.s2-82.325.1>
- Tiegs O.W.* The development and affinities of the Pauropoda, based on a study of *Pauropus silvaticus* // *J. Cell. Sci.* 1947. Ser. 3. V. 88 (2). P. 165–267.
<https://doi.org/10.1242/jcs.s3-88.2.165>
- Tinsley R.C.* Ovoviviparity in platyhelminth life-cycles // *Parasitology.* 1983. V. 86 (4). P. 161–196.
<https://doi.org/10.1017/s0031182000050885>
- Tomba A.S.* Oviparity, egg retention and ovoviviparity in Pulmonates // *J. Mollusc. Stud.* 1979. V. 45 (2). P. 155–160.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.mollus.a065489>
- Treffkorn S., Hernández-Lagos O.Y., Mayer G.* Evidence for cell turnover as the mechanism responsible for the transport of embryos towards the vagina in viviparous onychophorans (velvet worms) // *Front. Zool.* 2019. V. 16. P. 1–16.
<https://doi.org/10.1186/s12983-019-0317-x>
- van Beneden P.-J.* Mémoire sur les vers intestinaux. Paris: Baillière et fils, 1858. 376 p.
- Watanabe Y.* The development of two species of *Tetilla* (Demosponge) // *Nat. Sci. Rep. Ochanomizu Univ.* 1978. V. 29 (1). P. 71–106.
<https://teapot.lib.ocha.ac.jp/records/34838>
- Wourms J.P.* The challenges of piscine viviparity // *Israel J. Zool.* 1994. V. 40. P. 551–568.

The Concept of Evolutional Embryonization/Desembryonization of Ontogeneses

I. A. Gavrilov-Zimin^{a, b, *}

^a*Vavilov Institute for the History of Science and Technology,
Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

^b*Zoological Institute, Russian Academy of Sciences,
St. Petersburg, Russia*

^{*}*e-mail: coccids@gmail.com*

The article attempts to analyze and generalize into a single system of views the variety of hypotheses about the evolutionary significance of embryonization and desembryonization of ontogenies, as well as to evaluate the contribution of these hypotheses to the understanding of the phylogeny of living organisms. In the course of such an analysis, it is demonstrated that the initial (primary) embryonic development was not an adaptation to certain living conditions, but just one of the ways of constructing a multicellular body from the oogamete through its palintomic or syntomic divisions. Secondary embryonization repeatedly occurs on the basis of ancestral ontogenies, in which the fragmentation of the egg (or spore) leads to the appearance of an independent, but underdeveloped stage, very different from the adult organism; as a result of embryonization, such stages are partly or totally hidden under the egg and/or embryonic shells. Of all the variants of embryonization, only secondary external embryonization (under the shells of the egg, spore, seed or fruit) in most studied cases gives the impression of a direct evolutionary response of a taxon to changing environmental conditions. Complete embryonization of underdeveloped stages of ontogeny (cryptometabolie) is a relatively rare phenomenon and appears to be disadvantageous from a biological diversity point of view. The reverse process — secondary desembryonization, premature (in comparison with ancestral groups) completion of embryogenesis is even less common and never leads to a complete abandonment of the embryonic mode of development and a return to the archaic protonemal or siphonoseptal modes of multicellularity formation.

Keywords: embryology, individual development, life cycle, metamorphosis, cryptometabolism

УДК 616.8-009.836.14;612.826.2+612.823

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ДЕПРИВАЦИИ СНА

© 2024 г. В. Г. Никонорова^{1,*}, В. В. Криштоп², С. В. Чепур¹, И. В. Фатеев¹, М. А. Юдин¹

¹Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины,

Санкт-Петербург, Россия

²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: gniiivm_2@mil.ru

Поступила в редакцию 12.03.2024 г.

После доработки 07.04.2024 г.

Принята к публикации 07.04.2024 г.

Депривация сна широко распространена в современном обществе как следствие хронического стресса и специфики ряда гражданских и военных специальностей. Коррекция ее последствий должна учитывать фундаментальный принцип единства формы и функции, реализуемый клеточно-глиальными ансамблями анатомических образований головного мозга. В связи с этим была поставлена цель охарактеризовать микроскопические и ультрамикроскопические перестройки структур головного мозга, участвующих в регуляции цикла сон–бодрствование, при депривации сна. Изменения основных структур, обеспечивающих чередование сон–бодрствование, приобретают патологическую сущность только в условиях длительной депривации сна, связанной с угрозой жизни. Методы световой микроскопии недостаточно чувствительны для выявления сложившихся изменений, однако электронно-микроскопическое исследование позволяет выделить как специфические ультрамикроскопические перестройки, так и десинхронозы между количественными характеристиками органелл клеток нейроглиальных ансамблей, структур головного мозга, функционально объединенных в обеспечении цикла сон–бодрствование.

Ключевые слова: депривация сна, структуры головного мозга, нейромедиаторы, морфология нейронов

DOI: 10.31857/S0042132424050032 **EDN:** OGVJFD

ВВЕДЕНИЕ

Многочисленные исследования свидетельствуют, что депривация сна приводит к грубым нарушениям нейрогуморальной регуляции, которые часто обуславливают алопецию, появление язв на коже, на слизистой желудка, а иногда и гибель животных в эксперименте. Субстрат подобных изменений локализован в ЦНС, и его связь с длительностью депривации и органическими изменениями головного мозга до настоящего времени до конца не раскрыта. Парадоксальным выводом стало то, что применение методов световой микроскопии не позволило однозначно констатировать или опровергнуть наличие клеточных изменений, например нейродегенеративных, в структурах головного мозга на фоне экспериментально воспроизводимых функциональных и биохимических пере-

строек. Так, у крыс, погибших при моделировании депривации сна продолжительностью от 8 ч до 14 суток, TUNEL-методом не выявлено статистически значимых различий в фрагментации структур ДНК с группой контроля ни в одной из долей головного мозга. Как у контрольных, так и у экспериментальных животных TUNEL-положительные ядра выявлены в виде групп множественных апоптотических клеточных тел или в виде изолированных, пикнотических ядер (Cirelli et al., 1999). В другом исследовании с лишением крыс сна в течение 96 ч также показано отсутствие некроза структур головного мозга и клеточного апоптоза (Hipólido et al., 2002). Напротив, окрашиванием amino-медью-серебром, позволяющим обнаружить ранние признаки клеточного повреждения глиоцитов, выявлена значительная гиперхромность клеток в супра-

оптическом ядре гипоталамуса крыс, бодрствовавших в течение 8–10 дней, по сравнению с животными контрольной группы (Eiland et al., 2002). В основе метода лежит осаждение ионного серебра вокруг химических восстанавливающих групп, обнажающихся в поврежденных с нарушенной третичной структурой элементах цитоскелета. Начало реактивного окрашивания, как правило, отмечают спустя несколько минут после клеточного повреждения и прослеживают несколько дней или недель. Окрашивание amino-медью-серебром, в отличие от TUNEL-метода, может выявлять более ранние дегенеративные изменения, которые в дальнейшем индуцируют апоптоз, что подтверждено при электронной микроскопии (Biswas et al., 2006). Особенность исследования (Bellesi, 2019) — сочетание анатомического и структурно-функционального подходов: ультрамикроскопическое исследование клеток в различных структурах мозга с учетом влияния физиологического цикла сон—бодрствование. Благодаря последним наблюдениям подтвержден факт апоптоза клеток головного мозга у крыс после 6–10-дневного лишения быстрого сна (Bellesi, 2019).

Противоречия в описаниях структурных изменений в условиях депривации сна определили цель настоящего обзора: оценка микроскопических и ультрамикроскопических перестроек структур головного мозга, участвующих в регуляции цикла сон—бодрствование, при депривации сна.

АНАТОМО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ЦИКЛА СОН—БОДРСТВОВАНИЕ

Ретикулярную формацию считают основной структурой, формирующей восходящую активирующую систему поддержания бодрствования. В ней выделяют несколько локусов, представленных перикарионами нейронов, получающих центростремительные импульсы. Впоследствии прослежена их связь с ядрами в других структурах головного мозга (Bellesi, 2019).

Общая закономерность организации нейрональных сетей, участвующих в поддержании бодрствования, состоит в относительной немногочисленности тел нейронов: норадренергических (голубоватое пятно), серотонинергических (дорсальное и срединное ядра шва), орексинергических, гистаминергических (задний гипоталамус) и их аксонов, оканчивающихся в различных областях головного мозга.

Голубоватое пятно

Голубоватое пятно (Locus coeruleus, LC) содержит норадреналинергические нейроны (nA-n), аксоны которых проникают в вентролатеральное преоптическое ядро гипоталамуса. Также LC активирует нейроны коры через таламус, дополнительно иннервируя неспецифические (срединные и интрааминарные) и специфические его ядра (Krout et al., 2002). nA-n LC имеют сильно разветвленные аксоны, которые служат основным источником nA для неокортекса, гиппокампа, миндалевидного тела, таламуса, мозжечка и спинного мозга (Lindvall, Björklund, 1974), аксоны наиболее активны во время бодрствования. В nREM-фазу сна их активность падает, что дополнительно приводит к снижению мышечного тонуса. В REM-фазе сна nA-n участия не принимают.

Большинство нейронов LC — клетки преимущественно среднего размера веретенообразной или полярной формы с тремя или четырьмя длинными тонкими дендритами (Chan-Palay, Asan, 1989; Patt, Gerhard, 1993). Кроме того, в каудальной и вентролатеральной области LC, включая область subcoeruleus, представлены более мелкие веретенообразные пигментированные нейроны. Для нейронов LC специфичны округлые внутриядерные тельца Маринеско. Они полиморфны и нередко имеют сложную форму с уплощениями и вогнутостью, могут располагаться как рядом, так и на отдалении друг от друга (Коржевский и др., 2017). Увеличение в цитоплазме нейронов количества nA-гранул и их размера свидетельствует об активации этой структуры (Ганчева и др., 2019). При депривации быстрого сна у крыс на протяжении 144 ч показано снижение количества nA-n и возникновение в них нейродегенеративных изменений, вероятно, связанных с апоптозом, индуцированным оксидативным стрессом (Mesgar et al., 2017).

Продолговатый мозг

Продолговатый мозг, дорсальное и срединные ядра шва (Dorsal raphe nuclei), содержат серотонинергические нейроны (5-HT-n). Известны серотонинергические пути, ведущие от дорсального ядра шва продолговатого мозга как непосредственно к коре, так и дорсально к таламусу, которые отвечают за работу таламо-кортикальной нейронной сети и за передачу импульса к гипоталамусу и базальным ядрам переднего мозга для активации таламо-кортикальных и базало-кортикальных сетей (Krout et al., 2002). Однако действие серотонина на эти структуры зависит от типа расположения рецептора. Так, стимуляция пресинаптических

5-HT_{1A}-рецепторов увеличивает REM-фазу сна и снижает уровень бодрствования, а стимуляция постсинаптических 5-HT_{1A}-рецепторов уменьшает REM-фазу сна и так же снижает уровень бодрствования (Neurotransmitters ..., 2001).

Перикарион 5-HT-н составляет от 15 до 60 мкм в диаметре в зависимости от гормонального статуса животного. У животных, лишенных надпочечников и как следствие имеющих низкий уровень циркулирующих глюкокортикоидов, нейроны в области шва уменьшены в размерах и приобретают истонченные отростки (Azmitia, 1999). Аксоны 5-HT-н имеют варикозные расширения, которые способны обеспечивать объемную передачу сигналов по типу синапсов *en passant*. Больше всего 5-HT-н выявлено в дорсальном ядре шва, в медиальном — их в 25 раз меньше, а в каудальном — еще меньше (Azmitia, Whitaker-Azmitia, 1997). Именно нейроны дорсального и срединного ядер шва проявляют максимальную активность во время бодрствования, в nREM-фазу сна их активность снижена, а в REM-фазу — не отмечена. Рядом с 5-HT-н локализованы глутаматергические нейроны, что может свидетельствовать о роли Glu-рецепторов в реализации цикла сон—бодрствование и запуске апоптоза нейронов при депривации сна, GABA-ергические и NO-ергические нейроны обычно расположены отдельно от 5-HT-н.

Задний гипоталамус. Туберомамиллярное ядро

Гистаминергические нейроны (His-н) туберомамиллярного ядра — это единственный нейрональный источник гистамина в головном мозге (Ковальзон, Стрыгин, 2013). Ранее предполагали, что это основные нейроны, обеспечивающие бодрствование. Наиболее мощные восходящие проекции His-н — в нейрогипофиз, в близлежащие дофаминсодержащие области вентральной покрышки среднего мозга и в компактную часть черной субстанции, а также в базальные области переднего мозга (крупноклеточные ядра безымянной субстанции, содержащие ацетилхолин (ACh) и GABA), в стриатум, в неокортекс, в гиппокамп, в миндалину и в таламические ядра средней линии, а нисходящие — в мозжечок, в продолговатый и спинной мозг. His-н туберомамиллярного ядра имеют проекции также в латеродорзальное и педункулопонтинное ядра мезопонтинной покрышки, выделяющие ACh и продуцирующие nA, и в дорзальные ядра шва, синтезирующие серотонин (Lin, 2000). Показано, что чередование периодов бодрствования и сна опосредовано циркадными транскрипционными факторами (Yu et al., 2014), при этом существенную роль отводят взаимосвязи между

гистаминергической и орексин/гипокретинергической системами мозга. Медиаторы этих двух систем действуют синергично, играя уникальную роль в поддержании бодрствования. Орексинсодержащие нейроны (Orx-н) локализованы в заднелатеральном гипоталамусе и перифорникальной области в непосредственной близости от His-н туберомамиллярного ядра. Оба ядра образуют зону частичного перекрытия, формируя функциональное единство. Орексин возбуждает His-н через одноименные рецепторы 2-го типа и активирует натрий-кальциевый ионный обмен. Однако His-н не влияют на возбудимость Orx-н (Passani et al., 2007), что позволяет стабилизировать состояние бодрствования, придавая ему большую инертность. Торможение His-н во сне опосредовано GABA-н вентролатеральной преоптической области (Nuutinen, Panula, 2010). His-н проявляет максимальную активность во время бодрствования, в nREM-фазу сна их активность снижена, а в REM-фазе сна они участия не принимают.

Ядра His-н крупные, расположены в центре перикарионов, неправильной формы: чаще веретеновидной, реже палочковидной, иногда подковообразной (Зиматкин и др., 2004). Помимо большого размера (25–35 мкм), туберомамиллярные нейроны обладают небольшим количеством толстых первичных дендритов с перекрывающимися ветвлениями и малым количеством аксодендритных синаптических контактов. Отростки His-н формируют диффузные варикозные расширения с синаптическими везикулами, которые образуют синаптические контакты лишь в редких случаях (Michelsen, Panula, 2002). Эта особенность и отсутствие высокоаффинного механизма транскитоza гистамина позволяют предположить его способности диффундировать и оказывать паракринное действие на нейрональное микроокружение — глиальные клетки, эндотелий и мезотелий сосудов (Blandina et al., 2012).

His-н туберомамиллярного ядра формируют плотную группу преимущественно магноцеллюлярных нейронов (около 2 тыс. у крысы). У человека His-н более многочисленны (около 64 000), и их перикарионы занимают большую часть гипоталамуса (Airaksinen et al., 1991), что необходимо учитывать при экстраполяции депривационных моделей на высший биологический объект.

Вторым источником гистамина в головном мозге служат тучные клетки, представленные у животных преимущественно в оболочках мозга, в дорсальном таламусе и срединном возвышении. Значение гистамина, вырабатываемого тучными клетками в мозге, до конца не изучено,

однако их вклад в общую продукцию медиатора незначителен (Panula, Nuutinen, 2013).

Показано, что высвобождение гистамина значительно возрастает при депривации сна (Zant et al., 2012). Лишение сна в течение 48 ч вызывает постепенное повышение концентрации гистамина в спинномозговой жидкости с 20–35 до 38–52 пг/мл начиная с 24 ч и приводит к увеличению экспрессии гистидиндекарбоксилазы в вестибулярной системе (Qian et al., 2019). Последнюю считают единственным ферментом биохимического пути синтеза гистамина через декарбоксилирование гистидина, что позволяет оценивать гистаминсинтезирующую активность нейронов (Гаврилов и др., 2019).

Латеральный гипоталамус

Латеральный (срединный) гипоталамус представлен многочисленными Orx-n, которые регулируют функцию His-n заднего гипоталамуса, инициируя работу центра REM-фазы сна. Orx-n формируют проекции и на nA-n LC, вызывая их деполяризацию (Ковальзон, Долгих, 2016).

Основную часть активирующих сигналов Orx-n гипоталамуса получают от глутаматергических волокон, образованных парабрахияльными ядрами моста, которые инициируют пробуждение и поддерживают бодрствование. Orx-n обеспечивают компенсацию ситуативно обусловленного снижения восходящих стимулирующих бодрствование импульсов в зависимости от конкретных условий среды (Гаврилов и др., 2019).

Форма Orx-n разнообразная: сферическая, эллипсоидная, треугольная (Chen et al., 1999), а их размеры варьируют от 15 до 40 мкм в диаметре (Перекрест и др., 2010). В цитоплазме Orx-n прослеживаются четко окрашенные гранулы орексина (Шайинидзе и др., 2008).

Большинство нейронов биполярные, меньшее количество — мультиполярные (Williams et al., 2022). Аксоны Orx-n формируют пресинаптические бутоны терминалей, плотность которых различна в зависимости от отдела мозга (Dell et al., 2015). Наибольшая плотность зарегистрирована в среднем мозге и мосту — в областях, соответствующих серотонинергическому комплексу дорсального шва, а также в перивентрикулярном сером веществе LC (Williams et al., 2022).

При депривации сна на модели прерывистого короткого сна (повторяющийся короткий сон 3 дня подряд с последующими 4 днями восстановительного сна в течение 4 недель) у мышей дикого фенотипа зафиксировано снижение коли-

чества Orx-n и nA-n LC. В выживших нейронах отмечено накопление гранул липофусцина (Zhu et al., 2016). Аналогичные выводы сделаны другими исследователями на модели депривации сна после 7 последовательных дней бодрствования мышей (Obukuro et al., 2013).

МКГ-нейроны

Нейроны, находящиеся в заднелатеральной области гипоталамуса, выделяют меланин-концентрирующий гормон (МКГ), который принимает активное участие в обеспечении REM-фазы сна. МКГ-n являются тормозными по отношению к Orx-n: МКГ-n очень слабо разряжаются в бодрствовании и в nREM-фазе сна, но весьма активны в REM-фазу сна (Ковальзон, Долгих, 2016). В головном мозге МКГ-n и Orx-n образуют взаимно перекрывающиеся проекции в кору больших полушарий, в гиппокамп, в миндалину, в прилежащее ядро перегородки с гистаминергическими нейронами в его задней части, в гипоталамус, в таламус, на холинергические клетки базальной области переднего мозга, на дофаминергические клетки вентральной области покрышки, на nA-n LC и на 5-НТ-n ядер шва.

Передний и центральный гипоталамус

GABA-n вентролатерального ядра (ВЛЯ) распределены в две популяции: плотную центральную часть (цВЛЯ) и более диффузную периферическую (пВЛЯ) — с различными проекциями и функциями. цВЛЯ формирует проекции в гистаминергическую туберомамиллярную область заднего гипоталамуса. При условии постоянного не прерывающегося воздействия и сочетанного снижения тонуса Orx-n запускают и активность His-n, и REM-фазу сна. В течение этой фазы отмечают увеличение частоты нейрональной импульсации — в среднем на $(40.5 \pm 7.6)\%$ выше исходного уровня, также частота их импульсации возрастает при острой депривации сна, спустя час после первых признаков засыпания, и коррелирует с ростом поведенческих индексов дефицита сна (Alam et al., 2014). пВЛЯ иннервируют в большей степени серотонинергические нейроны ядер шва и nA-n LC, в свою очередь они формируют тормозные проекции на GABA-n, расположенные в вентролатеральной части околводопроводного серого вещества и латеральной части покрышки моста. Соответственно, активация нейронов пВЛЯ вызывает nREM-фазу сна. Существенное значение в реализации цикла сон—бодрствование имеют и другие ядра гипоталамуса, например супрахиазматическое ядро. Последнее получает сигналы освещенно-

сти не только от сетчатки, но и от эпифиза через рецепторы мелатонина, и от гонад через рецепторы половых гормонов посредством активации геномных (рецепторы эстрогена ER- α и ER- β) и быстрых негеномных механизмов (через мембраносвязанные ER- α и ER- β и G-белок — сцепленные рецепторы эстрогена и лютеинизирующего гормона) (Булгакова, Романчук, 2020), а также через андрогеновые рецепторы (AR) (Дробленков и др., 2017). На их функциональную активность оказывают влияние серотонинергические проекции дорзальных ядер шва и холинергические проекции базальной области переднего мозга и ствола. Выходные же импульсы от супрахиазматических ядер подавляют синтез и выброс мелатонина эпифизом (Aton, Herzog, 2005). В ядрах гипоталамуса при острой депривации сна прослежены изменения, не выходящие за пределы функциональных перестроек. Так, в супраоптическом и паравентрикулярных ядрах переднего гипоталамуса отмечены снижение содержания вазопрессина и увеличение плотности антиапоптотического белка Bcl-2, при этом морфологических эквивалентов апоптоза клеток не выявлено (Оганесян и др., 2012).

Базальный передний мозг

Базальный передний мозг содержит крупноклеточные ядра безымянной субстанции (substantia innominata), содержащие Ach и ГАМК (GABA). Они получают восходящую иннервацию от холинергических нейронов (Ach-n) педункулопонтинного ядра покрышки моста. Здесь происходит переключение на Ach-n, несущие сигналы непосредственно к коре больших полушарий головного мозга. Также их иннервируют His-n туберомамиллярного ядра заднего гипоталамуса. Ach-n проявляют максимальную активность во время бодрствования и в меньшей степени — в REM-фазе сна, а в nREM-фазе сна активности не проявляют. Ach-n, кроме стимулирующих влияний на кору ядра переднего мозга, формируют нисходящие проекции на Otx-n, которые в значительной степени контактируют с аксонными терминалями глутаматергических нейронов (Glu-n) и GABA-n безымянной субстанции и магноцеллюлярной преоптической области при отсутствии иннервации Ach-n (Agostinelli et al., 2017).

Размер большинства GABA-n в переднем мозгу крысы не превышает 15 мкм в большом диаметре (Gritti et al., 1994). Вероятно, GABA-n меньшего диаметра могут действовать как локальные интернейроны или проекционные нейроны, аксоны которых формируют проекции в латеральном гипоталамусе. Меньшая по числен-

ности часть нейронов имеет средний диаметр длинных осей около 16.4 мкм, эта группа клеток аналогична по размеру Ach-n переднего мозга и формирует проекции в кору головного мозга (McKenna et al., 2013). Средний диаметр перикариона у базальных Ach-n переднего мозга крысы составляет около 18–43 мкм (Wu et al., 2014).

Покрышка моста

Покрышка моста содержит Ach-n, Glu-n и GABA-n. Восходящие к коре мозга проекции представлены отростками Ach-n педункулопонтинного ядра покрышки моста. Они расположены дорзально в интраламинарных ядрах средней линии таламуса и активируют таламо-кортикальную систему (Schiff, 2008), а также проходят вентрально к базальным ядрам переднего мозга, где переключают активирующие сигналы к коре. nA-n латеральной области покрышки (вентральная система) имеют большое число реципрокных связей с другими нейронами ствола, вовлеченными в регуляцию артериального давления и сердечного ритма, и, вероятно, модулируют активность вегетативной нервной системы в различных фазах сна и в состоянии бодрствования.

По данным электронной микроскопии, при использовании окрашивания amino-медью-серебром ключевым периодом при депривации REM-фазы сна на протяжении 10 дней считаются шестые сутки исследования, когда в ядрах покрышки моста и в LC количество нейронов с признаками проапоптоза возрастает в 2.7 и в 3 раза соответственно, по сравнению с четырехсуточной депривацией. Также в ядрах нейронов покрышки моста обнаружены многочисленные глубокие инвагинации кариолеммы, в обоих структурах выявлена узурация контуров и фрагментация ядер (Biswas et al., 2006).

Показано, что у крыс после циклических условий: 3 ч депривации сна и 1 ч возможности сна непрерывно в течение 5 дней — количество жизнеспособных дофаминергических нейронов в вентральной области претерпевает редукцию на 17%, nA-n в LC — на 26%. Одной из причин гибели нейронов служит стресс эндоплазматического ретикулума, так как депривация сна приводит к окислительному стрессу с нарушением структуры белков и клетки в целом (Пази и др., 2021).

Таламус. Ретикулярное ядро

Ретикулярное ядро ответственно за все кортико-таламические и таламо-кортикальные коммуникации. Клеточный состав ядра представлен в основном GABA-n (Lewis et al., 2015), находящимися под тормозным влиянием Ach-n

покрышки моста. Когда активность Ach-n падает, собственная GABA-активность нейронов ретикулярного ядра таламуса значительно возрастает, что приводит к выключению нейронов передних интраламинарных ядер таламуса, соединенных с ними внутриталамическими связями.

По данным литературы (Spreafico et al., 1991), у крысы существуют три морфологических типа клеток ретикулярного ядра. Небольшие веретенообразные нейроны F-типа отмечены в ростокаудальной и дорсовентральной плоскостях и прослежены в медиальной трети дорсовентральной части ядра. Клетки R-типа имеют круглую форму с мультиполярными дендритами и обнаружены преимущественно в ростральном полюсе ретикулярного ядра (Pinault, 2004). Крупные нейроны F-типа формируют химические и электрические синапсы в одинаковом количестве, тогда как отростки мелких нейронов F-типа образуют преимущественно химические синапсы (Deleuze, Huguenard, 2006).

Таламус. Интраламинарные ядра и ядра средней линии

Ядра средней линии и интраламинарные ядра таламуса анатомически и функционально связаны с лимбическим отделом переднего мозга и составляют большую часть таламуса. Группа интраламинарных ядер таламуса, среди которых самым крупным считают центральное срединное ядро, расположена внутри Y-образной внутренней медуллярной пластинки (Melchitzky, Lewis, 2017; Kaplan and Sadock's ..., 2017), сами ядра подразделяют на ростральные и каудальные (Бонь, 2019). Воссоединенное ядро вентрального срединного таламуса у крысы считают самым крупным из срединных ядер, охватывающим приблизительно передние две трети таламуса. По скорости и паттернам разряда идентифицировано пять различных классов нейронов, что указывает на широкий список функций, характерных для ядра. Наиболее распространены клетки, избирательно проявляющие электромагнитную активность при бодрствовании и в фазе быстрого сна (Viana et al., 2021). Из всех вышеперечисленных ядер ромбовидное обладает характерной формой и крупными темными клетками. Группа ростральных интраламинарных ядер состоит из центрального медиального, парацентрального и центрального латерального ядер (Vertes et al., 2022).

Glu-n этой области соединены связями с корой и получают восходящую импульсацию от нейронов ретикулярной формации через Ach-n даже в отсутствие активации моноаминергиче-

ских (катехоламин-, серотонинергической) систем (Buzsáki et al., 1988). Прекращение импульсации со стороны Ach-n педункулопонтинного ядра покрышки моста (главного источника активации таламо-кортикальных нейронов), возникающее при переходе от бодрствования ко сну, приводит к гиперполяризации проекционных Glu-n таламуса под воздействием сильных тормозных импульсов из ретикулярного ядра. Это в свою очередь приводит к блокаде передачи зрительных и слуховых импульсов на кору, характерной для сна. Данные об активности нейронов таламуса при депривации сна представлены результатами нейровизуализации. Анализ работ за 1990–2013 гг., посвященных описанию выполнения разнообразных задач на внимание после полного лишения сна, по сравнению с бодрствованием в состоянии покоя, продемонстрировал значительно сниженную активацию в лобно-теменной сети островковой доли и правой парагиппокампальной коры при повышении активности нейрональных сетей в таламусе, что может быть компенсаторной реакцией в ответ на дисфункцию лобно-теменной сети внимания после потери сна (Ma et al., 2015). Это подтверждено наличием индивидуально-типологических особенностей: наибольшая активация таламуса при депривации сна характерна для индивидов, демонстрирующих большую устойчивость, и, наоборот, меньшая активность таламуса характерна для лиц более чувствительных к депривации сна (Chee, Tan, 2010).

Кора головного мозга и гиппокамп

В цикле сон–бодрствование структурные перестройки коры не значительны и включают в себя изменение доли аксошипиновых синапсов с участием отростка астроцита во втором слое первичной моторной коры во время сна и рост их доли при бодрствовании или пробуждении (Cirelli, Tononi, 2020). Ниже представлены основные клеточные рецепторы структур головного мозга, обеспечивающие цикл сон–бодрствование (табл. 1).

Изменения при депривации сна в коре при световой микроскопии минимальны или отсутствуют. При окрашивании гематоксилином и эозином (Gilliland et al., 1984) в мозгу и контрольных, и длительно лишенных сна крыс продемонстрированы одинаковые гистологические аномалии: цитоплазматические вакуоли, сморщивание перикарионов нейронов и их повышенная эозинофилия. В исследованиях с импрегнацией по Гольджи для окрашивания структур цитоскелета нейронов дорсального гиппокампа после 5-часовой острой депривации сна, по

Таблица 1. Основные клеточные рецепторы структур головного мозга, обеспечивающие цикл сон–бодрствование

Клетка	Область	Рецептор	Действие
nA-n	Голубоватое пятно	non-NMDA-рецепторы OX ₁ -рецептор	Активирующее
		ГАМК-рецепторы α2-адренорецепторы MCH ₁ -рецепторы 5-HT _{1F} -рецептор	Тормозящее
5-HT-n	Продолговатый мозг, дорсальное и срединное ядра шва	H ₁ -, H ₂ -рецепторы OX ₁ -рецепторы	Активирующее
		MCH ₁ -рецепторы ГАМК-рецепторы	Тормозящее
His-n	Задний гипоталамус	OX ₁ -рецепторы	Активирующее
		ГАМК-рецепторы MCH ₁ -рецепторы H ₃ -рецепторы	Тормозящее
Orx-n	Латеральный гипоталамус	Никотиновые холинорецепторы	Активирующее
		α2-адренорецепторы 5-HT _{1A} -рецепторы ГАМК-рецепторы MCH ₁ -рецепторы	Тормозящее
МКГ-n	Латеральный гипоталамус	OX ₁ -рецепторы	Тормозящее
GABA-n	Центр ВЛЯ гипоталамуса	NMDA-рецепторы	Активирующее
GABA-n	Периферия ВЛЯ гипоталамуса	A _{2A} -аденозиновые рецепторы NMDA-рецепторы	Активирующее
GABA-n	Базальный передний мозг	H ₁ -рецепторы α2-адренорецепторы	Активирующее Тормозящее
GABA-n	Таламус. Ретикулярное ядро	Мускариновые холинорецепторы	Тормозящее
Ach-n	Базальный передний мозг	β-адренорецепторы H ₁ -рецепторы Никотиновые холинорецепторы	Активирующее
		A ₁ -аденозиновые рецепторы	Тормозящее
Ach-n	Покрышка моста	Никотиновые холинорецепторы OX ₁ -рецепторы	Активирующее
		ГАМК-рецепторы MCH ₁ -рецепторы	Тормозящее

Таблица 1 (окончание)

Клетка	Область	Рецептор	Действие
Glu-n	Интраламнарные ядра таламуса	Никотиновые холинорецепторы H ₁ -рецептор	Активирующее
Glu-n	Кора больших полушарий	H ₁ -рецептор H ₂ -рецептор 5-HT ₂ -рецептор	Активирующее
		5-HT ₁ -рецептор H ₃ -рецептор Мускариновые холинорецепторы	Тормозящее

сравнению с периодом сна, выявлено уменьшение плотности и размеров дендритных шипиков в СА1-области гиппокампа и зубчатой извилине (Acosta-Рeña et al., 2015; Havekes et al., 2016; Wong et al., 2019). Использование флуоресцентных меток для маркировки нейронов области СА1 гиппокампа выявляет более многочисленные и крупные шипики после депривации сна (Ikeda et al., 2015; Gisabella et al., 2020). Отмеченные факты позволяют предположить, что снижение плотности шипиков после депривации сна специфично для популяции нейронов, окрашивающихся по методу Гольджи, в отличие от применения других методов визуализации (Vertes et al., 2022). Это не соотносится с результатами других исследований. Показано, что 24-часовая депривация сна приводит к увеличению плотности шипиков в префронтальной коре 22-месячных крыс, но не у 3-месячных крыс, а также к снижению плотности дендритных шипиков в СА1-области гиппокампа у 3-месячных крыс, но не 22-месячных крыс (Acosta-Рeña et al., 2015).

Клеточные реакции в структурах головного мозга, принимающих участие в обеспечении цикла сон–бодрствование, при депривации сна систематизированы в табл. 2.

Для объяснения столь существенных различий необходима ультраструктурная характеристика изменений, связанных с депривацией сна.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ
КЛЕТОК НЕЙРОГЛИАЛЬНОГО АНСАМБЛЯ
ПРИ ДЕПРИВАЦИИ СНА

Общая характеристика ультраструктуры
нейронов

Выполнены основные ультраструктурные исследования нейронов при депривации сна (Абу-

шов, 2015). Прослежены ряд закономерностей, однако при сравнении разных моделей депривации сна и точной оценки функционального состояния структур возникли противоречия. Они могут быть решены построением прогностической модели из большого массива цифровых данных по типу технологий big data (Абушов, 2011).

В условиях тотальной депривации сна ультраструктурная пластичность нейронов поля СА1 гиппокампа крыс опосредована в основном двумя качественными процессами: гиперплазией и гипертрофией внутриклеточных органелл преимущественно в ранние сроки депривации сна и деструкцией уже существующих органоидов — в более поздние. При 12-часовой депривации крыс большинство нейронов сохраняют интактную ультраструктуру, и только в некоторых из них обнаружены увеличение хроматина в кариоплазме, инвагинация кариолеммы, гиперплазия цистерн гранулярной эндоплазматической сети, рибосом, полисом, митохондрий, аппарата Гольджи, лизосом. При 24-часовой продолжительности исследования у животных отмечен прирост количества нейронов с вышеописанными репаративными изменениями, при этом в некоторых нейронах наблюдаются уменьшение количества цитоплазматических органелл, хроматолиз и вакуолизация цитоплазмы. 36-часовая тотальная депривация сна приводит к частичному угасанию репаративных и к развернутой картине дистрофических процессов (Абушов, 2015). Депривация сна на протяжении 48 ч коррелирует с ростом доли двумембранных аутофагосом в нейронах гиппокампа. Вместе с тем признаков слияния аутофагосом и лизосом не отмечено (Parhizkar et al., 2023).

При 36-часовой депривации парадоксально-го сна выявлены качественные ультрамикроско-

Таблица 2. Клеточные реакции в структурах головного мозга, принимающих участие в обеспечении цикла сон–бодрствование, при депривации сна

Клетка	Область	Функция	Изменения при депривации сна	Срок депривации	Источник
nA-n	Голубоватое пятно	Активируют кору во время бодрствования через таламус	Нейро-дегенерация, снижение количества нейронов	144 ч	Krout et al., 2002; Mesgar et al., 2017
nA-n	Покрышка моста	Регулируют активность вегетативной нервной системы во сне и при бодрствовании	Апоптоз нейронов	4–6 сут	Biswas et al., 2006
5-HT-n	Продолговатый мозг, дорсальное и срединное ядра шва	Активируют кору во время бодрствования или продлевают nREM-фазу сна	Не происходит нормального снижения уровня 5-HT, что нарушает консолидацию памяти	24 ч	Neurotransmitters ..., 2001; Eydipour et al., 2020
His-n	Задний гипоталамус	Играют ведущую роль в поддержании бодрствования	Рост активности и секреции гистамина	48 ч	Qian et al., 2019
Ox-n	Латеральный гипоталамус	Стабилизируют бодрствование	Снижение количества нейронов. Накопление липофусцина	7 дней	Zhu et al., 2016
МКГ-n	Латеральный гипоталамус	Запускают REM-фазу сна, тормозя Ox-n	Данные отсутствуют	Данные отсутствуют	Ковальзон, Долгих, 2016
GABA-n	Центр ВЛЯ гипоталамуса	Запускают REM-фазу сна	Данные отсутствуют	Данные отсутствуют	Alam et al., 2014
GABA-n	Периферия ВЛЯ гипоталамуса	Запускают nREM-фазу сна	Данные отсутствуют	Данные отсутствуют	Ковальзон, Долгих, 2016
GABA-n	Базальный передний мозг	Тормозят Ox-n, иницируя сон	Данные отсутствуют	Данные отсутствуют	Agostinelli et al., 2017 Ковальзон, Долгих, 2016
GABA-n	Таламус. Ретикулярное ядро	Тормозят нейроны интралиминарных ядер таламуса, запуская сон	Данные отсутствуют	Данные отсутствуют	Lewis et al., 2015
Ach-n	Базальный передний мозг	Поддерживают бодрствование под влиянием His-n. Тормозят GABA-n ретикулярного ядра таламуса	Данные отсутствуют	Данные отсутствуют	Александрова и др., 2014

Таблица 2 (окончание)

Клетка	Область	Функция	Изменения при депривации сна	Срок депривации	Источник
L-dopa-n	Покрышка моста	Активируют кору во время бодрствования	Гибель нейронов от окислительного стресса	2 недели хронического недосыпания	Пази и др., 2021
Glu-n	Интраламинарные ядра таламуса	Обеспечивают стабильное состояние бодрствования	Электромагнитная активность растёт	От нескольких часов	Ma et al., 2015
Glu-n	Гиппокамп	Формируют и консолидируют память и эмоции + принимают решения	Уменьшение плотности и размеров дендритных шипиков	5 ч	Wong et al., 2019
Glu-n	Кора больших полушарий	Данные отсутствуют	Гиперплазия органелл Рост аутофагии. Снижение плотности цистерн ЭПС. МТХ приобретают форму песочных часов	12 ч 36 ч	Абушов, 2011 Abushov et al., 1992
Астроциты	Лобная кора	Захватывают внеклеточный глутамат	Рост астроцитарного фагоцитоза в синапсах	6–8 ч	Spano et al., 2019
ОДГЦ	Лобная кора	Увеличивают скорость проведения импульса	Снижение толщины миелина на 8%	5 дней	Bellesi et al., 2015
Клетки микроглии	Гиппокамп	Выполняют иммунную функцию	Активируются	48 ч	Wadhwa et al., 2018
Клетки ГЭБ	Гиппокамп	Обеспечивают трофику нейронов	Активация пероцитов и рост проницаемости ГЭБ	10 сут депривации REM-фазы сна	Hurtado-Alvarado et al., 2017

Примечание: ЭПС — эндоплазматическая сеть; МТХ — митохондрии; ОДГЦ — олигодендроциты; ГЭБ — гематоэнцефалический барьер.

пические перестройки различных сомногенных образований головного мозга (III–V слои передней лимбической коры, область CA1 дорсального гиппокампа, ретикулярная формация варолиева моста, дорсального ядра шва и голубого пятна), однако отсутствие количественной оценки ультраструктурных показателей не позволяет установить особенности специфических изменений, по сравнению с тотальной депривацией сна. Для обоих вариантов депривации выявлена общность структурных перестроек: увеличение количества хроматинового вещества в кариоплазме, числа и глубины ин-

вагинаций кариолеммы до 5–6. В цитоплазме нейронов наблюдается увеличение количества органелл: митохондрий, канальцев гранулярной эндоплазматической сети, аппарата Гольджи, рибосом, полисом, лизосом. Такие изменения в перикарионах нейронов могут быть следствием репаративных процессов. Показано, что при 36-часовой депривации REM-фазы сна репаративные изменения происходят в нейронах среднего размера, но иногда их выявляют и в крупных нервных клетках. Увеличение депривации до 48 ч приводит к росту количества этих изменений. В телах некоторых нейронов отме-

чене уменьшение цитоплазматических органелл вблизи цитолеммы, очаговый хроматолиз, в отдельных нейронах — вакуолизация. Количество дистрофически измененных нейронов мало, и они представлены преимущественно клетками среднего диаметра, в то время как репаративные изменения происходят в нейронах среднего и большого диаметра. Более того, нейроны с дистрофическими изменениями встречены только в структурах LC и дорсального гиппокампа. При 60 ч депривации парадоксального сна количество нейронов с репаративными изменениями существенно снижено, а дистрофические нарушения охватывают наибольшее количество нервных клеток всех вышеперечисленных структур. Пирамидные нейроны среднего размера наиболее подвержены дистрофическим изменениям.

Отметим тот факт, что дистрофические процессы в нейронах происходят на 48-й ч депривации сна, а нарушения в поведении животных фиксируются по прошествии 60 ч депривации (Абушов, 2011). Деструктивные изменения чаще наблюдаются в ретикулярной формации моста, тогда как адаптивные изменения более выражены в нейронах гиппокампа (Abushov et al., 1992). Качественная характеристика нейронов коры при депривации сна — появление больших митохондрий, приобретающих форму песочных часов, без признаков структурных повреждений.

Так, учет 11 морфометрических параметров нейрона: доли цитоплазмы, занятой митохондриями, размера и плотности первичных и вторичных лизосом, эндосом, гранул липофусцина и др. — в прогностической модели на основе бинарного логистического регрессионного анализа позволяет в 80% случаев идентифицировать функциональное состояние кортикального пирамидного нейрона — при REM-сне, при nREM-сне или при бодрствовании (Luyster et al., 2012).

В другом исследовании после 72 ч депривации парадоксального сна электронная криотомография с реконструкцией трехмерной структуры митохондрий головного мозга позволила сократить количество основных критериев до 6 морфометрических параметров: объема митохондриального матрикса, заключенного между ее кристами, площади поверхности крист на единицу объема митохондрий, количества крист и др. Преимущество такого подхода — возможность верификации снижения дыхательной активности митохондрий нейронов сенсомоторной коры и гиппокампа (Lu et al., 2021). При хроническом ограничении сна у мышей выявлена митохондриальная дисфункция нейронов лобной коры, связанная с накоплением β -амилоида (A β) (Zhao et al., 2016).

В модели хронической депривации сна в течение 14 дней у самцов крыс Sprague-Dawley методом световой микроскопии выявлены минимальные изменения. При окрашивании по методу Ниссля областей CA3 и DG продемонстрировано значительное снижение количества телец тигроида, однако цитоархитектура большинства пирамидных клеток сохранена. Электронная микроскопия этих же областей выявляет повреждение нейронов гиппокампа с конденсацией гетерохроматина ядра, узурацию ядерных мембран, набухание и вакуолизацию митохондрий, а также частичную вакуолизацию цистерн комплекса Гольджи (Xie et al., 2021).

В исследовании нейронов лобной коры спящих мышей (127 нейронов) и животных после 6-часовой депривации сна (132 нейрона) установлено увеличение контактов между эндоплазматическим ретикуломом и митохондриями с образованием кластеров из митохондрий, эндотелиальная эндоплазматическая сеть приобретает большую компактность (Trošt Bobić et al., 2016).

Синаптические окончания нейронов

На примере второго слоя первичной сенсорной коры мышей и области CA1 гиппокампа (Spano et al., 2019) с помощью серийной электронной микроскопии подтверждена корреляция между большими размерами синапсов и площадью постсинаптического уплотнения. Так, размер синапсов после 6–8 ч сна на 18% ниже, по сравнению с 6–8 ч бодрствования, независимо от того, происходило ли пробуждение днем или ночью. Их относительное количество возрастает после длительного бодрствования и регрессирует после сна (Spano et al., 2019). Для выявления вышеуказанных закономерностей только в гиппокампе исследовано 7000 синапсов.

Астроциты

Большинство возбуждающих синапсов в лобной коре ограничено периферическими астроцитарными отростками, которые во время длительного бодрствования набухают и сужают синаптическую щель, повышая концентрацию нейромедиаторов при увеличении потребности в глутамате и выведении ионов калия. Эти наблюдения подтверждены повышением на 1.4% частоты экспрессии астроцитарных генов, по сравнению с показателями у животных без депривации. Также показано, что как острая (6–8 ч), так и хроническая (5 сут) депривация сна приводит к значительному росту астроцитарного фагоцитоза, в основном пресинаптических компо-

нентов крупных синапсов. Вместе с тем острая депривация сна, в отличие от хронической, не вызывает роста микроглиального фагоцитоза (Spano et al., 2019).

Олигодендроглициты

Олигодендроциты в ЦНС считают ключевыми клетками, ответственными за выработку миелина. Анализ более 17 000 миелинизированных аксонов мозолистого тела и латеральной части обонятельного тракта спящих и лишенных сна мышей показывает, что 5-дневная депривация приводит к снижению толщины миелина на 8%. Эти ультраструктурные изменения не связаны с признаками демиелинизации или аксональной дегенерации (Bellesi et al., 2015). Небольшие изменения толщины миелина могут повлиять на скорость проведения импульса вдоль аксона и, следовательно, на качество обработки информации в мозге (Fields, 2008), что может способствовать когнитивному дефициту, вызванному недостатком сна.

Микроглия

В гиппокампе при депривации сна в течение 48 ч показано увеличение количества активированных микроглиальных клеток и уменьшение количества микроглиальных клеток в стадии покоя (Wadhwa et al., 2018).

Эндотелиоциты и перициты гематоэнцефалического барьера

Известно, что гематоэнцефалический барьер чувствителен к депривации REM-фазы сна. Так, после 10-дневной депривации REM-сна в качестве одного из основных компонентов выявлено увеличение частоты образования кавеол эндотелиальных клеток головного мозга (Gómez-González et al., 2013). Межэндотелиальные контакты сглажены, при этом количество плотных соединений падает. Эти изменения коррелируют с экспрессией клаудинов, способствуя транспорту жидкости и формированию периваскулярных отеков, а также отслойке перицитов от стенки гемокapилляра, что подтверждено результатами сканирующей электронной микроскопии (Hurtado-Alvarado et al., 2017). Однако апоптоза перицитов, несмотря на отслоение, не наблюдается, скорее, клетки при такой трансформации приобретают активированное состояние. Рост проницаемости гематоэнцефалического барьера подтвержден тестом *in vivo* с индикаторами проницаемости синим Эванса и натрий-флуоресцеином. Авторы предполагают, что во время депривации сна перицит меняет

свой фенотип и приобретает протеолитические функции, ответственные за рост проницаемости гематоэнцефалического барьера (Hurtado-Alvarado et al., 2017).

Также показано, что корковое интерстициальное пространство расширено на 60% как во время естественного сна, так и при анестезии, что свидетельствует о том, что именно состояние сна—бодрствования, а не циркадный ритм определяет эффективность лимфатического клиренса (Xie et al., 2013).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, изменения нейроглиального ансамбля основных структур, обеспечивающих чередование этапов цикла сон—бодрствование, имеют патологическую сущность только в условиях длительной депривации сна, связанной с угрозой жизни животного. Тем не менее изменения охватывают все элементы нейроглиальных ансамблей. Методы световой микроскопии недостаточно чувствительны к сложившимся изменениям. Обобщая представленные результаты, необходимо отметить, что для эффективной оценки перестроек при депривации сна необходимо: во-первых, включать ультраструктурный электронно-микроскопический анализ, который может быть значимым инструментом для исследования механизмов депривации сна; во-вторых, учитывать принцип системности, обусловленный физиологическими связями структур, обеспечивающими цикл сон—бодрствование; в-третьих, использовать количественный анализ с применением математических и статистических методов численного прогнозирования и моделирования структурно-функционального состояния клеток нейроглиальных ансамблей на основе крупных выборок первичных данных.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование не имело спонсорской поддержки. Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Анализ работ выполнен для изучения и систематизации материалов актуальных научных публикаций по данной тематике. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абушов Б.М.* Влияние депривации парадоксального сна на ультраструктуру нейронов головного мозга и поведенческие реакции крыс // *Анналы клин. эксп. неврол.* 2011. Т. 5 (2). С. 29–32.
- Абушов Б.М.* Структурная пластичность нейронов поля СА1 гиппокампа крыс при 96-часовой тотальной депривации сна и после ее отмены // *НАУ. Биол. науки.* 2015. № 5 (10). С. 110–113.
- Александрова Е.В., Зайцев О.С., Потапов А.А.* Нейромедиаторные основы сознания и бессознательных состояний // *Вопр. нейрохир.* 2014. Т. 78 (1). С. 26–32.
- Бонь Е.И.* Структурно-функциональная организация таламуса крысы // *Оренбург. мед. вестн.* 2019. Т. 7 (3). С. 34–39.
- Булгакова С.В., Романчук Н.П.* Половые гормоны и когнитивные функции: современные данные // *Бюл. науки практ.* 2020. Т. 6 (3). С. 69–95.
- Гаврилов Ю.В., Деревцова К.З., Корнева Е.А.* Морфофункциональные изменения нейронов гипоталамуса, участвующих в регуляции цикла сон–бодрствование, после черепно-мозговой травмы в эксперименте // *Мед. акад. журн.* 2019. Т. 19 (3). С. 47–56.
- Ганчева О.В., Данукало М.В., Мельникова О.В.* Морфоденситометричні характеристики ядер нейронів блакитної плями стовбура мозку щурів при експериментальній артеріальній гіпертензії // *Патологія.* 2019. Т. 16 (1). С. 4–8.
- Дробленков А.В., Мониц М.В., Бобков П.С., Асауленко З.П.* Количество и локализация рецепторов к андрогенам как маркер морфофункционального статуса нейронов аркуатного ядра гипоталамуса // *Вестн. Новгород. ГУ.* 2017. Т. 3 (101). С. 128–134.
- Зиматкин С.М., Кузнецова В.Б., Кравчук Р.И.* Электронно-микроскопическое исследование нейронов гистаминергического ядра E2 гипоталамуса крысы // *Журн. ГГМУ.* 2004. Т. 1 (5). С. 48–51.
- Ковальзон В.М., Долгих В.В.* Регуляция цикла бодрствование–сон // *Неврол. журн.* 2016. Т. 21 (6). С. 316–322.
- Ковальзон В.М., Стрыгин К.Н.* Нейрохимические механизмы регуляции сна и бодрствования: роль блокаторов гистаминовых рецепторов в лечении инсомнии // *Эффект. фармакотер. Неврол. психиатр.* 2013. Т. 12. С. 8–14.
- Коржевский Д.Э., Гусельникова В.В., Кирик О.В. и др.* Пространственная организация внутриядерных структур дофаминергических нейронов мозга человека // *Acta Naturae.* 2017. Т. 9 (3). С. 85–92.
- Оганесян Г.А., Романова И.В., Михрина А.Л. и др.* Взаимодействие дофаминергической и вазопрессинергической систем при депривации сна у крыс // *Рос. физиол. журн.* 2012. Т. 98 (11). С. 1307–1313.
- Пази М.Б., Матвеевнина Д.Н., Белан Д.В.* Деструктивные изменения в структурах головного мозга в модели хронического недосыпания у крыс // *Фундаментальная наука и клиническая медицина / Мат. XXIV междунар. мед. биол. конф. молод. исслед. “Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье” (СПб., 24 апреля 2021 г.). СПб.: Сциентиа, 2021. С. 567–568.*
- Перекрест С.В., Новикова Н.С., Корнева Е.А.* Система орексин-содержащих нейронов гипоталамуса и их участие в механизмах реализации реакций мозга на антигенный стимул // *Вестн. СПбГУ. Медицина.* 2010. Т. 3. С. 173–187.
- Шаинидзе К.З., Новикова Н.С., Корнева Е.А.* Иммунореактивность орексин-содержащих нейронов гипоталамуса при ограничении подвижности у крыс // *Вестн. СПбГУ. Медицина.* 2008. Т. 3. С. 145–153.
- Abushov B.M., Bogolepov N.N., Melikov E.M.* Neuronal ultrastructural reorganization in some brain formations during paradoxical sleep deprivation // *Bull. Exp. Biol. Med.* 1992. V. 114 (5). P. 1702–1705.
- Acosta-Peña E., Camacho-Abrego I., Melgarejo-Gutiérrez M. et al.* Sleep deprivation induces differential morphological changes in the hippocampus and prefrontal cortex in young and old rats // *Synapse.* 2015. V. 69. P. 15–25.
- Agostinelli L.J., Ferrari L.L., Mahoney C.E. et al.* Descending projections from the basal forebrain to the orexin neurons in mice // *J. Comp. Neurol.* 2017. V. 525 (7). P. 1668–1684.
- Airaksinen M.S., Paetau A., Paljärvi L. et al.* Histamine neurons in human hypothalamus: anatomy in normal and Alzheimer diseased brains // *Neuroscience.* 1991. Т. 44. P. 465–481.
- Alam M.A., Kumar S., McGinty D. et al.* Neuronal activity in the preoptic hypothalamus during sleep deprivation and recovery sleep // *J. Neurophysiol.* 2014. V. 111 (2). P. 287–299.
- Aton S.J., Herzog E.D.* Come together, right now: synchronization of rhythms in a mammalian circadian clock // *Neuron.* 2005. V. 48. P. 531–534.
- Azmitia E.C.* Serotonin neurons, neuroplasticity, and homeostasis of neural tissue // *Neuropsychopharmacology.* 1999. V. 21. P. 33S–45S.
- Azmitia E.C., Whitaker-Azmitia P.M.* Development and adult plasticity serotonergic neurons and their target cells // *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS / Eds H.G. Baumgarten, M. Göthert. Heidelberg: Springer, 1997. P. 1–39.*
- Bellesi M.* The effects of sleep loss on brain functioning // *Handbook of sleep research. L.: Acad. Press, 2019. P. 545–556.*
- Bellesi M., De Vivo L., Tononi G., Cirelli C.* Effects of sleep and wake on astrocytes: clues from molecular and ultrastructural studies // *BMC Biol.* 2015. V. 13. P. 66.

- Biswas S., Mishra P., Mallick B.N. Increased apoptosis in rat brain after rapid eye movement sleep loss // *Neuroscience*. 2006. V. 142 (2). P. 315–331.
- Blandina P., Munari L., Provensi G., Passani M.B. Histamine neurons in the tuberomammillary nucleus: a whole center or distinct subpopulations? // *Front. Syst. Neurosci.* 2012. V. 6. P. 33.
- Buzsáki G., Bickford R.G., Armstrong D.M. et al. Electric activity in the neocortex of freely moving young and aged rats // *Neuroscience*. 1988. V. 26 (3). P. 735–744.
- Chan-Palay V., Asan E. Quantitation of catecholamine neurons in the locus coeruleus in human brains of normal young and older adults and in depression // *J. Comp. Neurol.* 1989. V. 287. P. 357–372.
- Chee M.W., Tan J.C. Lapsing when sleep deprived: neural activation characteristics of resistant and vulnerable individuals // *Neuroimage*. 2010. V. 51 (2). P. 835–843.
- Chen C.T., Dun S.L., Kwok E.H. et al. Orexin A-like immunoreactivity in the rat brain // *Neurosci. Lett.* 1999. V. 260. P. 161–164.
- Cirelli C., Shaw P.J., Rechtschaffen A., Tononi G. No evidence of brain cell degeneration after long-term sleep deprivation in rats // *Brain Res.* 1999. V. 840. P. 184–193.
- Cirelli C., Tononi G. Effects of sleep and waking on the synaptic ultrastructure // *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 2020. V. 375. P. 20190235.
- Deleuze C., Huguenard J.R. Distinct electrical and chemical connectivity maps in the thalamic reticular nucleus: potential roles in synchronization and sensation // *J. Neurosci.* 2006. V. 26. P. 8633–8645.
- Dell L.A., Spocter M.A., Patzke N. et al. Orexinergic bouton density is lower in the cerebral cortex of cetaceans compared to artiodactyls // *J. Chem. Neuroanat.* 2015. V. 68. P. 61–76.
- Eiland M.M., Ramanathan L., Gulyani S. et al. Increases in amino-cupric-silver staining of the supraoptic nucleus after sleep deprivation // *Brain Res.* 2002. V. 945. P. 1–8.
- Eyadipour Z., Nasehi M., Vaseghi S. et al. The role of 5-HT₄ serotonin receptors in the CA1 hippocampal region on memory acquisition impairment induced by total (TSD) and REM sleep deprivation (RSD) // *Physiol. Behav.* 2020. V. 215. P. 112788.
- Fields R.D. White matter in learning, cognition and psychiatric disorders // *Trends Neurosci.* 2008. V. 31 (7). P. 361–370.
- Gilliland M., Wold L., Wollman R. et al. Pathology in sleep deprived rats is not reflected in histologic abnormalities // *Sleep*. 1984. V. 13. P. 190.
- Gisabella B., Scammell T., Bandaru S.S., Saper C.B. Regulation of hippocampal dendritic spines following sleep deprivation // *J. Comp. Neurol.* 2020. V. 528. P. 380–388.
- Gómez-González B., Hurtado-Alvarado G., Esqueda-León E. et al. REM sleep loss and recovery regulates blood-brain barrier function // *Curr. Neurovasc. Res.* 2013. V. 10. (3). P. 197–207.
- Gritti I., Mainville L., Jones B.E. Projections of GABAergic and cholinergic basal forebrain and GABAergic preoptic-anterior hypothalamic neurons to the posterior lateral hypothalamus of the rat // *J. Comp. Neurol.* 1994. V. 339. P. 251–268.
- Havekes R., Park A.J., Tudor J.C. et al. Sleep deprivation causes memory deficits by negatively impacting neuronal connectivity in hippocampal area CA1 // *eLife*. 2016. V. 5. P. 207–278.
- Hipólido D.C., D'Almeida V., Raymond R. et al. Sleep deprivation does not affect indices of necrosis or apoptosis in rat brain // *Int. J. Neurosci.* 2002. V. 112 (2). P. 155–166.
- Hurtado-Alvarado G., Velázquez-Moctezuma J., Gómez-González B. Chronic sleep restriction disrupts interendothelial junctions in the hippocampus and increases blood-brain barrier permeability // *J. Microsc.* 2017. V. 268. P. 28–38.
- Ikeda M., Hojo Y., Komatsuzaki Y. et al. Hippocampal spine changes across the sleep-wake cycle: corticosterone and kinases // *J. Endocrinol.* 2015. V. 226. P. M13–M27.
- Kaplan and Sadock's comprehensive textbook of psychiatry / Eds B.J. Sadock, V.A. Sadock, P. Ruiz. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2017. 4621 p.
- Krout K.E., Belzer R.E., Loewy A.D. Brainstem projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat // *J. Comp. Neurol.* 2002. V. 448 (1). P. 53–101.
- Lewis L.D., Voigts J., Flores F.J. et al. Thalamic reticular nucleus induces fast and local modulation of arousal state // *eLife*. 2015. V. 4. P. e08760.
- Lin J.S. Brain structures and mechanisms involved in the control of cortical activation and wakefulness, with emphasis on the posterior hypothalamus and histaminergic neurons // *Sleep Med. Rev.* 2000. V. 4 (5). P. 471–503.
- Lindvall O., Björklund A. The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method // *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 1974. V. 412. P. 1–48.
- Lu Z., Hu Y., Wang Y. et al. Topological reorganizations of mitochondria isolated from rat brain after 72 hours of paradoxical sleep deprivation, revealed by electron cryo-tomography // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2021. V. 321 (1). P. C17–C25.
- Luyster F.S., Strollo P.J.Jr., Zee P.C. et al. Sleep: a health imperative // *Sleep*. 2012. V. 35 (6). P. 727–734.
- Ma N., Dinges D.F., Basner M., Rao H. How acute total sleep loss affects the attending brain: a meta-analysis of neuroimaging studies // *Sleep*. 2015. V. 38 (2). P. 233–240.
- McKenna J.T., Yang C., Franciosi S. et al. Distribution and intrinsic membrane properties of basal forebrain GABAergic and parvalbumin neurons in the mouse // *J. Comp. Neurol.* 2013. V. 521 (6). P. 1225–1250.
- Melchitzky D.S., Lewis D.A. Functional neuroanatomy. Ch. 1.2 // Kaplan and Sadock's comprehensive textbook of psychiatry / Eds B.J. Sadock, V.A. Sadock, P. Ruiz. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2017. P. 121–200.
- Mesgar S., Aghae A.A., Jame'ei S.B. et al. The effects of exogenous melatonin on morphological changes in locus coeruleus nucleus characterized by REM sleep deprivation // *J. Otorhinolaryngol. Fac. Plast. Surg.* 2017. V. 3. P. e6.

- Michelsen K., Panula P.* Subcellular distribution of histamine in mouse brain neurons // *Inflamm. Res.* 2002. V. 51. P. 46–48.
- Neurochemistry of consciousness / Eds E. Perry, H. Ashton, A. Young. Amsterdam: John Benjamins Publ. Comp., 2002. P. 123–131.
- Neurotransmitters, drugs and brain functions / Ed. R.A. Webster. N.Y.: John Wiley, Ltd, 2001. 544 p.
- Nuutinen S., Panula P.* Histamine in neurotransmission and brain diseases // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2010. V. 709. P. 95–107.
- Obukuro K., Nobunaga M., Takigawa M. et al.* Nitric oxide mediates selective degeneration of hypothalamic orexin neurons through dysfunction of protein disulfide isomerase // *J. Neurosci.* 2013. V. 33. P. 12557–12568.
- Panula P., Nuutinen S.* The histaminergic network in the brain: basic organization and role in disease // *Nat. Rev. Neurosci.* 2013. V. 14 (7). P. 472–487.
- Parhizkar S., Gent G., Chen Y. et al.* Sleep deprivation exacerbates microglial reactivity and A β deposition in a TREM2-dependent manner in mice // *Sci. Transl. Med.* 2023. V. 15 (693). P. eade6285.
- Passani M.B., Giannoni P., Bucherelli C. et al.* Histamine in the brain: beyond sleep and memory // *Biochem. Pharmacol.* 2007. V. 73 (8). P. 1113–1122.
- Patt S., Gerhard L.* A Golgi study of human locus coeruleus in normal brains and in Parkinson's disease // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1993. V. 19. P. 519–523.
- Pinault D.* The thalamic reticular nucleus: structure, function and concept // *Brain Res. Rev.* 2004. V. 46. P. 1–31.
- Qian S., Wang Y., Zhang X.* Inhibiting histamine signaling ameliorates vertigo induced by sleep deprivation // *J. Mol. Neurosci.* 2019. V. 67. P. 411–417.
- Schiff N.D.* Central thalamic contributions to arousal regulation and neurological disorders of consciousness // *Ann. NY Acad. Sci.* 2008. T. 1129. P. 105–118.
- Spano G.M., Banningsh S.W., Marshall W. et al.* Sleep deprivation by exposure to novel objects increases synapse density and axon-spine interface in the hippocampal CA1 region of adolescent mice // *J. Neurosci.* 2019. V. 39 (34). P. 6613–6625.
- Spreafico R., Battaglia G., Frassoni C.* The reticular thalamic nucleus (RTN) of the rat: cytoarchitectural, Golgi, immunocytochemical, and horseradish peroxidase study // *J. Comp. Neurol.* 1991. V. 304. P. 478–490.
- Trošt Bobić T., Šečić A., Zavoreo I. et al.* The impact of sleep deprivation on the brain // *Acta Clin. Croat.* 2016. V. 55 (3). P. 469–473.
<https://doi.org/10.20471/acc.2016.55.03.17>
- Vertes R.P., Linley S.B., Rojas A.K.P.* Structural and functional organization of the midline and intralaminar nuclei of the thalamus // *Front. Behav. Neurosci.* 2022. V. 16. P. 964644.
- Viena T.D., Vertes R.P., Linley S.B.* Discharge characteristics of neurons of nucleus reuniens across sleep-wake states in the behaving rat // *Behav. Brain Res.* 2021. V. 410. P. 113325.
- Wadhwa M., Chauhan G., Roy K. et al.* Caffeine and modafinil ameliorate the neuroinflammation and anxious behavior in rats during sleep deprivation by inhibiting the microglia activation // *Front. Cell. Neurosci.* 2018. V. 12. P. 49.
- Williams V.M., Bhagwandin A., Swiegers J. et al.* Nuclear organization of orexinergic neurons in the hypothalamus of a lar gibbon and a chimpanzee // *Anat. Rec. (Hoboken)*. 2022. V. 305 (6). P. 1459–1475.
- Wong L.W., Tann J.Y., Ibanez C.F., Sajikumar S.* The p75 neurotrophin receptor is an essential mediator of impairments in hippocampal-dependent associative plasticity and memory induced by sleep deprivation // *J. Neurosci.* 2019. V. 39. P. 5452–5465.
- Wu H., Williams J., Nathans J.* Complete morphologies of basal forebrain cholinergic neurons in the mouse // *eLife*. 2014. V. 3. P. e02444.
- Xie L., Kang H., Xu Q. et al.* Sleep drives metabolite clearance from the adult brain // *Science*. 2013. V. 342. P. 373–377.
- Xie G., Huang X., Li H. et al.* Caffeine-related effects on cognitive performance: roles of apoptosis in rat hippocampus following sleep deprivation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2021. V. 534. P. 632–638.
- Yu X., Zecharia A., Zhang Z. et al.* Circadian factor BMAL1 in histaminergic neurons regulates sleep architecture // *Curr. Biol.* 2014. V. 24 (23). C. 2838–2844.
- Zant J.C., Rozov S., Wigren H.K. et al.* Histamine release in the basal forebrain mediates cortical activation through cholinergic neurons // *J. Neurosci.* 2012. V. 32. P. 13244–13254.
- Zhao H., Wu H., He J. et al.* Frontal cortical mitochondrial dysfunction and mitochondria-related β -amyloid accumulation by chronic sleep restriction in mice // *Neuroreport*. 2016. V. 27 (12). P. 916–922.
- Zhu Y., Fenik P., Zhan G. et al.* Intermittent short sleep results in lasting sleep wake disturbances and degeneration of locus coeruleus and orexinergic neurons // *Sleep*. 2016. V. 39 (8). P. 1601–1611.

Morphofunctional Changes in Brain Structures During Sleep Deprivation

V. G. Nikonorova^{a,*}, V. V. Chrishtop^b, S. V. Chepur^a, I. V. Fateev^a, M. A. Yudin^a

^a*State Scientific-Research Testing Institute of Military Medicine, St. Petersburg, Russia*

^b*Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia*

^{*}*e-mail: gniiivm_2@mil.ru*

Sleep deprivation is widespread in modern society as a consequence of chronic stress and specificity of a number of civilian and military specialties. Correction of its consequences should take into account the fundamental principle of unity of form and function, realized by cellular-glial ensembles of anatomical formations of the brain. In this connection the aim was set to characterize microscopic and ultramicroscopic rearrangements of brain structures involved in the regulation of the sleep-wake cycle during sleep deprivation. Changes in the main structures providing alternation of sleep-wake cycles acquire pathological nature only in conditions of prolonged sleep deprivation associated with a threat to life. As a consequence, the methods of light microscopy are not sensitive enough to reveal the developed changes; however, electron microscopic study allows us to identify both specific ultramicroscopic rearrangements and desynchronosis between quantitative characteristics of organelles of cells of neuroglial ensembles, brain structures functionally united in providing the sleep-wake cycle.

Keywords: sleep deprivation, brain structures, neurotransmitters, morphology of neurons

УДК 574/577

КОЭВОЛЮЦИЯ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ И ЧЕЛОВЕКА — АДАПТИВНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ ДВУХ ВИДОВ

© 2024 г. Р. А. Ильясов¹, Д. В. Богуславский¹, А. Ю. Ильясова¹,
В. Н. Саттаров^{2, *}, А. Г. Маннапов³

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

²Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа, Республика Башкортостан

³Российский государственный аграрный университет — МСХА

им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия

*e-mail: wener5791@yandex.ru

Поступила в редакцию 30.05.2024 г.

После доработки 05.06.2024 г.

Принята в печать 09.06.2024 г.

Обсуждаются вопросы эволюции медоносной пчелы, формирования ее отношений с человеком, а также последствия domestikации на фоне селекции. Медоносная пчела (*Apis mellifera* L.) возникла более 100 млн л. н. на южном суперконтиненте Гондвана. Отношения между человеком и медоносной пчелой начали формироваться 10 тыс. л. н. До встречи с человеком пчела находилась в неизменном первоначальном виде. Сегодня этот вид в значительной степени изменен в результате одомашнивания и широко используется не только для производства меда, воска и маточного молочка, но и для опыления сельскохозяйственных культур во всем мире. Эволюция *A. mellifera* началась в Юго-Восточной Азии, а формирование подвидов — в Северной Африке, которые в дальнейшем распространились на север, в Западную Азию и Северную Европу. Встреча медоносной пчелы с человеком привела к революционным изменениям. Большинство подвидов пчел, сформированных около 100 тыс. л. н. были утрачены в результате гибридизации по вине человека. Данный процесс способствовал размыванию географических границ ареалов подвидов и создал новые угрозы для сохранения биологического и генетического разнообразия пчел. Использование локальных популяций медоносных пчел доказало их преимущества в устойчивости семей к факторам окружающей среды по сравнению с интродуцированными пчелами. Селекция подвидов и экотипов, адаптированных к условиям, формировавших их в процессе эволюции, играет важную роль в управлении медоносными пчелами, поскольку генетическое разнообразие поддерживает их эволюционный потенциал к адаптации. История взаимоотношений человека и медоносной пчелы является ключевым аспектом в понимании их современной экологической адаптации и для формирования дальнейшей стратегии взаимовыгодных отношений. Современный человек и пчела, несмотря на видимую независимость, стали взаимовыгодными партнерами, способными, благодаря сотрудничеству, повысить свою адаптацию, устойчивость и выживаемость в современном мире.

Ключевые слова: медоносная пчела, *Apis mellifera*, человек, коэволюция, одомашнивание, селекция, адаптация

DOI: 10.31857/S0042132424050042 EDN: OGQQEZ

ВВЕДЕНИЕ

Медоносная пчела (*Apis mellifera* L.) возникла на южном суперконтиненте Гондвана более 100 млн лет назад. Связь человека с пчелой насчитывает более 10 тыс. лет (Crane, 1975). В настоящее время этот вид в значительной степени одомашнен и используется не только для производства

продуктов пчеловодства, таких как мед, воск и маточное молочко, но и является основным видом насекомых, используемым для опыления сельскохозяйственных культур во всем мире (Aizen, Harder, 2009). *A. mellifera* первоначально эволюционировала в Африке, а затем распространилась на север через Западную Азию и За-

падную Европу (Whitfield et al., 2006), подразделившись аллопатрически на 33 физиологически, поведенчески и морфологически различных подвида (Ruttner, 1988; Ilyasov et al., 2020). Однако современное одомашнивание стерло различия между подвидами за счет их гибридизации практически на всем ареале (Parker et al., 2010). Воздействие человека на медоносных пчел за последние 150 лет усилилось до такой степени, что географические границы подвидов, которые когда-то считались четко определенными, радикально изменились (De la Rúa et al., 2009). Картина осложняется потоком генов между подвидами, который сейчас наблюдается в пределах географического региона вследствие импорта подвидов и гибридов из других местностей, а также трудностями в контроле скрещивания по сравнению с другими видами домашних животных (Franck et al., 2001; Soland-Reckeweg et al., 2009; Oleksa et al., 2013; Johnson, 2023). Из-за свободной торговли пчелиными семьями между странами и искусственного перемещения пчел в соответствии с предпочтениями промышленных пчеловодов формируется радикально иная картина границ ареалов популяций медоносных пчел по сравнению с той, которую можно было бы ожидать, исходя из их естественных границ и буферных зон. Значительное число подвидов *A. mellifera* по всей Европе и России в настоящее время сильно гибридизированы, что вызывает потерю биологического разнообразия и ведет к последующему исчезновению подвидов и экотипов (Soland-Reckeweg et al., 2009; Meixner et al., 2010; Pinto et al., 2014). Известно, что местные экотипы пчел являются максимально приемлемыми для использования в пчеловодстве благодаря их повышенной адаптации к местным условиям, и их утрата не может быть восполнена интродуцированными подвидами (Szabo, Lefkovitch, 1989; Parker et al., 2010; Parejo et al., 2016).

Многочисленные данные свидетельствуют о том, что использование местных популяций медоносных пчел также обеспечивает более высокие шансы на выживание семей в зимний период, а использование неадаптированных пчел приводит к большим потерям семей, что наблюдается во многих регионах мира (Büchler et al., 2014). Содержание пчелиных семей, адаптированных к местным условиям вследствие направленной селекции подвидов и экотипов, является важным инструментом их разведения (Neumann, Carreck, 2010). Поддержание генетического разнообразия пчел имеет решающее значение, поскольку формируется повышенный потенциал к адаптации путем естественного отбора (Tarry, 2003; Frankham et al., 2010; Allendorf et al., 2012; Mikheyev et al., 2015).

Взаимодействие между уникальными генотипами подвидов медоносных пчел и условиями их обитания влияет на процессы адаптации, которые, в свою очередь, воздействуют на численность, физиологию, продуктивность и выживаемость семей. Сохранение генетического разнообразия подвидов пчел и локальных адаптированных генотипов методом генетической селекции необходимо для предотвращения потерь семей, оптимизации устойчивой продуктивности и для обеспечения устойчивой адаптации к изменениям окружающей среды (Johnson, 2023).

Козволюция человека и медоносной пчелы, которая привела к формированию взаимовыгодных отношений, является ключевым направлением в процессах выживания и развития этих двух видов. Несмотря на то что пчелы не являются полностью одомашненными животными, способными жить в природе без антропогенного вмешательства, современные люди и пчелы не могут комфортно существовать друг без друга. Прежде всего, это заключается в опылительной деятельности пчел, а также в производстве продуктов, необходимых для лекарственных, косметических, пищевых и других жизненно важных целей. В свою очередь, пчелы нуждаются в лечении от возбудителей инфекционных и инвазионных заболеваний, защите от паразитов и врагов, которые быстро эволюционируют и неоднократно сменяют своих хозяев.

Следовательно, правильное понимание роли пчел в жизни человека и наоборот является основой для сохранения природных и антропогенных экосистем, а также для успешного развития пчеловодства.

ЭВОЛЮЦИОННОЕ ПРОИСХОЖДЕНИЕ ПЧЕЛ

В мире насчитывается более 20 тыс. видов пчел (Michener, 2000). Они произошли от группы охотничьих ос, которые кормили свое потомство насекомыми или пауками. Дивергенция между осаами и пчелами произошла около 120 млн л. н. (Cardinal, Danforth, 2013; Almeida et al., 2023). Согласно современным данным пчелы произошли в раннем меловом периоде 124 млн л. н., а все расхождения между основными линиями, признанными подвидами, произошли между средним и поздним меловым периодом около 73–124 млн л. н. О меловом вымирании мало что известно, но оно, возможно, уничтожило другие основные линии пчел, а основные клады, представленные современными семействами, дифференцировались до начала мелового и третичного периодов (Almeida et al., 2023).

Пчелы эволюционно ближе к некоторым охотничьим осам, и по сути они являются таковыми, перешедшими на вегетарианство. Современные пчелы делятся на 7 семейств и 28 подсемейств (Danforth et al., 2006; Lo et al., 2010; Bossert et al., 2019; Danforth et al., 2019). Пчелы из семейства Melittidae ведут одиночный образ жизни и гнездятся в норах, являются опылителями растений. Megachilidae, Colletidae и Andrenidae — космополитические семейства, и пчелы из этих семейств являются также опылителями растений. Семейство Stenotritidae — немногочисленная группа, встречающаяся лишь в Австралии. Представители семейства Halictidae распространены по всему миру и широко используются как модельные организмы в научных исследованиях (Brady et al., 2006; Kocher et al., 2013; Johnson, 2023).

Около 10% всех пчел являются социальными, и они охватывают два семейства: Halictidae и Apidae (Michener, 2000; Danforth, 2002; Danforth et al., 2019). Эусоциальность подразделяется на три группы: зарождающаяся, примитивная и продвинутая (Michener, 1969; Johnson, Linksvayer, 2010). Эусоциальность подразумевает наличие трех признаков: перекрывающиеся поколения, совместный уход за расплодом и кастовая дифференциация (Wilson, 1971; Gruter et al., 2012). Организацию семей пчел вероятно будет правильной отнести к социальной физиологии (Seeley, 1995; Johnson, 2023).

Семейство Apidae насчитывает около 6 тыс. видов и 5 подсемейств. Это самое большое семейство пчел, и самые древние известные ископаемые происходят из этой группы (Danforth et al., 2019). Медоносная пчела относится к подсемейству Apinae (1200 видов), которое состоит из пяти триб: одиночные пчелы (Centridini), орхидные пчелы (Euglossini), шмели (Bombini), безжалые пчелы (Meliponini) и медоносные пчелы (Apini). Последние четыре группы составляют группу корбикюлятных пчел, у которых на задних ножках есть корзинка для сбора пыльцы (Danforth et al., 2019). Орхидные пчелы менее социальны, так как большинство из них одиночны или гнездятся скоплениями. Большинство шмелей эусоциальны (с небольшими семьями), а некоторые являются социальными паразитами. Медоносные и безжалые пчелы высоко эусоциальны и характеризуются большими семьями. Безжалые пчелы характеризуются большой вариативностью социальной структуры: размер семьи, наличие каст, биология развития. У медоносных пчел, по сравнению с безжалыми, вариативность социальной структуры незначительна (Johnson, 2023).

По современной классификации признаны следующие 9 видов рода *Apis*: *A. mellifera* Linnaeus

1758, *A. cerana* Fabricius 1793, *A. koschevnikovi* Enderlein 1906, *A. nuluensis* Tingek et al. 1996, *A. florea* Fabricius 1787, *A. andreniformis* Smith 1858, *A. dorsata* Fabricius 1793, *A. laboriosa* Smith 1871, *A. nigrocincta* Smith 1861 (Michener, 1974; Engel, Schultz, 1997; Hepburn, Radloff, 1998; Arias, Sheppard, 2005; Raffiudin, Crozier, 2007; Lo et al., 2010). Виды *Apis* делятся на три группы: (1) имеющие закрытые гнезда с несколькими сотами (*A. mellifera*; *A. cerana*, *A. koschevnikovi*, *A. nigrocincta*, *A. nuluensis*); (2) карликовые пчелы с открытыми сотами (*A. florea* и *A. andreniformis*) и (3) гигантские пчелы с открытыми сотами (*A. dorsata* и *A. laboriosa*) (Hadisoesilo et al., 1995; Hadisoesilo, Otis, 1996; Engel, 1999; Smith et al., 2003; Oldroyd, Wongsiri, 2006; Raffiudin, Crozier, 2007; Lo et al., 2010; Johnson, 2023). В целом биология всех видов пчел достаточно схожа между собой, а отличия наблюдаются в численности семей, кастовой дифференциации и фенотипах (Seeley, 1985; Winston, 1991; Oldroyd, Wongsiri, 2006; Woyke et al., 2012; Johnson, 2023).

На сегодня признано около 33 подвигов *A. mellifera* (Engel, Schultz, 1997; Hepburn, Radloff, 1998; Engel, 1999; Meixner et al., 2011; Chen et al., 2016; Ilyasov et al., 2020), подразделенных на четыре основные линии (Whitfield et al., 2006; Han et al., 2012): М (западно- и североафриканское, североафриканское распространение) с 2 подвидами, С (центрально- и восточноевропейское распространение) с 10 подвидами, О (северо-восточное, средиземноморское и ближневосточное распространение) с 3 подвидами и А (африканское распространение) с 10 подвидами с подгруппой Z (северо-восточноафриканское распространение) с 3 подвидами (Franck et al., 2001; Alburaki et al., 2011, 2013; Meixner et al., 2013). Также было предложено добавить еще четыре линии: Y (*A. m. jemenitica*), S (*A. m. syriaca*), U (*A. m. unicolor*) и L (*A. m. lamarckii*) (Ruttner, 1988; Franck et al., 2000; Whitfield et al., 2006; Alburaki et al., 2013; Tihelka et al., 2020; Dogantzis et al., 2021). Западная медоносная пчела обладает большим внутривидовым разнообразием и демонстрирует сложную локальную адаптацию от тропических до резко континентальных зон (Hepburn, Radloff, 1998). После естественного распространения западной пчелы в Африке и Евразии человек стал ответственным за нынешнее их космополитическое распространение. Пчел завезли в Южную Америку в начале XVI в., в Северную Америку — в начале XVII в., и в Австралию — в начале XIX в. (Whitfield et al., 2006; Johnson, 2023).

Существуют три сценария эволюционной экспансии медоносной пчелы в пределах естественного ареала (рис. 1).

Первый сценарий предложен (Ruttner, 1988) на основе анализа морфологических показателей. Согласно этому пчелы первоначально мигрировали на Ближний Восток, а оттуда — в Африку и Европу. В результате подвиды пчел всех эволюционных ветвей возникли от эволюционной ветви О (Ruttner, 1988).

Второй сценарий предложен (Arias, Sheppard, 2005) на основе анализа нуклеотидной последовательности гена *ND2* мтДНК, данных полиморфизма микросателлитных локусов и ПЦР-ПДРФ-анализа эндонуклеазой *DraI* локуса *COI-COII* мтДНК. По этому сценарию пчелы мигрировали в Восточную Европу через Ближний Восток. В это же время произошла их миграция в Африку. Далее они из Северо-Западной Африки мигрировали в Западную Европу. Гипотеза предполагает, что подвиды пчел эволюционных ветвей С и А возникли от пчел эволюционной ветви О, а подвиды пчел эволюционной ветви М возникли от эволюционной ветви А (Arias, Sheppard, 2005).

Третий сценарий предложен (Whitfield et al., 2006) на основе полногеномного анализа однонуклеотидных замен SNP. Согласно мнению этих ученых пчелы первоначально обитали в Африке, откуда произошли три последовательные экспансии на север, в Евразию: первая — в

Западную Европу, вторая — на Ближний Восток, третья — в Средиземноморье и Южную Европу. В итоге, подвиды пчел всех эволюционных ветвей возникли от ветви А (Whitfield et al., 2006). Данный сценарий был также подтвержден результатами изучения полных митохондриальных геномов 18 подвидов пчел всех эволюционных ветвей. Было сделано заключение о первоначальном ареале *A. mellifera* в Северной Африке и дальнейшей адаптивной экспансии на юг в направлении Южной Африки и на север — через Гибралтарский пролив и Западную Азию (Tihelka et al., 2020; Johnson, 2023).

Наиболее предпочтительным следует считать сценарий на основе полногеномного анализа однонуклеотидных замен, согласно которому все подвиды пчел Европы и Ближнего Востока возникли в результате многократных массовых экспансий из Африки в Евразию через средиземноморские острова, Иберийский и Аравийский полуострова. Дальнейшие микроэволюционные процессы на севере происходили под действием природно-климатических факторов. Основную роль в формировании подвидов сыграл плейстоценовый ледниковый период около 110 тыс. л. н., который создал географическую изоляцию популяций (Whitfield et al., 2006).

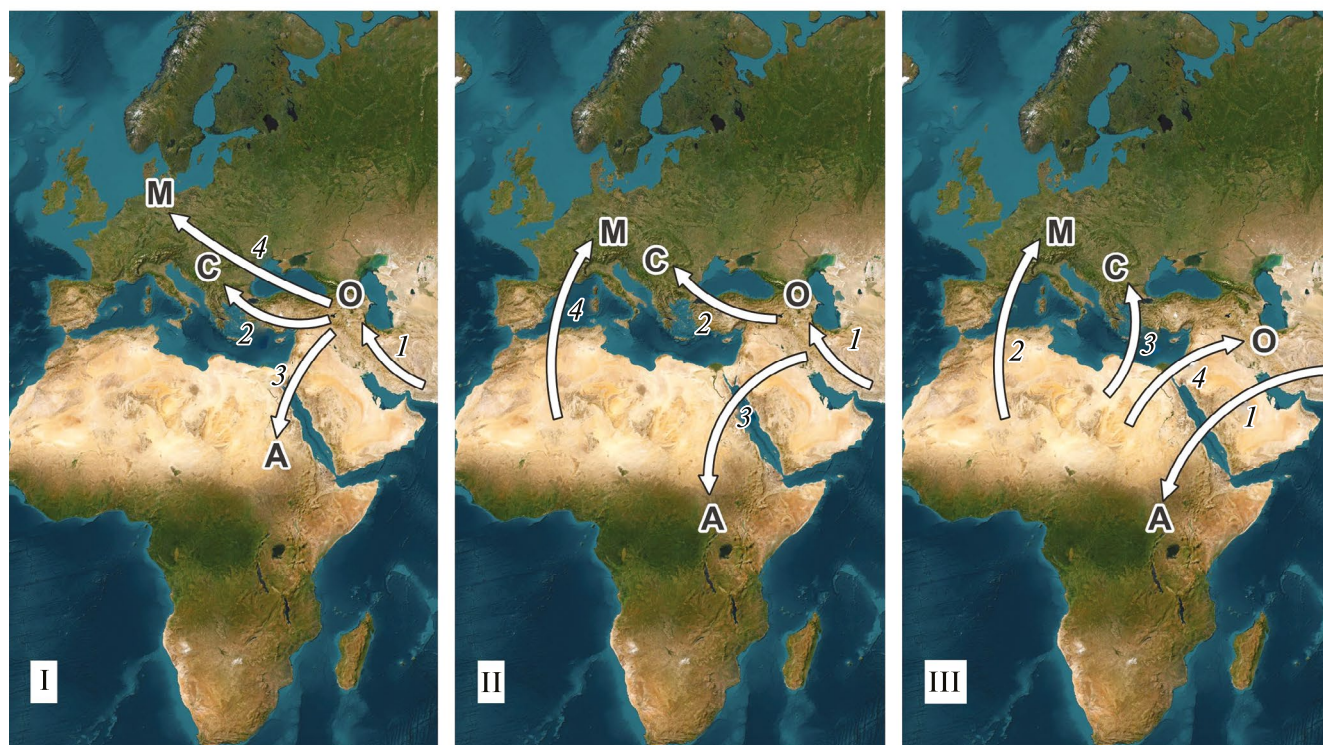


Рис. 1. Три сценария расселения подвидов медоносной пчелы: I — гипотеза (Ruttner, 1988), II — гипотеза (Arias, Sheppard, 1996), III — гипотеза (Whitfield et al., 2006). М, С, А и О — эволюционные ветви; 1–4 — порядок географической миграции пчел.

В Северную Америку, в США, первоначально массово завозили темную лесную пчелу *A. m. mellifera*. Однако с данным подвидом оказалась трудно работать из-за повышенной агрессивности. Изначально это не было проблемой, но стало таковой с изобретением современных методов пчеловодства, которые предполагают большое число манипуляций с семьями, по сравнению со старыми методами. Поэтому при последующих интродукциях стали отдавать предпочтение итальянской пчеле *A. m. ligustica* с более спокойным поведением (Kritsky, 1991; Schiff et al., 1994). В последнее время пчелы также импортируются из различных частей Восточной Европы (Cobey et al., 2012). Наконец, африканизированные пчелы, произошедшие в результате случайной гибридизации африканских (*A. m. scutellata*) и европейских подвидов (*A. m. ligustica*, *A. m. mellifera*), распространились на большей части юго-запада США, во всей Центральной и Южной Америке и превратились в инвазивных гибридных пчел, представляющих угрозу для человека и для развития пчеловодства в целом (Rinderer et al., 1991; Sheppard et al., 1999; Schneider et al., 2004; Pinto et al., 2005; Rangel et al., 2016). В северные части Европы и России импортируются подвиды пчел южного происхождения — *A. m. caucasia*, *A. m. carpathica*, *A. m. remipes*, *A. m. acervorum*, *A. m. ligustica* и др., в связи с их более ранним развитием на юге (Иyasov et al., 2020). Эксперименты с интродукцией европейских и африканских подвидов пчел в Южную Америку привели к возникновению популяции агрессивных и малопродуктивных африканизированных пчел (Requier et al., 2019).

Происхождение западной медоносной пчелы *Apis mellifera* вызывает споры. На основе анализа 251 генома 18 местных подвидов медоносной пчелы были получены подтверждения их азиатского происхождения, как минимум, с тремя экспансиями, приведшими к африканской и европейской линиям. Адаптивная экспансия медоносных пчел основывалась на отборе в нескольких геномных участках. Было обнаружено 145 генов с независимыми признаками отбора во всех линиях пчел, и эти гены были сильно связаны с признаками рабочих особей. Результаты анализа генома показали, что основной набор генов, связанных с признаками, проявляющимися в рабочих особях, способствовал адаптивной экспансии пчел на всем протяжении их обширного ареала. Было показано, что *A. mellifera* появилась в Азии вместе с остальными ныне живущими видами пчел, но затем распространилась в своем нынешнем ареале через Западную Азию, как минимум, в 3 этапа (Dogantzis et al., 2021). Современные популяции *A. mellifera*

сохраняют высокое генетическое разнообразие, что позволило им адаптироваться к различным климатическим условиям (Dogantzis et al., 2021).

ФОРМИРОВАНИЕ ОТНОШЕНИЙ ЧЕЛОВЕКА И ПЧЕЛ

Вероятно, до появления *Homo sapiens* гоминиды взаимодействовали с медоносными пчелами посредством сбора меда из гнезд диких пчел (Boesch et al., 2009; Crickette et al., 2009). Наскальные рисунки в Испании, датированные примерно 7000–8000 л. н., изображают охоту за медом, но это не самые древние свидетельства взаимодействия человека с пчелами (Beltran 1982; Crane, 1999; Francis-Baker, 2021). Химические анализы выявили следы пчелиного воска в анатolianской керамике, возраст которой почти 9000 лет, однако это не подтверждает развитие пчеловодства, так как воск мог быть от диких пчел (Roffet-Salque et al., 2015). Настоящее пчеловодство включает создание искусственных гнезд для пчел, где они могут строить соты и хранить мед и пыльцу. Самые старые доказательства искусственных гнезд для пчел относятся к периоду с 3000 г. до н. э. по 500 г. н. э. (Dalley, 2002; Kritsky, 2010, 2017).

История пчеловодства насчитывает тысячелетние взаимоотношения между людьми и медоносными пчелами. Самые древние свидетельства пчеловодства относятся к Древнему Египту и датируются 2450 г. до н. э. Рельеф из Храма Солнца в Гизе изображает пчеловодов, работающих с ульями, указывая на устоявшуюся практику пчеловодства того времени (Kritsky, 2015). Египтяне использовали горизонтальные ульи из глины и соломы, а пчеловодство контролировалось государством (Cilliers, Retief, 2012). В Леванте пчеловодство было распространено к 1500 г. до н. э., что подтверждается хеттскими законами (Crane, 1999; Akkaya, Alkan, 2007). Самые старые ульи, найденные в Тель-Рехове, примерно датируются 875 г. до н. э., их использовали в основном для воска (Mazar, Panitz-Cohen, 2007). Как показывают древние документы, импорт медоносных пчел был обычным торговым ремеслом в I тысячелетии до н. э. (Saggs, 1984; Lunde, 2017).

Пчеловодство с горизонтальными ульями распространилось вдоль Средиземноморского региона. В 400 г. до н. э. в Греции использовались керамические ульи, имеющие длину около 65 см и сужающиеся от отверстия к закрытому концу. Внутри ульев были канавки для сот, а крышка удерживалась палкой и веревками. При необходимости ульи можно было легко увеличить, добавляя глиняные кольца к отверстию (Crane, 1998; Ransome, 2004). После использования ульи

часто использовались в качестве гробов для маленьких детей. В Древнем Риме ульи изготавливались из различных материалов, но преимущественно из керамики (Varro, 1934; Columella, 1941; Crane, Graham, 1985; Kritsky, 2017; Francis-Baker, 2021).

В Нижней Саксонии в Германии были обнаружены два бревенчатых улья, один датируемый вторым веком, а другой между 400 и 500 г. н.э. (Crane, Graham, 1985; Crane, 1999). Также был найден плетенный улей, датируемый 200 г. н.э. (Crane, Graham, 1985). Помимо самих ульев, многое известно о пчеловодстве и использовании меда из исторических письменных источников (Crane, 1999; Cilliers, Retief, 2012). Аристотель описывал мед как запечатанные соты для зимнего запаса и практику пчеловодства как задымление ульев для успокоения пчел (Jones et al., 1973; Davies Kathirithamby, 1986). Кочевое пчеловодство имело место еще в древности, как упоминается в переписке пчеловодов с греческими чиновниками в период Птолемея в Египте (Kritsky, 2015). Колумелла и Плиний также описывали транспортировку ульев к лучшим медоносным растениям (Pliny the Elder, 1855; Columella, 1941; Kritsky, 2017). В Средние века, несмотря на малое количество изображений ульев, в Европе пчеловодство процветало. Свидетельством этому служат упоминания медовухи в поэмах V в. и в эпосе о Беовульфе VIII в. (Herrod-Hempsall, 1937; Nye, 2004). Король Карл Великий приказал содержать пчел во всех поместьях и отдавать две трети произведенного меда королю (Johnston, 2011). Изучение письменных записей из Англии и Уэльса доказывает активное развитие пчеловодства в этот период (Crane, Walker 1985, 1999), а законы времен правления короля Альфреда строго наказывали “похитителей пчел” (Crane, Walker, 1999).

В начале Средневековья мед и воск были основными товарами для торговли в пчеловодстве. Уэдморский договор 879 г. способствовал торговле между Норвегией и Англией, включая обмен мехами и рыбой на шерсть, солод, пшеницу и мед. В то же время, в бассейне среднего Днепра пчеловодство стало прибыльным делом из-за спроса на мед и воск (Thompson, 1928). Пчелиный воск использовался для различных целей: изготовление клеев, гидроизоляция и т.д. (Galton, 1971).

Монахиня Святая Гобнейт в Ирландии использовала ульи в качестве оружия, чтобы отпугивать врагов, а во второй половине Средневековья ульи стали также использовать в качестве оружия при осадах (Herrod-Hempsall, 1937; Lunde, 2017). В средневековой Англии на территории Эссекса, Норфолка и Саффолка

каждый третий землевладелец содержал от четырех до пяти ульев, а всего в Эссексе было около 600 ульев. Западные графства использовали плетеные ульи, в то время как восточные предпочитали соломенные (Fraser, 1931, 1958; Kritsky, 2017). Производительность средневековых пчеловодов была впечатляющей. Анализ бухгалтерской книги аббатства Болье за 1269–1270 гг. показал, что монахи содержали около 300 ульев и производили 155 фунтов воска и 1782 фунта меда. Они считали воск более важным из-за его использования в религиозных целях, хотя пчел при их добыче приходилось убивать, что приводило к убыткам (Radford, 1949; Francis-Baker, 2021).

В Средние века в лесах Восточной Европы, включая территории Польши, Украины, России и других стран, процветало лесное пчеловодство, берущее свое начало из охоты за медом в диких гнездах, расположенных на деревьях. Пчеловоды начали расширять дупла деревьев, чтобы облегчить рост семей пчел, что, в дальнейшем, привело к созданию искусственных полостей в деревьях. Они создавали борти, выбирая прямые деревья с уже существующими отверстиями и вырезая отверстия в стволе на высоте от 5 до 25 м. Для защиты от грабежей борти маркировались, некоторые деревья имели по два или три борти. Использовались различные породы деревьев, но предпочтение отдавалось соснам и дубам. Ульи могли быть перенесены на пасеку после отмирания дерева. Ранние иллюстрации бортевого пчеловодства встречаются в Свитках торжества, созданных в 1200-х гг. на юге Италии (Freeman, 1945; Crane, Graham, 1985; Samojlik, Jedrzejska, 2004; Jones, 2013; Kritsky, 2017).

На Урале железные инструменты, используемые при бортевом пчеловодстве, были обнаружены в погребениях финно-угорских народов VI–VII вв. Эти инструменты мало отличались от современных, применяемых башкирскими бортевиками на территории Бурзянского района Республики Башкортостан. Расцвет бортничества на Урале пришелся на XVIII в. (Вахитов, 1992). Первое письменное упоминание о бортевом пчеловодстве на Урале содержится в рукописи “Книга Большому Чертежу” 1627 г. (Петров, 2009). Первые описания бортевого пчеловодства башкиров были сделаны П.И. Рычковым на основе материалов экспедиций 1760-х гг., где он отмечал, что некоторые башкиры имели по 500–1000 бортей, а каждый башкир может справляться с 200 бортями (Рычков, 1762). В 1854 г. П.И. Небольсин описал башкирских пчеловодов, проживающих в верховьях р. Инзер, где на каждые 100 деревенских семей приходилось по 1000–2000 бортей (Небольсин, 1854). К концу

XIX в. произошел переход от лесных бортей к пасечному содержанию пчел в ульях, что привело к упадку бортового пчеловодства в Приуралье. Тем не менее бортовое пчеловодство продолжает существовать в горно-лесной зоне в Бурзянском районе Республики Башкортостан (рис. 2) (Ильясов и др., 2016).

Первые изображения ульев встречаются в средневековых сборниках зоологических статей (бестиариях), где описываются как реальные, так и вымышленные животные. Так, бестиарий Уорксопа, написанный около 1185 г. в Англии, показывает пчеловода, выпускающего пойманный рой из мешка, а пчелы входят в улей. Абердинский бестиарий, написанный в XII в. в Англии, изображает пасеку из трех плетеных ульев (Avery, 1936; Crane 1971; Crane 1999; Kritsky, 2017). В рукописях XIV–XV вв. представлена эволюция защитной одежды пчеловодов. В рукописи Фламандского Псалтыря изображен пчеловод с простой вуалью, закрывающий голову и лицо (Kritsky, 2017). Рукопись Холкэма, написанная в 1400 г., показывает пчеловода в капюшоне (Crane 1971, 1999), а в рукописи Роулинсона описано,

как пчеловоды ловят рой (Avery, 1936; Crane 1971, 1999; Kritsky, 2017). В некоторых рукописях есть информация о конструируемых платформах для ульев. Например, рукопись “Прикосновение здоровья”, написанная в 1400 г., показывает ульи на полках, прикрепленных к стенам здания (Kritsky, 2017). В другой рукописи 1485 г. изображено убийство пчел во время отбора меда, где пчеловоды работают с коробчатыми ульями рядом с большой ямой для костра (Kritsky, 2017). Рукопись 1460 г. содержит сведения о защитных мерах для ульев: соломенные опоры, обмазывание ульев грязью, установка соломенных перьев (Crane 1999; Kritsky, 2017).

В Средние века в Леванте (территория восточной части Средиземного моря) практиковалось пчеловодство с использованием ульев из высушенной глины, напоминающих архитектурные формы древних храмов и гробниц (Tahel, 2006; Kritsky, 2015; Francis-Baker, 2021). Строительство пчелиных ниш в садовых стенах или по бокам зданий представляло собой более надежный метод защиты ульев от непогоды и краж. Ниши для ульев, начиная с 1250 г., имели различные формы



Рис. 2. Современное бортовое лесное пчеловодство в Бурзянском районе Республики Башкортостан на Южном Урале.

и материалы, часто с дверьми или решетками для защиты (Kritsky, 2010, 2015). В рукописи 1555 г. эпохи Возрождения описывается технология транспортировки ульев на телеге по болотистым и равнинным местностям к цветущим нектароносным растениям в целях повышения медовой продуктивности (Crane 1999; Kritsky, 2017; Lunde, 2017).

Первый рамочный улей был разработан Петром Ивановичем Прокоповичем в 1814 г. Кроме того, свои варианты рамочного улья разработали польский ученый Ян Дзержон в 1938 г. и немецкий ученый Август фон Берлепш в 1852 г. Прототип современной конструкции рамочного улья был запатентован американским ученым Лоренцом Лореном Лангстротом в 1851 г. и доработан американским ученым Амосом Ивсом Руттом (Прокопович, 1838; Dzierzon, 1845; Langstroth, 1857; von Berlepsch, 1869; Root, 1903).

ОДОМАШНИВАНИЕ ПЧЕЛ И ЕГО ПОСЛЕДСТВИЯ

Медоносные пчелы и шелкопряды часто называются единственными одомашненными насекомыми (Seeley, 2019; Zhou et al., 2020). Для шелкопряда одомашнивание очевидно, поскольку самцы не могут летать и вид довольно сильно отличается от своего дикого предка. Однако для медоносной пчелы все не так однозначно. Одомашнивание часто связано с уменьшением аддитивной генетической дисперсии, сексированием аллелей, связанных с признаками, имеющими экономическое значение, уменьшением размера мозга, увеличением послушности, изменением размера и конформации тела, а также с развитием специфических для подвида признаков (Hall, Bradley, 1995; Diamond, 2002). Многие породы домашних животных не способны жить в дикой природе, а их недавние дикие предки вымерли. В качестве примера можно привести домашнего шелкопряда *Bombyx mori* (Yukuhiko et al., 2002). Люди содержат медоносных пчел в искусственных ульях с древнейших времен. Возможно, за время взаимодействия с человеком в домашних пчелах также произошли некоторые генетические изменения, отличающие их от диких предков. Некоторые исследования медоносных пчел показали, что популяции пчел, как и других домашних животных, характеризуются пониженным генетическим разнообразием, и это низкое разнообразие возникло в результате одомашнивания (Schiff et al., 1994; Schiff, Sheppard 1996; Delaney et al., 2009; Vanengelsdorp, Meixner 2010; Jaffé et al., 2010; Meixner et al., 2010). Низкое генетическое разнообразие в популяциях пчел вызывает беспокойство, поскольку гене-

тическое разнообразие имеет большое значение для устойчивости пчелиных семей (Seeley, Tarpay, 2007) и жизнеспособности (Page, 1980; Mattila, Seeley, 2007; Oldroyd, Fewell, 2007). Действительно, некоторые авторы предполагают, что недавнее сокращение популяций медоносных пчел в Европе и Северной Америке (Vanengelsdorp et al., 2009; Vanengelsdorp, Meixner, 2010) и явление коллапса пчелиных семей (CCD) могут быть связаны с уменьшением генетического разнообразия (Oldroyd, 2007, 2012; Vanengelsdorp, Meixner, 2010). Однако другими авторами было показано, что одомашнивание пчел, в отличие от других видов животных, не только не уменьшило генетическое разнообразие популяции, а увеличило его. Некоторые линии медоносных пчел характеризуются высоким уровнем генетического разнообразия, потому что вместо селекции на породные характеристики в рамках определенной популяции, селекция пчел часто происходит привнесением нового генетического материала из различных источников (Harpur et al., 2014; Johnson, 2023).

Основная проблема с рассмотрением медоносной пчелы как одомашненного вида заключается в том, что на большей части своего ареала этот вид является диким (Hepburn, Radloff, 1998). По мнению современных исследователей, она никогда не была должным образом одомашнена (Oxley, Oldroyd, 2010; Oldroyd, 2012). Вместо этого люди научились управлять ими, хотя и сложными способами, снабжая их ульями, из которых легче добывать мед и воск (Crane, 1999) и перемещать на новые территории. В большинстве случаев пчелы, содержащиеся на современных пасеках, остаются практически неизменными по сравнению со своими дикими сородичами (Oldroyd, 2012). Отсутствие одомашнивания пчел немного странно. Люди содержат пчел в ульях по меньшей мере 7000 лет (Bloch et al., 2010) — гораздо дольше, чем были одомашнены сельскохозяйственные животные. Надежное искусственное осеменение пчел было изобретено в 1940-х гг., вскоре после того, как оно было разработано для других видов животных (Laidlaw, 1944; Johnson, 2023). Существует развитая индустрия, занимающаяся разведением и размножением пчел для продажи промышленными производителями меда и для применения в качестве опылителей (Laidlaw, Page, 1997; Delaney et al., 2009). Однако, несмотря на достижения зоотехнии и некоторые ранние попытки сертификации поголовья (Witherell, 1976), так и не появились конкретные породы пчел, которых можно было бы надежно отличить от других линий пчел. Поэтому вместо того, чтобы называть породу, которую они держат, пчеловоды обычно описывают своих пчел

по подвидам или по заводчику, у которого они их купили (Oldroyd, 2012). Вероятно, этот факт можно объяснить следующим образом. Естественный ареал западной медоносной пчелы — это Африка, Европа и Ближний Восток. Африка во много раз больше, чем Европа и Ближний Восток, и современное пчеловодство там редко встречается, несмотря на наличие условий для проведения искусственного отбора. Сбор меда с диких пчел, конечно, распространен в Африке, но это ничем не отличается от охоты и не способствует развитию процессов доместикиции.

Таким образом, на большей части своего естественного ареала подвиды медоносной пчелы являются дикими, а не одичавшими, поскольку в тропиках они никогда не были одомашнены (Oldroyd, 2012; Johnson, 2023). Было показано, что дикие популяции *A. mellifera* во многих частях Европы еще сохраняются в неодомашненном, т. е. в диком состоянии и пока не испытывают сильного влияния со стороны селекционеров (Pinto et al., 2014; Groeneveld et al., 2020).

В последние десятилетия локальная адаптация все больше признается как один из важных факторов, влияющих на поведение, продуктивность и выживание пчел (Costa et al., 2012; Büchler et al., 2014; Hatjina et al., 2014; Uzunov et al., 2014). Несомненно, что дикие и одичавшие популяции медоносной пчелы являются максимально адаптированными к местным условиям. В своем естественном ареале дикие и одичавшие популяции имеют значительно более высокое генетическое разнообразие, по сравнению с пасечными популяциями (Whitfield et al., 2006; Wallberg et al., 2014), что обеспечивает им повышенную устойчивость к изменяющимся климатическим условиям (Pirk et al., 2017) и к новым патогенам (Moritz et al., 2005, 2007; Dietemann et al., 2009). Взаимодействие между пасечной популяцией и дикой или одичавшей может изменить генетическое разнообразие обеих популяций за счет гибридизации (Harpur et al., 2014; Johnson, 2023). Одичавшие и дикие популяции генетически отличаются от пасечных популяций медоносной пчелы (Sheppard, 1988; Lodesani, Costa, 2003) и представляют собой источник генетического разнообразия и адаптаций, которые также могут принести пользу пасечным популяциям (Chapman et al., 2016). В настоящее время как дикие, так и пасечные популяции в значительной степени смешаны, но не идентичны (Chapman et al., 2008; Oxley, Oldroyd, 2009; Chapman et al., 2016). Эти популяции испытывают различное давление отбора. Генетическое разнообразие в пасечных популяциях находится под влиянием искусственного отбора в целях поддержания “чистых” подвидов, а в диких по-

пуляциях — находится под влиянием естественного отбора по признакам, которые обеспечивают лучшую выживаемость и приспособленность (Harpur et al., 2015).

Следует отметить, что дикие и одичавшие популяции медоносной пчелы сейчас подвержены угрозе исчезновения, поскольку их существование не учитывается человеком при вырубке лесов и деревьев с дуплами (Jaffé et al., 2010). Интродуцированные подвиды могут оказывать значительное влияние на дикие популяции местной медоносной пчелы (De la Rúa et al., 2009). В какой-то степени совместное существование пасечных популяций пчел с дикими и одичавшими подвергает их интрогрессивной гибридизации (Whitfield et al., 2006; Jaffé et al., 2010), а также воздействию новых вредителей и патогенов (Fries et al., 2006; Graystock et al., 2013). Распространение эктопаразитического клеща *Varroa destructor* вызвало резкое сокращение диких и одичавших популяций *A. mellifera* (Pirk et al., 2017) почти до полного исчезновения в Европе (De la Rúa et al., 2009; Pyasov et al., 2015). Однако в дальнейшем популяции медоносной пчелы приобрели устойчивость к клещу *V. destructor*, но при этом потеряли свое генетическое разнообразие (Le Conte et al., 2007; Seeley, Tarpay, 2007; Johnson, 2023).

СЕЛЕКЦИЯ ПЧЕЛ И ЕЕ ПЕРСПЕКТИВЫ

Селекция медоносных пчел — довольно сложная задача. Матки и трутни спариваются в специальных местах скопления трутней, расположенных рядом с пасекой (Gary, 1962). Там неплодные матки спариваются в среднем с 15 трутнями из семей, разбросанных по всей территории (Tarpay, Nielsen, 2002). Поэтому подбирать пары для спаривания желательных маток и трутней было крайне сложно до 1940-х гг., пока не были разработаны методы искусственного осеменения (Laidlaw, 1944; Johnson, 2023).

Первые шаги в разведении устойчивых к болезням пчел были предприняты братом Адамом (Brother Adam, 1987), который утверждал, что устойчивость и продуктивность пчел можно селектировать, а спаривание контролировать с помощью искусственного осеменения (Brother Adam, 1987; Cobey et al., 2012). В 1898 г. в аббатстве Бакфаст в Великобритании в Девоне брат Адам путем скрещивания многих подвидов и их линий создал новую породу пчел Бакфаст, обладающую высокой продуктивностью, хорошей управляемостью и устойчивостью к болезням. Работы по выведению данных пчел проводились на географически изолированных пасеках, куда нежелательные трутни не могли залетать (Brother Adam, 1987). По мнению ученых, пчел

породы Бакфаст можно с уверенностью назвать одомашненными (Brother Adam, 1987; Crane, 1999; Johnson, 2023). Однако эти пчелы не используются повсеместно в мире, поскольку они достаточно дорогие, и всегда выгоднее использовать местные линии медоносных пчел. Следует отметить, что пчел Бакфаст нужно постоянно покупать у производителя и невозможно скрещивать самостоятельно, поскольку они являются гибридами десятка подвидов пчел, и их скрещивание приведет к расщеплению и потере полезных признаков. Кроме того, разведение пчел Бакфаст на территории, где сохранились локальные подвиды пчел, является угрозой для генофонда местных пчел, поскольку трутни от пчел Бакфаст способны скрещиваться с матками местных пчел и вносить в генофонд семей чужеродные гены, отрицательно влияющие на устойчивость и выживаемость местных пчел. Изменения в генофонде локальных популяций становятся необратимыми, поскольку происходит интрогрессивная гибридизация (Johnson, 2023).

В 1932 г. O.W. Park в штате Айова (США) начал проект по выведению пчел, устойчивых к американскому гнильцу. Работа продолжалась более 15 лет, и к 1949 г. были получены линии пчел не чувствительные к заболеваемости американским гнильцом. В дальнейшем G.H. Cale, Jr. создал гибридные линии пчел Starline и Midnite, которые продавались во всем мире до 1970-х гг., но затем исчезли с рынка из-за высоких затрат на поддержание гибридных линий (Borst, 2012).

Попытки создания более продуктивной пчелы в Бразилии привели к завозу африканских пчел, которые способствовали возникновению популяции агрессивных африканизированных пчел. Важным шагом стало изучение пчел с гигиеническим поведением, которые способны эффективно очищать соты, тем самым уменьшая количество патогенов. Были разработаны (Spivak et al., 2002) методы анализа гигиенических качеств пчел, используя жидкий азот и иглы для умерщвления расплода, на основе которых авторы метода могли проводить селекцию (Spivak et al., 2002; Borst, 2012).

С появлением клеща *Varroa* стало очевидно, что митициды не могут быть долгосрочным решением. В департаменте сельского хозяйства США запустили программу по селекции устойчивых к клещу *Varroa* линий пчел. В Приморском крае России были случайно обнаружены линии пчел с повышенной естественной устойчивостью к клещу *Varroa* и выраженным гигиеническим поведением. Импорт маток российских пчел в США начался в 1997 г., и к 2002 г. было приобретено 362 матки. К 2007 г. в США

была создана русская линия пчел, устойчивых к клещам и обладающих хорошей медовой продуктивностью (Borst, 2012).

Селекция медоносных пчел была всегда затруднена, однако известно, что пчеловоды постоянно отбирали пчел по признакам, выбраковывая агрессивных особей и сохраняя продуктивные семьи (Crane, 1999, Seeley, 2019). В целом, до появления улья, пчеловодство велось таким образом, что манипулировать семьями было довольно сложно. Семьи создавались весной, обычно отлавливались рои, которых содержали до медосбора, после чего семья обычно уничтожалась. Исторически сложилось так, что пчеловоды практически не управляли своими пчелами, поэтому защитное поведение пчел не имело большого значения. Количество собранного меда, конечно, имело значение, но, учитывая методы формирования семей и сбора меда, возможности для селекции пчел были невелики (Johnson, 2023). Современные ульи, содержащие съемные рамки позволяют осматривать семьи пчел и манипулировать ими, не нанося серьезного ущерба и не разрушая их (Langstroth, 1857; Nolan, 1929; Cobey et al., 2012). У европейских медоносных пчел произошел определенный отбор на производство меда, выживаемость, устойчивость и управляемость (Johnson, 2023).

Большинство пчел, которых держат пчеловоды, были селектированы для производства меда и для снижения агрессивности. В остальном они очень похожи на диких пчел. Самым ярким свидетельством этого является то, что в любой точке мира можно поймать диких пчел, поместить их в современные ульи и успешно использовать современные методы пчеловодства. На самом деле замена одомашненных животных их дикими сородичами и использование стандартных методов ведения сельского хозяйства в большинстве случаев было бы катастрофой, но это благотворно действует на медоносных пчел (De Jong, 1996), что подводит к мысли о разнице между управлением и одомашниванием. Так, азиатские слоны не одомашнены, хотя их можно увидеть работающими рядом с людьми во многих азиатских странах. По сути, их отлавливают в младенчестве или выращивают с момента рождения в неволе и тренируют с большим мастерством в течение многих лет. Это — процесс управления, а не одомашнивания (Johnson, 2023). То же можно сказать и о медоносных пчелах. Пчеловоды не изменили пчел каким-то фундаментальным образом; большей частью они научились управлять ими в течение многих лет. Например, дым, который применяется при открытии улья, отключает реакцию пчел на нападение. Реакция нападения все равно остается, но мы просто научились ее

подавлять. Точно также пчелы отвергают чужих пчелиных маток при подсаживании их в семьи, что делает процедуру замены маток, необходимой для пчеловода (но не для пчел), довольно сложной. Однако, поместив новую матку в клетку, пчеловод способствует феромонной адаптации у пчел, что позволяет в дальнейшем безопасно заселить пчелиную матку в семью или заменить старую матку на новую. И все же люди не изменили систему распознавания пчелами своих сородичей, а научились обходить ее, зная базовые основы биологии пчелиных семей. Даже если некоторые пчелы, например, Бакфаст, были искусственно селектированы настолько, что их можно назвать одомашненными, то это не такое одомашнивание, какое бывает у сельскохозяйственных животных.

Таким образом, выше представленные факты, позволяют отметить, что содержание и разведение медоносных пчел — это, в большей степени, управление ими, а не одомашнивание, а методы ведения пчеловодства эффективны как для одомашненных, так и для диких пчел. Кроме того, практика пчеловодства является не отбором пчел по желательным признакам, а скорее избавление от нежелательных признаков (Johnson, 2023).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение истории взаимоотношений между человеком и медоносной пчелой (*A. mellifera*) раскрывает сложность идентификации статуса как одомашненного или дикого вида. Хотя процесс одомашнивания пчел вызывает определенные затруднения в определении, их роль в сельском хозяйстве и экосистемах неоспорима. Селекция и управление пчелиными семьями позволили сохранить высокий уровень генетического разнообразия, что является критическим фактором для их устойчивости и выживаемости. Исследования показывают, что разводимые пчелы, также как дикие или одичавшие, могут иметь высокие уровни генетической изменчивости, что может быть ключом к повышению их выживаемости, а также позволяет принимать научно-обоснованные решения по их сохранению. По причине несоблюдения стандартных селекционно-племенных требований в сельском хозяйстве и нарушения законов популяционной генетики и биологии (генетическая изменчивость внутри популяций или между популяциями, многообразие сред обитания, биотических сообществ и экологических процессов) адаптированные к локальным условиям дикие и одичавшие популяции медоносных пчел становятся уязвимыми перед изменениями в окружающей среде и другими угрозами, такими как распро-

странение новых возбудителей заболеваний и паразитов. Сохранение диких популяций является одним из основных условий для сохранения генетического разнообразия и адаптаций, необходимых для выживания антропогенных популяций, поскольку только в природной среде организмы подвержены естественному отбору, селектирующему только адаптированные генотипы. Практическая значимость содержания и разведения медоносных пчел должна быть направлена не только на получение продуктов пчеловодства (мед, прополис, воск, перга и т. д.), но и на сохранение и рациональное использование генофондов локальных популяций. Современное пчеловодство должно представлять собой не только отбор, содержание и разведение, но и научно обоснованное управление пчелами в соответствии с их эволюционно-сложившейся биологией.

Таким образом, понимание принципов и направлений коэволюции человека и пчел становится необходимой основой для сохранения генофонда местных пород пчел в качестве резервных популяций, использования в скрещивании, в целях создания новых генетических типов, лучше приспособленных к изменяющейся окружающей среде, а также для сохранения пород как резерва наследственных качеств, заложенных в процессе тысячелетней эволюции, и как экономико-биологического и культурно-исторического наследия.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в ИБР РАН в 2024 г. при поддержке гранта Российского научного фонда № 24-16-00179.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием человека или животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вахитов Р.Ш. Пчелы и люди. Записки башкирского пчеловода. Уфа: Башкирское кн. изд-во, 1992. 287 с.
- Ильясов Р.А., Николенко А.Г., Сайфуллина Н.М. Темная лесная пчела *Apis mellifera mellifera* L. Республики Башкортостан. М.: КМК, 2016. 320 с.
- Небольсин П. Рассказы проезжего. СПб.: тип. Штаба воен.-учеб. заведений, 1854. 345 с.

- Петров Е.М. Об истоках лесного пчеловодства Башкортостана. 2-е изд., перераб. и доп. Уфа: Китап, 2009. 238 с.
- Прокопович П.И. Об учениках башкирах в школе пчеловодства господина Прокоповича // Земледельческий журн. 1838. V. 6. P. 35–45.
- Рычков П.И. Топография Оренбургская: То есть: обстоятельное описание Оренбургской губернии / Сочиненное коллежским советником и Императорской Академии наук корреспондентом Петром Рычковым. СПб.: При Имп. Акад. наук, 1762. Ч. 1. 331 с. Ч. 2. 262 с.
- Aizen M.A., Harder L.D. The global stock of domesticated honey bees is growing slower than agricultural demand for pollination // Curr. Biol. 2009. V. 19 (11). P. 915–918. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.03.071>
- Akkaya H., Alkan S. Beekeeping in Anatolia from the Hittites to the present day // J. Apic. Res. 2007. V. 46 (2). P. 120–124. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.46.2.10>
- Alburaki M., Bertrand B., Legout, H. et al. A fifth major genetic group among honeybees revealed in Syria // BMC Genet. 2013. V. 14. P. 117. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-14-117>
- Alburaki M., Moulin S., Legout H.E.E. et al. Mitochondrial structure of eastern honeybee populations from Syria, Lebanon and Iraq // Apidologie. 2011. V. 42 (5). P. 628–641. <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0062-4>
- Allendorf F.W., Luikart G., Aitken S.N. Conservation and the genetics of populations. Hoboken: John Wiley & Sons, 2012. 664 p.
- Almeida E.A.B., Bossert S., Danforth B.N. et al. The evolutionary history of bees in time and space // Curr. Biol. 2023. V. 33 (16). P. 3409–3422. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2023.07.005>
- Arias M.C., Sheppard W.S. Molecular phylogenetics of honey bee subspecies (*Apis mellifera* L.) inferred from mitochondrial DNA sequence // Mol. Phylogenet. Evol. 1996. V. 5 (3). P. 557–566. <https://doi.org/10.1006/mpev.1996.0050>
- Arias M.C., Sheppard W.S. Phylogenetic relationships of honey bees (Hymenoptera: Apinae: Apini) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequence data // Mol. Phylogenet. Evol. 2005. V. 37 (1). P. 25–35. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.02.017>
- Avery M. The exultet rolls of Italy. Princeton, NJ: Princeton Univ. Press, 1936. V. 2. 53 p.
- Beltran A. Rock art of the Spanish levant. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1982. 160 p.
- Bloch G., Francoy T.M., Wachtel I. et al. Industrial apiculture in the Jordan valley during Biblical times with Anatolian honeybees // PNAS USA. 2010. V. 107 (25). P. 11240–11244. <https://doi.org/10.1073/pnas.1003265107>
- Boesch C., Head J., Robbins M.M. Complex tool sets for honey extraction among chimpanzees in Loango National Park, Gabon // J. Hum. Evol. 2009., V. 6. P. 560–569. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2009.04.001>
- Borst L.P. The history of bee breeding // Am. Bee J. 2012. V. 7. P. 679–683.
- Bossert S., Murray E.A., Almeida E.A.B. et al. Combining transcriptomes and ultraconserved elements to illuminate the phylogeny of Apidae // Mol. Phylogenet. Evol. 2019. V. 130. P. 121–131. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.10.012>
- Brady S.G., Sipes S., Pearson A., Danforth B.N. Recent and simultaneous origins of eusociality in halictid bees // Proc. Biol. Sci. 2006. V. 273 (1594). P. 1643–1649. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3496>
- Brother A. Beekeeping at Buckfast Abbey with a section on mead making / Northern bee books. United Kingdom: Hebden Bridge, 1987. 122 p.
- Büchler R., Costa C., Hatjina F. et al. The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* L. colonies in Europe // J. Apic. Res. 2014. V. 53 (2). P. 205–214. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.03>
- Cardinal S., Danforth B.N. Bees diversified in the age of eudicots // Proc. Biol. Sci. 2013. V. 280 (1755). P. 2012–2686. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2686>
- Chapman N.C., Harpur B.A., Lim J. et al. Hybrid origins of Australian honeybees (*Apis mellifera*) // Apidologie. 2016. V. 47 (1). P. 26–34. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0371-0>
- Chapman N.C., Lim J., Oldroyd B.P. Population genetics of commercial and feral honey bees in Western Australia // J. Econom. Entomol. 2008. V. 101 (2). P. 272–277. <https://doi.org/10.1093/jee/101.2.272>
- Chen C., Liu Z., Pan Q. et al. Genomic analyses reveal demographic history and temperate adaptation of the newly discovered honey bee subspecies *Apis mellifera sinixinyuan* n. ssp // Mol. Biol. Evol. 2016. V. 33 (5). P. 1337–1348. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw017>
- Cilliers L., Retief F.P. Bees, honey and health in antiquity // Akroterion. 2012. V. 53 (2008). P. 7–19. <https://doi.org/10.7445/53-0-36>
- Cobey S., Sheppard W.S., Tarpy D.R. Status of breeding practices and genetic diversity in domestic US honey bees / Honey bee colony health: challenges and sustainable solutions. Boca Raton, FL: CRC, 2012. P. 39–49.
- Columella L.J.M. Lucius Junius Moderatus Columella on agriculture. Cambridge, MA: Harvard Univ. Press, 1941. V. II. 532 p.
- Costa C., Büchler R., Berg S. et al. A Europe-wide experiment for assessing the impact of genotype-environment interactions on the vitality and performance of honey bee colonies: experimental design and trait evaluation // J. Apic. Sci. 2012. V. 56 (1). P. 147–158. <https://doi.org/10.2478/v10289-012-0015-9>
- Crane E. For those interested in history // Bee World. 1971. V. 52 (2). P. 80–81.
- Crane E. Honey: a comprehensive survey. L.: Heinemann, 1975. 608 p.
- Crane E. Wall hives and wall beekeeping // Bee World. 1998. V. 79 (1). P. 11–22.

- Crane E.* The world history of beekeeping and honey hunting. New York: Routledge, 1999, 675 p.
- Crane E., Graham A.J.* Bee hives of the Ancient World // *Bee World*. 1985. V. 66 (1). P. 23–41.
- Crane E., Walker P.* Evidence on Welsh beekeeping in the past // *Folk Life*. 1985. V. 23 (1). P. 21–48.
<https://doi.org/10.1179/flk.1984.23.1.21>
- Crane E., Walker P.* Early English beekeeping: the evidence from local records up to the end of the Norman period // *Local Historian*. 1999. V. 29 (3). P. 130–151.
- Crickette M., Sanz C.M., Morgan D.B.* Flexible and persistent tool-using strategies in honey-gathering by wild chimpanzees // *Int. J. Primatol.* 2009. V. 30 (3). P. 411–427.
<https://doi.org/10.1007/s10764-009-9350-5>
- Dalley S.* Mari and Karana: two old Babylonian cities. Piscataway, New Jersey: Gorgias Press LLC, 2002. 203 p.
- Danforth B.N.* Evolution of sociality in a primitively eusocial lineage of bees // *PNAS USA*. 2002. V. 99 (1). P. 286–290.
<https://doi.org/10.1073/pnas.012387999>
- Danforth B.N., Minckley R.L., Neff J.L.* The solitary bees: biology, evolution, conservation. Princeton, NJ: Princeton Univ. Press, 2019. 488 p.
<https://doi.org/10.1016/j.baee.2020.01.001>
- Danforth B.N., Sipes S., Fang J., Brady S.G.* The history of early bee diversification based on five genes plus morphology // *PNAS USA*. 2006. V. 103 (41). P. 15118–15123.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0604033103>
- Davies M., Kathirithamby J.* Greek insects. Oxford, UK: Oxford Univ. Press, 1986. 211 p.
- De Jong D.* Africanized honey bees in Brazil, forty years of adaptation and success // *Bee world*. 1996. V. 77 (2). P. 67–70.
<https://doi.org/10.1080/0005772X.1996.11099289>
- De la Rúa P., Jaffé R., Dall'Olio R. et al.* Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees // *Apidologie*. 2009. V. 40 (3). P. 263–284.
<https://doi.org/10.1051/apido/2009027>
- Delaney D.A., Meixner M.D., Schiff N.M., Sheppard W.S.* Genetic characterization of commercial honey bee (Hymenoptera: Apidae) populations in the United States by using mitochondrial and microsatellite markers // *Ann. Entomol. Soc. Am.* 2009. V. 102 (4). P. 666–673.
<https://doi.org/10.1603/008.102.0411>
- Diamond J.* Evolution, consequences and future of plant and animal domestication // *Nature*. 2002. V. 418 (6898). P. 700–707.
<https://doi.org/10.1038/nature01019>
- Dietemann V., Walter C., Pirk W., Crewe R.* Is there a need for conservation of honeybees in Africa? // *Apidologie*. 2009. V. 40 (3). P. 285–295.
<https://doi.org/10.1051/apido/2009013>
- Dogantzis K.A., Tiwari T., Conflitti I.M. et al.* Thrive out of Asia and the adaptive radiation of the western honey bee // *Sci Adv*. 2021. V. 7 (49). eabj2151.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.abj2151>
- Dzierzon J.* Gutachten über die von Hrn. Direktor Stöhr im ersten und zweiten Kapitel des General-Gutachtens aufgestellten Fragen // *Bienen-Zeitung* (Eichstädt). 1845. V. 1. P. 109–121.
- Engel M.S.* The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera, Apidae, *Apis*) // *J. Hymenoptera Res.* 1999. V. 8. P. 165–196.
https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4960-7_18
- Engel M.S., Schultz T.R.* Phylogeny and behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae) // *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1997. V. 90 (1). P. 43–53.
<https://doi.org/10.1093/aesa/90.1.43>
- Francis-Baker T.* Bees and beekeeping. London, UK: Shire Publications, 2021. 83 p.
- Franck P., Garnery L., Celebrano G. et al.* Hybrid origins of honeybees from Italy (*Apis mellifera ligustica*) and Sicily (*Apis mellifera sicula*) // *Mol. Ecol.* 2000. V. 9 (7). P. 907–921.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2000.00945.x>
- Franck P., Garnery L., Loiseau A. et al.* Genetic diversity of the honeybee in Africa: microsatellite and mitochondrial data // *Heredity*. 2001. V. 86 (4). P. 420–430.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00842.x>
- Frankham R., Ballou J.D., Briscoe D.A. et al.* Introduction to conservation genetics. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2010. 344 p.
- Fraser H.M.* Beekeeping in antiquity. London: Univ. of London Press, 1931. 157 p.
- Fraser H.M.* History of beekeeping in Britain. London: Bee research association, 1958. 106 p.
- Freeman M.B.* Lighting the Easter candle // *Metropolitan Museum of Art Bull.* 1945. V. 3. P. 194–200.
- Fries I., Imdorf A., Rosenkranz P.* Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honey bee (*Apis mellifera*) colonies in a Nordic climate // *Apidologie*. 2006. V. 37. P. 564–570.
<https://doi.org/10.1051/apido>
- Galton D.* Beeswax as an import in Mediaeval England // *Bee World*. 1971. V. 52 (2). P. 68–74.
<https://doi.org/10.1080/0005772X.1971.11097355>
- Gary N.E.* Chemical mating attractants in the queen honey bee // *Science*. 1962. V. 136 (3518). P. 773–774.
<https://doi.org/10.1126/science.136.3518.773>
- Graystock P., Yates K., Evison S.E.F. et al.* The Trojan hives: pollinator pathogens, imported and distributed in bumblebee colonies // *J. Appl. Ecol.* 2013. V. 50 (5). P. 1207–1215.
<https://doi.org/10.1111/1365-2664.12134>
- Groeneveld L.F., Kirkerud L.A., Dahle B. et al.* Conservation of the dark bee (*Apis mellifera mellifera*): estimating C-lineage introgression in Nordic breeding stocks // *Acta Agric. Scandinavica. A Anim. Sci.* 2020. V. 69 (3). P. 157–168.
<https://doi.org/10.1080/09064702.2020.1770327>
- Gruter C., Menezes C., Imperatriz-Fonseca V.L., Ratnieks F.L.* A morphologically specialized soldier caste improves colony defense in a neotropical eusocial bee // *PNAS USA*. 2012. V. 109 (4). P. 1182–1186.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1113398109>
- Hadisoeso S., Otis G.W.* Drone flight times confirm the species status of *Apis nigrocincta* Smith, 1861 to be a species

- distinct from *Apis cerana* F, 1793, in Sulawesi, Indonesia // *Apidologie*. 1996. V. 27 (5). P. 361–369.
https://doi.org/10.1051/apido:19960504
- Hadisoeso S., Otis G.W., Meixner M.* Two distinct populations of cavity-nesting honey bees (Hymenoptera, Apidae) in South Sulawesi, Indonesia // *J. Kansas Entomol. Soc.* 1995. V. 68. P. 399–407.
- Hall S.J., Bradley D.G.* Conserving livestock breed biodiversity // *Trends Ecol. Evol.* 1995. V. 10 (7). P. 267–270.
https://doi.org/10.1016/0169-5347(95)90005-5
- Han F., Wallberg A., Webster M.T.* From where did the Western honey bee (*Apis mellifera*) originate? // *Ecol. Evol.* 2012. V. 2 (8). P. 1949–1957.
https://doi.org/10.1002/ece3.312
- Harpur B.A., Chapman N.C., Krimus L. et al.* Assessing patterns of admixture and ancestry in Canadian honey bees // *Insectes Sociaux*. 2015. V. 62 (4). P. 479–489.
https://doi.org/10.1007/s00040-015-0427-1
- Harpur B.A., Kent C.F., Molodtsova D. et al.* Population genomics of the honey bee reveals strong signatures of positive selection on worker traits // *PNAS USA*. 2014. V. 111 (7). P. 2614–2619.
https://doi.org/10.1073/pnas.1315506111
- Hatjina F., Costa C., Büchler R. et al.* Population dynamics of European honey bee genotypes under different environmental conditions // *J. Apic. Res.* 2014. V. 53 (2). P. 233–247.
https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.05
- Hepburn H.R., Radloff S.E.* Honeybees of Africa. Berlin Heidelberg: Springer, 1998.
- Herrod-Hempsall W.* Bee-keeping new and old described with pen and camera. V. II. London: The British Bee Journal publisher, 1937. 772 p.
- Ilyasov R.A., Kosarev M.N., Neal A., Yumaguzhin F.G.* Burzyan wild-hive honeybee *A. m. mellifera* in South Ural // *Bee World*. 2015. V. 92 (1). P. 7–11.
https://doi.org/10.1080/0005772X.2015.1047634
- Ilyasov R.A., Lee M.L., Takahashi J.I. et al.* A revision of subspecies structure of western honey bee *Apis mellifera* // *Saudi J. Biol. Sci.* 2020. V. 27 (12). P. 3615–3621.
https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.001
- Jaffé R., Dietemann V., Allsopp M.H. et al.* Estimating the density of honey bee colonies across their natural range to fill the gap in pollinator decline censuses // *Conserv. Biol.* 2010. V. 24 (2). P. 583–593.
https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2009.01331.x
- Johnson B.R., Linksvayer T.A.* Deconstructing the super-organism: Social physiology, groundplans, and socio-genomics // *Quart. Rev. Biol.* 2010. V. 85 (1). P. 57–79.
https://doi.org/10.1086/650290
- Johnson B.R.* (Foreword by Seeley T.D.) Honey bee biology. Princeton, New Jersey, USA: Princeton Univ. Press, 2023. 489 p.
- Johnston R.A.* All Things Medieval: An Encyclopedia of the Medieval World. V. 1. Santa Barbara, CA: ABC-CLIO, 2011. 790 p.
- Jones J.E., Graham A.J., Sackett L.H.* An Attic country house below the cave of Pan at Vari. London, United Kingdom: Thames & Hudson Ltd., 1973. 97 p.
- Jones R.* A short history of beekeeping in the Ukraine // *Bee World*. 2013. V. 90 (1). P. 12–14.
https://doi.org/10.1080/0005772X.2013.11417518
- Kocher S.D., Li C., Yang W. et al.* The draft genome of a socially polymorphic halictid bee, *Lasioglossum albipes* // *Genome Biol.* 2013. V. 14 (12). R142.
https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-12-r142
- Kritsky G.* Lessons from history, the spread of the honey bee in North America // *Am. Bee J.* 1991. V. 131. P. 367–370.
- Kritsky G.* The Quest for the Perfect Hive. New York: Oxford University Press, 2010. 216 p.
- Kritsky G.* The tears of re: beekeeping in Ancient Egypt. New York: Oxford University Press, 2015. 160 p.
- Kritsky G.* Beekeeping from Antiquity through the Middle Ages // *Annu. Rev. Entomol.* 2017. V. 62. P. 249–264.
https://doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-035115
- Laidlaw H.H.* Artificial insemination of the queen bee (*Apis mellifera* L.): morphological basis and results // *J. Morphol.* 1944. V. 74. P. 429–465.
https://doi.org/10.1002/jmor.1050740307
- Laidlaw J.H.H., Page R.E.* Queen rearing and bee breeding. Cheshire: Wicwas press, 1997.
https://API.SEMANTICSCHOLAR.ORG/CORPUSID:82811618
- Langstroth L.* A practical treatise on the hive and the honey Bee. New York: CM Saxton and Company, 1857.
- Le Conte Y., de Vaublanc G., Crauser D. et al.* Honey bee colonies that have survived *Varroa destructor* // *Apidologie*. 2007. V. 38 (6). P. 566–572.
https://doi.org/10.1051/apido:2007040
- Lo N., Gloag R.S., Anderson D.L., Oldroyd B.P.* A molecular phylogeny of the genus *Apis* suggests that the giant honey bee of the Philippines, *A. brevilingula* Maa, and the plains honey bee of southern India, *A. indica* Fabricius, are valid species // *Syst. Entomol.* 2010. V. 35 (2). P. 226–233.
https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2009.00504.x
- Lodesani M., Costa C.* Bee breeding and genetics in Europe // *Bee World*. 2003. V. 84 (2). P. 69–85.
https://doi.org/10.1080/0005772X.2003.11099579
- Lunde M.* The History of Bees. New York, United States: Atria Books, 2017.
- Mattila H.R., Seeley T.D.* Genetic diversity in honey bee colonies enhances productivity and fitness // *Science*. 2007. V. 317 (5836). P. 362–364.
https://doi.org/10.1126/science.1143046
- Mazar A., Panitz-Cohen N.* It is the land of honey: beekeeping at Tel Rehov // *Near East. Archaeol.* 2007. V. 70 (4). P. 202–219.
https://doi.org/10.2307/20361335
- Meixner M.D., Costa C., Kryger P. et al.* Conserving diversity and vitality for honey bee breeding // *J. Apic. Res.* 2010. V. 49 (1). P. 85–92.
https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.1.12
- Meixner M.D., Leta M.A., Koeniger N., Fuchs S.* The honey bees of Ethiopia represent a new subspecies of *Apis mellifera* — *Apis mellifera simensis* n. ssp. // *Apidologie*. 2011. V. 42 (3). P. 425–437.
https://doi.org/10.1007/s13592-011-0007-y

- Meixner M.D., Pinto M.A., Bouga M. et al. Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera* // J. Apic. Res. 2013. V. 52 (4). P. 1–28.
https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.05
- Michener C.D. Comparative social behavior of bees // Annu. Rev. Entomol. 1969. V. 14 (1). P. 299–342.
https://doi.org/10.1146/ANNUREV.EN.14.010169.001503
- Michener C.D. The social behavior of the bees. Cambridge, MA: Harvard Univ. Press, 1974. 404 p.
- Michener C.D. The bees of the world. Baltimore, London: John Hopkins Univ. Press, 2000.
https://doi.org/10.1002/mmhz.20020780209
- Mikheyev A.S., Tin M.M.Y., Arora J., Seeley T.D. Museum samples reveal population genomic changes associated with a rapid evolutionary response by wild honey bees (*Apis mellifera*) to an introduced parasite // Nat. Commun. 2015. V. 6. 7991.
https://doi.org/10.1038/ncomms8991
- Moritz R.F., Lattorff H.M., Neumann P. et al. Rare royal families in honeybees, *Apis mellifera* // Die Naturwissenschaften. 2005. V. 92 (10). P. 488–491.
https://doi.org/10.1007/s00114-005-0025-6
- Moritz R.F.A., Kraus F.B., Kryger P., Crewe R.M. The size of wild honeybee populations (*Apis mellifera*) and its implications for the conservation of honeybees // J. Insect Conserv. 2007. V. 11 (4). P. 391–397.
https://doi.org/10.1007/s10841-006-9054-5
- Neumann P., Carreck N.L. Honey bee colony losses // J. Apic. Res. 2010. V. 49 (1). P. 1–6.
https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.1.01
- Nolan W.J. Success in the artificial insemination of queen bees at the Bee Culture Laboratory // J. Econom. Entomol. 1929. V. 22. P. 544–551.
- Nye R. Beowulf. London: Orion Child. Books, 2004. 350 p.
- Oldroyd B.P. What's killing American honey bees? // PLoS Biol. 2007. V. 5 (6). P. e168.
https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050168
- Oldroyd B.P. Domestication of honey bees was associated with expansion of genetic diversity // Mol. Ecol. 2012. V. 21 (18). P. 4409–4411.
https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05641.x
- Oldroyd B.P., Fewell J.H. Genetic diversity promotes homeostasis in insect colonies // Trends Ecol. Evol. 2007. V. 22 (8). P. 408–413.
https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.06.001
- Oldroyd B.P., Wongsiri S. Asian honey bees (biology, conservation, and human interactions). Cambridge, Massachusetts and London, England: Harvard Univ. Press, 2006. 325 p.
- Oleksa A., Wilde J., Tofilski A. et al. Partial reproductive isolation between European subspecies of honey bees // Apidologie. 2013. V. 44 (5). P. 611–619.
https://doi.org/10.1007/s13592-013-0212-y
- Oxley P.R., Oldroyd B.P. The genetic architecture of honeybee breeding // Advances in insect physiology / Ed. S.J. Simpson, J. Casas. Burlington: Academic Press, 2010. P. 83–118.
- Page R.E. The evolution of multiple mating behavior by honey bee queens (*Apis mellifera* L.) // Genetics. 1980. V. 96 (1). P. 263–273.
https://doi.org/10.1093/genetics/96.1.263
- Parejo M., Wragg D., Gauthier L. et al. Using whole-genome sequence information to foster conservation efforts for the European dark honey bee, *Apis mellifera mellifera* // Front. Ecol. Evol. 2016. V. 4. P. 1–15.
https://doi.org/10.3389/fevo.2016.00140
- Parker R., Melathopoulos A.P., White R. et al. Ecological adaptation of diverse honey bee (*Apis mellifera*) populations // PLoS One. 2010. V. 5 (6). P. e11096.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011096
- Pinto A.A., Teles B.R., Penteado-Dias A.M. First report of *Phanerotoma bennetti* Muesebeck (Hymenoptera, Braconidae, Cheloniinae) parasitizing *Hypsipyla grandella* (Zeller) and *Hypsipyla ferrealis* Hampson (Lepidoptera, Pyralidae) in crabwood in Brazil // Braz. J. Biol. 2014. V. 74 (1). P. 264–265.
https://doi.org/10.1590/1519-6984.23812
- Pinto M.A., Rubink W.L., Patton J.C. et al. Africanization in the United States: replacement of feral European honeybees (*Apis mellifera* L.) by an African hybrid swarm // Genetics. 2005. V. 170 (4). P. 1653–1665.
https://doi.org/10.1534/genetics.104.035030
- Pirk C.W.W., Crewe R.M., Moritz R.F.A. Risks and benefits of the biological interface between managed and wild bee pollinators // Func. Ecol. 2017. V. 31 (1). P. 47–55.
https://doi.org/10.1111/1365-2435.12768
- Pliny the Elder. The natural history // Book XXIX (Ch. XXXIX) / Eds J. Bostock, H.T. Riley, H.G. Bohn. 1855. 250 p.
- Raffiudin R., Crozier R.H. Phylogenetic analysis of honey bee behavioral evolution // Mol. Phylogenet. Evol. 2007. V. 43 (2). P. 543–552.
https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.10.013
- Rangel J., Giresi M., Pinto M.A. et al. Africanization of a feral honey bee (*Apis mellifera*) population in South Texas: does a decade make a difference? // Ecol. Evol. 2016. V. 6 (7). P. 2158–2169.
https://doi.org/10.1002/ece3.1974
- Ransome H.M. The sacred bee / Ancient times and folklore. New York: Dover Publications, 2004. 308 p.
- Requier F., Garnery L., Kohl P.L. et al. The conservation of native honey bees is crucial // Trends Ecol. Evol. 2019. V. 34 (9). P. 789–798.
https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.04.008
- Radford U.M. The wax images found in Exeter cathedral // Antiquaries J. 1949. V. 29 (3–4). P. 164–168.
https://doi.org/10.1017/S0003581500017273
- Rinderer T.E., Stelszer J.A., Oldroyd B.P. et al. Hybridization between European and Africanized honey bees in the neotropical Yucatan Peninsula // Science. 1991. V. 253 (5017). P. 309–311.
https://doi.org/10.1126/science.253.5017.309
- Roffet-Salque M., Regert M., Evershed R.P. et al. Widespread exploitation of the honeybee by early Neolithic farmers // Nature. 2015. V. 527 (7577). P. 226–230.
https://doi.org/10.1038/nature15757

- Root A.I. The ABC of bee culture. Medina, Ohio, United States: A. I. Root Company, 1903. 472 p.
- Ruttner F. Biogeography and taxonomy of honeybees. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1988. 284 p.
- Saggs H.W.F. The might that was Assyria. London: Sidgwick and Jackson, 1984. 237 p.
- Samojlik T., Jedrzejewska B. Utilization of Białowieża Forest in the times of Jagiellonian dynasty and its traces in the contemporary forest environment // Sylwan. 2004. V. 148 (11). P. 37–50.
- Schiff N.M., Sheppard W.S. Genetic differentiation in the queen breeding population of the western United States // Apidologie. 1996. V. 27 (2). P. 77–86.
<https://doi.org/10.1051/apido:19960202>
- Schiff N.M., Sheppard W.S., Loper G.M., Shimanuki H. Genetic diversity of feral honey bee (Hymenoptera: Apidae) populations in the Southern United States // Ann. Entomol. Soc. Am. 1994. V. 87 (6). P. 842–848.
<https://doi.org/10.1093/aesa/87.6.842>
- Schneider S.S., Deeby T., Gilley D.C., DeGrandi-Hoffman G. Seasonal nest usurpation of European colonies by African swarms in Arizona, USA // Insectes Sociaux. 2004. V. 51 (4). P. 359–364.
<https://doi.org/10.1007/s00040-004-0753-1>
- Seeley T.D. Honeybee ecology. 1985. 220 p.
<http://www.jstor.org/stable/j.ctt7zvpgl>
- Seeley T.D. The wisdom of the hive: the social physiology of honey bee colonies. Cambridge, MA: Harvard Univ. Press, 1995. 318 p.
- Seeley T.D. The lives of bees: the untold story of the honey bee in the wild. Princeton, NJ: Princeton Univ. Press, 2019. 376 p.
<https://doi.org/0.1186/s12052-020-00131-x>
- Seeley T.D., Tarpy D.R. Queen promiscuity lowers disease within honeybee colonies // Proc. Biol. Sci. 2007. V. 274 (1606). P. 67–72.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3702>
- Sheppard W.S. Comparative study of enzyme polymorphism in United States and European honey bee (Hymenoptera: Apidae) populations // Ann. Entomol. Soc. Am. 1988. V. 81 (6). P. 886–889.
<https://doi.org/10.1093/aesa/81.6.886>
- Sheppard W.S., Rinderer T.E., Garnery L., Shimanuki H. Further analysis of Africanized honey bee mitochondrial DNA reveals diversity of origin // Genet. Mol. Biol. 1999. V. 22 (1). P. 73–75.
<https://doi.org/10.1590/S1415-47571999000100015>
- Smith A.R., Wcislo W.T., O'Donnell S. Assured fitness returns favor sociality in a mass provisioning sweat bee, *Megalopta genalis* (Hymenoptera: Halictidae) // Behav. Ecol. Sociobiol. 2003. V. 54. P. 14–21.
<https://doi.org/10.1007/s00265-003-0602-y>
- Soland-Reckeweg G., Heckel G., Neumann P. et al. Gene flow in admixed populations and implications for the conservation of the Western honeybee, *Apis mellifera* // J. Insect Conserv. 2009. V. 13 (3). P. 317–328.
<https://doi.org/10.1007/s10841-008-9175-0>
- Spivak M., Masterman R., Ross R., Mesce K.A. Hygienic behavior in the honey bee (*Apis mellifera* L.) and the modulatory role of octopamine // J. Neurobiol. 2002. V. 55 (3). P. 341–354.
<https://doi.org/10.1002/neu.10219>
- Szabo T.I., Lefkovitch L.P. Effect of brood production and population size on honey production of honeybee colonies in Alberta, Canada // Apidologie. 1989. V. 20 (2). P. 157–163.
<https://doi.org/10.1051/apido:19890206>
- Tarpy D.R. Genetic diversity within honeybee colonies prevents severe infections and promotes colony growth // Proc. Royal Soc. L. Series B: Biol. Sci. 2003. V. 270 (1510). P. 99–103.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2199>
- Tarpy D.R., Nielsen D.I. Sampling error, effective paternity, and estimating the genetic structure of honey bee colonies (Hymenoptera: Apidae) // Ann. Entomol. Soc. Am. 2002. V. 95 (4). P. 513–528.
[https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2002\)095\[0513:SEEPAE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2002)095[0513:SEEPAE]2.0.CO;2)
- Taxel I. Ceramic evidence for beekeeping in Palestine in the Mamluk and Ottoman periods // Levant. 2006. V. 38 (1). P. 203–212.
<https://doi.org/10.1179/lev.2006.38.1.203>
- Thompson J.W. An economic and social history of the Middle Ages (300–1300). New York: Century Co., 1928. 900 p.
- Tihelka E., Cai C., Pisani D., Donoghue P.C.J. Mitochondrial genomes illuminate the evolutionary history of the Western honey bee (*Apis mellifera*) // Sci. Rep. 2020. V. 10 (1). P. 14515.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-71393-0>
- Uzunov A., Meixner M.D., Kiprijanovska H. et al. Genetic structure of *Apis mellifera macedonica* in the Balkan peninsula based on microsatellite DNA polymorphism // J. Apic. Res. 2014. V. 53 (2). P. 288–295.
<https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.10>
- Vanengelsdorp D., Evans J.D., Saegerman C. et al. Colony collapse disorder: a descriptive study // PLoS One. 2009. V. 4 (8). P. e6481.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006481>
- Vanengelsdorp D., Meixner M.D. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them // J. Invertebr. Pathol. 2010. V. 103. P. 80–95.
<https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.011>
- Varro M.T. De Re Rustica, on agriculture. Book III. London: Loeb Classical Library, 1934. 10 p.
- von Berlepsch A.F. Die Biene und ihre Zucht mit beweglichen Waben in Gegenden ohne Spätsommertracht. Mannheim: Druck und Verlag von J. Schneider, 1869. 584 p.
- Wallberg A., Han F., Wellhagen G., Dahle B. et al. A worldwide survey of genome sequence variation provides insight into the evolutionary history of the honeybee *Apis mellifera* // Nat. Genetics. 2014. V. 46 (10). P. 1081–1088.
<https://doi.org/10.1038/ng.3077>
- Whitfield C.W., Behura S.K., Berlocher S.H. et al. Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the hon-

- ey bee, *Apis mellifera* // Science. 2006. V. 314 (5799). P. 642–645.
<https://doi.org/10.1126/science.1132772>
- Wilson W.T. Resistance to American foulbrood in honey bees. XI. Fate of *Bacillus* larvae spores ingested by adults // J. Invertebr. Pathol. 1971. V. 17 (2). P. 247–251.
[https://doi.org/10.1016/0022-2011\(71\)90099-1](https://doi.org/10.1016/0022-2011(71)90099-1)
- Winston M.L. The biology of the honey bee. Harvard: University Press, 1991. 293 p.
- Witherell P.C. A story of success: the Starline and Midnite hybrid bee breeding programme // Am. Bee J. 1976. V. 116. P. 63–82.
- Woyke J., Wilde J., Phaincharoen M. First evidence of hygienic behaviour in the dwarf honey bee *Apis florea* // J. Apic. Res. 2012. V. 51 (4). 359–361.
<https://doi.org/10.3896/IBRA.1.51.4.11>
- Yukuhiro K., Sezutsu H., Itoh M. et al. Significant levels of sequence divergence and gene rearrangements have occurred between the mitochondrial genomes of the wild mulberry silkmoth, *Bombyx mandarina*, and its close relative, the domesticated silkmoth, *Bombyx mori* // Mol. Biol. Evol. 2002. V. 19 (8). P. 1385–1389.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004200>
- Zhou S., Morgante F., Geisz M.S. et al. Systems genetics of the *Drosophila* metabolome // Genome Res. 2020, V. 30 (3). P. 392–405.
<https://doi.org/10.1101/gr.243030.118>

Coevolution of Honeybees and Humans — Adaptive Evolution of Two Species

R. A. Ilyasov^a, D. V. Boguslavsky^a, A. Yu. Ilyasova^a, V. N. Sattarov^{b, *}, A. G. Mannapov^c

^aKoltsov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

^bAkmulla Bashkir State Pedagogical University, Republic of Bashkortostan, Ufa, Russia

^cTimiryazev Russian State Agrarian University — Moscow Agricultural Academy, Moscow, Russia

*e-mail: wener5791@yandex.ru

The questions of the evolution of the honey bee, the formation of their relationship with humans, as well as the consequences of domestication against the background of selection are discussed. The honey bee (*Apis mellifera* L.) originated more than 100 million years ago on the southern supercontinent Gondwana. The relationship between humans and honeybees began to form 10 thousand years ago. Before meeting man, the bee remained unchanged in its original form for hundreds of millions of years. Today, the species has been largely modified by domestication and is widely used not only for the production of honey, wax and royal jelly, but also for pollinating crops throughout the world. The evolution of *A. mellifera* began in Southeast Asia, and the formation of subspecies in North Africa, which later spread north to Western Asia and Northern Europe. The meeting of the honey bee with man led to revolutionary changes. Most of the subspecies of bees, formed about 100 thousand years ago, were lost as a result of hybridization due to human fault. This process contributed to the blurring of the geographical boundaries of the subspecies' ranges and created new threats to the conservation of the biological and genetic diversity of bees. The use of local populations of honey bees has proven their advantages in the resistance of families to environmental factors compared to introduced bees. The selection of subspecies and ecotypes adapted to the conditions that shaped them during evolution plays an important role in the management of honey bees, since genetic diversity supports their evolutionary potential for adaptation. The history of the relationship between humans and the honey bee is a key aspect in understanding their modern ecological adaptation and for forming a further strategy for mutually beneficial relations. Modern man and bee, despite their apparent independence, have become mutually beneficial partners, capable, through cooperation, of increasing their adaptation, stability and survival in the modern world.

Keywords: honey bee, *Apis mellifera*, human, coevolution, domestication, breeding, adaptation

УДК 639.2/3

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ИССЛЕДОВАНИЮ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОБИОТИКОВ В АКВАКУЛЬТУРЕ

© 2024 г. Н. И. Кочетков^{1, 2, *}, Д. Л. Никифоров-Никишин^{1, 2}, А. А. Климук^{1, 2},
С. В. Смородинская^{1, 2}, А. Л. Никифоров-Никишин^{1, 2}, М. В. Марсова^{2, **}, А. А. Ватлин²,
В. А. Климов¹

¹Факультет биотехнологий и рыбного хозяйства, Московский государственный университет технологий и управления им. К.Г. Разумовского (ПКУ), Россия

²Лаборатория генетики микроорганизмов, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия

*e-mail: samatrixs@gmail.com

**masha_marsova@mail.ru

Поступила в редакцию 15.06.2024 г.

После доработки 22.07.2024 г.

Принята к публикации 22.07.2024 г.

Обобщены имеющиеся научные данные об исследованиях пробиотиков различного микробиологического состава на объектах аквакультуры, в которых приведены результаты воздействия пробиотиков на физиологическом, тканевом и клеточном уровнях, в том числе оцениваемые методами морфометрии. Систематизированы данные об объектах и методах исследования, наиболее часто используемых пробиотиках и их концентрациях. Установлено, что наиболее изученными объектами аквакультуры по применению пробиотиков являются *Oreochromis niloticus* (35.9%), *Oncorhynchus mykiss* (6.2%), *Cyprinus carpio* (4.6%). Эксперименты на этих видах, как правило, проводились в контролируемых условиях (бассейны, аквариумы, УЗВ), при этом продолжительность опытов варьировалась от 20 до 140 суток. Наиболее часто используемыми, в качестве пробиотиков, микроорганизмами являются бактерии родов *Bacillus* (41.6%) и *Lactobacillus* (24.3%), остальные 34.1% приходятся на другие микроорганизмы аллохтонного или автохтонного происхождения. В большинстве работ эффект от применения пробиотиков отмечали при концентрации от 1×10^6 до 1×10^9 КОЕ/г корма. Пробиотики демонстрируют различную эффективность, наиболее часто положительно влияя на рыбоводно-биологические показатели, активность пищеварительных ферментов, микробиом кишечника, экспрессию генов, ассоциированных с иммунитетом, а также сопротивляемость к патогенам. В большинстве случаев пробиотики не оказывают влияния на нутриентный состав ткани, гематологические, биохимические и иммунологические показатели. Среди гистоморфометрических методов при использовании пробиотиков наиболее часто исследуют показатели, характеризующие морфологию ворсинок, слоев/оболочек, составляющих кишечник, состав иммунокомпетентных клеток, микроворсинки, бокаловидные клетки. Реакцию на воздействие пробиотиков, чаще всего отмечали для высоты ворсинок, количества бокаловидных клеток, площади ворсинок, количества интраэпителиальных лимфоцитов, а также площади микроворсинок эпителиальных тканей кишечника. При этом большинство авторов указывают на необходимость использования системного подхода для изучения пробиотиков.

Ключевые слова: пробиотики, рыбное хозяйство, аквакультура, рыбоводно-биологические показатели, физиология, гистология

DOI: 10.31857/S0042132424050059 EDN: OGHJMV

ВВЕДЕНИЕ

Увеличение потребительского спроса на рыбную продукцию определило распространение аквакультуры по всему миру (Troell et al., 2014; Sumon et al., 2022). На данный момент это один

из самых быстро развивающихся секторов сельского хозяйства, удовлетворяющий более 50% мирового спроса на рыбную продукцию (FAO, 2022). Для успешной интенсификации производства рыбы в промышленных условиях не-

обходимы поддержание надлежащего качества водной среды и полноценное удовлетворение пищевых потребностей объектов выращивания (Naylor et al., 2021). Однако при этом остается актуальной проблема подверженности рыб инфекционным заболеваниям, которые развиваются под воздействием различных стресс-факторов (высокая плотность посадки, низкое качество водной среды, неполноценные корма, нарушения технологий выращивания) и причиняют значительные финансовые потери (Ringø et al., 2016). В этом контексте разработка, создание и исследование новых кормовых рецептур, включающих различные функциональные компоненты, привлекают внимание исследователей. К таким компонентам можно отнести кормовые добавки, способные улучшать питательную ценность кормов и стимулировать иммунитет (Зуева, 2022). Среди них можно выделить антиоксиданты, витаминные и минеральные добавки в биодоступной форме, пигменты, аминокислоты, сорбенты и про/пребиотические препараты (Текебаева и др., 2020; Beltrán, Esteban, 2022).

Пробиотические микроорганизмы, согласно определению (Merrifield, 2010), представляют собой живую, мертвую микробную клетку или ее компонент, который при добавлении в корм и/или воду приносит пользу хозяину, улучшая состояние здоровья и устойчивость к заболеваниям, а также показатели роста и устойчивость к стрессовому воздействию. Такой эффект частично достигается за счет улучшения баланса между окружающей средой, хозяином и собственными микробными сообществами (Nayak et al., 2010). При этом пробиотики действуют не только как стимуляторы роста или профилактические препараты, но так же как иммуномодулирующие агенты (Hill et al., 2014; Sumon et al., 2022).

Рост коммерческого интереса к пробиотическим препаратам в аквакультуре отражает увеличение числа публикаций по данной тематике. И хотя активно ведется поиск эффективных микроорганизмов, тем не менее по-прежнему отсутствует целостное представление о механизмах их действия на организм рыбы (La Fata et al., 2018). По этим причинам все еще остается актуальным вопрос об установлении эффективных критериев оценки кандидатов в пробиотики. Первоначально, микроорганизмы, потенциально обладающие пробиотическими свойствами, оценивают *in vitro* (например, антагонизм к патогенам, синтез антиоксидантов, бактериостатиков). Следующим важным этапом является их изучение при применении в условиях выращивания объектов аквакультуры (Wanka et al., 2018).

В значительной части публикаций внимание акцентируется на влиянии пробиотиков на ры-

боводно-биологические показатели. В последние годы исследователи уделяют значительное внимание воздействию пробиотиков на различные физиологические параметры. Некоторые авторы фокусируются на изменениях микробного сообщества кишечника и других слизистых оболочек рыб (Standen et al., 2016; Xia et al., 2018; Yükghehnaish et al., 2020). Подобные исследования проводятся как с использованием методов микробиологического посева со слизистой рыб (культуризависимые методы), так и с применением молекулярно-биологических техник (культуриnezависимые подходы) (Castañeda-Monsalve et al., 2019; Nikiforov-Nikishin et al., 2022b). Комплексная взаимосвязь между пробиотиками, микробиомом и организмом хозяина, продемонстрированная в ряде публикаций, представляется одним из ключевых механизмов, благодаря которым пробиотики оказывают свой эффект (Llewellyn et al., 2014; Yükghehnaish et al., 2020). Непосредственное влияние пробиотиков на метаболизм и адсорбцию питательных веществ проявляется в изменениях различных биохимических показателей, например, активности пищеварительных ферментов (карбоксилазы, липазы, протеазы), что также было продемонстрировано в ряде работ (Wuertz et al., 2021; Assan et al., 2022; Haraz et al., 2023). Иммуномодулирующий эффект пробиотиков лежит в основе улучшения устойчивости к патогенам, определяется по клеточному составу крови и иммунологическим показателям, таким как титр антител и фагоцитарная активность (Nayak et al., 2010; Pirarat et al., 2011; Han et al., 2015). Большая часть пробиотических организмов потенциально способна влиять на окислительный баланс организма, что можно отследить по активности антиоксидантных ферментов и белков (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатион).

Несмотря на то что применение пробиотиков в сельском хозяйстве и аквакультуре широко распространено, а положительные эффекты их применения на рыбе доказаны многочисленными публикациями, существуют определенные расхождения в результатах, которые варьируют в зависимости от микробиологического состава пробиотического препарата, его дозировки и наличия видоспецифичных взаимодействий штамма микроорганизма и организма-хозяина (Shefat et al., 2018; Sumon et al., 2022; Ntakirutimana et al., 2023).

Гистологические показатели являются важным критерием в оценке кормовых добавок, так как могут предоставить данные о влиянии испытуемых компонентов на пищеварение и метаболизм. Применение гистологических методов при изучении кормов и кормовых добавок выражается в оценке ряда качественных морфоло-

гических показателей ткани, отражающих частное действие пробиотика и не дающих полного представления о его эффективности (Buddington et al., 1997). При этом в гистологической практике распространен способ оценки морфологических изменений ткани с помощью балльной (полуколичественной) модели (Bernet et al., 1999) либо с помощью морфометрических измерений (количественно) (Oropesa et al., 2013; Lai et al., 2014; Namidian et al., 2017). Второй способ оценки представляется более объективным, так как дает возможность применить к полученным данным статистические методы обработки, а также сравнить полученные результаты с другими авторами. Морфометрия или стереометрия в гистологии представляет собой метод измерения различных тканевых и клеточных структур (Elias, Hyde, 1980). Гистоморфометрия нашла широкое применение в гистопатологии, где сравнение различных размерных характеристик гистологических структур позволяет судить о степени выраженности и распространенности патологии и более точно ее классифицировать (viz. атрофия, гипотрофия). Подробности применения морфометрии в ихтиопатологии, водной токсикологии и экотоксикологии отражено в разных публикациях (Rašković et al., 2016; Barišić et al., 2018).

Ткань и клеточная структура организма обладают инертностью, т.е. способностью сохранять свои функциональные свойства при воздействии внешних факторов за счет изменения физиологических и морфологических характеристик (Гистопатология ..., 2023). Для сохранения гомеостаза происходит адаптация организма, проявляющаяся на разных уровнях организации живого. На тканевом и клеточном уровнях подобные трансформации могут выражаться в частоте встречаемости, изменении размеров и площади отдельных тканевых и клеточных структур, в том числе морфологии ткани. Факторами, приводящими к изменению гистоморфологии, могут являться не только различные поллютанты или инфекционные заболевания, но и экологические факторы, в частности, питание и нутриентный состав диеты. Данный факт нашел свое отражение в применении морфометрии в более ранних публикациях, например, при исследовании активности пищеварения личинок рыб (Theilacker, 1978; Martin, Malloy, 1980), оценке развития мышечной ткани по мере взросления (Kryvi, Eide, 1977) и влияния недостатка микроэлементов на состояние скелетной ткани (Takagi, Yamada, 1991). В настоящий момент использование морфометрических практик значительно упростилось за счет повсеместного использования камер в микроскопах с высоким разрешением, а также специализированного программного

обеспечения, значительно облегчающего и стандартизирующего процесс измерения тканевых структур. Все это определило высокую частоту применения гистоморфометрических методов в современных исследованиях кормов и кормовых добавок в аквакультуре.

По этим причинам обзор публикаций по теме исследования пробиотических препаратов в аквакультуре, использующих в качестве одного из методов оценки морфометрические измерения ткани, представляется актуальным. Рассмотрение и анализ результатов подобных публикаций позволят установить возможную связь между различными рыбоводно-биологическими, физиологическими и гистологическими показателями желудочно-кишечного тракта, а также выявить наиболее показательные гистологические структуры, чувствительные к применению в кормах пробиотиков.

В исследованиях на рыбах с применением пробиотиков, как правило, приводятся комплексные результаты, помимо гистоморфометрии, включающие различные физиологические, микробиологические, гидрохимические и другие параметры (табл. 1). Однако особый интерес представляют исследования, включающие совместное использование физиологических и гистоморфометрических методов для оценки влияния пробиотиков на гидробионты.

АНАЛИЗ ПУБЛИКАЦИЙ (2011–2023 гг.) ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБИОТИКОВ В АКВАКУЛЬТУРЕ

Результаты анализа публикаций в международных рецензируемых журналах, в которых проводилось изучение действия пробиотиков на объекты аквакультуры с совместным использованием физиологических и гистоморфометрических методов исследования, приведены в табл. 2.

Первое исследование за рассматриваемый промежуток времени было опубликовано в 2011 г. (Pirarat et al., 2011) и было посвящено действию *Lactobacillus rhamnosus* GG на ряд физиологических и гистологических параметров *Oreochromis niloticus*. Всего за период с 2011 по 2015 г. было опубликовано 7 исследований (6.25%). В свою очередь, в период с 2015 по 2019 г. было опубликовано уже 19 работ (29.6%). Так, рост в количестве публикаций за данный период составил 272% относительно предыдущего (рис. 16). Всего на конец 2019 г. было опубликовано 23 работы. За последний период (2019–2024 гг.) вышло 41 исследование, что составляет 64% от общего числа отобранных для обзора публикаций. Количество статей в данный период по сравнению с предыдущим увеличилось на 213%. Таким образом, можно

Таблица 1. Категории методов и соответствующие им параметры, оцениваемые в работах

Категория	Параметр
Рыбоводно-биологические показатели	Начальная, конечная масса; относительная, абсолютная скорость роста; выживаемость; кормовой коэффициент/конверсия корма и др.
Антиоксидантные ферменты	Относительное и абсолютное количество ферментов, например: лизоцим, глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза, каталаза
Нутриентный состав ткани	Состав мышечной, скелетной ткани и всего тела по показателям влажности, общего жира, сырого протеина, золы
Пищеварительные ферменты	Пепсин, трипсин, липазы, сахаразы и др.
Микробиом кишечника	Микробное сообщество кишечника, оцениваемое с использованием секвенирования 16S rPHK и NGS
Сопrotивляемость патогенам	Устойчивость организма к действию различных патогенов, например, по показателям выживаемости
Гематологические показатели	Количество красных и белых клеток крови, гемоглобин, относительное число лейкоцитов и другие сопутствующие показатели
Биохимические показатели	Билирубин, аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, мочеви́на, креатинин, белок общий, альбумин и другие сопутствующие показатели
Экспрессия генов, связанных с иммунитетом	Экспрессия цитокинов (например, IL-1a, IL-6, IL-8), хемокинов и факторов воспаления
Иммунологические показатели	Фагоцитарная активность, количество иммуноглобулинов и белков комплемента (C3, C4)
Культивируемый микробиом	Микробное сообщество кишечника, оцениваемое методами прямого посева
Качество воды	Гидрохимические показатели (растворенный кислород, pH, соединения азотистого ряда и т. д.)
Показатели пищеварения	Перевариваемость белков, жиров, углеводов
Содержание жирных кислот	Жирнокислотный состав ткани и содержимого кишечника

видеть значительный рост интереса исследователей к применению и изучению пробиотических препаратов на объектах аквакультуры, в том числе с использованием гистоморфометрических методов. При этом наиболее значительный рост числа публикаций наблюдается, начиная с 2019 г.

Распределение публикаций по странам носило следующий характер (рис. 1а): наибольшее число статей было опубликовано исследователями из Китайской Народной Республики ($n = 12$), далее идут исследования из Египта ($n = 9$), на третьем месте с равным количеством исследований сле-

дуют Бангладеш и Португалия ($n = 6$). Меньшее количество работ было опубликовано в Иране ($n = 5$) и Великобритании ($n = 4$). Количество статей из других стран не превышало двух. Примечательно, что на этом фоне увеличение публикационной активности в КНР и Египте наблюдается и по другим отраслям биологии, в частности токсикологии, экологии и молекулярной биологии (Canedo et al., 2021). К тому же КНР находится на первом месте по объемам выращиваемой рыбной продукции (Wang et al., 2020). Египет является региональным лидером в аквакультурной отрасли в Африке и одним из ведущих в

Таблица 2. Влияние пробиотических препаратов на различные физиологические и гистологические показатели выращиваемых видов рыб

Пробиотические штаммы	Доза, КОЕ/г (мл)	Период, сут	Вид рыб	Эффект/результат в сравнении с контролем	Эффект на гистологические показатели	Источник
BIOguil™: <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. plantarum</i> и <i>Pediococcus acidilactici</i>	1×10^{10}	56	<i>Acipenser baerii</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, количественный состав ткани, показатели пищеварения, иммунологические показатели; ↔ биохимические показатели, гематологические показатели	↑ КМК, ВШК, ТМС, ВЭК; ↔ ТСМ	Shekarabi et al., 2022
<i>Clostridium butyricum</i>	0.75×10^8 , 1.5×10^8 , 3×10^8 , 6×10^8 и 2×10^9	56	<i>Oreochromis niloticus</i> × <i>O. aureus</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, сопротивляемость <i>Aeromonas hydrophila</i> , активность ферментов, микробиом кишечника, показатели пищеварения, культивируемый микробиом; ↔ количественный состав ткани, биохимические показатели, гематологические показатели	↑ ВВ; ↔ ШВ, ТМС	Pool-sawat et al., 2020
(А) <i>Bacillus</i> sp., <i>Pediococcus</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp. и <i>Lactobacillus</i> sp.; (В) <i>Pediococcus acidilactici</i>	(А) 8.6×10^5 и 1.6×10^6 ; (В) 2.6×10^4 и 7.2×10^4	56	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	↔ Рыбоводно-биологические показатели, активность ферментов, количественный состав ткани; ↑ показатели пищеварения	↔ ВВ, КМК, ПМК; ↑ КВ	Ramos et al., 2015
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1×10^3 , 1×10^5 , 1×10^7 и 1×10^9	84	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, пищеварительные ферменты, показатели пищеварения (переваримость липидов), культивируемая микробиота; ↔ количественный состав ткани	↑ ВВ; ↔ ШВ, ГК	Akter et al., 2019
<i>Bacillus subtilis</i> WB60 и <i>Lactobacillus plantarum</i> KCTC3928	1×10^6 , 1×10^7 и 1×10^8	56	<i>Anguilla japonica</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, активность ферментов, сопротивляемость <i>Vibrio anguillarum</i> , экспрессия иммунных генов	↑ ВВ; ↔ ТМС	Lee et al., 2017
<i>Bacillus subtilis</i> WB60 и <i>Lactococcus lactis</i>	1×10^7 и 1×10^9	56	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, активность ферментов, экспрессия про/антивоспалительных генов, сопротивляемость <i>Aeromonas hydrophila</i> ; ↔ биохимические показатели	↑ ВВ, ТМС	Won et al., 2016

Таблица 2. Продолжение

Пробиоти- ческие штаммы	Доза, КОЕ/г (мл)	Пе- риод, сут	Вид рыб	Эффект/результат в сравнении с контролем	Эффект на гистоло- гические показатели	Источ- ник
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1×10^2 , 1×10^4 и 1×10^6	56	<i>Cyprinus carpio</i>	↑ Рыбоводно-биоло- гические показатели, активность ферментов, экспрессия про/антивоспа- лительных генов	↑ ВВ, ШВ, ГК, ПВ	Adeshina et al., 2020
<i>Pediococcus acidilactici</i> MA18/5M	3.03×10^6	63	<i>Salmo salar</i>	↔ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, микро- биом кишечника; ↑ экспрессия про/антивос- палительных генов, актив- ность ферментов	↑ ВВ, КИЛ; ↔ КМК	Abid et al., 2013
<i>Acetobacter</i> spp., <i>Lacto- bacillus</i> spp. и <i>Pseudomonas</i> spp.	5×10^9	60	<i>Scophthalmus maximus</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, количе- ственный состав ткани, пищеварительные фермен- ты, активность ферментов; ↔ микробиом кишечника	↑ ВВ, ШВ, КМК	Li et al., 2019
AlCar®: <i>Bacil- lus licheniformis</i>	2×10^6 , 4×10^6 , 8×10^6 , 1×10^7 , 2×10^7	70	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биоло- гические показатели, активность ферментов, иммунологические пока- затели, сопротивляемость <i>Streptococcus iniae</i>	↔ ВВ, ТМС	Han et al., 2015
<i>Bacillus amy- loliquefaciens</i> BN06, <i>Bacillus subtilis</i> WN07 и <i>Bacillus megate- rium</i> CT03	1×10^6 и 1×10^9	45	<i>Labeo rohita</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, гемато- логические показатели, пищеварительные фер- менты, активность фер- ментов, сопротивляемость <i>Aeromonas hydrophila</i>	↑ ВВ; ↔ ТМС	Sarava- nan et al., 2021
<i>Bacillus coag- ulans</i> ATCC 7050, <i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 11946, и <i>Paenibacil- lus polymyxa</i> ATCC 842	1×10^9	56	<i>Sillago sihama</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, количе- ственный состав ткани, активность ферментов, биохимические показатели, микробиом кишечника, сопротивляемость <i>Vibrio harveyi</i> ; ↔ пищеварительные фер- менты	↑ ВВ, ШВ, ТМС	Amoah et al., 2021
Bactocell®: <i>Pediococcus aci- dilactici</i> CNCM I-4622	3×10^7 , 2.5×10^7 и 2×10^7	56	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, гемато- логические показатели, пищеварительные фермен- ты, активность ферментов, биохимические показатели количественный состав ткани, сопротивляемость <i>Aspergillus flavus</i> ; ↔ качество воды	↑ ВВ, ПВГ	Eissa et al., 2023

Таблица 2. Продолжение

Пробиоти- ческие штаммы	Доза, КОЕ/г (мл)	Пе- риод, сут	Вид рыб	Эффект/результат в сравнении с контролем	Эффект на гистоло- гические показатели	Источ- ник
<i>Enterococcus faecium</i> и <i>Bacillus subtilis</i>	6×10^{12}	45	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, сопротивляемость <i>Pseudomonas fluorescens</i> ; гематологические параметры, активность ферментов, пищеварительные ферменты;	↑ ВВ, КИЛ; ↓ ТМС	Ismail et al., 2019
AlCar®: <i>Bacillus licheniformis</i>	2×10^6 , 4×10^6 , 8×10^6 , 1×10^7 , 2×10^7	70	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, активность ферментов, иммунологические показатели, сопротивляемость <i>Streptococcus iniae</i>	↔ ВВ, ТМС	Han et al., 2015
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> BN06, <i>Bacillus subtilis</i> WN07 и <i>Bacillus megaterium</i> CT03	1×10^6 и 1×10^9	45	<i>Labeo rohita</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, гематологические показатели, пищеварительные ферменты, активность ферментов, сопротивляемость <i>Aeromonas hydrophila</i>	↑ ВВ; ↔ ТМС	Saravanan et al., 2021
<i>Bacillus coagulans</i> ATCC 7050, <i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 11946, и <i>Paenibacillus polymyxa</i> ATCC 842	1×10^9	56	<i>Sillago sihama</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, количественный состав ткани, активность ферментов, биохимические показатели, микробиом кишечника, сопротивляемость <i>Vibrio harveyi</i> ; ↔ пищеварительные ферменты	↑ ВВ, ШВ, ТМС	Amoah et al., 2021
Bactocell®: <i>Pediococcus acidilactici</i> CNCM I-4622	3×10^7 , 2.5×10^7 и 2×10^7	56	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, гематологические показатели, пищеварительные ферменты, активность ферментов, биохимические показатели количественный состав ткани, сопротивляемость <i>Aspergillus flavus</i> ; ↔ качество воды	↑ ВВ, ПВГ	Eissa et al., 2023
<i>Enterococcus faecium</i> и <i>Bacillus subtilis</i>	6×10^{12}	45	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, сопротивляемость <i>Pseudomonas fluorescens</i> ; гематологические параметры, активность ферментов, пищеварительные ферменты;	↑ ВВ, КИЛ; ↓ ТМС	Ismail et al., 2019

Таблица 2. Продолжение

Пробиоти- ческие штаммы	Доза, КОЕ/г (мл)	Пе- риод, сут	Вид рыб	Эффект/результат в сравнении с контролем	Эффект на гистоло- гические показатели	Источ- ник
AquaStar® Growout <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Pediococcus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp. и <i>Enterococcus</i> sp.; Levabon® Aquagrow — Biomim®: <i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i>	1.34×10^7 , нет данных	73	<i>Solea</i> <i>senegalensis</i>	↑ Активность ферментов, микробиом кишечника; ↔ рыбоводно-биологиче- ские показатели	↑ ПВ, ВВ; ↔ ТМС, ШВ, КМК	Batista et al., 2016
<i>Bacillus</i> sp., <i>Pediococcus</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp. и <i>Lactobacillus</i> sp.	Нет данных	72	<i>Solea</i> <i>senegalensis</i>	↑ Гематологические пока- затели, активность фермен- тов; ↔ рыбоводно-биоло- гические показатели, им- мунологические пока- затели, сопротивляемость <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i>	↑ ПВ; ↔ ШВ, КЭГ, ВВ	Barroso et al., 2016
<i>Bacillus sub- tilis</i> , <i>Bacillus</i> <i>licheniformis</i> и <i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i>	2×10^{11}	42	<i>Oreochromis</i> <i>mossambicus</i>	↔ Рыбоводно-биологиче- ские показатели; ↑ пищеварительные фер- менты, биохимические показатели, активность ферментов, сопротивляе- мость <i>Streptococcus agalactiae</i>	↑ ВВ, ТМС; ↔ ШВ	Liu et al., 2021
Sanolife PRO-F®: <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheni- formis</i> и <i>Bacillus pumilus</i>	1×10^{10}	49	<i>Oreochromis</i> <i>niloticus</i>	↑ Активность ферментов; ↔ рыбоводно-биологи- ческие показатели, гема- тологические показатели, микробиом кишечника	↑ КМК, ПМВ, ДМВ; ↔ ПВ, КИЛ, ВМВ, ВШК	Adeoye et al., 2016
<i>Bacillus amy- loliquefaciens</i> TPS17, <i>Bacil- lus velezensis</i> TPS3N и <i>Bacillus subtilis</i> TPS4	1×10^8	28	<i>Oreochromis</i> <i>niloticus</i>	↑ Иммунологические по- казатели (муцин слизистых кишечника, кожи), актив- ность ферментов (слизи- стые кишечника, кожи), пищеварительные фер- менты, сопротивляемость <i>Aeromonas hydrophila</i> ; ↔ микробиом кишечника	↑ ВВ, КМК, ШВ, ТМС	Kuebu- tornye et al., 2020
Sanolife PRO-F®: <i>Bacillus sub- tilis</i> , <i>Bacillus</i> <i>licheniformis</i> и <i>Bacillus pumilus</i>	3.25×10^9 и 3.5×10^9	28	<i>Oreochromis</i> <i>niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, пищева- рительные ферменты; ↔ биохимические пока- затели, экспрессия про/ противовоспалительных генов, активность ферментов	↑ ВВ, ШВ, ВЭК, КМК	El-Son et al., 2022

Таблица 2. Продолжение

Пробиоти- ческие штаммы	Доза, КОЕ/г (мл)	Пе- риод, сут	Вид рыб	Эффект/результат в сравнении с контролем	Эффект на гистоло- гические показатели	Источ- ник
<i>Bacillus velezensis</i> , <i>Bacillus cereus</i> и <i>Lactobacillus casei</i>	0.1×10^6 / 0.26×10^6 , 5×10^6 / 1.26×10^6 , 1×10^7 / 2.52×10^6 , 2×10^7 / 5.04×10^6 и 3×10^7 / 7.56×10^6	60	<i>Ctenopharyngodon idella</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, сопротивляемость <i>Aeromonas hydrophila</i> ; ↔ количественный состав ткани, биохимические показатели, активность ферментов	↑ ВВ, КМК; ↔ ТМС	Chen et al., 2020
(А) <i>Bacillus</i> sp., <i>Pediococcus</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp. и <i>Lactobacillus</i> sp.; (В) <i>Pediococcus acidilactici</i>	(А) 1×10^6 и 4.6×10^6 (В) 3.5×10^5 и 3.5×10^5	30	<i>Solea senegalensis</i>	↔ Рыбоводно-биологические показатели, активность ферментов, количественный состав ткани	↑ ТМС; ↔ КМК, ВВ	Batista et al., 2015
AquaStar® Growout: <i>Bacillus</i> sp., <i>Pediococcus</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp., <i>Lactobacillus</i> sp.	1×10^6 и 2.3×10^6	56	<i>Oreochromis niloticus</i>	↔ Рыбоводно-биологические показатели, биохимические показатели, гематологические показатели, активность ферментов; ↑ Пищеварительные ферменты	↔ ТСМ, ПСМ; ↑ ВВ, КМК	Ramos et al., 2017
PAS-TRR™: <i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. cereustoyoi</i>	6×10^3 , 1.5×10^6	140	<i>Oncorhynchus mykiss</i> и <i>Salmo trutta</i>	↔ Рыбоводно-биологические показатели, активность ферментов, количественный состав ткани, иммунологические показатели	↑ КИЛ; ↓ КВ; ↔ КМК, ТМС, ВВ	Ramos et al., 2016
GroBiotic® и Aquablend®: <i>Bacillus</i> sp.	Нет данных, 1.1×10^7	110	<i>Tototaba macdonaldi</i>	↔ Рыбоводно-биологические показатели, активность ферментов, микробиом кишечника, количественный состав ткани	↑ ВВ; ↔ ШВ, ВЭК, ВШК	González-Félix et al., 2018
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CECT 5940	1×10^9	60	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, экспрессия про/противовоспалительных генов; ↔ биохимические показатели	↑ ПВ; ↔ ВВ, КМК	Al-Deriny et al., 2020
<i>Bacillus licheniformis</i>	1×10^6 , 1×10^7 и 1×10^8	60	<i>Cyprinus carpio</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, микробиом кишечника, экспрессия про/противовоспалительных генов	↑ ВВ	Zhang et al., 2021
<i>Bacillus mojavensis</i> B191 и <i>Bacillus subtilis</i> MRS11	1×10^6 и 1×10^8	60	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологические показатели, про/противовоспалительных генов, сопротивляемость <i>Streptococcus iniae</i>	↑ ВВ, КМК, ВМВ, ПМВ	Büyükdeveci et al., 2023

Таблица 2. Продолжение

Пробиоти- ческие штаммы	Доза, КОЕ/г (мл)	Пе- риод, сут	Вид рыб	Эффект/результат в сравнении с контролем	Эффект на гистоло- гические показатели	Источ- ник
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> JCM1136 и <i>Lactococcus lactis</i> JCM5805	0.5×10^8 и 1×10^8	42	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биоло- гические показатели, экспрессия иммунных генов, сопротивляемость <i>Streptococcus agalactiae</i> , микробиом кишечника	↑ ПМВ, ВМВ	Xia et al., 2018
AquaStar® Growout: <i>Lac- tobacillus</i> sp., <i>Pediococcus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp. и <i>Enterococcus</i> sp.	1.34×10^7 и 2.64×10^7	56	<i>Oreochromis niloticus</i>	↔ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, количе- ственный состав ткани; ↑ экспрессия про/антивос- палительных генов, микробиом кишечника (в том числе культивируе- мый)	↑ ШВ, КМК, КИЛ	Standen et al., 2016
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	1×10^7	60	<i>Oreochromis niloticus</i>	↔ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, фагоци- тарная активность; ↑ экспрессия про/антивос- палительных генов, имму- нологические показатели	↑ ВВ, КИЛ, КЭГ, КМК	Pirarat et al., 2011
<i>Lactococcus lactis</i>	2×10^9 и 5×10^9	98	<i>Sparus aurata</i>	↔ Рыбоводно-биологиче- ские показатели; ↑ экспрессия иммунных генов, микробиом кишеч- ника	↑ ВВ; ↔ ШВ, КСВ, ШСО	Moroni et al., 2021
<i>Bacillus</i> sp. SJ-10 и <i>Lactobacillus plantarum</i>	1×10^8	56	<i>Paralichthys olivaceus</i>	↑ Микробиом кишеч- ника, пищеварительные ферменты, экспрессия про/антивоспалительных генов, сопротивляемость <i>Streptococcus iniae</i>	↔ ВВ, ВМВ	Jang et al., 2019
<i>Bacillus amylo- liquefaciens</i>	1×10^4 и 1×10^6	60	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, гематоло- гические показатели; ↔ количественный состав ткани	↑ КМК, КИЛ, ВВ	Reda, Selim, 2015
<i>Bacillus cereus</i>	1×10^7 , 1×10^9 и 1×10^{11}	70	<i>Carassius auratus</i> var. <i>pengze</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, качество филе, биохимические показатели крови, пищева- рительные ферменты	↑ ВВ; ↓ ВЭК; ↔ ВМВ	Yang et al., 2019
<i>Bacillus cereus</i> NY5 и <i>Bacillus subtilis</i>	1×10^8	42	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, сопро- тивляемость <i>Streptococcus agalactiae</i> , микробиом ки- шечника, экспрессия генов окислительных ферментов	↑ ПМВ, ВМВ	Xia et al., 2020
<i>Bacillus licheni- formis</i> , <i>Bacil- lus subtilis</i> и <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1.6×10^{12}	60	<i>Acipenser persicus</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, пищева- рительные ферменты; ↔ количественный состав ткани	↑ ВВ, ШВ, КМК	Darafsh et al., 2020

Таблица 2. Продолжение

Пробиоти- ческие штаммы	Доза, КОЕ/г (мл)	Пе- риод, сут	Вид рыб	Эффект/результат в сравнении с контролем	Эффект на гистоло- гические показатели	Источ- ник
<i>Bacillus</i> spp. и <i>Lactobacillus</i> spp.	1×10^9 и 1×10^{11}	60	<i>Cirrhinus</i> <i>cirrhosus</i>	↑ Рыбоводно-биологи- ческие показатели, культиви- руемая микробиота; ↔ гематологические пока- затели	↑ ШВ, ВВ, ПВ, ТМС, ГК	Hossain et al., 2022
<i>Bacillus subtilis</i> B-2335	2.5×10^7 – 5×10^7	30	<i>Cyprinus</i> <i>carpio</i>	↔ Рыбоводно-биологи- ческие показатели	↑ ТМС; ↔ ВЭК, КМК, ПМК	Nikifor- ov-Ni- kishin et al., 2023
<i>Bacillus subtilis</i> B-2335, <i>B. subtilis</i> OZ-2 VKPM-11966 и <i>B. amylolique- faciens</i> OZ-3 VKPM-11967, <i>Lactobacillus</i> <i>acidophilus</i> VKPM B-3235	12×10^7 ; 12×10^7 и 10×10^9 ; 20×10^7	30	<i>Oncorhynchus</i> <i>mykiss</i>	↑ Рыбоводно-биологи- ческие показатели	↑ ППВ, ВКГ, ПМК, ВЭК; ↔ ШСО; ↓ КИЛ, КМК	Nikifor- ov-Ni- kishin et al., 2022
<i>Bacillus subtilis</i> и <i>Bacillus toyoi</i>	4×10^8	63	<i>Oreochromis</i> <i>niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологи- ческие показатели	↑ ВЭК	Nakan- dakare et al., 2015
<i>Bacillus subtilis</i> и <i>Lactobacillus</i> <i>acidophilus</i>	1×10^7	98	<i>Oreochromis</i> <i>niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологи- ческие показатели, качество воды, пищеварительные ферменты, культивируемая микробиота	↑ ВВ, ШВ, КМК	Haraz et al., 2023
BioAqua®: <i>Pe- diococcus acid- ilactici</i> , <i>Entero- coccus faecium</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Lactobacillus</i> <i>acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Bifidobacte- rium bifidum</i> , <i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i>	0.65×10^9 , 1.34×10^9 и 2.68×10^9	60	<i>Salmo trutta</i>	↑ Рыбоводно-биологи- ческие показатели, пищева- рительные ферменты	↑ ВВ, ВЭК; ↔ ШВ, ШСО, ТМС	Kalan- tarian et al., 2020
CAL- SPORIN®: <i>Bacillus subtilis</i> C-3102	8.4×10^6 , 1.7×10^7 , 3.3×10^7 и 3.5×10^7	20	<i>Pseudoplatysto- ma reticulatum</i> × <i>P. corruscans</i>	↑ Рыбоводно-биологи- ческие показатели, гемато- логические параметры, фагоцитарная актив- ность, сопротивляемость <i>Aeromonas hydrophila</i> , сопро- тивляемость гипоксии	↑ ВВ, ШВ, ВЭК	Nunes et al., 2020

Таблица 2. Продолжение

Пробиоти- ческие штаммы	Доза, КОЕ/г (мл)	Пе- риод, сут	Вид рыб	Эффект/результат в сравнении с контролем	Эффект на гистоло- гические показатели	Источ- ник
<i>Enterococ- cus faecalis</i> штамм 2674, <i>Aeromonas</i> sp. штамм A8-29 и <i>E. faecalis</i> штамм FC11682	1×10^8	90	<i>Tor tambroides</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, жирно- кислотный состав, структу- ра мышечной ткани; ↔ количественный состав ткани	↑ ВВ, ШВ, ПВ; ↔ ТМС, ГК	Hossain et al., 2024
<i>Lactobacillus plantarum</i>	5×10^5 , 1×10^6 , 1.5×10^6 , 2×10^5	84	<i>Clarias gariepinus</i>	↑ Культивируемая микро- биота, рыбоводно-биологи- ческие показатели; ↔ количественный состав ткани	↑ ВВ, ШВ, ПВ, ГК	Falaye et al., 2016
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	1×10^8	30	<i>Oreochromis spp.</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, биохими- ческие показатели; ↔ иммунологические по- казатели	↑ ВВ, ШВ, ПВ, КМК	Sewaka et al., 2019
<i>Lactobacillus</i> ssp. и <i>Saccharomyces</i> sp.	1×10^5 и 2×10^6	30	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, биохими- ческие показатели, сопро- тивляемость <i>Trichodina</i> sp.	↑ ШВ, ВВ, КИЛ, КЭГ, КМК	Abdel- Aziz et al., 2020
<i>Lactococcus lac- tis</i> KT429892 и <i>Weissella confu- sa</i> KU055491.1	1.5×10^7 , 3×10^7 и 4×10^7	56	<i>Huso huso</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели; ↔ биохимические пока- затели, гематологические показатели, иммунологиче- ские показатели	↑ ВВ	Yega- neh Ras- tekenari et al., 2021
<i>Pediococcus aci- dilactici</i> CNCM I-4622	1×10^{10}	60	<i>Dicentrarchus labrax</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, качество воды; ↔ биохимические пока- затели, количественный состав ткани	↑ ВВ, ТМС	Eissa et al., 2022
pH FIXER®: <i>Bacillus pumilus</i> и <i>B. licheni- formis</i> ; Zyme- tin®: <i>Bacillus</i> sp., <i>Strepto- coccus faecalis</i> и <i>Clostridium butyricum</i> ; Super PS®: <i>Rhodobacter</i> sp. и <i>Rhodococcus</i> sp.	1×10^6 , 1.1×10^8 , 1×10^9	75	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, гематоло- гические показатели, куль- тивируемая микробиота; ↔ качество воды	↑ ВВ, ВЭК	Tabas- sum et al., 2021

Таблица 2. Продолжение

Пробиоти- ческие штаммы	Доза, КОЕ/г (мл)	Пе- риод, сут	Вид рыб	Эффект/результат в сравнении с контролем	Эффект на гистоло- гические показатели	Источ- ник
Probiotic In- ternational ltd.: <i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium</i> <i>bifidum</i> , <i>Strepto-</i> <i>coccus sali-</i> <i>varius</i> , <i>Entero-</i> <i>coccus faecium</i> , <i>Aspergillus</i> <i>oryzae</i> , <i>Candida</i> <i>pintolopes</i>	2×10^8	62	<i>Acipenser</i> <i>baerii</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, пище- варительные ферменты, концентрация жирных кислот, культивируемая микробиота, жирнокислот- ный состав	↔ ВВ, ШВ, ПМК	Zare et al., 2021
<i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i>	Нет данных (1, 2 и 4 г/ кг)	90	<i>Labeo</i> <i>rohita</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели; ↔ количественный состав ткани, гематологические показатели	↑ ВВ, ШВ, ГК; ↔ ТМС	Jahan et al., 2021
<i>Saccharomy-</i> <i>ces cerevisiae</i> DSY-5	1×10^6 и 1×10^8	120	<i>Pangasianodon</i> <i>hypophthalmus</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, иммуно- логические показатели; ↔ гематологические пока- затели	↑ ВВ	Boona- nuntana- sarn et al., 2019
Sanolife PRO-F®: <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheni-</i> <i>formis</i> и <i>Bacillus pumilus</i>	1×10^7 и 1×10^6	70	<i>Oreochromis</i> <i>niloticus</i>	↑ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, гемато- логические показатели, качество воды; ↔ биохимические показа- тели	↑ ВВ, КМК	Elsabagh et al., 2018
<i>Bacillus amy-</i> <i>loliquefaciens</i> US573	1×10^7	42	<i>Dicentrarchus</i> <i>labrax</i>	↔ Рыбоводно-биологиче- ские показатели; ↑ микробиом кишечника	↑ ВВ, КВ, КМК, ВМВ, ПМВ	Chou- ayekh, 2023
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoi</i>	1×10^4	93	<i>Oncorhynchus</i> <i>mykiss</i>	↑ Культивируемая микро- биота; ↔ рыбоводно-биологиче- ские показатели, пищева- рительные ферменты	↑ ШВ, КМК; ↔ ПВ	Gis- bert et al., 2013
BiocenoI™: <i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i> R2 (CCM 8674) и <i>L. fermentum</i> R3 (CCM 8675)	1×10^8	65	<i>Salmo</i> <i>salar</i>	↔ Рыбоводно-биологиче- ские показатели; ↑ концентрация жирных кислот в кишечнике, экс- прессия генов антимикроб- ных белков и муцина	↔ ПМЭ, КМЭ, ВЭК, КИЛ; ↑ ПМЖ, КМЖ, КМК, ВВ, ШВ, ШСО, КСВ	Nimalan et al., 2023
<i>Lactobacillus</i> <i>brevis</i> и <i>L. buchneri</i>	Нет данных	109	<i>Seriola</i> <i>dumerili</i>	↔ Жирнокислотный со- став; рыбоводно-биологи- ческие показатели, количе- ственный состав ткани	↑ ТСС, ТСМ; ↔ ТМС, ВВ, ШВ, ШСО	Milián- Sorribes et al., 2021

Таблица 2. Окончание

Пробиоти- ческие штаммы	Доза, КОЕ/г (мл)	Пе- риод, сут	Вид рыб	Эффект/результат в сравнении с контролем	Эффект на гистоло- гические показатели	Источ- ник
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1×10^4 , 1×10^6 и 1×10^8	35	<i>Oreochromis niloticus</i>	↔ Рыбоводно-биологиче- ские показатели, гематоло- гические показатели	↔ ВВ, ШВ, ПМК; ↑ КМК	Ruiz et al., 2020
(A) <i>Lactoba- cillus</i> , <i>Sac- charomyces</i> , Photosynthet- ic bacteria, <i>Cusuanjun</i> , <i>Bacillus natto</i> и <i>Actinobacteria</i> ; (B) <i>Sulfolobus acidocaldarius</i> , <i>Streptococcus faecium</i> и <i>P. bacteria</i>	(A) 7.47×10^7 (B) 2.33×10^8	80	<i>Polyodon spathula</i>	↑ Пищеварительные фер- менты, микробиом кишеч- ника	↑ ТМС, ВВ, ШВ; ↔ ТСМ	Fang et al., 2015
AquaStar® Growout: <i>Bacillus</i> sp., <i>Pediococcus</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp. и <i>Lactobacillus</i> sp.	2.3×10^6	56	<i>Oreochromis niloticus</i>	↑ Культивируемая микро- биота, микробиом кишеч- ника	↑ КИЛ, ПМВ, ПВ; ↔ КМК, ВМВ	Standen et al., 2015
<i>Bacillus</i> sp.	Нет данных	90	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	↔ Качество воды	↑ ВВ, ШВ, ВЭК; ↔ ШПК	Hassan et al., 2020
<i>Bacillus subtilis</i> CECT 35	1×10^7	28	<i>Sparus aurata</i>	↔ Микробиом кишечника	↑ ПВ, ВВ, КЛЛ; ↔ ПМС, ШПК, КИЛ; ↓ КМК, ВМВ	Cerezu- ela et al., 2012

Примечание: ↑ — достоверный положительный эффект в сравнении с контролем; ↓ — достоверный отрицательный эффект в сравнении с контролем; ↔ — отсутствие эффекта; ВВ — высота ворсинки; ВМВ — высота микроворсинки; ВШК — высота щетиночной каймы; ВЭК — высота эпителиоцитов кишечника; ГК — глубина крипты; ДМВ — длина микроворсинки; КВ — количество ворсинок; КВГ — количество вакуолей гепатоцитов на 100 мкм; КИЛ — количество интраэпителиальных лимфоцитов; КЛЛ — количество лимфоцитов lamina propria; КМЖ — количество мукоидных клеток на эпителии жабр; КБК — количество мукоидных клеток на эпителии кишечника; КМЭ — количество мукоидных клеток на эпителии кожи; КСВ — количество супрануклеарных вакуолей; КЭГ — количество эозинофильных гранулоцитов; ПВ — площадь ворсинки; ПВГ — площадь вакуолей гепатоцитов; ПМВ — плотность микроворсинок; ПМЖ — площадь мукоидных клеток на эпителии жабр; ПМК — площадь мукоидных клеток; ПМС — площадь мускульного слоя; ПМЭ — площадь мукоидных клеток на эпителии кожи; ППС — площадь подслизистого слоя; ТМС — толщина мускульного слоя; ТПС — толщина подслизистого слоя; ТСС — толщина серозного слоя; ШВ — ширина ворсинки; ШПК — ширина просвета кишечника; ШСО — ширина собственной слизистой оболочки.

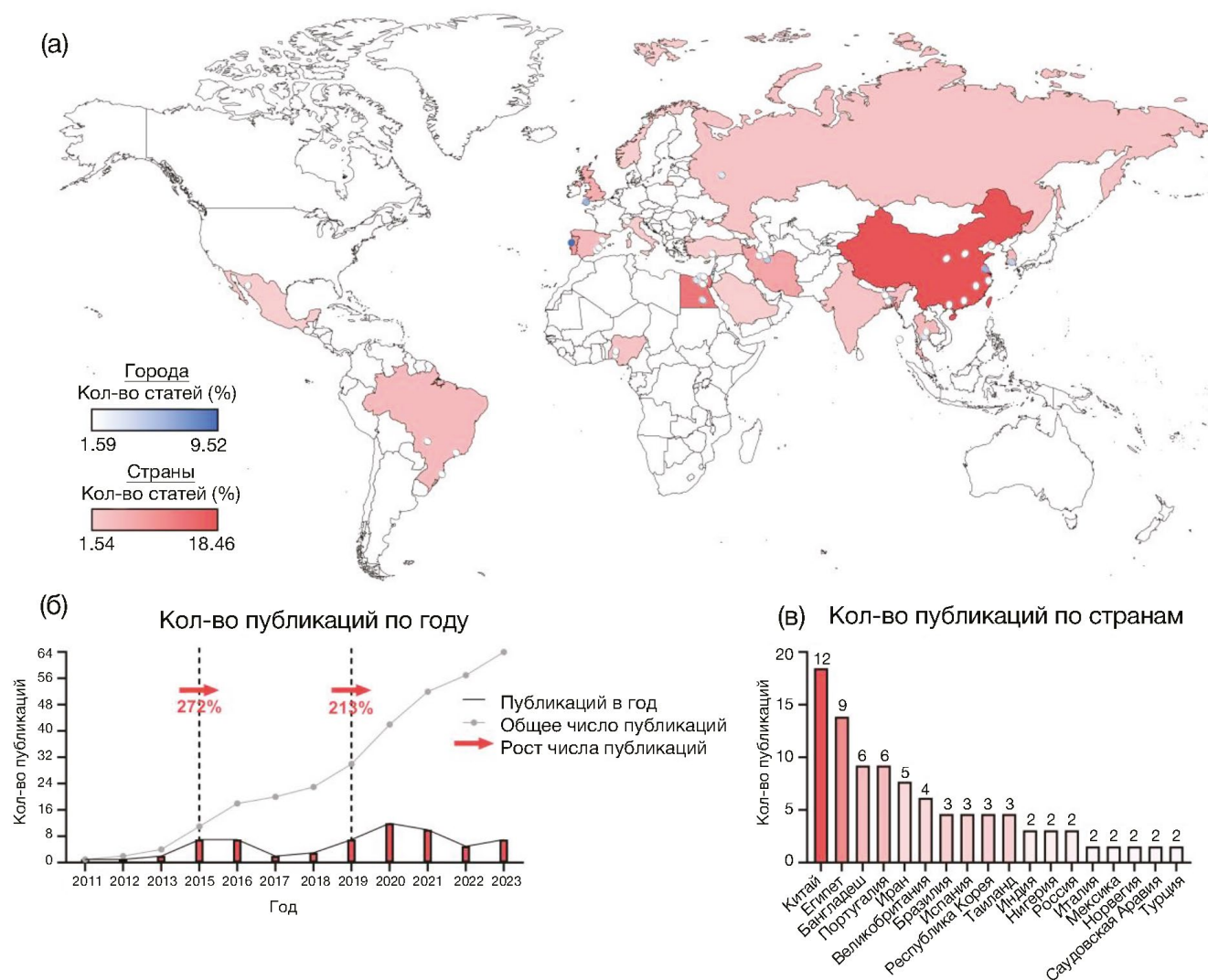


Рис. 1. Карта географического распределения (а), количество исследований по годам (б) и частота (%) публикаций (в) по странам, использующим для изучения пробиотиков в аквакультуре физиологические, биохимические маркеры и гистоморфометрические методы.

Средиземноморском регионе (Soliman, Yasout, 2016), а Португалия и Бангладеш — одни из ключевых поставщиков рыбной продукции в мире, в том числе полученной в аквакультуре. Возросшее внимание к исследованию пробиотиков по всему миру указывает на интерес к интенсификации аквакультуры путем применения при выращивании рыб различных биологически активных/функциональных компонентов. Развитие аквакультуры играет важную роль в обеспечении продовольственной безопасности и экономического роста во многих регионах мира (FAO, 2022), и по этой причине создание новых технологий выращивания и разработка кормовых добавок способствуют повышению конкурентоспособности отрасли.

Основные виды рыб, на которых проводятся исследования пробиотиков

Среди изученных работ наибольшее число исследований проводилось на нильской тилпии (*Oreochromis niloticus*; $n = 23$; 35.9%), вторым по популярности объектом исследования была радужная форель (*Oncorhynchus mykiss*; $n = 4$; 6.2%), далее — обыкновенный карп (*Cyprinus carpio*; $n = 3$; 4.6%) (рис. 2а). Также существенное число работ было посвящено пангасиусу (*Pangasianodon hypophthalmus*; $n = 3$; 4.6%). Всего в публикациях встречалось 29 различных видов/гибридов рыб, включая представителей как пресноводной, так и морской ихтиофауны (см. рис. 2).

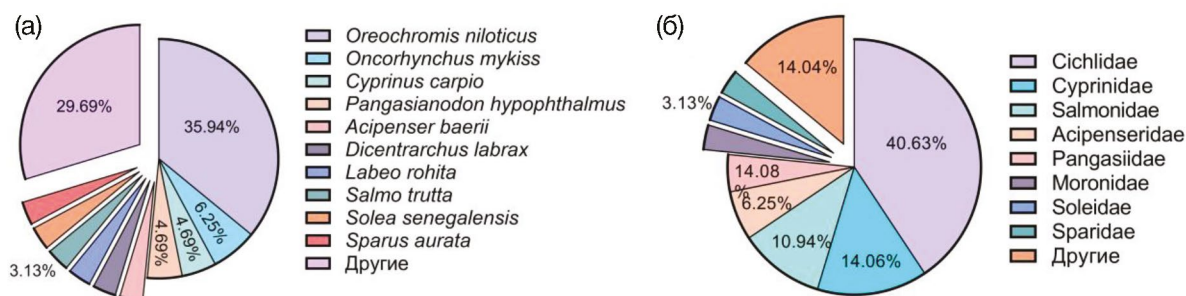


Рис. 2. Число исследований (%), проведенных на различных видах (а) и семействах (б) рыб.

Большое число исследований на тилapia продиктовано возросшей популярностью данного объекта выращивания, составляющего 65% от общемирового объема рыбной продукции, выращиваемой в искусственных условиях (El-Sayed et al., 2023). Тилapia представляет существенный интерес для культивирования, так как отличается высокой скоростью роста и высокой резистентностью к неблагоприятным факторам внешней среды. Стоит отметить исследования, проводимые на гибридах, в частности тилпии (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*; Poolsawat et al., 2020) и сорубиме (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *P. corruscans*; Nunes et al., 2020). Данные гибриды являются распространенными объектами рыбоводства в некоторых странах (Lin et al., 2008).

Для более общего представления все объекты исследований были сгруппированы по семействам (рис. 2б). Представители семейства цихловых (Cichlidae) являлись наиболее изучаемыми ($n = 26$; 40.6%). Помимо нильской тилпии работы также проводились на *Oreochromis mossambicus*, *O. aureus* и *Oreochromis* spp. Далее, по количеству опубликованных работ, идут карповые (Cyprinidae) — махсир тайский (*Tor tambroides*) и роху (*Labeo rohita*) ($n = 6$; 14%). Представители семейств лососевых (Salmonidae) и осетровых (Acipenseridae) исследовались в 7 (10.9%) и 4 (6.2%) работах, соответственно. Семейства Pangasiidae, Moronidae, Soleidae, Sparidae являлись объектом исследования не более, чем в трех публикациях (4.6 и 3.1%).

Рыбы из семейства лососевых являются наиболее важными видами, выращиваемыми в странах с холодным климатом (FAO, 2022), а также служат объектом индустриального рыбоводства в различных регионах, включая Северную Америку, Европу и Азию (Ford, Myers, 2008). Рыбная продукция из лососевых пользуется стабильно высоким спросом на мировом рынке. Осетровые, в свою очередь, также представляют суще-

ственный коммерческий интерес в основном для получения икры (Biology, conservation ..., 2009). Применение пробиотиков для данных семейств рыб представляется особенно актуальным ввиду высокой ценности рыбной продукции.

Из представленных данных видно, что по сравнению с тилпией, другие виды рыб, в том числе представители семейств карповых, лососевых и осетровых, получают не столь значительное внимание со стороны исследователей. Приведенное разнообразие объектов исследования представляет существенный интерес для выявления видоспецифического эффекта пробиотиков, для разработки новых препаратов и их комбинаций и для совершенствования знаний о коэволюции микробных сообществ и водных организмов (Sadeghi et al., 2023). Разные хозяйственно значимые виды рыб обладают различными физиологическими (требования к рациону и условиям содержания) и иммунологическими (строение и функциональная активность иммунокомпетентных органов) особенностями, которые продиктованы экологией конкретного вида (Mokhtar et al., 2023). Пробиотические микроорганизмы могут проявлять нестабильную эффективность, что требует специфических исследований для оптимизации их применения.

Условия проведения испытаний пробиотиков в аквакультуре

Продолжительность опыта существенно варьировала в отобранных исследованиях (рис. 3а). Наибольшее число работ было проведено с продолжительностью 35–56 и 60–80 сут ($n = 21$ и 22; 32.8 и 34.3%). Опыты продолжительностью 20–30 и 84–98 сут составили 14 и 12.5%. Наименьшее число экспериментов проводили в течение 110–140 сут ($n = 4$; 6.25%). В настоящий момент нет однозначного мнения относительно связи между эффектом пробиотического препарата и продолжительностью его использования

(Liu et al., 2012). Установлено, что закрепление пробиотика в ЖКТ может зависеть не только от вида микроорганизма, но также от вида рыб и экзогенных факторов (тип корма, гидрохимические условия, сезон выращивания и др.; Langlois et al., 2021). Некоторые исследователи указывают на то, что 24–60 сут достаточно для закрепления пробиотического организма в составе микробного сообщества и/или проявления его биологически активных свойств (Liu et al., 2012). В целях профилактики бактериальных заболеваний возможно применение пробиотика в течение непродолжительного периода — 5–15 сут (Бычкова и др., 2008).

Отдельного внимания заслуживают условия содержания рыб в опытах (рис. 3б). В подавляющем числе работ рыба выращивалась в бассейнах или аквариумах различного объема ($n = 33$; 50.7%). В некоторых публикациях авторы не приводили данных по условиям выращивания, указывая только объем емкости. Опыты в установках замкнутого водоснабжения (УЗВ) составляли 35.3% ($n = 23$) от общего числа статей. В условиях прудового и садкового выращивания всего было проведено 13.8% исследований ($n = 9$). Несомненно, что лабораторные исследования, проводимые в условиях помещений (бассейны, УЗВ), представляются более удобными для проведения испытаний пробиотических препаратов, так как дают возможность большего контроля за условиями выращивания (гидрохимические показатели, плотность посадки, контроль поедаемости корма и т. д.). При этом проведение исследований в условиях садков и бассейнов предоставляет возможность испытания в рамках интенсивной аквакультуры, где применение различных кормовых добавок наиболее востребовано.

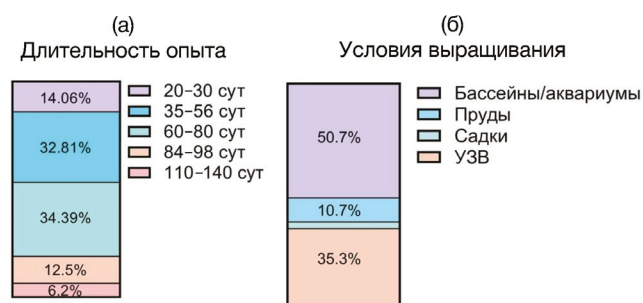


Рис. 3. Дизайн исследований: (а) продолжительность опыта, (б) условия выращивания.

МИКРООРГАНИЗМЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В АКВАКУЛЬТУРЕ

Происхождение пробиотиков является важным фактором при выборе микроорганизма для использования в аквакультуре (Shefat et al., 2018). Так, бактерии, выделенные вне рыбы, называются аллохтонными или экзогенными, а микроорганизмы, полученные из организма хозяина, — автохтонными или эндогенными (Ringø et al., 2016).

В рассматриваемых работах исследовали преимущественно коммерческие пробиотические составы ($n = 40$; 59.7%), в которых определение происхождения микроорганизмов не представляется возможным. Среди используемых препаратов можно выделить следующие: pH FIXER®, CALSPORIN®, Sanolife PRO-F®, AquaStar®, AlCar®, PAS-TRR™ и BioAqua®. В состав данных препаратов чаще всего входят сразу несколько видов/штаммов бактерий (от 2 до 12). Исследования, в которых авторы указывают происхождение пробиотиков (аллохтонные и автохтонные) составляют 16.4 ($n = 11$) и 5.9% ($n = 4$) соответственно. Работы, в которых не указано происхождение микроорганизмов составляли 17.9% ($n = 12$).

Коммерческие пробиотики являются наиболее доступными кормовыми добавками, что, вероятно, объясняет их высокую частоту использования в работах. Однако некоторые авторы указывают, что выживаемость и способность микроорганизмов из коммерческих препаратов закрепляться в ЖКТ гидробионтов нестабильна и зависит от множества факторов (Fijan et al., 2014). Вероятно, по этой причине зависимости между количеством бактерий в составе препарата и выраженностью эффектов на рыбе не наблюдалось. Многие авторы также предполагают, что автохтонные микроорганизмы будут проявлять большую эффективность, в сравнении с эндогенными, так как обладают большей специфичностью и необходимыми характеристиками (набор ферментов, липополисахаридов, адгезинов) для успешного закрепления и развития в условиях слизистой кишечника рыб (Shefat et al., 2018; Ntakirutimana et al., 2023; Büyükdavacı et al., 2023).

Видовой состав пробиотических микроорганизмов

Распределение родов и видов микроорганизмов в изученных работах приведено на рис. 4. В отобранных публикациях наибольшее число работ проводилось с применением бактерий рода *Bacillus* ($n = 60$; 41.6%), отдельно или в составе комплексного препарата. Второй по популярности род пробиотических бактерий —

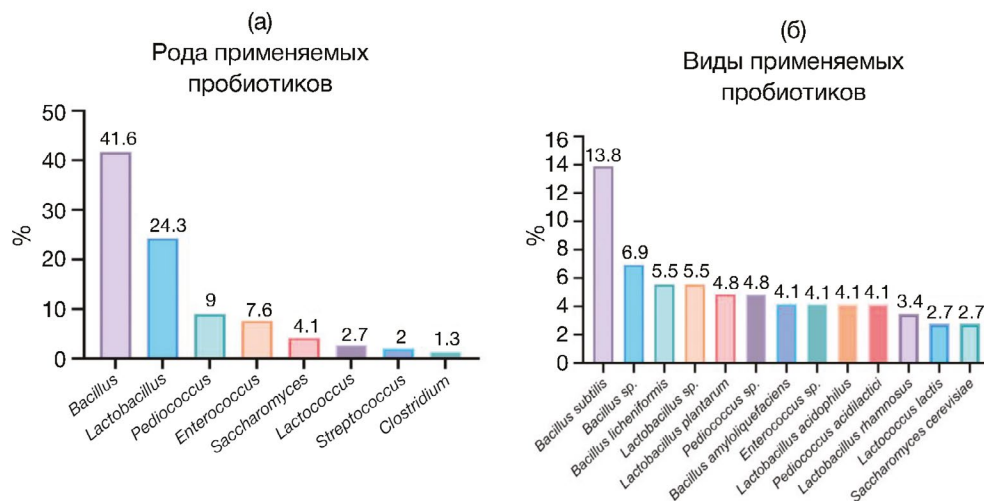


Рис. 4. Число исследований (%), проведенных с использованием различных родов (а) и видов (б) пробиотических организмов.

Lactobacillus ($n = 35$; 24.3%). Меньше были представлены в исследованиях пробиотики рода *Pediococcus*, *Enterococcus* и *Saccharomyces* (9, 7.6 и 4.1% соответственно). Другие рода встречались в оставшихся 17.3% работ ($n = 10$).

Среди наиболее применяемых видов пробиотических микроорганизмов (см. рис. 4) в составе препаратов доминировал *Bacillus subtilis*, встречаясь в 13.8% исследований ($n = 20$). Далее идут неопределенные представители бацилл (*Bacillus* sp.; 6.9%, $n = 10$) и *B. licheniformis* (5.5%; $n = 8$). Часто используемые виды лактобацилл (*Lactobacillus* sp. и *L. plantarum*) встречались, соответственно, в 5.5 и 4.8% статей. Молочно-кислые бактерии *Pediococcus* sp., также использовались в качестве пробиотиков в 4.8% работ ($n = 7$). Такие организмы, как: *B. amyloliquefaciens*, *Enterococcus* sp., *L. acidophilus*, *P. acidilactici*, *L. rhamnosus*, *Lactococcus lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *B. cereus*, *B. pumilus*, *Enterococcus faecalis* и *Lactobacillus* spp. встречались в исследованиях от 3 до 6 раз (2–4.1%). Среди микроорганизмов, применяемых не более, чем в двух работах (1.3%), стоит отметить: *Clostridium butyricum*, *Enterococcus faecium* и *L. delbrueckii*.

Представители родов *Bacillus* и *Lactobacillus* обладают рядом преимуществ, в частности: способностью выживать в условиях низких значений pH и действия желчных кислот, высокой степенью адгезии к слизи, а также доказанным положительным физиологическим действием (Wuertz et al., 2021; El-Son et al., 2022). Помимо прочего, бактерии рода *Lactobacillus* характеризуются возможностью синтезировать короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК),

которые служат энергетическим субстратом как для представителей комменсальной микрофлоры, так и для энтероцитов кишечника (Allameh et al., 2017). Кроме того, они отличаются способностью синтезировать различные антимикробные соединения, подавляющие активность патогенов и приводящие к развитию нормальной микрофлоры (Martínez Cruz et al., 2012; Fijan et al., 2014; Zhang et al., 2021). Дополнительно, широкое использование данных микроорганизмов в аквакультуре, обусловлено их высокой частотой обнаружения в водной среде и слизистых оболочках гидробионтов (Lauzon, Ringø, 2012).

Такие рода, как *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium* и др., являются перспективными кандидатами в пробиотики, так как их применение способствует поддержанию иммунного статуса рыб, улучшению пищеварения и адсорбции нутриентов, снижению риска заболеваний и повышению продуктивности (Batista et al., 2016). Однако для дальнейшего внедрения данных микроорганизмов-пробиотиков в практику аквакультуры необходимы дополнительные исследования, направленные на более глубокое понимание взаимодействия между пробиотиками, микрофлорой рыб и окружающей средой.

Концентрации используемых пробиотических микроорганизмов

В рассмотренных работах используемые концентрации пробиотиков сильно варьировали, находясь в пределах 1×10^2 – 1×10^{12} КОЕ/г корма. Для удобства восприятия материала все встречающиеся в публикациях концентрации были распределены по группам со степенью

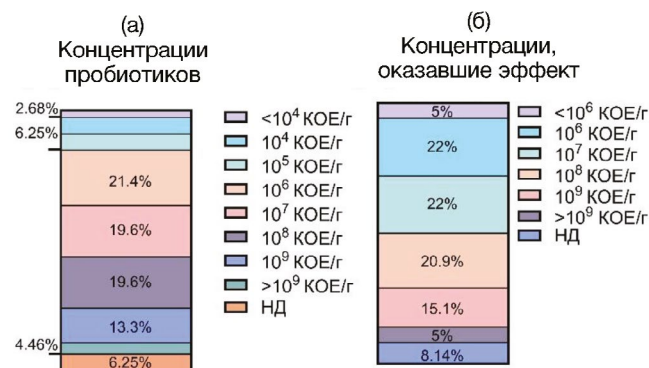


Рис. 5. Число исследований (%), проведенных с использованием различных концентраций пробиотиков (10ⁿ КОЕ/г): (а) все концентрации, (б) концентрации, продемонстрировавшие достоверный положительный эффект.

колониобразующих единиц на грамм корма (1×10ⁿ КОЕ/г) и приведены на рис. 5.

Учет концентрации в соответствии с вышеописанными условиями показал, что наиболее используемыми концентрациями микроорганизмов являются 1×10⁶, 1×10⁷ и 1×10⁸ КОЕ/г, которые составляли 21.4, 19.6 и 19.5% от общего числа публикаций, соответственно ($n = 24, 22, 21$). Высокую частоту применения отмечали в концентрации микроорганизмов 1×10⁹ КОЕ/г (13.3%; $n = 15$). В свою очередь, концентрации 1×10⁴ и 1×10⁵ КОЕ/г встречались лишь в 6.2% исследований ($n = 7$). Другие, упомянутые в отобранных работах, концентрации использовались не более трех раз. Стоит отметить, что число работ, в которых авторы не указывали используемую концентрацию пробиотиков составляло 6.2% ($n = 7$).

Концентрации, показавшие достоверный эффект, демонстрировали схожее распределение. Концентрации 1×10⁶ (22%; $n = 19$), 1×10⁷ (22%; $n = 19$), 1×10⁸ (20.9%; $n = 18$), а также 1×10⁹ (15.1%; $n = 13$) КОЕ/г наиболее часто оказывали положительный эффект на оцениваемые физиологические показатели объектов выращивания. Более высокие или более низкие концентрации, по сравнению с описанными выше, демонстрировали положительный эффект и составляли 19.7% от общего числа публикаций ($n = 8$).

В настоящее время нет однозначного мнения по поводу необходимости для проявления положительного эффекта концентрации пробиотического микроорганизма. Например, было показано, что концентрации 1×10⁵–1×10⁶ КОЕ/г достаточно для получения положительного эффекта от действия пробиотиков для человека (Georgieva et al., 2014). В большинстве работ концентрации, оказывающие действие, находились

в пределах 1×10⁶–1×10⁹ КОЕ/г (например: Won et al., 2016; Xia et al., 2018; Kuebutornye et al., 2020; Zare et al., 2021). В исследовании (Akter, 2019) даже концентрация 1×10⁵ КОЕ/г *L. acidophilus* приводила к достоверному улучшению веса, кормового коэффициента и показателей перевариваемости сухого вещества и белка *Pangasianodon hypophthalmus*. В свою очередь, в работе (Batista et al., 2015) многокомпонентный пробиотик в концентрациях 3.5×10⁵ и 4.6×10⁶ КОЕ/г не оказал действия на рыбоводно-биологические показатели и активность пищеварительных ферментов *Solea senegalensis*. По данным исследования с использованием *B. subtilis* и *B. licheniformis*, концентрации 1×10⁸ КОЕ/г (Merrifield et al., 2010) не приводили к значимому изменению биохимических показателей крови радужной форели. Предполагается, что для многих исследуемых штаммов пробиотических микроорганизмов характерно специфическое взаимодействие с хозяином, обусловленное вариативностью компонентов клеточной стенки бактерий, которые вызывают различные реакции у организма путем взаимодействия с рецепторами энтероцитов (Bron et al., 2012; Gisbert et al., 2013). Таким образом, для каждого микроорганизма (потенциального пробиотика) целесообразно проводить серию опытов с испытанием спектра концентраций (от 1×10⁵ до 1×10¹⁰ КОЕ/г).

Влияние пробиотиков на микробиом хозяина

Изучение микробиома кишечника является важным направлением исследований, нацеленных на изучение взаимодействия между комменсальными и симбиотическими микроорганизмами, населяющими слизистые хозяина и оказывающими влияние на здоровье рыбы (Nayak, 2010; Ringø et al., 2016). Во многих работах было продемонстрировано, что пробиотические бактерии способны оказывать значимое влияние на микробное сообщество кишечника, приводя к изменению относительной представленности отдельных групп бактерий, увеличивая или уменьшая общее разнообразие микроорганизмов (Standen et al., 2016; Feng et al., 2020; Bjørgen et al., 2020). В отобранных для обзора работах положительный эффект на микробное сообщество кишечника был выявлен в 12 статьях (66.6%). В данных исследованиях авторами установлены изменения в количестве определенных оперативных таксономических единиц (OTU), а также достоверные улучшения индексов насыщенности (ACE и Chao1) и разнообразия (Shannon и Simpson) микробиологических сообществ, показателей альфа/бета-разнообразия. В исследованиях с отсутствием эффекта не было установлено достоверного изменения данных индексов, од-

нако в большинстве случаев наблюдались некоторые сдвиги в составе отдельных групп микроорганизмов. Например, в работе (Li Z. et al., 2019) индексы разнообразия и насыщенности достоверно не отличались в группах, получавших комплексный пробиотический препарат (*Acetobacter* spp., *Lactobacillus* spp. и *Pseudomonas* spp. 5×10^9 КОЕ/г). При этом было выявлено достоверное изменение относительного количества родов *Sediminibacterium*, *Burkholderia* и *Bacteroides*. У тилипии, получавшей в составе корма пробиотический препарат Sanolife PRO-F® (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* и *Bacillus pumilus* 1×10^{10} КОЕ/г) не наблюдалось достоверных изменений в альфа/бета-разнообразии, однако, у группы, получавшей опытные корма, было выявлено появление в составе микробиома представителей родов *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus* и *Rhodobacter*. Исследование микробиома гидробионтов представляется очень комплексной задачей, ввиду нестабильности микробных сообществ слизистых, которые могут включать как комменсальные/симбиотические организмы, непосредственно ассоциированные с хозяином, так и различную транзиторную микрофлору. При изучении влияния пробиотиков на рыб, исследования качественных и количественных характеристик микробного сообщества слизистой кишечника представляются целесообразными, если целью работы является установление механизмов действия пробиотического организма. В случае же работ по определению эффективности кандидатов в пробиотики, применение подобного ресурсозатратного метода исследования не рационально.

Изучение микробных сообществ с использованием стандартных микробиологических методов (прямой посев) показало наиболее значимую реакцию на применение пробиотиков (100%; $n = 10$). В данных работах наблюдалось повышение общего числа культивируемых микроорганизмов, а также представителей молочнокислых бактерий. Например, в исследовании (Standen et al., 2016) использование в кормах для тилипии коммерческого пробиотика AquaStar® Growout (*Lactobacillus* sp., *Pediococcus* sp., *Bacillus* sp. и *Enterococcus* sp.; 1.34×10^7 и 2.64×10^7 КОЕ/г) приводило к достоверному увеличению количества общего числа микроорганизмов, бацилл и лактобацилл. В работе на клариевом соме (*Clarias faripepinus*) пробиотик *Lactobacillus plantarum* приводил к увеличению количества культивируемых бактерий и встречаемости энтеробактерий (Falaye et al., 2016). Важно отметить, что культивируемый микробиом слизистых оболочек значительно различается как по представленности микроорганизмов, так и по их количеству.

Культурозависимые методы всегда показывают меньшее таксономическое разнообразие и в то же время могут позволить установить значимые колебания на уровне культивируемых таксонов (Castañeda-Monsalve et al., 2019). Использование культурозависимых методов при изучении пробиотиков наиболее актуально для оценки закрепления пробиотика на слизистой оболочке кишечника, что может дополнительно подтвердить его пробиотическую активность.

Действие пробиотиков на микробиом слизистых оболочек водных организмов по-прежнему остается актуальной темой исследования. На данный момент предполагается, что поступление пробиотического микроорганизма с кормами приводит к сдвигам в составе микробного сообщества через: 1) действие на доминирующие филумы микроорганизмов, стимулируя развитие комменсалов; 2) колонизацию слизистой и изменение экологии микробиоты и занятие доминирующего положения в отдельных компартментах; 3) подавление развития и способность к колонизации патогенных бактерий путем продуцирования различных биологически активных веществ и вступление в гомеостаз с комменсальными микроорганизмами (Lazado, Caipang, 2014).

ОЦЕНОЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОБИОТИКОВ В АКВАКУЛЬТУРЕ

Выявленная в рассмотренных исследованиях эффективность пробиотических препаратов на различные физиологические и гистоморфометрические показатели организма значительно варьировалась. Обобщенные результаты по количеству применений каждого из методов в работах и частота фиксации достоверных отличий при применении пробиотика для каждого из них приведены на рис. 6.

Рыбоводно-биологические параметры

Оценка рыбоводно-биологических параметров производилась в 58 работах, при этом достоверный эффект наблюдался в 68.9% случаев. Наиболее часто пробиотики приводили к увеличению конечной массы рыб, а также уменьшению кормового коэффициента. Например, пангасиус (*Pangasianodon hypophthalmus*), получавший в составе корма дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae* DSY-5) в концентрации 1×10^6 и 1×10^8 , продемонстрировал значимое увеличение скорости роста и коэффициента конверсии корма за 120 сут опыта (Boonanuntanasarn et al., 2019). Пробиотики на основе автохтонных бактерий *Lactococcus lactis* и *Weissella confusa* приводили к



Рис. 6. Количество использования различных групп показателей в публикациях и частота фиксации достоверных отличий при применении пробиотика.

увеличению финального веса и улучшению эффективности использования кормов у белуги (*Huso huso*) (Yeganeh Rastekenari et al., 2021). В свою очередь, в работе (Chouayekh et al., 2023) было выявлено, что *Bacillus amyloliquefaciens* в концентрации 1×10^7 КОЕ/г не приводит к существенному улучшению рыбоводно-биологических показателей, хотя его применение приводило к изменению гистоморфологических показателей кишечника и оказывало влияние на микробиом слизистой ЖКТ. Схожие результаты были получены на *Solea senegalensis*, где различные комбинации пробиотических бактерий (*Bacillus* sp., *Pediococcus* sp., *Enterococcus* sp. и *Lactobacillus* sp.) не вызвали улучшения рыбоводно-биологических показателей (Barroso et al., 2016). Влияние пробиотиков на росто-весовые показатели и эффективность использования кормов, в первую очередь, обусловлено ферментативной активностью микроорганизмов, а именно их способностью к синтезу *in vivo* или стимуляции организма к выработке пищеварительных ферментов (Simón et al., 2021). Также микроорганизмы могут метаболизировать различные компоненты кормов, предоставляя хозяину нутриенты в удобной для адсорбции форме (Sumon et al., 2022). Как уже указывалось ранее, эффект пробиотиков на организм рыбы зависит от уникальных метаболических характеристик бактерий, и вероятно, некоторые микроорганизмы не способны закрепиться в составе комменсальной микробиоты кишечника.

Ферментативная активность

Значимый эффект на активность ферментов был выявлен в 70.8% работ ($n = 17$). Пробиотики приводили к увеличению концентрации лизоцима и супероксиддисмутазы (SOD) и каталазы (CAT) в тканях и сыворотке крови рыб. В частности, в работе (Shekarabi et al., 2022) было продемонстрировано положительное влияние поликомпонентного пробиотика на активность лизоцима слизистой оболочки кишечника сибирского осетра (*Acipenser baerii*). Лизоцим является ферментом класса гидролаз, увеличение которого наблюдается при заражении рыб различными патогенами, так как он способен гидролизовать клеточные оболочки бактерий (Magnadóttir, 2007). Увеличение концентрации данного фермента в сыворотке, может быть объяснено иммуномодулирующими свойствами пробиотиков.

Применение *Clostridium butyricum* в кормах для гибрида тиляпии (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) приводило к существенному повышению активности в сыворотке крови кислой фосфатазы (ALP), каталазы, глутаминовой оксалоуксусной трансминазы (GOT), глутаминовой пировиноградной трансминазы (GPT) и супероксиддисмутазы (Poolsawat et al., 2020). В свою очередь, у тиляпии, получавшей пробиотический препарат Sanolife® PRO-F, наблюдался разнонаправленный эффект на антиоксидантные ферменты, так, было выявлено повышение уровней SOD и CAT, а также ингибирование

выработки малонового диальдегида (MDA) (El-Son et al., 2022). Антиоксидантные ферменты и белки в организме играют важную роль в поддержании окислительного баланса организма, а именно — элиминации реактивных радикалов (Feng, Wang, 2020). Увеличение их выработки при действии пробиотиков может быть связано как с действием некоторых метаболитов бактерий (например КЦЖК), так и с иммуномодулирующим действием. В частности, при развитии клеточного иммунитета происходит выработка активных форм кислорода макрофагами и гранулоцитами, за счет чего реализуются бактерицидный и цитотоксический эффекты (Mokhtar et al., 2023), после чего, для элиминации остатков радикалов, происходит увеличение активности антиоксидантных ферментов.

Действие пробиотиков на активность пищеварительных ферментов является одним из ключевых свойств “полезных” микроорганизмов, и выступает важным показателем при подборе и изучении кандидатов в пробиотики. Пищеварительные ферменты (протеазы, липазы и карбоксилазы) в кишечнике объектов выращивания значимо увеличивались в 88.8% исследований ($n = 16$). Среди отобранных работ положительный эффект от применения пробиотиков отмечался для сибирского остра (*Acipenser baerii*) (Zare et al., 2021), где наблюдалось увеличение химотрипсина, трипсина, липазы, амилазы и пепсина; для персидского осетра (*Acipenser persicus*) (Darafsh et al., 2020), где было выявлено повышение активности протеазы, амилазы и липазы; для тюрбо (*Scophthalmus maximus*) (Li X. et al., 2019), где активность таких ферментов, как амилаза, пепсин и липаза значимо повышалась при использовании пробиотического препарата. Повышение активности пищеварительных ферментов также было установлено для таких видов рыб, как веслонос *Polyodon spathula* (Fang et al., 2015), кумжа *Salmo trutta* (Kalantarian et al., 2020), тиляпия *Oreochromis niloticus* (Ramos et al., 2017a; Kuebutornye et al., 2020; Haraz et al., 2023; Eissa et al., 2023), роху *Labeo rohita* (Saravanan et al., 2021) и ряда других (см. табл. 2). Согласно результатам изученных публикаций активность пищеварительных ферментов представляется одним из наиболее чувствительных показателей, реагирующих на применение пробиотиков у рыб. Данное утверждение подтверждается общностью полученных результатов для разных систематических групп рыб. По этим причинам использование данного показателя при исследовании кандидатов в пробиотики позволяет объективно оценить их эффективность и сделать обоснованный вывод о целесообразности их применения.

Химический состав тканей

Среди наиболее часто используемых показателей минимальный эффект от применения пробиотиков был выявлен для параметра нутриентного состава ткани. Среди 21-й работы, оценивавшей данный параметр, лишь в 8-ми был зафиксирован значимый эффект (38.1%). Например, использование пробиотиков *B. licheniformis* и *B. polymyxa* в кормах для *Sillago sihama* приводило к значимому увеличению содержания сухого вещества, а также содержания белков, липидов и золы (Amoah et al., 2021). Напротив, применение коммерческих пробиотиков GroBiotic® и Aquablend®, содержащих *Bacillus* sp. не оказывало влияния на нутриентный состав мышечной ткани и печени *Totoaba macdonaldi* (González-Félix et al., 2018), несмотря на большую продолжительность кормления (120 сут). В других публикациях, где был отмечен эффект применения пробиотика, фиксировались противоречивые результаты — снижение или повышение показателей влажности, количества золы, белков и жира в тканях рыб (Yang et al., 2019; Li et al., 2019; Darafsh et al., 2020). Неоднозначные данные по влиянию пробиотиков на нутриентный состав ткани рыб могут быть объяснены различием в метаболизме объектов выращивания, которые обусловлены различным типом питания, температурными режимами выращивания и скоростью роста (Климов и др., 2023). Дополнительно необходимо указать, что изменение состава ткани напрямую связано с изменением скорости роста и набора массы. В частности, в работах, в которых пробиотики не оказывали влияния на рыбоводно-биологические показатели, также не отмечалось изменения параметров нутриентного состава ткани (Batista et al., 2015; Ramos et al., 2015; González-Félix et al., 2018).

Сопrotивляемость патогенам

Положительный эффект от применения пробиотиков отмечался при оценке сопротивляемости рыб к различным патогенам в водной среде (94.4%; $n = 17$). Увеличение устойчивости к бактериальным инвазиям связана со способностью пробиотиков в кишечнике занимать сайты адгезии на слизистой, конкурировать за питательные вещества, а также синтезировать бактериостатики, препятствующие росту и развитию условно-патогенной микрофлоры (Nayak et al., Chen et al., 2020). В ряде исследований на нильской тиляпии было показано, что применение пробиотиков в кормах приводит к увеличению выживаемости рыб при заражении такими патогенными микроорганизмами и их

метаболитами, как *Aspergillus flavus* (Eissa et al., 2023), *Pseudomonas fluorescens* (Ismail et al., 2019), *Aeromonas hydrophila* (Kuebutornye et al., 2020), *A. veronii* (Sewaka et al., 2019) и *Streptococcus agalactiae* (Xia et al., 2018; Liu et al., 2021). Помимо этого использование комплексных составов пробиотиков оказывало воздействие на резистентность *Anguilla japonica* (Lee et al., 2017) и *Labeo rohita* (Saravanan et al., 2021) к *Vibrio anguillarum* и *Aeromonas hydrophila* соответственно. Стоит отметить, что в перечисленных работах не наблюдается зависимости между дозой вносимого микроорганизма и временем его использования, что указывает на верность утверждения о возможности применения пробиотических бактерий в качестве профилактического средства от бактериальных инвазий (Юхименко, Бычкова, 2010). Можно утверждать, что показатель сопротивляемости рыб к патогенам представляется важным параметром, позволяющим более точно определить эффективность пробиотика.

В свою очередь, иммунологические показатели рыб достоверно изменялись при применении пробиотика лишь в 60% исследований ($n = 6$). Это может быть связано с тем, что вероятный механизм действия пробиотиков преимущественно ассоциирован со стимуляцией специфического и/или локального иммунного ответа слизистых оболочек, а увеличение концентрации иммуноглобулинов, белков комплемента и лизосомальной активности наблюдается при активации адаптивного иммунитета (Natnan et al., 2021). Например, в работе (Nunes et al., 2020) было продемонстрировано, что пробиотик *Bacillus subtilis* C-3102 приводил к существенному увеличению фагоцитарной активности у гибрида *Pseudoplatystoma* sp. В свою очередь особи синегальской солеи (*Solea senegalensis*), получавшей комплексный пробиотик (*Bacillus* sp., *Pediococcus* sp., *Enterococcus* sp. и *Lactobacillus* sp.) не продемонстрировали достоверного изменения показателей общего количества иммуноглобулина и активности белков альтернативного пути комплемента относительно контроля (Barroso et al., 2016). Изменение иммунологических показателей фиксировалось в работах, в которых также было установлено увеличение устойчивости к патогенам (Han et al., 2015; viz. Nunes et al., 2020; Kuebutornye et al., 2020). Вероятно, специфичная активность пробиотика и его взаимодействие со слизистой кишечника рыбы могут выражаться в различной интенсивности иммунного ответа, что частично подтверждается результатами омиксных исследований (López Nadal et al., 2023). Использование иммунологических показателей (титр антител, фагоцитарная активность) в исследованиях но-

вых пробиотиков может быть востребовано в случае наличия у исследуемых микроорганизмов доказанного иммуностимулирующего действия или в комплексе с оценкой сопротивляемости патогенам.

Экспрессия про- и противовоспалительных генов

При изучении экспрессии различных про/антивоспалительных маркеров практически всегда наблюдалось увеличение относительных уровней мРНК при применении пробиотических препаратов (92.3%; $n = 12$). Данный эффект пробиотических микроорганизмов является одним из ключевых, так как способствует иммунизации организма и, как следствие, повышает его способность противостоять действию патогенов и различных стресс-факторов (Lazado, Caipang, 2014). В отобранных исследованиях наиболее часто оценивалась экспрессия интерлейкинов (IL-1 β , IL-8, IL-10), интерферона (IFN- γ), фактора роста опухоли (TNF- α), трансформирующего фактора роста (TGF- β), белка теплового шока (HSP70) и толл-подобного рецептора (TLR2/3). Преимущественно целевой тканью для оценки уровней мРНК являлся кишечник (Moroni et al., 2021), однако, в некоторых работах проводилось изучение экспрессии в печени (Al-Deriny et al., 2020). Пробиотики приводили к увеличению относительной экспрессии белков теплового шока (Lee et al., 2017), интерлейкинов и факторов роста (Won et al., 2016; Adeshina et al., 2020), а также толл-подобных рецепторов (Abid et al., 2013). Показательной является работа (Standen et al., 2016), в которой у нильской тилпии, получавшей коммерческий пробиотический состав AquaStar® Growout, фиксировалось достоверное увеличение относительного количества мРНК различных генов, связанных с иммунным ответом (TLR2, TNF- α , IL-1 β , IL-10, TGF- β). Отдельно стоит отметить, что в другом исследовании на тилпии (El-Son et al., 2022), применение в кормах пробиотика Sanolife PRO-F® не приводило к существенному изменению экспрессии интерлейкинов (IL-1 β , IL-8). Механизм действия пробиотиков на различные иммунные маркеры, в первую очередь, связан со стимуляцией неспецифического иммунного ответа и выработкой иммунокомпетентными клетками (макрофагами, лимфоцитами) цитокинов (Firdaus-Nawi, Zamri-Saad, 2016). Оценка профиля экспрессии про- и противовоспалительных факторов в кишечнике, является результативным методом, позволяющим с минимальными затратами подтвердить эффективность иммуномодулирующего действия изучаемого микроорганизма.

Гематологические и биохимические показатели крови

В отобранных статьях действие пробиотиков на гематологические и биохимические показатели было менее выраженным по сравнению с другими категориями параметров. Количество работ, в которых данные параметры достоверно отличались от контроля, составили 9 и 6 публикаций (52.9 и 37.5% соответственно). Возможно, низкий эффект на гематологию и биохимию крови связан со специфичным взаимодействием пробиотиков именно с лимфоидными тканями слизистых. Помимо этого, стоит отметить, что продолжительность кормления, при которой установлен положительный эффект на данные показатели, составляла более 60 сут. Кроме того, ранее уже было показано, что пробиотики оказывают различные эффекты на гематологические параметры рыб, в зависимости от применяемой концентрации (Грозеску и др., 2009; Jahan et al., 2021). В публикациях действие пробиотиков на рыб преимущественно оценивалось по следующим гематологическим показателям: количество лейкоцитов (WBC) и эритроцитов (RBC), содержание гемоглобина (Hb) и сопутствующие параметры (Hc, MCV, MCH, MCHC), кроме этого, исследователями подсчитывалось относительное число клеток лейкоцитарного ряда. В подавляющем большинстве исследований применение пробиотиков оказывало значительное влияние лишь на несколько гематологических показателей. В частности, в работе на сибирском осетре (*Acipenser baerii*) поликомпонентный пробиотик приводил только к увеличению относительного числа нейтрофилов и количества эритроцитов (Shekarabi et al., 2022). Клеточный состав крови белуги, получавшей два автохтонных штамма пробиотиков, также существенно не изменялся (Yeganeh Rastekenari et al., 2021). При этом положительное действие пробиотика было зафиксировано в работе на тилапии (Eissa et al., 2023), где группа рыб, получавшая корма со штаммом *Pediococcus acidilactici* CNCM I-4622, продемонстрировала значимое увеличение числа лимфоцитов, нейтрофилов и моноцитов. Подобный эффект, помимо этого, отмечался при применении *Bacillus amyloliquefaciens* (Reda, Selim, 2015) и коммерческого состава pH FIXER® (Tabassum et al., 2021).

Гистоморфометрические параметры и методы их измерения

Раскрывая механизмы взаимодействия пробиотика и слизистой оболочки хозяина, гистоморфометрический анализ дает возможность

оценить эффективность пробиотиков. При этом, неоднозначный эффект действия пробиотиков требует дальнейшего совершенствования морфометрических методов.

Всего в разных исследованиях анализировалось до 30 различных гистохимических параметров. Среди них лишь 16 применялись более трех раз. Они могут быть объединены в следующие группы: характеризующие морфологию ворсинок кишечника (высота, ширина, площадь, количество, высота эпителиоцитов, глубина крипт); характеризующие морфологию слоев/оболочек, слагающих кишечник (толщина/площадь подслизистого, мускульного и серозного слоев); отражающие состав иммунокомпетентных клеток (количество интраэпителиальных лимфоцитов, лимфоцитов собственной слизистой оболочки, количество эозинофильных гранулоцитов); характеризующее микроворсинки слизистой кишечника (высота, площадь микроворсинок, высота щетиночной каймы); характеризующие морфологию бокаловидных клеток (количество, площадь). Наиболее часто используемые в работах морфометрические параметры приведены на рис. 7. Полный список параметров, а также частота их использования приведены в табл. 2.

Методы измерения морфометрических параметров у разных авторов существенно варьировались. Исходя из приведенных в публикациях описаний, а также данных других авторов, были сформированы обобщенные методы измерений гистоморфометрических показателей кишечника, приведенные ниже. В целом все оцениваемые показатели можно отнести к трем категориям: высота/толщина тканевой структуры (высота эпителии, толщина мускульного слоя), площадь клетки или морфофункциональной единицы (площадь бокаловидных клеток) и встречаемость клеток (интраэпителиальных лимфоцитов, бокаловидных клеток) (Hassan et al., 2020; Nikiforov-Nikishin et al., 2022b; Hossain et al., 2022; Kochetkov et al., 2023).

Первоначально для измерений просматривается от 10 до 20 случайных полей зрения препарата (Nakandakare et al., 2013; Batista et al., 2016). Для измерений выбираются ворсинки без артефактов фиксации и проводки (Lee et al., 2017; Boonanuntanasarn et al., 2019).

Высоту ворсинки измеряют на 10 самых длинных складках слизистой, при этом измерения проводят от основания до верхней части, следуя всем изгибам (Pirarat et al., 2011; Aziza et al., 2014; Abdel-Aziz et al., 2020). Основанием ворсинки считают границу собственной оболочки слизистой и подслизистого или мускульного

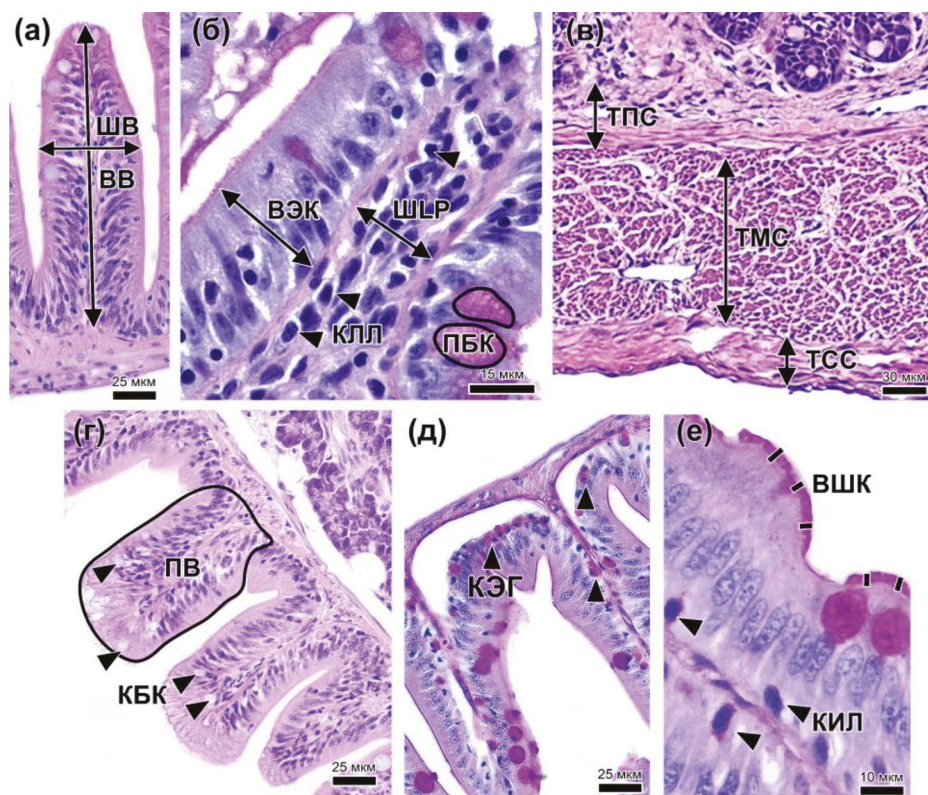


Рис. 7. Гистоморфометрические параметры, наиболее часто используемые в работах: характеризующие морфологию ворсинок кишечника (а, г); характеризующие морфологию бокаловидных клеток (б, г); отражающие состав иммунокомпетентных клеток (б, д, е); характеризующие морфологию слоев/оболочек, слагающих кишечник (в); характеризующие микроворсинки слизистой кишечника (е). Сокращения: ШВ — ширина ворсинок; ВВ — высота ворсинок; ВЭК — высота эпителиоцитов кишечника; КЛЛ — количество лимфоцитов собственной слизистой оболочки; ПБК — площадь бокаловидных клеток; ТПС — толщина подслизистой оболочки; ТМС — толщина мускульного слоя; ТСС — толщина серозного слоя; ПВ — площадь ворсинки; КБК — количество бокаловидных клеток; КЭГ — количество эозинофильных гранулоцитов; ВШК — высота щетиночной каймы; КИЛ — количество интраэпителиальных лимфоцитов (по: Nikiforov-Nikishin et al. 2022b; Kochetkov et al., 2023).

слоя (Al-Deriny et al., 2020). Толщина ворсинки измеряется на средней части путем проведения линии, перпендикулярной плоскости складки и проходящей от одного края щеточной каймы микроворсинок до другого (Kuebutornye et al., 2020). Согласно (Nimalan et al., 2023) измерения на каждой ворсинке необходимо проводить на шести различных участках, так как ширина ворсинок изменяется по высоте. Высоту адсорбирующего эпителия измеряют путем проведения линии, перпендикулярной плоскости собственной пластинки слизистой и плоскости щеточной каймы микроворсинок (Abid et al., 2013).

Плотность ворсинок определяется как соотношение между общим количеством ворсинок, представленных в каждом срезе/участке среза, и площадью среза/участка (мм^2) (Ramos et al., 2017b). При этом сросшиеся ворсинки рассма-

тривались как единое целое, так как высокая степень слияния приводит к снижению плотности ворсинок.

Количество интраэпителиальных лимфоцитов, лимфоцитов собственной слизистой оболочки, эозинофильных гранулоцитов и бокаловидных клеток подсчитывается либо в области одной ворсинки (Samanya, Yamauchi, 2002; Cerezuela et al., 2012; Abdel-Aziz et al., 2020), либо на определенной площади слизистой — 100 мкм^2 (Standen et al., 2015; Adeoye et al., 2016), 1 мм^2 (Al-Deriny et al., 2020) или 100 мм (Standen et al., 2016; Nikiforov-Nikishin et al., 2023). Количество эозинофильных гранулоцитов подсчитывается в области собственной пластинки слизистой, так как данные клетки наиболее часто обнаруживаются в ней (Picchietti et al., 2009; Pirarat et al., 2011).

Толщину слоев кишечника (подслизистый, мускульный, серозный) измеряют на участках среза без артефактов с четко просматриваемыми границами оболочек (Kuebutornye et al., 2020; Hossain et al., 2024). Для измерения проводят линию, параллельную направлению ворсинок, идущую от внешней границы слоя до внутренней (Ramos et al., 2015). Измерение толщины собственной пластинки слизистой (*lamina propria*) проводят путем проведения линии, перпендикулярной плоскости ворсинки (Milián-Sorribes et al., 2021). Для измерений выбирают участки слизистой без искривлений ворсинок.

Площадь адсорбции рассчитывают следующим образом (Adeshina et al., 2020): площадь всасывания (см²) = длина ворсинок (см) × ширина ворсинок (см). Функциональную площадь поверхности оценивают путем измерения внутреннего периметра (*IP*) поверхности слизистой и внешнего периметра (*EP*) кишечника, чтобы рассчитать соотношение периметров (*PR*) (произвольная единица: AU) следующим образом: коэффициент периметра $PR = IP / EP$ (Dimitroglou et al., 2009).

Частота использования и действие пробиотиков на гистоморфометрические показатели

Количество используемых одновременно в работе морфометрических параметров изменялось. В частности, наиболее часто исследователи измеряли 3 и 4 параметра (28.1 и 26.5%). Статей, в которых проводилось измерение 5 или 2 параметров, было существенно меньше (15.6 и 17.1%). Наибольшее число параметров ($n = 7$) было измерено в работе (Adeoye et al., 2016), где изучалось влияние пробиотической добавки Sanolife PRO-F® на тиллапию, а также в исследовании (Cerezuela et al., 2012), где оценивалось действие пробиотика *Bacillus subtilis* CECT 35 на *Sparus aurata*. Также в двух публикациях использовалось 6 морфометрических параметров (Milián-Sorribes et al., 2021; Nikiforov-Nikishin et al., 2022a).

Отдельно стоит отметить исследование (Nimalan et al., 2023), где было изучено индивидуальное и совместное применение двух штаммов *Lactobacillus plantarum* R2 (CCM 8674) и *L. fermentum* R3 (CCM 8675), в котором помимо морфометрических параметров кишечника производилось измерение площади и количества мукоидных клеток на эпителии кожи и жабр рыбы.

Среди гистоморфометрических параметров кишечника наиболее часто применялись следующие показатели: высота ворсинок кишечника (ВВ; $n = 54$), ширина ворсинок (ШВ; $n = 30$),

количество бокаловидных клеток на слизистой (КБК; $n = 27$), толщина мускульного слоя (ТМС; $n = 21$), площадь ворсинки (ПВ; $n = 13$), высота эпителиоцитов кишечника (ВЭК; $n = 11$), количество интраэпителиальных лейкоцитов (КИЛ; $n = 9$) (рис. 8). Другие морфометрические параметры использовались не более, чем в 8 работах. Так, измерение ширины собственной слизистой оболочки (ШСО) производилось лишь в 4 работах, а подсчет количества эозинофильных гранулоцитов — в 3 (КЭГ).

Стоит упомянуть, что морфометрический параметр “глубина крипт” является не совсем верным, так как у большинства рыб в кишечнике отсутствуют крипты, как у высших позвоночных, и более корректно было бы называть данный параметр “глубиной складок слизистой”.

Гистологические параметры значимо реагировали на использование пробиотиков в кормах для рыб. Так, высота ворсинок и количество бокаловидных клеток достоверно отличались от показателей контроля в 83.3 и 70.3% работ ($n = 45, 19$). Схожие данные установлены для площади ворсинок ($n = 11$; 84.6%). Меньшее действие исследуемые препараты оказывали на показатели ширины ворсинок и толщины мускульного слоя — 63.3 и 42.8% ($n = 19, 9$). Параметры количества интраэпителиальных лимфоцитов и высоты эпителиоцитов слизистой кишечника значимо превосходили контрольные значения в 63.6 и 66.7% исследований ($n = 6, 7$). Другие оцениваемые в работах морфометрические параметры обладали различным откликом на действие пробиотиков, однако, низкая частота их использования не позволяет сделать однозначных выводов.

Гистоморфометрические параметры являются важным показателем, позволяющим оценить состояние и структуру тканей кишечника. Пробиотики оказывают влияние на барьерную функцию слизистой и изменяют активность клеток слизистой, стимулируют иммунитет, что можно оценить с помощью количественного измерения тканей. Приведенные выше исследования показывают, что морфометрические параметры кишечника могут являться маркером, отражающим состояние ЖКТ. Гистоморфометрические параметры кишечника представляют собой комплексную основу для оценки структурных, функциональных и иммунологических эффектов пробиотиков на организм рыбы (Elsabagh et al., 2018; Eissa et al., 2022).

Рассматривая используемые гистологические методы, можно отметить, что в наибольшем числе работ для фиксации применялся 10%-ный нейтральный формалин (48.3%;

$n = 30$) (рис. 8б). Также исследователи часто применяли раствор Буэна (19.3%; $n = 12$). В ряде публикаций фиксация ткани выполнялась в 4%-ном нейтральном формалине (12.9%; $n = 8$) и 10%-ном формалине (11.2%; $n = 7$). Фиксирующий раствор играет крайне важную роль в итоговом качестве получаемых срезов ткани. Так, утверждается, что растворы Буэна и Дэвидсона являются наиболее подходящими фиксаторами

для тканей кишечника (Miki et al., 2018). Время фиксации также оказывает существенное влияние на качество гистологических препаратов. В большинстве статей авторами не указывалось время фиксации ткани (61.2%; $n = 38$) (рис. 8в). Наиболее популярным временем фиксации являлись 24 ч (30.6%; $n = 19$). Также в отдельных работах ткань фиксировалась на протяжении 6, 48 ч и 3 дней.

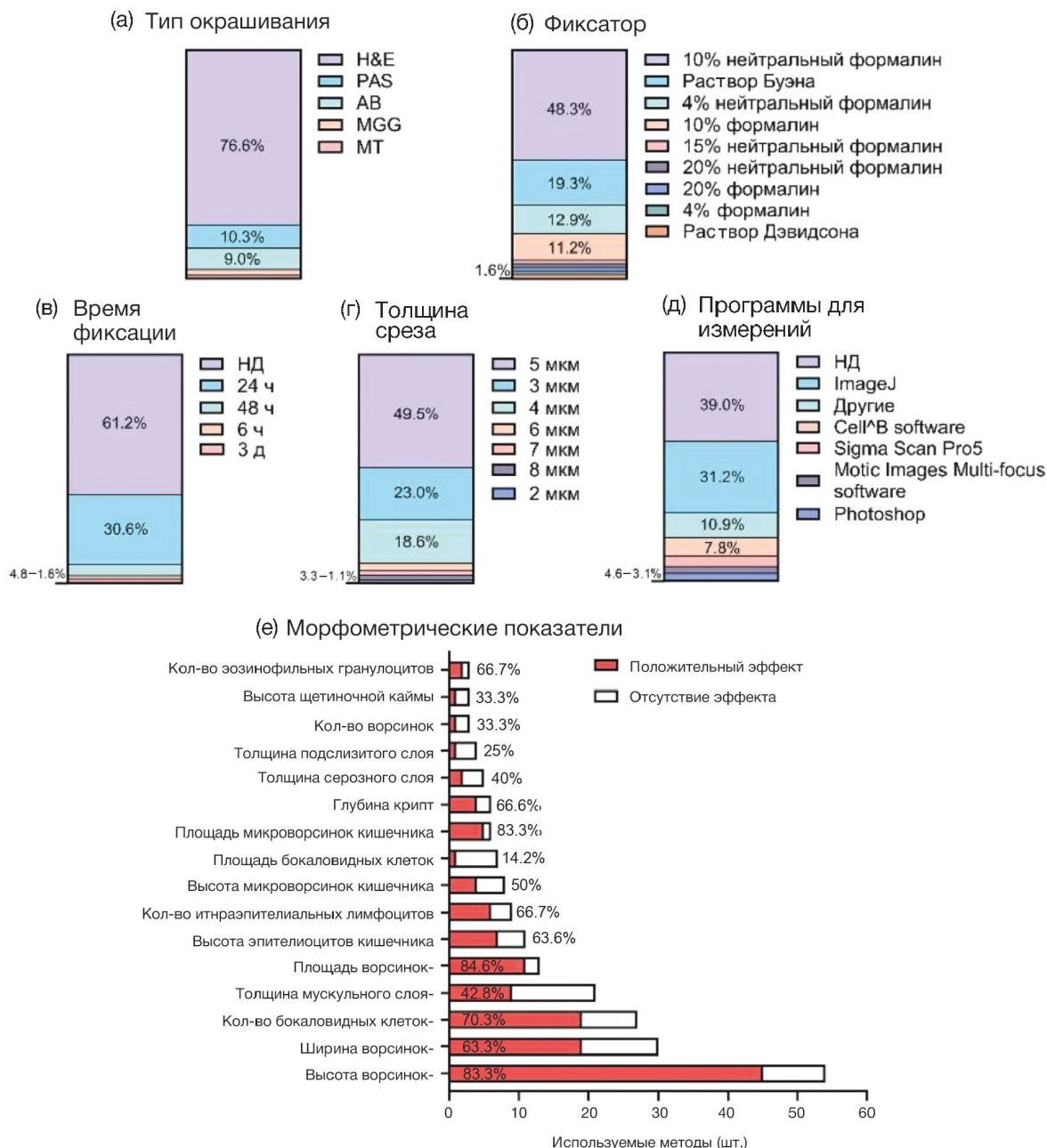


Рис. 8. Количество используемых различных морфометрических показателей кишечника в публикациях и частота фиксации достоверных отличий при применении пробиотика.

В качестве красителей: окраска гематоксилин эозином (H&E) производилось наиболее часто — 76.6% ($n = 59$) (рис. 8а). Периодическая кислота — Шиффа (PAS) использовалась реже (10.3%; $n = 8$). Такие способы окрашивания, как альциановый синий (AB) и Май-Грюнвальд–Гимза (MGG) употреблялись в 9.0 и 2.6% исследований. Применение специфичных красителей при окраске гистологических препаратов позволяет более точно оценивать изменения в клеточных структурах и проводить морфометрические измерения (например, количество и площадь бокаловидных клеток). Так, в работах, где использовалось сразу несколько методов окрашивания (Cerezuola et al., 2012; Abdel-Aziz et al., 2020), авторы измеряли морфометрию аффинных к различным красителям бокаловидных клеток (PAS+, AB+, PAS+ и AB+). Также в ряде публикаций авторами проводилось измерение морфометрических параметров микроворсинок (высота, плотность) энтероцитов с использованием электронной микроскопии (Xia et al., 2018, 2020; Jang et al., 2019; Chouayekh et al., 2023). Использование специфичных гистологических красителей позволяет более точно классифицировать тканевые структуры и значительно упрощает процесс их измерения (Ruiz et al., 2020).

Для измерения приведенных морфометрических параметров исследователи наиболее часто применяли программы ImageJ или Fiji ImageJ2 (31.2%; $n = 20$) (рис. 8д), либо использовали программное обеспечение, предоставляемое производителями цифровых камер для микроскопов (например, Sigma Scan Pro5, Motic Images Multi-focus software, AxioVision 8.4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последние 10 лет значительно возросло количество исследований воздействия различных пробиотических препаратов на объекты аквакультуры с совместным применением физиологических, биохимических и гистологических методов. Существенно изменился подход к изучению действия пробиотиков — от их влияния на рыбоводно-биологические показатели до изучения отдельных механизмов взаимодействия пробиотика и микробного сообщества кишечника рыбы. Тиляпия и карповые виды рыб преобладают в работах по изучению пробиотиков. Работы на данных видах рыб выполнялись по всему миру, однако, на КНР и Египет приходится большая их часть, так как там они являются основными объектами выращивания. Наиболее достоверные результаты были получены при применении родов микроорганизмов *Bacillus* и *Lactobacillus*, по причине простоты их культи-

вации и выделения из окружающей среды. На данный момент исследователи изучают либо уникальные автохтонные штаммы, выделенные из рыбы, либо комплексные пробиотические препараты, включающие несколько видов микроорганизмов. При этом стоит учитывать, что различные штаммы одного вида микроорганизмов, могут оказывать различное воздействие на организм рыбы. Наиболее популярным среди исследователей сроком внесения пробиотиков можно считать 60–90 сут. Предполагается, что именно длительность кормления пробиотиками позволяет реализовать весь комплекс ответных физиологических реакций рыбы (Текебаева и др., 2020).

Рассмотренные в рамках обзора исследования дают хорошее представление о взаимодействии желудочно-кишечного тракта рыбы с пробиотическими микроорганизмами. Многие авторы из приведенных работ применяют целый спектр методов для определения эффективности тех или иных пробиотических микроорганизмов, что представляется наиболее фундаментальным подходом. При этом применяющие небольшой набор методов исследования также представляют существенный интерес, так как являются источником информации для отбора перспективных штаммов/видов пробиотиков. Помимо этого, такие работы дают общее представление о действии пробиотиков на менее популярные объекты выращивания. Приведенные в публикациях результаты демонстрируют разный эффект на ряд физиологических показателей. В частности, пробиотики в большинстве статей оказывали значимое воздействие на рыбоводно-биологические показатели, активность пищеварительных ферментов, микробиом кишечника, экспрессию генов, ассоциированных с иммунитетом, а также сопротивляемость к патогенам. При этом было выявлено, что пробиотики в большинстве случаев не оказывают влияния на нутриентный состав тканей, гематологические, биохимические и иммунологические показатели.

Гистологические и гистоморфометрические показатели, к сожалению, часто остаются за рамками исследований, так, из 200 публикаций о воздействии пробиотиков на объекты аквакультуры, только в 64 детально изучалось их влияние на тканевые клеточные структуры ЖКТ, в то время как морфометрический анализ позволяет сопоставить физиологические изменения с реакцией отдельных клеток и тканей пищеварительной системы, что важно для понимания механизмов взаимодействия в оси пробиотик–микробиом–кишечник (Shefat et al., 2018).

Определение механизмов действия пробиотиков на те или иные физиологические параме-

тры представляется непростой задачей. Использование комплексного подхода, при котором проводится изучение целого ряда параметров на разном уровне организации организма (организменном, тканевом, клеточном, молекулярном) является универсальным инструментом изучения фундаментальных закономерностей взаимодействия живых систем. Приведенные в работе данные подтверждают комплексность взаимосвязи между пробиотиком и хозяином, а также необходимость проведения обсервационных исследований по оценке возможности применения пробиотиков в аквакультуре, и работ, направленных на установление механизмов действия пробиотических бактерий на организм хозяина. Как указывается в работе (López Nada et al., 2023), шаги в сторону обсервационных и экспериментальных научных исследований с интегративным взглядом, сочетающих наборы данных физиологических показателей с методами визуализации для понимания сложных многофакторных биологических процессов, таких как здоровье кишечника рыбы, могут помочь исследователям оценить эффективность новых кормов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование было выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-16-00123.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бычкова Л.И., Юхименко Л.Н., Ходак А.Г. и др. Суб-про — путь к улучшению качества рыбной продукции // Рыбоводство и рыбное хозяйство. 2008. №12. С. 33–35.
- Гистопатология костистых рыб / Ред. К.В. Гаврилин, Д.Л. Никифоров-Никишин, Н.И. Кочетков, Р.В. Смодинская. КурРк: ИП Бескровный А.А., 2023. 200 с. ISBN 978-5-605-14039-9.
- Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А., Шульга Е.А. Биологическая эффективность применения пробиотика субтилис в составе стартовых комбикормов для осетровых рыб // Изв. Самарского науч. центра РАН. 2009. V. 11 (1–2). Р. 42–45.
- Зуева М.Р. Современный опыт включения биологически активных кормовых добавок в рацион рыб // Животноводство и кормопроизводство. 2022. Т. 105 (4). С. 146–164.
- Климов В.А., Никифоров-Никишин Д.Л., Кочетков Н.И. и др. Формирование качества получаемой рыбопродукции из радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) за счет применения кормов с хелатным соединениями микроэлементов и каротиноидов // Вестн. Керченского гос. морского технол. ун-та. 2023. Т. 2. С. 76–86.
<https://doi.org/10.26296/2619-0605.2023.2.2.007>
- Текебаева Ж.Б., Шахабаева Г.С., Сармурзина З.С. и др. Пробиотики и их применение в аквакультуре // Новости науки Казахстана. 2020. № 4. Р. 170–185.
- Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И. Испытания лечебного комбикорма с субалином в рыбхозах Московской области // Рыбное хозяйство. 2012. V. 1 (4). Р. 96–98.
- Abdel-Aziz M., Bessat M., Fadel A. et al. Responses of dietary supplementation of probiotic effective microorganisms (EMs) in *Oreochromis niloticus* on growth, hematological, intestinal histopathological, and antiparasitic activities // Aqua. Internat. 2020. V. 28. P. 947–963.
- Abid A., Davies S.J., Waines P. et al. Dietary synbiotic application modulates Atlantic salmon (*Salmo salar*) intestinal microbial communities and intestinal immunity // Fish Shellfish Immunol. 2013. V. 35 (6). P. 1948–1956.
- Adeoye A.A., Yomla R., Jaramillo-Torres A. et al. Combined effects of exogenous enzymes and probiotic on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth, intestinal morphology and microbiome // Aquaculture. 2016. V. 463. P. 61–70.
- Aadeshina I., Abubakar M.I.O., Ajala B.E. Dietary supplementation with *Lactobacillus acidophilus* enhanced the growth, gut morphometry, antioxidant capacity, and the immune response in juveniles of the common carp, *Cyprinus carpio* // Fish Physiol. Biochem. 2020. V. 46 (4). P. 1375–1385.
- Akter M.N., Hashim R., Sutriana A. et al. Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplementation on growth performances, digestive enzyme activities and gut histomorphology of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878) juveniles // Aqua. Res. 2019. V. 50 (3). P. 786–797.
- Al-Deriny S.H., Dawood M.A., Abou Zaid A.A. et al. The synergistic effects of *Spirulina platensis* and *Bacillus amyloliquefaciens* on the growth performance, intestinal histomorphology, and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) // Aqua. Rep. 2020. V. 17. P. 100390.
- Allameh S.K., Ringø E., Yusoff F.M. et al. Dietary supplement of *Enterococcus faecalis* on digestive enzyme activities, short-chain fatty acid production, immune system response and disease resistance of Javanese carp (*Puntius gonionotus*, Bleeker 1850) // Aqua. Nutrition. 2017. V. 23 (2). P. 331–338.
- Amoah K., Dong X.H., Tan B.P. et al. Effects of three probiotic strains (*Bacillus coagulans*, *B. licheniformis* and *Paenibacillus polymyxa*) on growth, immune response, gut morphology and microbiota, and resistance against *Vibrio harveyi* of northern whittings, *Sillago sihama* Forss-

- kál (1775) // Anim. Feed Sci. Technol. 2021. V. 277. P. 114958.
- Assan D., Kuebutornye F.K.A., Hlordzi V. et al. Effects of probiotics on digestive enzymes of fish (finfish and shellfish); status and prospects: a mini review // Comp. Biochem. Physiol. Part B: Biochem. Mol. Biol. 2022. V. 257. P. 110653.
- Aziza A.E., Awadin W.F., Quezada N. et al. Gastrointestinal morphology, fatty acid profile, and production performance of broiler chickens fed camelina meal or fish oil // Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2014. V. 116 (12). P. 1727–1733.
- Barišić J., Marijić V.F., Mijošek T. et al. Evaluation of architectural and histopathological biomarkers in the intestine of brown trout (*Salmo trutta* Linnaeus, 1758) challenged with environmental pollution // Sci. Tot. Environ. 2018. V. 642. P. 656–664.
- Barroso C., Ozorio R.O., Afonso A. et al. Immune responses and gut morphology in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) fed dietary probiotic supplementation and following exposure to *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* // Aqua. Res. 2016. V. 47 (3). P. 951–960.
- Batista S., Medina A., Pires M.A. et al. Innate immune response, intestinal morphology and microbiota changes in Senegalese sole fed plant protein diets with probiotics or autolysed yeast // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2016. V. 100 (16). P. 7223–7238.
- Batista S., Ramos M.A., Cunha S. et al. Immune responses and gut morphology of Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) fed monospecies and multispecies probiotics // Aqua. Nutr. 2015. V. 21 (5). P. 625–634.
- Beltrán J.M.G., Esteban M.Á. Nature-identical compounds as feed additives in aquaculture // Fish Shellfish Immunol. 2022. V. 123. P. 409–416.
- Bernet D., Schmidt H., Meier W. et al. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution // J. Fish Dis. 1999. V. 22 (1). P. 25–34.
- Bron P.A., Van Baarlen P., Kleerebezem M. Emerging molecular insights into the interaction between probiotics and the host intestinal mucosa // Nat. Rev. Microbiol. 2012. V. 10 (1). P. 66–78.
- Biology, conservation and sustainable development of sturgeons / Eds. R. Carmona, A. Domezain, M. García-Gallego et al. Netherlands: Springer, 2009. V. 468.
- Boonanuntanasarn S., Dittab K., Jangprai A. et al. Effects of microencapsulated *Saccharomyces cerevisiae* on growth, hematological indices, blood chemical, and immune parameters and intestinal morphology in striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* // Prob. Antimicrob. Prot. 2019. V. 11. P. 427–437.
- Buddington R.K., Kroghdahl A., Bakke-McKellep A.M. The intestines of carnivorous fish: structure and functions and the relations with diet // Acta Physiol. Scandinavica. Suppl. 1997. V. 638. P. 67–80.
- Büyükdavacı M.E., Cengizler İ., Balcázar J.L. et al. Effects of two host-associated probiotics *Bacillus mojavensis* B191 and *Bacillus subtilis* MRS11 on growth performance, intestinal morphology, expression of immune-related genes and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Streptococcus iniae* // Dev. Comp. Immunol. 2023. V. 138. P. 104553.
- Canedo A., de Jesus L.W.O., Bailão E.F.L.C. et al. Micro-nucleus test and nuclear abnormality assay in zebrafish (*Danio rerio*): past, present, and future trends // Environ. Poll. 2021. V. 290. P. 118019.
- Castañeda-Monsalve V.A., Junca H., García-Bonilla E. et al. Characterization of the gastrointestinal bacterial microbiome of farmed juvenile and adult white Cachama (*Piaractus brachipomus*) // Aquaculture. 2019. V. 512. P. 734325.
- Cerezuela R., Fumanal M., Tapia-Paniagua S.T. et al. Histological alterations and microbial ecology of the intestine in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) fed dietary probiotics and microalgae // Cell Tiss. Res. 2012. V. 350. P. 477–489.
- Chen X., Xie J., Liu Z. et al. Modulation of growth performance, non-specific immunity, intestinal morphology, the response to hypoxia stress and resistance to *Aeromonas hydrophila* of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by dietary supplementation of a multi-strain probiotic // Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol. 2020. V. 231. P. 108724.
- Chouayekh H., Mohamed R., Moustafa E.M. et al. Effects of dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens* US573 on intestinal morphology and gut microbiota of European sea bass // Prob. Antimicrob. Prot. 2023. V. 15 (1). P. 30–43.
- Darafsh F., Soltani M., Abdolhay H.A. et al. Improvement of growth performance, digestive enzymes and body composition of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) following feeding on probiotics: *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae* // Aqua. Res. 2020. V. 51 (3). P. 957–964.
- Dimitroglou A., Merrifield D.L., Moate R. et al. Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) // J. Anim. Sci. 2009. V. 87 (10). P. 3226–3234.
- Eissa E.S.H., Baghdady E.S., Gaafar A.Y. et al. Assessing the influence of dietary *Pediococcus acidilactici* probiotic supplementation in the feed of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) (Linnaeus, 1758) on farm water quality, growth, feed utilization, survival rate, body composition, blood biochemical parameters, and intestinal histology // Aqua. Nutr. 2022. V. 2022. P. 1–11.
- Eissa M.E.H., Alaryani F.S., Elbahnasw S. et al. Dietary inclusion of *Pediococcus acidilactici* probiotic promoted the growth indices, hemato-biochemical indices, enzymatic profile, intestinal and liver histomorphology, and resistance of Nile tilapia against *Aspergillus flavus* // Anim. Feed Sci. Technol. 2023. V. 306. P. 115814.
- Elias H., Hyde D.M. An elementary introduction to stereology (quantitative microscopy) // Am. J. Anatol. 1980. V. 159 (4). P. 411–446.
- Elsabagh M., Mohamed R., Moustafa E.M. et al. Assessing the impact of *Bacillus* strains mixture probiotic on water quality, growth performance, blood profile and intestinal morphology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* // Aqua. Nutr. 2018. V. 24 (6). P. 1613–1622.

- El-Sayed A.F.M., Fitzsimmons K. From Africa to the world—The journey of Nile tilapia // *Rev. Aquacult.* 2023. V. 15. P. 6–21.
- El-Son M.A.M., Elshopakey G.E., Rezk S. et al. Dietary mixed *Bacillus* strains promoted the growth indices, enzymatic profile, intestinal immunity, and liver and intestinal histomorphology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* // *Aqua. Rep.* 2022. V. 27. P. 101385.
- Falaye A., Emikpe B., Ogundipe E. Influence of *Lactobacillus plantarum* supplemented diet on growth response, gut morphometry and microbial profile in gut of *Clarias gariepinus* fingerlings // *J. Coastal Life Med.* 2016. V. 4 (8). P. 597–602.
- Fang C., Ma M., Ji H. et al. Alterations of digestive enzyme activities, intestinal morphology and microbiota in juvenile paddlefish, *Polyodon spathula*, fed dietary probiotics // *Fish Physiol. Biochem.* 2015. V. 41. P. 91–105.
- FAO. 2022. The state of world fisheries and aquaculture 2022. Towards blue transformation. Rome, 2022. FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Feng T., Wang J. Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review // *Gut Microbes.* 2020. V. 12 (1). P. 1801944.
- Fijan S. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature // *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* 2014. V. 11 (5). P. 4745–4767.
- Firdaus-Nawi M., Zamri-Saad M. Major components of fish immunity: a review // *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.* 2016. V. 39 (4). P. 393–420.
- Ford J.S., Myers R.A. A global assessment of salmon aquaculture impacts on wild salmonids // *PLoS Biol.* 2008. V. 6 (2). P. e33.
- Gisbert E., Castillo M., Skalli A. et al. *Bacillus cereus* var. *toyoi* promotes growth, affects the histological organization and microbiota of the intestinal mucosa in rainbow trout fingerlings // *J. Anim. Sci.* 2013. V. 91 (6). P. 2766–2774.
- González-Félix M.L., Gatlin III D.M., Urquidez-Bejarano P. et al. Effects of commercial dietary prebiotic and probiotic supplements on growth, innate immune responses, and intestinal microbiota and histology of *Totoaba macdonaldi* // *Aquaculture.* 2018. V. 491. P. 239–251.
- Hamidian G., Zirak K., Sheikhzadeh N. et al. Intestinal histology and stereology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) administrated with nanochitosan/zeolite and chitosan/zeolite composites // *Aqua. Res.* 2018. V. 49 (5). P. 1803–1815.
- Han B., Bao N., Ren T. et al. Effects of dietary *Bacillus licheniformis* on growth performance, immunological parameters, intestinal morphology and resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections // *Fish Shellfish Immunol.* 2015. V. 46 (2). P. 225–231.
- Haraz Y.G., Shourbela R.M., El-Hawarry W.N. et al. Performance of juvenile *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia) raised in conventional and biofloc technology systems as influenced by probiotic water supplementation // *Aquaculture.* 2023. V. 566. P. 739180.
- Hassan R., Akter F., Uddin M.A. et al. Intestinal morphology of Thai pangas (*Pangasianodon hypophthalmus*) under probiotic supplemented conditions // *Bangladesh J. Fish.* 2020. V. 32 (2). P. 229–236.
- Hill C., Guarner F., Reid G. et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2014. V. 11 (8). P. 506–514.
- Hossain M.K., Hossain M.M., Mim Z.T. et al. Multi-species probiotics improve growth, intestinal microbiota and morphology of Indian major carp mrigal *Cirrhinus cirrhosus* // *Saudi J. Biol. Sci.* 2022. V. 29 (99). P. 103399.
- Hossain M.K., Ishak S.D., Iehata S. et al. Growth performance, fatty acid profile, gut, and muscle histomorphology of Malaysian mahseer, *Tor tambroides* post larvae fed short-term host associated probiotics // *Aqua. Fish.* 2024. V. 9 (1). P. 35–45.
- Ismail M., Wahdan A., Yusuf M.S. et al. Effect of dietary supplementation with a synbiotic (Lacto Forte) on growth performance, haematological and histological profiles, the innate immune response and resistance to bacterial disease in *Oreochromis niloticus* // *Aqua. Res.* 2019. V. 50 (9). P. 2545–2562.
- Jahan N., Islam S.M., Rohani M.F. et al. Probiotic yeast enhances growth performance of rohu (*Labeo rohita*) through upgrading hematology, and intestinal microbiota and morphology // *Aquaculture.* 2021. V. 545. P. 737243.
- Jang W.J., Lee J.M., Hasan M.T. et al. Effects of probiotic supplementation of a plant-based protein diet on intestinal microbial diversity, digestive enzyme activity, intestinal structure, and immunity in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) // *Fish Shellfish Immunol.* 2019. V. 92. P. 719–727.
- Kalantarian S., Mirzargar S.S., Rahmati-Holasoo H. et al. Effects of oral administration of acidifier and probiotic on growth performance, digestive enzymes activities and intestinal histomorphology in *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877) // *Iran. J. Fish. Sci.* 2020. V. 19 (3). P. 1532–1555.
- Kochetkov N., Smorodinskaya S., Vatlin A. et al. Ability of *Lactobacillus brevis* 47f to alleviate the toxic effects of imidacloprid low concentration on the histological parameters and cytokine profile of zebrafish (*Danio rerio*) // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24 (15). P. 12290.
- Kryvi H., Eide A. Morphometric and autoradiographic studies on the growth of red and white axial muscle fibres in the shark *Etmopterus spinax* // *Anatom. Embryol.* 1977. V. 151. P. 17–28.
- Kuebutornye F.K.A., Wang Z., Lu Y. et al. Effects of three host-associated *Bacillus* species on mucosal immunity and gut health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and its resistance against *Aeromonas hydrophila* infection // *Fish Shellfish Immunol.* 2020. V. 97. P. 83–95.
- La Fata G., Weber P., Mohajeri M.H. Probiotics and the gut immune system: indirect regulation // *Prob. Antimicrob. Prot.* 2018. V. 10. P. 11–21.
- Langlois L., Akhtar N., Tam K.C. et al. Fishing for the right probiotic: host–microbe interactions at the interface of effective aquaculture strategies // *FEMS Microbiol. Rev.* 2021. V. 45 (6). P. fuab030.

- Lai S., Yu W., Wallace L. et al. Intestinal muscularis propria increases in thickness with corrected gestational age and is focally attenuated in patients with isolated intestinal perforations // J. Pediatr. Surg. 2014. V. 49 (1). P. 114–119.
- Lauzon H.L., Ringø E. Prevalence and application of lactic acid bacteria in aquatic environments // Lactic Acid Bacteria. Microbiological and functional aspects, 4th ed. Boca Raton, FL.: CRC press, 2012. P. 593–631.
- Lazado C.C., Caipang C.M.A. Mucosal immunity and probiotics in fish // Fish Shellfish Immunol. 2014. V. 39 (1). P. 78–89.
- Lee S., Katya K., Park Y. et al. Comparative evaluation of dietary probiotics *Bacillus subtilis* WB60 and *Lactobacillus plantarum* KCTC3928 on the growth performance, immunological parameters, gut morphology and disease resistance in Japanese eel, *Anguilla japonica* // Fish Shellfish Immunol. 2017. V. 61. P. 201–210.
- Li X., Ringø E., Hoseinifar S.H. et al. The adherence and colonization of microorganisms in fish gastrointestinal tract // Rev. Aquacult. 2019. V. 11 (3). P. 603–618.
- Li Z., Bao N., Ren T. et al. The effect of a multi-strain probiotic on growth performance, non-specific immune response, and intestinal health of juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* L // Fish Physiol. Biochem. 2019. V. 45. P. 1393–1407.
- Lin Y.H., Lin S.M., Shiao S.Y. Dietary manganese requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* // Aquaculture. 2008. V. 284 (1–4). P. 207–210.
- Liu C.H., Chiu C.H., Wang S.W. et al. Dietary administration of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, enhances the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides* // Fish Shellfish Immunol. 2012. V. 33 (4). P. 699–706.
- Liu Q., Wen L., Pan X. et al. Dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecalis* can effectively improve the growth performance, immunity, and resistance of tilapia against *Streptococcus agalactiae* // Aqua. Nutr. 2021. V. 27 (4). P. 1160–1172.
- Llewellyn M.S., Kumar P., Sivachandran P. et al. Teleost microbiomes: the state of the art in their characterization, manipulation and importance in aquaculture and fisheries // Front. Microbiol. 2014. V. 5. P. 81340.
- López Nadal A., Boekhorst J., Lute C. et al. Omics and imaging combinatorial approach reveals butyrate-induced inflammatory effects in the zebrafish gut // Anim. Microbiome. 2023. V. 5 (1). P. 15.
- Magnadóttir B. Innate immunity of fish (overview) // Fish Shellfish Immunol. 2006. V. 20 (2). P. 137–151.
- Martin F.D., Malloy R. Histologic and morphometric criteria for assessing nutritional state in larval striped bass, *Morone saxatilis* // Proc. 4th Annual Larval Fish Workshop. 1980. P. 157–161.
- Martínez Cruz P., Ibáñez A.L., Monroy Hermosillo O.A. et al. Use of probiotics in aquaculture // Int. School. Res. Not. 2012. V. 2012.
- Merrifield D.L., Dimitroglou A., Foey A. et al. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids // Aquaculture. 2010. V. 302 (1–2). P. 1–18.
- Miki M., Ohishi N., Nakamura E. et al. Improved fixation of the whole bodies of fish by a double-fixation method with formalin solution and Bouin's fluid or Davidson's fluid // J. Toxicol. Pathol. 2018. V. 31 (3). P. 201–206.
- Milián-Sorribes M.C., Martínez-Llorens S., Cruz-Castellón C. et al. Effect of fish oil replacement and probiotic addition on growth, body composition and histological parameters of yellowtail (*Seriola dumerili*) // Aqua. Nutr. 2021. V. 27 (1). P. 3–16.
- Mokhtar D.M., Zaccane G., Alesci A. et al. Main components of fish immunity: an overview of the fish immune system // Fishes. 2023. V. 8 (2). P. 93.
- Moroni F., Naya-Català F., Piazzon M.C. et al. The effects of nisin-producing *Lactococcus lactis* strain used as probiotic on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) growth, gut microbiota, and transcriptional response // Front. Marine Sci. 2021. V. 8. P. 659519.
- Natnan M.E., Low C.F., Chong C.M. et al. Integration of omics tools for understanding the fish immune response due to microbial challenge // Front. Marine Sci. 2021. V. 8. P. 668771.
- Nakandakare I.B., Iwashita M.K.P., Dias D.D.C. et al. Growth performance and intestinal histomorphology of Nile tilapia juveniles fed probiotics // Acta Sci. Anim. Sci. 2013. V. 35. P. 365–370.
- Nayak S.K. Probiotics and immunity: a fish perspective // Fish Shellfish Immunol. 2010. V. 29 (1). P. 2–14.
- Naylor R.L., Hardy R.W., Buschmann A.H. et al. A 20-year retrospective review of global aquaculture // Nature. 2021. V. 591 (7851). P. 551–563.
- Nikiforov-Nikishin A., Nikiforov-Nikishin D., Kochetkov N. et al. The influence of probiotics of different microbiological composition on histology of the gastrointestinal tract of juvenile *Oncorhynchus mykiss* // Microsc. Res. Techn. 2022a. V. 85 (2). P. 538–547.
- Nikiforov-Nikishin A., Smorodinskaya S., Kochetkov N. et al. Effects of three feed additives on the culturable microbiota composition and histology of the anterior and posterior intestines of Zebrafish (*Danio rerio*) // Animals. 2022b. V. 12 (18). P. 2424.
- Nikiforov-Nikishin D., Kochetkov N., Klimov V. et al. Effects of chelated complexes and probiotics on histological and morphometric parameters of the gastrointestinal tract of juvenile carp (*Cyprinus carpio*) // New Zealand J. Zool. 2023. V. 50 (3). P. 394–405.
- Nimalan N., Sørensen S.L., Fečkaninová A. et al. Supplementation of lactic acid bacteria has positive effects on the mucosal health of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed soybean meal // Aqua. Rep. 2023. V. 28. P. 101461.
- Ntakirutimana R., Syanya F.J., Mwangi P. Exploring the impact of probiotics on the gut ecosystem and morpho-histology in fish: current knowledge of tilapia // Asian J. Fish. Aqua. Res. 2023. V. 25 (3). P. 93–112.
- Nunes A.L., Owatari M.S., Rodrigues R.A. et al. Effects of *Bacillus subtilis* C-3102-supplemented diet on growth, non-specific immunity, intestinal morphometry and resistance of hybrid juvenile *Pseudoplatystoma* sp. challenged with *Aeromonas hydrophila* // Aqua. Internat. 2020. V. 28. P. 2345–2361.

- Oropesa A.L., Jiménez B., Fallola C. et al. Histological alterations on the structure of the excretory renal system in tench (*Tinca tinca*) after exposure to 17- α -ethynylestradiol // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2013. V. 91. P. 623–629.
- Picchietti S., Fausto A.M., Randelli E. et al. Early treatment with *Lactobacillus delbrueckii* strain induces an increase in intestinal T-cells and granulocytes and modulates immune-related genes of larval *Dicentrarchus labrax* (L.) // Fish Shellfish Immunol. 2009. V. 26 (3). P. 368–376.
- Pirarat N., Pinpimai K., Endo M. et al. Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG // Res. Vet. Sci. 2011. V. 91 (3). P. e92–e97.
- Poolsawat L., Li X., He M. et al. *Clostridium butyricum* as probiotic for promoting growth performance, feed utilization, gut health and microbiota community of tilapia (*Oreochromis niloticus* $\times$ *O. aureus*) // Aqua. Nutr. 2020. V. 26 (3). P. 657–670.
- Ramos M.A., Batista S., Pires M.A. et al. Dietary probiotic supplementation improves growth and the intestinal morphology of Nile tilapia // Animal. 2017a. V. 11 (8). P. 1259–1269.
- Ramos M.A., Gonçalves J.F.M., Batista S. et al. Growth, immune responses and intestinal morphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) supplemented with commercial probiotics // Fish Shellfish Immunol. 2015. V. 45 (1). P. 19–26.
- Ramos M.A., Gonçalves J.F., Costas B. et al. Commercial *Bacillus* probiotic supplementation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta*): growth, immune responses and intestinal morphology // Aqua. Res. 2017b. V. 48 (5). P. 2538–2549.
- Rašković B., Čičovački S., Ćirić M. et al. Integrative approach of histopathology and histomorphometry of common carp (*Cyprinus carpio* L.) organs as a marker of general fish health state in pond culture // Aqua. Res. 2016. V. 47 (11). P. 3455–3463.
- Reda R.M., Selim K.M. Evaluation of *Bacillus amyloliquefaciens* on the growth performance, intestinal morphology, hematology and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* // Aqua. Internat. 2015. V. 23. P. 203–217.
- Ringø E., Zhou Z., Vecino J.G. et al. Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story? // Aqua. Nutr. 2016. V. 22 (2). P. 219–282.
- Ruiz M.L., Owatari M.S., Yamashita M.M. et al. Histological effects on the kidney, spleen, and liver of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed different concentrations of probiotic *Lactobacillus plantarum* // Trop. Anim. Health Prod. 2020. V. 52. P. 167–176.
- Sadeghi J., Chaganti S.R., Heath D.D. Regulation of host gene expression by gastrointestinal tract microbiota in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) // Mol. Ecol. 2023. V. 32 (15). P. 4427–4446.
- Samanya M., Yamauchi K. Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. *natto* // Comp. Biochem. Physiol. Part A: Mol. Integr. Physiol. 2002. V. 133 (1). P. 95–104.
- Saravanan K., Sivaramakrishnan T., Praveenraj J. et al. Effects of single and multi-strain probiotics on the growth, hemato-immunological, enzymatic activity, gut morphology and disease resistance in Rohu, *Labeo rohita* // Aquaculture. 2021. V. 540. P. 736749.
- Sewaka M., Trullas C., Chotiko A. et al. Efficacy of synbiotic Jerusalem artichoke and *Lactobacillus rhamnosus* GG-supplemented diets on growth performance, serum biochemical parameters, intestinal morphology, immune parameters and protection against *Aeromonas veronii* in juvenile red tilapia (*Oreochromis* spp.) // Fish Shellfish Immunol. 2019. V. 86. P. 260–268.
- Shefat S.H.T. Probiotic strains used in aquaculture // Int. Res. J. Microbiol. 2018. V. 7 (2). P. 43–55.
- Shekarabi S.P.H., Zarak K., Sheikhzadeh N. et al. The multi-enzymes and probiotics mixture improves the growth performance, digestibility, intestinal health, and immune response of Siberian sturgeon // Ann. Anim. Sci. 2022. V. 22 (3). P. 1063–1072.
- Simón R., Docando F., Nuñez-Ortiz N. et al. Mechanisms used by probiotics to confer pathogen resistance to teleost fish // Front. Immunol. 2021. V. 12. P. 653025.
- Soliman N.F., Yacout D.M.M. Aquaculture in Egypt: status, constraints and potentials // Aqua. Internat. 2016. V. 24. P. 1201–1227.
- Standen B.T., Peggs D.L., Rawling M.D. et al. Dietary administration of a commercial mixed-species probiotic improves growth performance and modulates the intestinal immunity of tilapia, *Oreochromis niloticus* // Fish Shellfish Immunol. 2016. V. 49. P. 427–435.
- Standen B.T., Rodiles A., Peggs D.L. et al. Modulation of the intestinal microbiota and morphology of tilapia, *Oreochromis niloticus*, following the application of a multi-species probiotic // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2015. V. 99. P. 8403–8417.
- Sumon M.A.A., Sumon T.A., Hussain M.A. et al. Single and multi-strain probiotics supplementation in commercially prominent finfish aquaculture: review of the current knowledge // J. Microbiol. Biotechnol. 2022. V. 32 (6). P. 681.
- Tabassum T., Mahamud A.S.U., Acharjee T.K. et al. Probiotic supplementations improve growth, water quality, hematology, gut microbiota and intestinal morphology of Nile tilapia // Aqua. Rep. 2021. V. 21. P. 100972.
- Takagi Y., Yamada J. Effects of calcium and phosphate deficiencies on bone metabolism in a teleost, tilapia (*Oreochromis niloticus*): a histomorphometric study // Mechanisms and phylogeny of mineralization in biological systems: 'Biomimetalization' 90. Japan: Springer, 1991. P. 187–191.
- Theilacker G.H. Effect of starvation on the histological and morphological characteristics of jack mackerel, *Trachurus symmetricus*, larvae // Fish. Bull. 1978. V. 76 (2). P. 403–414.
- Troell M., Naylor R.L., Metian M. et al. Does aquaculture add resilience to the global food system? // PNAS USA. 2014. V. 111 (37). P. 13257–13263.

- Wang P., Ji J., Zhang Y. Aquaculture extension system in China: development, challenges, and prospects // Aqua. Rep. 2020. V. 17. P. 100339.
- Wanka K.M., Damerau T., Costas B. et al. Isolation and characterization of native probiotics for fish farming // BMC Microbiol. 2018. V. 18. P. 1–13.
- Won S., Hamidoghli A., Choi W. et al. Effects of *Bacillus subtilis* WB60 and *Lactococcus lactis* on growth, immune responses, histology and gene expression in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* // Microorganisms. 2016. V. 8 (1).
- Wuertz S., Schroeder A., Wanka K.M. Probiotics in fish nutrition—long-standing household remedy or native nutraceuticals? // Water. 2021. V. 13 (10). P. 1348.
- Xia Y., Lu M., Chen G. et al. Effects of dietary *Lactobacillus rhamnosus* JCM1136 and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* JCM5805 on the growth, intestinal microbiota, morphology, immune response and disease resistance of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* // Fish Shellfish Immunol. 2018. V. 76. P. 368–379.
- Xia Y., Wang M., Gao F. et al. Effects of dietary probiotic supplementation on the growth, gut health and disease resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) // Anim. Nutrition. 2020. V. 6 (1). P. 69–79.
- Yang G., Cao H., Jiang W. et al. Dietary supplementation of *Bacillus cereus* as probiotics in Pengze crucian carp (*Carassius auratus* var. *Pengze*): Effects on growth performance, fillet quality, serum biochemical parameters and intestinal histology // Aqua. Res. 2019. V. 50 (8). P. 2207–2217.
- Yeganeh Rastekenari H., Kazami R., Shenavar Masouleh A. et al. Autochthonous probiotics *Lactococcus lactis* and *Weissella confusa* in the diet of fingerlings great sturgeon, *Huso huso*: effects on growth performance, feed efficiency, haematological parameters, immune status and intestinal morphology // Aqua. Res. 2021. V. 52 (8). P. 3687–3695.
- Yukgehnaish K., Kumar P., Sivachandran P. et al. Gut microbiota metagenomics in aquaculture: factors influencing gut microbiome and its physiological role in fish // Rev. Aquacult. 2020. V. 12 (3). P. 1903–1927.
- Zare R., Abedian Kenari A., Yazdani Sadati M. Influence of dietary acetic acid, protexin (probiotic), and their combination on growth performance, intestinal microbiota, digestive enzymes, immunological parameters, and fatty acids composition in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) // Aqua. Internat. 2021. V. 29. P. 891–910.
- Zhang J., Huang M., Feng J. et al. Effects of dietary *Bacillus licheniformis* on growth performance, intestinal morphology, intestinal microbiome, and disease resistance in common carp (*Cyprinus carpio* L.) // Aqua. Internat. 2021. V. 29. P. 1343–1358.

Modern Approaches to Investigating the Effectiveness of Probiotics in Aquaculture

N. I. Kochetkov^{a, b, *}, D. L. Nikiforov-Nikishin^{a, b}, A. A. Klimuk^{a, b}, S. V. Smorodinskaya^{a, b},
A. L. Nikiforov-Nikishin^a, M. V. Marsova^{b, **}, A. A. Vatlin^b, V. A. Klimov^a

^aFaculty of Biotechnology and Fisheries, Moscow State University of Technologies and Management (FCU), Moscow, Russia

^bLaboratory of Bacterial Genetics, Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

*e-mail: samatrixs@gmail.com, **masha_marsova@mail.ru

This review summarizes the available scientific data on the use of probiotics of different microbiological compositions in aquaculture, showing the effects of probiotics at physiological, tissue, and cellular levels, including those assessed by morphometric methods. Additionally, this paper systematizes data on the objects of study, the most commonly used probiotics, their concentrations, and research methods. It was found that the most studied aquaculture species in the use of probiotics are *Oreochromis niloticus* (35.9%), *Oncorhynchus mykiss* (6.2%), and *Cyprinus carpio* (4.6%). Experiments on these species are usually conducted under controlled conditions (pools, aquariums, RAS), and the duration of experiments varied from 20 to 140 days. The most frequently used microorganisms as probiotics are bacteria of the genera *Bacillus* (41.6%) and *Lactobacillus* (24.3%); the remaining 34.1% are other microorganisms of allochthonous or autochthonous origin. In most studies, the effect of probiotics was observed at concentrations of 1×10^6 to 1×10^9 CFU/g feed. Probiotics show varying efficacy, most often positively affecting growth performance, activity of digestive enzymes, gut microbiome, expression of genes associated with immunity, and resistance to pathogens. In most cases, probiotics had no effect on tissue nutrient composition, hematologic, biochemical, and immunologic parameters. Among the histomorphometric methods used when studying probiotics, the most frequently examined indicators are those characterizing the morphology of villi, layers composing the intestine, the composition of immunocompetent cells, microvilli, and goblet cells. The response to probiotic exposure was most often noted in villus height, number of goblet cells, villus area, number of intraepithelial lymphocytes, and microvilli area of intestinal epithelial tissues. Most authors agree on the need to use a systematic approach to study probiotics.

Keywords: probiotics, fish farming, aquaculture, fish biology, physiology, histology

УДК 575.21

ОРГАНИЗАЦИЯ БАНКА БИОМАТЕРИАЛОВ И ДНК ДЛЯ ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЖИВОТНЫХ

© 2024 г. В. Н. Воронкова^{1, *}, А. К. Пискунов¹, Э. А. Солошенко¹, Ж. В. Самсонова^{1, 2},
Ю. А. Столповский¹

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*e-mail: valery.voronkova@gmail.com

Поступила в редакцию 08.05.2024 г.

После доработки 17.05.2024 г.

Принята в печать 27.05.2024 г.

Биобанки играют важную роль в популяционно-генетических исследованиях животных, так как представляют собой ценный ресурс для сохранения генетического разнообразия *ex situ* и исследований в области эволюции, зоологии, экологии и генетики. Одной из основных задач биобанков является сохранение образцов генетического материала различных видов животных, что позволяет сохранить информацию о генетическом разнообразии и поддерживать популяции *in situ*. Это особенно актуально для редких и уязвимых видов, пород животных и сортов растений, у которых генетическое разнообразие может снижаться из-за сокращения численности популяций. Биобанки позволяют обмениваться образцами и данными, что играет важную роль в изучении эволюции и происхождения различных видов, помогая ученым исследовать процессы дивергенции и адаптации. Они также служат источником для работ при изучении генетических заболеваний, поведенческих особенностей, взаимодействия видов в экосистемах. Биобанк является базой для проведения различных видов генетических исследований, таких как секвенирование геномов, исследование филогенеза, анализа изменчивости ДНК и функциональной геномики, что в свою очередь предоставляет возможность для разработки новых методов детекции генетических заболеваний, геномной селекции, а также для сохранения и восстановления популяций животных. Таким образом, биобанкирование играет важную роль в популяционно-генетических исследованиях животных, предоставляя ученым доступ к широкому спектру генетической информации, необходимой для понимания и сохранения биоразнообразия нашей планеты. Вопрос экологического и эффективного хранения биоматериала как никогда актуален. В данном обзоре мы рассматриваем различные подходы к организации банка биоматериалов и ДНК в сфере популяционно-генетических исследований животных, особенности их сбора, транспортировки, процессинга и хранения.

Ключевые слова: биобанк, хранение биоматериала и ДНК, экстракция ДНК, транспортировка биоматериалов, технология сухих пятен крови

DOI: 10.31857/S0042132424050067 EDN: OGGJGU

ВВЕДЕНИЕ

Стремительный прогресс в сфере геномных технологий позволяет получать огромные массивы информации в короткие сроки, а также эффективно использовать биоматериал с различной степенью сохранности ДНК. Требования к качеству исходного материала варьируют в зависимости от целей исследований и применяемых

технологий (Love Stowell et al., 2018). Подход к хранению образцов нуждается в модернизации и оптимизации, чтобы соответствовать современным нуждам исследователей (Caenazzo et al., 2020). В научном сообществе биобанки создаются уже более 100 лет различными учреждениями по всему миру (De Souza et al., 2013). Биобанки представляют собой большие хранилища био-

образцов, начиная от образцов животных и заканчивая образцами растений и микробов, которые используются в исследовательских целях. В мире существует более 100 национальных банков генов животных, и некоторые из них имеют значительные коллекции; например, коллекции США и Бразилии насчитывают 1.3 млн и 1.9 млн образцов от 64 932 и 30 168 животных, соответственно (Blackburn et al., 2024). По данным GGBN (Global Genome Biodiversity Network) всего 13 записей относятся к domestичицированным видам животных (Groeneveld et al., 2016). В Европе по данным EUGENA (European Genebank Network for Animal Genetic Resources) на 2023 г. зарегистрировано 14 биобанков образцов животных (табл. 1, <https://www.eugena-erfp.net/en/>).

Во многих странах можно обнаружить несколько небольших биобанков домашних животных и менее формализованных коллекций образцов. Учреждения, в которых они размещены, варьируют от ветеринарных клиник, зоопарков, компаний по разведению и диагностике, национальных генетических банков сельскохозяйственных животных до научно-исследовательских институтов и университетов (Groeneveld et al., 2016). Перечислим наиболее известные из крупных биобанков (табл. 2). Биобанк NMNH (США), входящий в состав Нацио-

нального музея естественной истории в Вашингтоне, считается одним из крупнейших музейных биохранилищ образцов естественной истории. В настоящее время его емкость превышает 42 млн криообразцов. Frozen Ark (Великобритания): это международный проект, организованный на базе нескольких десятков исследовательских лабораторий, в которых хранится замороженный клеточный материал редких и вымирающих видов. San Diego Zoo’s Frozen Zoo (США) — это биобанк, который содержит замороженные образцы тканей и клеток от различных видов животных из зоопарка Сан-Диего. Он используется для исследований, сохранения видов и программ разведения. Copenhagen Zoo’s Genome Bank (Дания) — это биобанк, который содержит генетические образцы различных видов животных из Копенгагенского зоопарка. Он используется для исследований в области консервации и генетики животных. National Resource Center for Non-Human Primates (США) — это биобанк, который содержит широкий спектр образцов от обезьян и других приматов. Он предоставляет исследователям доступ к материалам для исследования различных аспектов поведения, здоровья и генетики приматов. Примером крупного биобанка на территории Российской Федерации может служить УНУ “Банк генетического материала

Таблица 1. Список биобанков, входящих в EUGENA (European Genebank Network for Animal Genetic Resources) по данным на 2023 г.

Название	Страна	Год вступления в EUGENA	Число образцов	Число видов	Число пород
CGN	Голландия	2018	547886	11	154
AREC Raumberg-Gumpenstein	Австрия	2017	421389	4	46
MCB Sp. z o. o.	Польша	2022	382055	1	8
INIAV	Португалия	2023	265929	6	40
Temerin	Сербия	2018	261133	1	3
BNGA	Испания	2019	107066	6	66
NBBM	Польша	2019	54215	3	12
NCBGC	Венгрия	2022	18757	10	31
GB NPPC-VÚŽV	Словакия	2021	4250	5	15
LBTU	Венгрия	2021	3318	5	6
IMGGE	Сербия	2021	1788	3	14
IAH	Сербия	2023	1109	4	14
SVCVP	Сербия	2018	585	1	1
UMo, BTF	Черногория	2017	568	3	8

Таблица 2. Примеры биобанков, хранящих различные типы замороженного биоматериала животных

Название	Число образцов	Число видов	Страна
National Museum of Natural History	4200000	18000	США
National Animal Germplasm Program	1281819	40	США
Frozen Ark	48000	5500	Великобритания
BioBankSA	80000	500	ЮАР
Australian Frozen Zoo	50000	298	Австралия
The National CryoBank	30000	—	Канада
Conservation Genome Resource Bank for Korean Wildlife	13475	407	Корея
San Diego Zoo's Frozen Zoo	11000	1300	США
Kunming Wild Animal Cell Bank	1455	289	Китай
УНУ “Банк генетического материала домашних и диких видов животных и птицы” ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста	200000	22	РФ

домашних и диких видов животных и птицы” ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, в котором хранится коллекция ткани и ДНК более 200000 животных различных видов и на основе которого проводятся масштабные популяционно-генетические исследования животных (Абдельманова и др., 2021; Харзинова и др., 2022). На базе Московского зоологического парка создан криобанк для сохранения генетических ресурсов редких видов животных в целях получения потомства методом искусственного оплодотворения, для изучения особенностей репродукции и морфофизиологических характеристик гамет и эмбрионов, изучения и сохранения генетического разнообразия (Максудов и др., 2014; Maksudov et al., 2009).

Все типы биообразцов хранятся в биобанке в течение длительного, но ограниченного времени. В традиционных биобанках образцы хранятся в больших морозильных камерах и других хранилищах до тех пор, пока не понадобятся. В 1998 г. в рекомендациях было предложено собирать и хранить в генных банках эффективную популяцию из 50 неродственных видов животных для каждой породы, что позволило бы обеспечить средний уровень инбридинга в 1% на поколение при восстановлении (Blackburn, 2018). Для хранения в биобанках максимально неродственных видов животных обычно отбирают образцы путем генетического анализа. Наиболее распространенным методом является сравнение генетического кода с помощью полиморфных маркеров, таких как микросателлиты (STR) или

SNP-маркеры. Данные исследования позволяют определить степень родства между животными и выбрать наиболее неродственные особи для хранения в биобанке. Также важным критерием при отборе животных является их генетическое разнообразие, поэтому предпочтение отдается особям с наиболее уникальным генотипом. В популяционно-генетических исследованиях животных наиболее часто используются образцы крови, тканей, волосные фолликулы, сперма, молоко, фекалии, перья и изредка соскобы буккального эпителия (Muller et al., 2016). Подробнее рассмотрим различные типы биоматериала и особенности их хранения, транспортировки и выделения из них ДНК.

ХРАНЕНИЕ БИОМАТЕРИАЛОВ

Для хранения жидких образцов необходимо наличие специальных морозильных камер, которые способны поддерживать заданные параметры (-20°C , -80°C , -196°C), однако они занимают много пространства и потребляют значительное количество энергии, что совместно с выбросом тепла и трудностью переработки фреона делают данный способ наименее экологичным. Зачастую трудно учесть все сопутствующие издержки. Резервные морозильные камеры, генераторы, круглосуточное дежурство персонала, техническое обслуживание, безопасность, управление качеством и кондиционирование воздуха — лишь некоторые из затрат, связанных с хранением биообразцов в морозильном оборудовании.

довании (Muller et al., 2016). Забор крови путем венепункции требует своевременной обработки путем центрифугирования и разделения на аликвоты, что весьма время- и трудозатратно (McClendon-Weary et al., 2020). В качестве альтернативного метода хранения биообразцов, который является экономически эффективным и логистически привлекательным, следует отметить организацию хранения образцов при температуре окружающей среды (Lou et al., 2014; Muller et al., 2016). Способность стабилизировать биообразцы при температуре окружающей среды в течение продолжительных периодов времени может представлять эксплуатационные преимущества как при длительном хранении, так и при транспортировке образцов. Одной из проблем биобанков является резервное копирование образцов в географически отдельное место, чтобы снизить риск повреждения морозильной камеры при форсмажорных обстоятельствах. Возможность создания резервных образцов, хранящихся при комнатной температуре, может снизить потребность в дополнительных площадях при организации хранения. Однако при общей привлекательности организации хранения образцов при температуре окружающей среды существует острая потребность в технологиях по стабилизации длительного хранения образцов и нуклеиновых кислот, которые обеспечивают экономичное и простое хранение биологических образцов при температуре окружающей среды и не требуют соблюдения холодовой цепи при транспортировке и сложных протоколов восстановления образцов (Lou et al., 2014; Muller et al., 2016).

Хранение тканей можно осуществлять в высушенном виде в комнатных условиях в отдельных вентилируемых упаковках для избежания роста грибов и бактерий. Данный способ оказывает минимальное негативное воздействие на внешнюю среду, однако деградация ДНК происходит достаточно быстро, а процесс выделения ДНК из сухой ткани более трудоемкий и длительный, чем для, например, крови. Для наилучшей сохранности ДНК оптимально как можно быстрее замораживать полученный материал, так как хранение при температуре выше 4°C в течение нескольких дней лишает исследователей возможности выделить полноценную ДНК из проб (Al-Griw et al., 2017). Фиксация в спирте позволяет осуществить транспортировку образцов ткани при комнатных температурах без предварительного высушивания, однако дальнейшее хранение оптимально проводить в холодильном оборудовании. Перед выделением нуклеиновых кислот материал требует тщательной сушки от спирта, однако лизис происходит быстрее, чем

с высушенными образцами. В животноводстве сейчас набирает популярность метод одномоментного маркирования ушными бирками и сбора ткани из места прокола в стерильную номерную пробирку с консервантом, что позволяет избежать контаминации, ошибок маркирования и быстрой деградации биоматериала (Бекетов и др., 2024). В зависимости от типа консерванта такие пробы можно хранить при комнатной температуре от одной недели до одного месяца.

Менее инвазивным и более бережным по отношению к домашним животным является использование соматических клеток молока для получения генетического материала. Стандартными методами из молока не удастся получить достаточное количество ДНК для геномных исследований, лишь для амплификации митохондриальных генов или коротких микросателлитных локусов. Поэтому требуется модификация традиционных протоколов выделения предварительным центрифугированием большого объема молока (12–14 мл) при отборе достаточного количества клеток для последующего получения 12–45 нг/мкл ДНК (Liu et al., 2014). В настоящее время существуют наборы, позволяющие хранить молоко при комнатных условиях месяц до момента выделения ДНК (Norgen's Milk DNA Preservation and Isolation Kit).

Для племенных животных в качестве биоматериала успешно используется сперма. Уникальная упаковка ДНК сперматозоидов делает их устойчивыми к методам выделения ДНК, применяемым для соматических клеток. Во всех существующих протоколах для получения доступа к ДНК сперматозоидов используется комбинация трех компонентов: детергенты и/или хаотропные соли для облегчения лизиса клеток; протеиназа К для переваривания ядерных белков; восстановители для разрушения дисульфидных связей между протаминами (Wu et al., 2015). В целом для выделения ДНК из спермы животных подходят традиционные коммерческие наборы, такие как Chelex-100 (Bio-Rad, USA) и DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, USA). Первый позволяет получить более высокие концентрации ДНК, а колонки второго успешнее очищают от загрязнений (Silva et al., 2014).

В качестве источника нуклеиновых кислот благодаря легкости сбора зачастую предпочтение отдается волосным фолликулам, которые имеют преимущества хранения сухих биоматериалов, однако количества и качества получаемой ДНК достаточно лишь для микросателлитного анализа и генотипирования по нескольким десяткам SNP. Для получения более высоких концентраций ДНК требуется использовать

не менее 40 фолликулов и хранить их при 4°C (Gurau et al., 2021).

При изучении диких животных, не являющихся объектом промысла, получение биоматериала непосредственно от индивида зачастую невозможно. В подобных случаях одним из вариантов является сбор фекалий, которые можно фиксировать в спирте или высушивать для транспортировки. Процедура выделения ДНК из образцов фекалий весьма трудозатратна, выход и качество ДНК крайне низкие при высоком уровне контаминации. Полученная таким образом ДНК может быть использована лишь для ограниченного числа экспериментов, не требующих большого ее количества и сохранности цепей, таких как, например, микросателлитный анализ. Однако для некоторых STR-локусов все равно требуется синтез альтернативных праймеров, чтобы обеспечить амплификацию сильно деградированной ДНК в пределах 100–150 п. н. (Dimsoski et al., 2017).

Транспортировка образцов

Для популяционно-генетических исследований вопрос получения и транспортировки образцов имеет особое значение. В условиях экспедиции и полевой работы зачастую нет доступа к постоянному источнику электропитания, что делает невозможным соблюдение необходимого температурного режима. Кроме того, может не соблюдаться оптимальный для сохранения целостности проб промежуток времени между сбором, хранением и анализом, что снижает достоверность данных (Fouts et al., 2020).

Определенные трудности при работе с животными, особенно дикими, заключаются непосредственно в получении биоматериалов, поскольку далеко не каждое животное позволит человеку приблизиться и, тем более, взять пробы. Для дистанционного сбора образцов тканей животных используют дистанционный ветеринарный инъектор или арбалет, снабженные дротиком с биопсийной иглой. При попадании в животного биопсийная игла вырезает кусочек кожного покрова, затем она выпадает самостоятельно или ее выдергивают за привязанный к дротику тросик (Spasskaya et al., 2022). Животные, добытые охотниками или с использованием ловушек, а также пробы, полученные при помощи чесалок для сбора шерсти на местах проходов животных (тропы, выходы из нор и т. п.) и местах маркирования участков обитания у территориальных видов, могут быть полезным ресурсом для исследования генофондов диких животных (Yu et al., 2007; Sintasath et al., 2009; Curry et al., 2011; Aston et al., 2014).

Для сохранения нуклеиновых кислот подходят определенные способы фиксации: наиболее часто применяется 96%-ный этиловый спирт или сушка образцов. Для предотвращения свертывания крови используют специальные вакуумные пробирки с нанесенными на стенки К2 или К3 солями ЭДТА, связывающими ионы кальция, однако без холодильного оборудования гемолиз будет лишь отложен на 24 ч. Жидкие образцы крови, слюны и других биологических жидкостей в полевых условиях легко нанести на узкую стекловолоконную мембрану, высушивать в течение 1–2 ч без необходимости использования специального оборудования и затем транспортировать в лаборатории в бумажном конверте почтой или курьерской службой (Samsonova et al., 2022). Данный способ не требует соблюдения особого температурного режима, пробы занимают мало места и долго хранятся. Для снижения риска деградации нуклеиновых кислот возможно применение мембранных материалов предварительно обработанных ингибиторами нуклеаз и другими консервантами. Например, коммерческие FTA-карты (Flinders Technology Association) содержат реактивы для лизиса клеток, денатурации белков и защиты нуклеиновых кислот от нуклеаз, окисления и разрушения УФ-излучением. Также возможно использование бактерицидных и фунгицидных агентов для предотвращения контаминации образцов.

Сообщается о положительном опыте выделения ДНК животных из сухих пятен крови (Fowler et al., 2012; Samsonova et al., 2022), молока (Venkatesh, Gopal, 2018) и гомогената насекомых (Desloire et al., 2006) и проведения генетических исследований через несколько лет хранения таких образцов на целлюлозных картах при температуре окружающей среды. Представлен также (Miller et al., 2013) подход к сбору и хранению сухих образцов ДНК насекомых на мембранном носителе при комнатной температуре, при котором стабильность хранения таких образцов составляла не менее двух лет. Анализ опубликованных работ, в которых затронуты различные аспекты по транспортировке и хранению сухих пятен биологических жидкостей животных, показал, что в большинстве случаев высушенные образцы с целевыми аналитами можно транспортировать в лабораторию в условиях окружающей среды или даже при повышенной температуре (37°C) без потери стабильности в течение как минимум 7 дней, впрочем, нередко такие образцы могут храниться гораздо дольше (Samsonova et al., 2022). Однако, как отмечают некоторые авторы, влажность, вероятно, является наиболее критическим параметром в момент сбора и при хранении высушенных образцов, в

том числе для генетических исследований (Love Stowell et al., 2018). В любом случае сухое хранение необходимо не только для устойчивости целевого анализита в сухой пробе, но также для предотвращения заплесневения и потенциального загрязнения мембраны/образца. И в этом отношении перспективным является использование носителей биопроб из ненатуральных материалов, например, из полимерных или стеклянных волокон, слабо подверженных биоразложению.

Использование технологии сухих пятен крови для хранения биологического материала и проведения генетических исследований

Технология сухих пятен крови (СПК, от англ. — Dried Blood Spots, DBS) имеет множество преимуществ по сравнению с другими способами хранения крови благодаря сокращению времени и оборудования, необходимого для сбора образцов, а также простоте обработки, хранения и транспортировки (McClendon-Weary et al., 2020). Кроме того, малый объем отбираемого образца делает этот метод привлекательным в случаях, когда он ограничен, например, у новорожденных или небольших животных. Использование фильтровальной бумаги или специальной стекловолоконной мембраны позволяет осуществлять забор капиллярной крови без венепункции, быстро высушивать образцы и хранить их в небольшом объеме при разной T — от комнатной до 80°C . Данный способ широко применяется в медицинских исследованиях, в частности, для выявления инфекционных и наследственных заболеваний, однако перспективы метода в популяционно-генетических исследованиях недооценены (Carpentieri et al., 2021). При этом образцы ДНК, отобранные, например, в ходе эпидемиологических исследований, могут быть стабильными на фильтровальной бумаге в течение многих лет и десятилетий при хранении в сухих условиях (Chaisomchit et al., 2005; Gauffin et al., 2009). Выделение ДНК из сухих образцов можно осуществлять как с использованием экспресс-протоколов, при которых после краткого температурного лизиса (при 70 – 95°C в течение 5 – 15 мин) пробы можно сразу использовать для постановки ПЦР (Экспресс-ДНК-био, ООО “Алкор Био-М”, Москва; Гордиз Спринт, ООО Гордиз, Москва и др.), так и с применением стандартных протоколов для жидкой крови или сухих пятен (метод солевого переосаждения, фенол-хлороформный, сорбции на магнитных и стекловолоконных носителях, спин-колонок и др.). Процедура экстракции нуклеиновых кислот из высушенных на мембранном носителе образцов может потребовать оптимизации для

выделения как можно более высокого уровня экстрактанта, поскольку каждый метод имеет свои преимущества и недостатки (Ali et al., 2017). Оптимизация выделения нуклеиновых кислот, например, описана для протоколов экстракции ДНК/РНК из клещей (Desloire et al., 2006), из СПК собак (Tani et al., 2008), из высушенной ткани головного мозга (Sakai et al., 2015) и из СПК человека (Molteni et al., 2013; Kumar et al., 2019). Методы быстрого выделения часто используются для проведения микросателлитного анализа, так как в дальнейшем нет необходимости нормировать и разбавлять полученную ДНК. Однако подобные методы не подходят для чувствительных к качеству, количеству и чистоте ДНК протоколов секвенирования и полногеномного анализа (Steinberg et al., 2002), что нужно иметь в виду при планировании структуры банка биоматериалов и ДНК. Было показано, что из СПК, отобранных в ходе неонатального скрининга и десятилетиями хранившихся в архиве, возможно получение полногеномных (WGS) и полноэкзомных (WES) секвенированных последовательностей, совпадающих с последовательностями ДНК из свежеполученной крови того же индивида с частотой ошибок не более 1.5% . Из сухих образцов, 27 лет хранившихся при $T = -20^{\circ}\text{C}$, успешно выделяли ДНК и проводили полногеномную амплификацию с последующим анализом однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) (Hollegaard et al., 2013). Появление коммерчески доступной полимеразы Phi29 и наборов для изотермической амплификации с множественным замещением (MDA) значительно расширило возможности использования небольших количеств ДНК для полногеномных исследований (Sjöholm et al., 2007). Отмечено, что целлюлозные карточки являются удобным инструментом для длительного хранения архивных образцов в обычных условиях окружающей среды для последующего выделения ДНК и РНК, однако, для оптимальной производительности при хранении таких образцов необходимо поддерживать низкую относительную влажность (Smith, Burgoyne, 2004; Owens, Szalanski, 2005; Lou et al., 2014; Muller et al., 2016). Описано использование высушенных на мембранах биообразцов для сбора, архивирования и хранения генетического материала млекопитающих и насекомых (Smith, Burgoyne, 2004; Owens, Szalanski, 2005; Lall et al., 2010; Miller et al., 2013). Так, например, после хранения образцов пятен крови птиц на FTA-картах при комнатной T (от 18 до 43°C) в течение 44 месяцев из них была успешно выделена ДНК и амплифицирован ILRC-локус (Smith, Burgoyne, 2004). Разнообразные высушенные на мембранных носителях образцы биологических

жидкостей и тканей животных нашли применение в исследованиях популяционной генетики как удобный инструмент для сбора и исследования образцов. Многочисленные примеры такого использования обобщены в недавно опубликованном обзоре по использованию технологии СПК для ветеринарного применения и биологических исследований (Samsonova et al., 2022).

ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ РАЗЛИЧНОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Одним из важных аспектов создания биобанка ДНК является качественное выделение нуклеиновых кислот. Высокая концентрация ДНК и отсутствие примесей белков и остатков смесей буферов и спиртов, используемых в процессе выделения, напрямую зависят от выбранного метода экстракции. В настоящее время в качестве наиболее распространенных методов используются: метод переосаждения, метод с использованием сорбента или магнитных частиц, колоночный метод (Лубенникова и др., 2020). Для всех методов характерны основные этапы выделения нуклеиновых кислот: лизис образцов, во время которого происходит разрушение клеточных мембран и белков за счет внесения в раствор буфера для лизиса клеток, содержащих детергенты и хаотропные агенты, и фермента протеиназы (Антонова и др., 2010). Процесс лизиса образцов может отличаться в зависимости от используемого биологического материала, а также его подготовки. Так, если для крови достаточно 15–60 мин лизиса образцов при температуре 56–60°C, то для мездры, мышечных тканей, пантов может потребоваться оставить образцы в термостате на ночь с понижением температуры до 37°C для более успешного разрушения клеточных структур.

Рядом авторов отмечается высокий выход и чистота полученных образцов ДНК при выделении методом переосаждения, а также коммерческим колоночным набором QIAamp® Blood Mini Kit (Chacon-Cortes, Griffiths, 2014; Schiebelhut et al., 2017). Тем не менее стоит отметить, что при выделении с помощью метода переосаждения ДНК требуется высокая квалификация сотрудника лаборатории и опыт работы рутинными методами, так как при данном методе наблюдаются высокие временные затраты, а также вероятность удалить осажденные нуклеиновые кислоты при неаккуратной работе. Одним из несомненных плюсов является низкая стоимость реактивов. В сравнении с этим коммерческие методы позволяют сократить время работы с большим количеством материала, а также снижают влияние человеческого фактора. Таким образом, необходимо проведение соб-

ственных исследований по сравнительному анализу наборов, представленных на территории России. Метод выделения на магнитных частицах показывает умеренные значения, как чистоты, так и концентрации ДНК, и является одним из наиболее простых методически. Возможно варьирование результатов в зависимости от материала и выбранного коммерческого набора. Колоночный метод по мнению авторов статьи (Schiebelhut et al., 2017) наиболее благоприятен для выделения ДНК из тканей, при выделении из крови показаны более низкие значения концентрации, но тем не менее с удовлетворительной чистотой выделенных образцов (табл. 3).

Особым случаем является выделение ДНК из древних биоматериалов. Палеонтологические и археологические образцы содержат очень малые количества ДНК, которая обычно сильно фрагментирована. Поэтому от качества экстракции ДНК (число аутентичных матриц, отсутствие контаминации и примесей) зависит успешность дальнейшего молекулярно-генетического анализа (Григоренко и др., 2009). Как правило, геномную ДНК выделяют из костного порошка, полученного из зубов. Перед получением порошка зубы извлекают из черепов, обрабатывают перекисью водорода и облучают под ультрафиолетовым светом (254 нм). ДНК экстрагируют из порошка дентина с помощью коммерческих наборов Prep Filer™ BTA Forensic DNA Extraction Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., США), QIAamp DNA Investigator Kit (Qiagen, США) или COrDIS Extract decalcine (ООО «ГОРДИЗ», Россия) (Андреева и др., 2022).

Таким образом успешность эффективного использования биобанка зависит от используемых методов выделения. Качество и возможности биобанка зависят от правильно выбранного типа биоматериала, используемого для формирования банка, с учетом возможностей, предоставляемых современными методами выделения. Тем не менее требуется более подробный анализ представленных на рынке коммерческих наборов и их успешность при применении для различного биологического материала.

Хранение и контроль качества выделенной ДНК

Минимизировать риски, связанные с деградацией биоматериала, позволяет хранение изолированной ДНК. Очищенная ДНК, хранящаяся в жидкой фазе, может подвергаться деградации под воздействием множества факторов: воды, УФ-излучения, озона, кислорода, метаболитов и различных сопутствующих загрязнений (например, следы ионов металлов, липидов и полифенолов). Эти факторы приводят к таким

Таблица 3. Эффективность методов выделения по четырем критериям (где наибольший балл означает наилучшую эффективность)

Метод	Выход ДНК	Чистота	Эффективность ПЦР	Стоимость	Среднее значение
Фенол-хлороформ	1	0.97	1	0.27	0.81
PAL1 (набор Fiber Plate DNA Extraction)	0.61	0.66	0.83	0.81	0.73
TKFS (магнитные частицы)	0.58	0.97	0.95	0.4	0.72
QIAG (Qiagen DNeasy™) колонки	0.58	0.5	1	0.44	0.63
PMAX — Promega Maxwell®	0.33	0.5	0.91	0	0.58

Примечание: выход ДНК — это среднее количество нг ДНК/мг ткани, где максимальное значение равно 1. Чистота представлена как доля образцов с минимальным количеством примесей, определенных соотношением A260/280 $\geq$ 1.80, а эффективность — как доля образцов, которые амплифицировались в ходе ПЦР. Стоимость — это разница единицы и стоимости в долларах на образец. Среднее значение пропорционально средней оценке по четырем критериям для каждого метода (по: Schiebelhut et al., 2017).

повреждениям ДНК, как депуринизация (основной процесс деградации), депиримидинирование и деаминирование, окисление оснований или сахаров, сшивание цепей и одноцепочечные разрывы ДНК, которые представляют собой серьезную угрозу сохранности ДНК. Некоторые из этих факторов являются источником ошибок, которые в конечном итоге проявляются в ходе секвенирования и амплификации, обычно используемых в ДНК-анализе (Lindahl, 1993).

В образцах крови концентрация выделяемой ДНК падает в среднем на 3–5% в год, в то время как непосредственно растворы хорошо очищенной и концентрированной ДНК могут храниться при $T < -32^\circ\text{C}$ без снижения ее качества и количества (Скирко и др., 2020; Калинин и др., 2022). Также одним из плюсов является меньший объем, занимаемый в морозильном оборудовании пробирками с ДНК (0.2–1.5 мкл) по сравнению с пробирками для крови (4–8 мл). Выбор контейнера оказывает существенное влияние на стоимость хранения одного образца. ДНК может храниться как в пробирке объемом 200–300 мкл, так и объемом 1.5–2 мл, что увеличивает стоимость хранения как минимум в 3 раза просто потому, что контейнер занимает больше места в морозильном оборудовании (Muller et al., 2016).

Хранение выделенной ДНК можно осуществлять при различных условиях. Основным режимом считается хранение при низких температурах, однако возможно сохранить ДНК в высушенном виде в присутствии стабилизаторов или в виде пятен на бумаге/стекловолоске при

комнатной температуре (Muller et al., 2016). Длительное хранение экстрагированных образцов ДНК рекомендуется осуществлять при -80°C или -196°C (жидкий азот). Для оценки качества и количества ДНК широко используется электрофоретическое разделение в геле совместно с маркерами молекулярного веса (данные о длинах и концентрации фрагментов указываются производителями). Визуализация образца в высокомолекулярной области (>30 тыс. п.н.) без “шмера” (от англ. “smear” — пятно, мазок; окрашивание по всей длине геля без четкой полосы) свидетельствует о его высокой сохранности. Для мономолекулярного секвенирования на платформе PacBio рекомендуется использовать ДНК с размером >100 тыс. п.н., визуализировать которую возможно с помощью пульс-электрофореза, фракционирующего высокомолекулярные фрагменты ДНК от 10 000 п.н. до 10 млн п.н. в условиях периодически меняющегося по направлению (пульсирующего) электрического поля (Chef-DR II System, Bio-Rad) или автоматизированного источника импульсного поля (Femto Pulse system, Agilent), позволяющего разделять фрагменты ДНК длиной до 165 кб.

Чистоту и концентрацию ДНК в образцах можно оценить с использованием спектрофотометра, в том числе в микрообъемах (например, NanoDrop — 1–2 мкл) (Долудин и др., 2020). Однако более достоверные данные о концентрации можно получить с помощью флуориметра (Qubit), позволяющего оценить исключительно концентрацию двуцепочечных нуклеиновых кислот без влияния загрязнений. Принимая во

внимание, что риски ошибок генотипирования деградированной ДНК уменьшаются с увеличением количества ДНК хорошего качества (Arandjelovic et al., 2020), пригодными для проведения исследований микросателлитов считаются препараты ДНК, имеющие концентрацию дцДНК не менее 1 нг/мкл, соотношение A260/A280 в пределах 1.6–2.0 и A260/230 = 1.5–2.6; для проведения исследований по SNP-маркерам — не менее 3 нг/мкл, 1.8–2.0 и 1.5–2.6, соответственно. Для проведения полногеномного секвенирования требования к исходному материалу еще выше — концентрация ДНК не менее 10–15 нг/мкл, соотношение OD260/OD280 в диапазоне 1.8–2.0 и A260/230 = 1.5–2.6, длины фрагментов от 30 кб.

МАРКИРОВАНИЕ И КАТАЛОГИЗАЦИЯ ХРАНЯЩИХСЯ В БАНКЕ ОБРАЗЦОВ

Маркировка образцов биоматериала животных в биобанке является важной процедурой, которая позволяет однозначно идентифицировать и отслеживать каждый образец в хранилище. Маркировка образцов обеспечивает точность и надежность их идентификации, что является критическим для правильной работы биобанка. Вот несколько методов маркировки образцов биоматериала животных в биобанке (Загоровская, 2013):

1. Штрихкоды являются одним из наиболее распространенных методов маркировки образцов. Каждому образцу присваивается уникальный штрихкод, содержащий информацию о нем. Штрихкоды могут быть нанесены на этикетки, которые прикрепляются к контейнерам с образцами, или непосредственно нанесены на сами контейнеры.

2. RFID-метки (Radio Frequency Identification) — это технология, которая позволяет бесконтактно идентифицировать и отслеживать образцы. Каждый образец оборудуется специальной RFID-меткой, которая содержит информацию о нем. С помощью радиочастотных считывателей можно легко определить местонахождение образца и получить доступ к его описательным данным.

3. QR-коды (Quick Response) представляют собой двухмерные штрихкоды, которые могут содержать большой объем информации. Они могут быть использованы для маркировки образцов, аналогично штрихкодам. QR-коды могут быть отсканированы с помощью мобильных устройств или специальных сканеров для получения доступа к информации о каждом образце.

4. Уникальные номера: каждому образцу может быть присвоен уникальный номер или код,

который позволяет его идентифицировать. Этот номер может быть записан на этикетках или нанесен на контейнеры образцов.

Требования к маркировке образцов определяются условиями и продолжительностью их хранения. Наиболее серьезные требования предъявляются к криоэтикеткам. Помимо стойкости к перепаду температур, их адгезивный слой и печатная поверхность должны быть устойчивы к действию конденсата, растворителей, а также механическому истиранию. Производителями лабораторного оборудования предлагаются этикетки и принтеры, специально разработанные для маркировки образцов для криохранения. Они поддерживают высокое качество маркировки на протяжении всего периода хранения. Их стоимость составляет около 150–250 руб. (1.6–2.7 \$) в расчете на одну пробирку (Cryo-DirectTAG™, NitroTAG™, Thermo Scientific). Специализированные для биобанкирования материалы и средства печати маркировки не всегда доступны, и могут требовать существенных затрат при реорганизации имеющихся биобанков, содержащих тысячи образцов. Альтернативой является подбор материалов и методов печати этикеток с учетом условий хранения и особенностей контейнеров (криопробирок). Высокие требования к маркировке предъявляются в некоторых производственных сферах, а соответствующие материалы имеют спецификацию. Например, этикетки с подходящими параметрами используются для идентификации кабелей на Крайнем Севере, а также при хранении замороженных продуктов. В большинстве областей используют термо- и термотрансферные этикетки. Термоэтикетки изготавливаются на основе целлюлозы и пропитки, темнеющей при нагревании. Они неустойчивы к действию влаги и истиранию, поэтому могут применяться только для кратковременной маркировки образцов. На термотрансферных этикетках отпечатка данных происходит с помощью нагрева термоголовкой принтера красящей ленты (риббона). Они существенно долговечней и могут изготавливаться из устойчивых материалов, в том числе синтетических полимеров. Известно, что одинаковые или близкие по химической природе материалы обеспечивают наиболее надежный контакт при склеивании. Так, например, для пластиковых пробирок типа эппендорф хорошо подходят виниловые этикетки с акриловым клеевым слоем. Размеры этикеток также подбирают исходя из типов пробирок. Дополнительную надежность фиксации можно получить при использовании этикеток, длина которых чуть больше внешней окружности пробирки, за счет склеивания внахлест. Высота этикеток должна быть удобной для их размещения на ровной (цилиндрической)

поверхности пробирки или другого контейнера. Например, исходя из этих требований, для упомянутых выше пробирок типа эппендорф подходят этикетки размером 12.5 × 32 мм. Криопробирки часто имеют независимо отделяющую крышку — маркировка на ней дублируется во избежание кросс-контаминации при отборе аликвот.

Каждому образцу в базе данных прикрепляются описательные данные, включающие в себя информацию о виде животного, месте и дате сбора, поле, возрасте и других характеристиках, которые могут быть полезными для анализа. Сложно переоценить важность подробных высококачественных фенотипических данных для полногеномных исследований. Также большой интерес представляет включение в каталог географической информации о местах сбора проб, позволяющей составлять карты ареала видов, выявления областей с высоким биоразнообразием и оценки влияния изменений окружающей среды на популяции; планировать природоохранные мероприятия, выявляя генетически различные популяции, которые могут требовать особых стратегий сохранения. Это позволяет специалистам по охране природы определять приоритетные области для охраны на основе генетического разнообразия и географического распределения, обеспечивая сохранение уникальных генетических линий внутри вида (Comizzoli, Wildt, 2017). Генетические данные могут дать представление о здоровье и жизнеспособности популяций, например, об уровне инбридинга, генетическом разнообразии и адаптивном потенциале (Spasskaya et al., 2022). Объединив эту информацию с данными географической привязки, исследователи могут отслеживать изменения в состоянии популяции с течением времени и оценивать эффективность мер по сохранению популяции. Интеграция геопривязанных и генетических данных имеет решающее значение для обнаружения инвазивных видов и понимания их распространения. Генетические данные помогут определить источник инвазивных популяций, а данные с привязкой к местности — отследить их перемещение и разработать стратегии управления, направленные на борьбу с их распространением. В случае изучения домашних видов животных интеграция с географическими информационными системами может быть использована для определения мест отбора проб и указания существующих возможных пробелов в точках сбора. Пространственная оценка покрытия и наполненности биобанка (Brazilian Germplasm bank) сведениями о популяциях различных пород овец в Бразилии позволила выявить нехватку образцов отдельных популяций и даже полное отсутствие некоторых

пород, а также закономерности изменения генетических дистанций в зависимости от удаленности от племенного ядра (McManus et al., 2021).

Задача системы каталогизации состоит в составлении и актуализации списка образцов и данных об их расположении в биобанке. Образцу присваивается номер, которому соответствуют запись в каталоге и положение в хранилище. Возможность быстро получить актуальную и достоверную информацию о местоположении образца определяет удобство и качество работы биобанка. Чем менее точна информация о положении образца, тем больше времени уходит на его поиск, на протяжении которого другие образцы подвергаются воздействию температурных колебаний и конденсата, а также риску контаминации. Актуализация данных о положении образца снижает риск его утраты, в особенности, при неоднократном доступе (Dagher G., Dagher A., 2018).

Положение образца в биобанке, а также его извлечение из хранилища можно отслеживать автоматически, например, с помощью сканера, считывающего маркировку с нижней части пробирок, расположенных в криоштативах с прозрачным дном, при каждом их помещении в холодильник (Henderson et al., 2019). Таким образом, подобное устройство вкупе с электронной таблицей на компьютере или планшете решает основную задачу автоматизации биобанка. Полностью роботизированные системы позволяют удаленно извлекать образцы, отправлять их на исследования и возвращать в хранилище, фиксируя результат манипуляций, например, количество циклов разморозки и остаточный объем образца (Linsen et al., 2020).

Программные и инженерные средства автоматизации для биобанков не являются типовым продуктом и имеют высокую стоимость, которая также формируется спросом в высокобюджетных областях медицины (Linsen et al., 2020). В то же время, в рутинной клинико-лабораторной практике также используются средства автоматизации, причем их первостепенная функция — отслеживание образцов, совпадает с главной задачей каталогизации в биобанках. Перемещение, анализ, оценка качества и измерение объема, отправка на хранение и извлечение образца — возможности таких систем, которые наиболее востребованы в биобанковании (Linsen et al., 2020). Средства автоматизации в клинических лабораториях появились раньше, чем в других биомедицинских областях, в настоящее время они востребованы и используются повсеместно, поэтому при невысокой стоимости могут иметь высокую надежность (Linsen et al., 2020). Однако

в них могут отсутствовать специализированные для биобанкирования функции.

Потребность в автоматизации возрастает с увеличением объема биобанка и частоты обращения к пробам. Вопросы удобства, экономической целесообразности и надежности электронных систем в сравнении с физическими каталогами остаются открытыми и заслуживают особого внимания в каждом конкретном случае. Рациональный выбор можно сделать при понимании достоинств и недостатков данных способов ведения биобанков. Так, для NAGP (National Animal Germplasm Program, США) потребовалось обновление программы базы данных в связи с добавлением новых видов животных, которое выявило необходимость в более гибкой и удобной для ученых конфигурации базы данных, в частности потому, что эти разнообразные виды и породы не имеют общей таксономической структуры (Irwin et al., 2012).

В автоматизированных системах образцы более сохранены за счет снижения колебаний условий хранения (Powell et al., 2019). В частности, ускорение поиска и манипуляций снижает “эффект пингвина” — неравномерного промерзания образцов в центре и по краям штатива. Автоматический учет существенно снижает риск утраты образцов (Powell et al., 2019). Несмотря на высокую стоимость, автоматизированные системы позволяют снизить некоторые затраты, прежде всего, за счет более компактного хранения образцов (Powell et al., 2019), что уменьшает число кельвинаторов и потребность в персонале.

К недостаткам автоматических систем можно отнести их требования к унификации материалов для хранения образцов. Большинство автоматизированных систем может работать не со всеми разновидностями пробирок, этикеток и криобоксов (Powell et al., 2019). Автоматизированные системы в большей степени требовательны к условиям энергоснабжения и квалификации персонала. Таким образом, помимо цены самой системы, эксплуатационные расходы и затраты на расходные материалы при автоматизации могут быть значительно выше, чем при ручном ведении биобанка. Таким образом, автоматизация наиболее актуальна при большом числе образцов одинакового типа, высокой стоимости и стабильности энергетических и человеческих ресурсов, длительном периоде хранения образцов и необходимостью неоднократного доступа к ним. Однако, даже самые большие биобанки могут управляться вручную как, например, национальные книжные библиотеки в доэлектрическую эпоху.

Каталогизация образцов в популяционно-генетических исследованиях животных помогает

создать базу данных, которая служит основой для проведения анализов, выявления генетических трендов, оценки уровня генетического разнообразия и принятия решений по сохранению популяций. Это важный инструмент для понимания генетической структуры животных и разработки мер по сохранению их биологического разнообразия. Широкий диапазон генетических ресурсов в коллекциях генных банков, полученных из различных условий, может помочь ускорить идентификацию генов или их комбинаций, которые позволят улучшить адаптацию, продуктивность и другие важные для человечества аспекты. Совместно с географическими информационными системами, высокопроизводительным генотипированием и высококачественным фенотипированием подобные коллекции могут служить источником для максимально информативных баз данных и для определения потенциала использования в зависимости от экологических или экономических факторов (Blackburn et al., 2024).

ЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОБАНКИРОВАНИЯ В СФЕРЕ ГЕНЕТИКИ ЖИВОТНЫХ

Жизни человека и животных тесно связаны между собой. Это в особенности справедливо в отношении видов, к которым человек проявляет научный интерес. Популяционно-генетические исследования могут иметь значительные последствия как для людей, так и для животных. В современном мире существует разрыв между возрастающими техническими возможностями и знаниями, и не таким активным осмыслением влияния этого прогресса на другие сферы жизни и общечеловеческие ценности. Поэтому внимание к этическим аспектам биобанкирования значительно возрастает, и развитие соответствующей законодательной базы становится необходимостью (Smith, Johnson, 2021). FAO разработаны руководства, в которых рассматриваются вопросы физической структуры, минимальных людских ресурсов и потребностей в оборудовании (FAO Animal Production and Health Guidelines No. 12. 2012). Ответ страны на вышеперечисленные элементы и эти рекомендации — это вопрос национальной политики и поддержки деятельности генного банка фондами. В России практически отсутствует нормативная база в данной области по сравнению с другими развитыми странами (Малеина, 2020). Между тем формирование нормативно-правового поля для работы с биоколлекциями абсолютно необходимо в первую очередь по причине тесной связи биологических коллекций с понятием “национальные биологические ресурсы” (Каменский и др.,

2016). В случае отсутствия строгого правового регулирования, этическая оценка исследователя полностью определяет последствия его работы. Это особенно важно в странах с богатым биоразнообразием, включая Россию (Petrova, 2020).

В 2018 г. была основана Национальная Ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию (НАСБИО) в целях объединения специалистов и исследовательских центров для создания и развития сети биобанков России. В настоящее время идет работа по созданию Национальной информационной платформы биобанков РФ (НИПБ РФ), которая обеспечит доступ к информации о деятельности биобанков, их коллекциях, об условиях научного сотрудничества и предоставления биообразцов для исследований (Мешков и др., 2022). Такая информационная система может содержать данные географической информационной системы (ГИС) о месте сбора и хранения биоматериала, а также описания фенотипов и результаты генетического анализа. ГИС может быть использована для мониторинга распределения редких видов и популяций животных и планирования экспедиций по сбору образцов. С помощью биокolleкций с детальным описанием фенотипических данных возможно проведение исследований по выявлению генетических механизмов их формирования, а также поиску новых ассоциаций и маркеров. Биобанки содержат информацию о генетических вариациях, связанных с адаптацией к различным геоклиматическим условиям, резистентности и продуктивными качествами сельскохозяйственных животных. Эти данные представляют собой экономический ресурс, который может быть задействован при выведении новых пород, изменении климата, требований к продуктам питания и меняющимися вкусами потребителей (Adams, Getz, 2022).

Аборигенные (местные) породы животных часто играют важную роль в жизни связанных с ними этносов, например, в оленеводстве. Информация о генотипах этих животных может быть использована для сохранения популяции, поиска экономически ценных адаптивных качеств и создания пород с желаемыми свойствами (Rijal, Sharma, 2022). Однако такое использование данных может вызвать конфликты между частными и общественными интересами, а также затронуть автономию отдельных популяций людей. Так, например, создаваемые продуктивные породы составляют конкуренцию аборигенным животным, которые могут играть важную роль в жизни местного населения. Сам выбор объекта популяционно-генетического исследования несет в себе этическую нагрузку, так как влияет на распределение ограниченных ресур-

сов, направленных на сохранение видов и популяций, нуждающихся в этом (Johnson, 2020).

При создании биобанков ключевым фактором, определяющим возможности их использования для различных целей, является характеристика фенотипов животных. Например, описание продуктивных качеств создает возможность коммерциализации данных биобанка, а регистрация особенностей физиологии или поведения — основу для проведения фундаментальных научных исследований (Chen, Li, 2021).

Таким образом, при создании биобанка и определении условий его использования, необходимо провести анализ различных аспектов возможного применения содержащихся в нем генетических данных, в том числе экономического ресурса, а также их значения для сохранения аборигенных популяций и связанных с ними этносов, вопроса уважения их автономии, и приоритетности в выборе объекта популяционно-генетических исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оптимальная стратегия биобанкирования заключается в сохранении различных типов материалов для наиболее экологичного и рационального их использования. Сразу после доставки образцов от места сбора в лабораторию из части материала можно выделять высокомолекулярную и качественно очищенную ДНК и хранить ее при низких температурах в виде раствора с высокой концентрацией для самых чувствительных и сложных протоколов полногеномных исследований. Часть материала можно хранить в жидком аликвотированном виде в морозильных камерах, часть материала в виде жидкостей, либо суспензий можно наносить на мембранный носитель, высушивать и далее хранить при комнатной температуре и в холодильных установках. Создание дубликатов образца в виде материалов с различными условиями хранения поможет избежать утери в случае непредвиденных аварий в электросетях или катастроф. Таким образом, в зависимости от цели эксперимента и требований к материалу всегда можно подобрать оптимальный вариант пробы из банка биоматериалов. В настоящее время биобанки как источник генетической информации становятся универсальной платформой для многочисленных междисциплинарных исследований. Создание надежной унифицированной системы: хранения, обмена, исследования биообразцов или международной и отечественной индустрии биобанкирования, безусловно, имеет большое будущее в решении фундаментальной проблемы челове-

чества — сохранении и рациональном использовании биоразнообразия.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 22-76-10053).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абдельманова А.С., Форнара М.С., Бардуков Н.В. и др. Полногеномное исследование ассоциаций SNP с высотой в холке в популяциях локальных и трансграничных пород крупного рогатого скота в России // *Сельскохозяйств. биол.* 2021. Т. 56 (6). С. 1111–1122. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.6.1111rus>
- Андреева Т.В., Мальярчук А.Б., Сошкина А.Д. и др. Методологии выделения древней ДНК из костной ткани для геномного анализа: подходы и практические рекомендации // *Генетика.* 2022. Т. 58 (9). С. 979–998. <https://doi.org/10.31857/S001667582209003X> [Andreeva T.V., Malyarchuk A.B., Soshkina A.D. et al. Methodologies for ancient DNA extraction from bones for genomic analysis: approaches and guidelines // *Russ. J. Genet.* 2022. Т. 58 (9). С. 1017–1035.]
- Антонова О.С., Корнева Н.А., Белов Ю.В., Курочкин В.Е. Эффективные методы выделения нуклеиновых кислот для проведения анализов в молекулярной биологии (обзор) // *Науч. приборостроение.* 2010. Т. 20 (1). С. 3–9.
- Бекетов С.В., Семин М.Т., Мокеев А.С. и др. Перспективы применения технологии “генетического биркования” в животноводстве // *Главн. зоотехник.* 2024. № 5. С. 3–15. <https://doi.org/10.33920/sel-03-2405-01>
- Григоренко А.П., Боринская С.А., Янковский Н.К., Рогаев Е.И. Достижения и особенности в работе с древней ДНК и ДНК из сложных криминалистических образцов // *Acta Naturae* (русскаяязычная версия). 2009. № 3. С. 64–76.
- Долудин Ю.В., Лимонова А.С., Козлова В.А. и др. Сбор и хранение ДНК-содержащего биоматериала и выделенной ДНК // *Кардиоваскул. терапия и профилактика.* 2020. Т. 19 (6). С. 2730. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2020-2730>
- Загоровская В. Этикетка. Современные решения // *Мясная сфера.* 2013. № 6 (97). С. 58–59.
- Калинин Р.С., Голева О.В., Илларионов Р.А. и др. Формирование биобанка в структуре научных и лечебно-диагностических учреждений и перспективы межрегиональной интеграции // *КВТиП.* 2022. № 11. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2022-3401>
- Каменский П.А., Сазонов А.Э., Федянин А.А., Садовничий В.А. Биологические коллекции: стремление к идеалу // *Acta Naturae* (русскаяязычная версия). 2016. № 2 (29).
- Лубенникова М.В., Афанасьев В.А., Афанасьев К.А. Выделение ДНК — важный этап молекулярно-генетического исследования // *Электрон. науч.-метод. журн. Омского ГАУ.* 2020. № 2. С. 4.
- Максудов Г.Ю., Иванов А.В., Малев А.В., Гильмутдинов Р.Я. Вспомогательные репродуктивные технологии как инновационный тренд сохранения биоразнообразия // *Мат. междунар. науч.-практ. конф. “Биотехнология и качество жизни”.* М.: Экспо-биохим-технологии, 2014. С. 407–408.
- Малеина М.Н. Правовой статус биобанка (банка биологических материалов человека) // *Право. Журн. ВШЭ.* 2020. № 1.
- Мешков А.Н., Ярцева О.Ю., Борисова А.Л. и др. Концепция национальной информационной платформы биобанков Российской Федерации // *Кардиоваскул. терапия и профилактика.* 2022. Т. 21 (11). С. 3417. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2022-3417>
- Скирко О.П., Мешков А.Н., Ефимова И.А. и др. Срок хранения образцов цельной крови в биобанке и выход выделенной из нее дезоксирибонуклеиновой кислоты при проведении генетических исследований // *Кардиоваскул. терапия и профилактика.* 2020. Т. 19 (6). С. 2726. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2020-2726>
- Харзинова В.Р., Акопян Н.А., Доцев А.В. и др. Генетическое разнообразие и филогенетические взаимосвязи пород свиней, разводимых в России, на основе анализа полиморфизма D-петли мтДНК // *Генетика.* 2022. Т. 58 (8). С. 920–932. <https://doi.org/10.31857/S0016675822080045>
- Adams J., Getz W.M. The economic value of genetic biodiversity in biobanks // *Ecol. Econom.* 2022. Art. 107358. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2021.107358>
- Al-Griw H.H., Zraba Z.A., Al-Muntaser S.K. et al. Effects of storage temperature on the quantity and integrity of genomic DNA extracted from mice tissues: a comparison of recovery methods // *Open Vet. J.* 2017. V. 7 (3). P. 239–243. <https://doi.org/10.4314/ovj.v7i3.7>
- Ali N., Rampazzo R.C.P., Costa A.D.T., Krieger M.A. Current nucleic acid extraction methods and their implications to point-of-care diagnostics // *Biomed. Res. Int.* 2017. Art. 9306564. <https://doi.org/10.1155/2017/9306564>
- Arandjelovic M., Guschanski K., Schubert G. et al. Two-step multiplex polymerase chain reaction improves the speed and accuracy of genotyping using DNA from noninvasive and museum samples // *Mol. Ecol. Resour.* 2009. V. 9 (1). P. 28–36. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02387.x>
- Aston E.J., Mayor P., Bowman D.D. et al. Use of filter papers to determine seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among hunted ungulates in remote Peruvian Amazon // *Int. J. Parasitol. Parasit. Wildl.* 2014. V. 3. P. 15–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2013.12.001>

- Blackburn H.D.* Biobanking genetic material for agricultural animal species // *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 2018. V. 15 (6). P. 69–82.
<https://doi.org/10.1146/annurev-animal-030117-014603>
- Blackburn H.D., Lozada-Soto E., Paiva S.R.* Biobanking animal genetic resources: critical infrastructure and growth opportunities // *Trends Genet.* 2024. V. 40. P. 115–117.
- Caenazzo L., Tozzo P.* The future of biobanking: what is next? // *BioTech.* 2020. V. 9. P. 23.
<https://doi.org/10.3390/biotech9040023>
- Carpentieri D., Colvard A., Petersen J. et al.* Mind the quality gap when banking on dry blood spots // *Biopreserv. Biobank.* 2021. V. 19 (2). P. 136–142.
<https://doi.org/10.1089/bio.2020.0131>
- Chacon-Cortes D., Griffiths L.R.* Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives // *J. Biorep. Sci. Appl. Med.* 2014. P. 1–9.
<https://doi.org/10.2147/BSAM.S46573>
- Chaisomchit S., Wichajarn R., Janejai N., Chareonsiriwatana W.* Stability of genomic DNA in dried blood spots stored on filter paper // *Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Health.* 2005. V. 36 (1). P. 270–273.
- Chen Y., Li L.* Ethical considerations in biobanking and phenotyping animals for research purposes // *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 2021. V. 12. P. 1–11.
<https://doi.org/10.1186/s40104-021-00630-2>
- Comizzoli P., Wildt D.E.* Cryobanking biomaterials from wild animal species to conserve genes and biodiversity: relevance to human biobanking and biomedical research // *Biobanking of Human Biospecimens.* Cham: Springer, 2017. P. 217–235.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-55120-3_13
- Curry P.S., Elkin B.T., Campbell M. et al.* Filter-paper blood samples for ELISA detection of brucella antibodies in caribou // *J. Wildl. Dis.* 2011. V. 47. P. 12–20.
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-47.1.12>
- Dagher G., Dagher A.* Automated biobanking: challenges and opportunities // *Biopreserv. Biobank.* 2018. V. 16 (3). P. 187–195.
<https://doi.org/10.1089/bio.2017.0067>
- De Souza Y.G., Greenspan J.S.* Biobanking past, present and future: responsibilities and benefits // *AIDS.* 2013. V. 27 (3). P. 303–312.
<https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32835c1244>
- Desloire S., Moro C., Chauve C. and Zenner L.* Comparison of four methods of extracting DNA from *D. gallinae* (Acari: Dermatyssidae) // *Vet. Res.* 2006. V. 37. P. 725–732.
<https://doi.org/10.1051/vetres:2006031>
- Dimoski P.* Genotyping horse epithelial cells from fecal matter by isolation of polymerase chain reaction products // *Croat. Med. J.* 2017. V. 58 (3). P. 239–249.
<https://doi.org/10.3325/cmj.2017.58.239>
- FAO. Cryoconservation of animal genetic resources. FAO animal production and health guidelines No. 12. Rome: Food and Agriculture Organization of the UN, 2012.
- Fouts A.N., Romero A., Nelson J., Hogan M. et al.* Ambient biobanking solutions for whole blood sampling, transportation, and extraction // *Biochemical analysis tools — methods for bio-molecules studies* // *IntechOpen.* 2020.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.91995>
- Fowler K.E., Reitter C.P., Walling G.A., Griffin D.K.* Novel approach for deriving genome wide SNP analysis data from archived blood spots // *BMC Res. Notes.* 2012. V. 5. P. 503.
<https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-503>
- Gauffin F., Nordgren A., Barbany G. et al.* Quantitation of RNA decay in dried blood spots during 20 years of storage // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2009. V. 47 (12). P. 1467–1469.
<https://doi.org/10.1515/CCLM.2009.351>
- Groeneveld L.F., Gregusson S., Guldbrandtsen B. et al.* Domesticated animal biobanking: land of opportunity // *PLoS Biol.* 2016. V. 14 (7). P. e1002523.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002523>
- Gurau M.R., Cretu D.M., Negru E. et al.* Comparative analysis of total DNA isolation procedure from blood and hair follicle samples in goats // *Rev. Rom. Med. Vet.* 2021. V. 31 (4). P. 82–86.
- Henderson M.K., Goldring K., Simeon-Dubach D.* Advancing professionalization of biobank business operations: performance and utilization // *Biopreserv. Biobank.* 2019. V. 17 (3). P. 213–218.
<https://doi.org/10.1089/bio.2019.0005>
- Hollegaard M.V., Grauholm J., Nielsen R. et al.* Archived neonatal dried blood spot samples can be used for accurate whole genome and exome-targeted next-generation sequencing // *Mol. Genet. Metab.* 2013. V. 110. P. 65–72.
<https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2013.06.004>
- Irwin N., Wessel L., Blackburn H.* The Animal Genetic Resources Information Network (Animal GRIN) database: a database design and implementation case // *J. Inform. Syst. Educ.* 2012. V. 23. P. 19–27.
- Johnson L.A.* Ethical challenges in population genetics research // *J. Ethics.* 2020. V. 24. P. 405–423.
<https://doi.org/10.1007/s10892-020-09338-3>
- Kumar A., Mhatre S., Godbole S. et al.* Optimization of extraction of genomic DNA from archived dried blood spot (DBS): potential application in epidemiological research & bio banking // *Gates Open Res.* 2019. V. 2. P. 57.
<https://doi.org/10.12688/gatesopenres.12855.3>
- Lall G.K., Darby A.C., Nystedt B. et al.* Amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis of closely related wild and captive tsetse fly (*Glossina morsitans morsitans*) populations // *Parasit. Vectors.* 2010. V. 3. P. 47.
<https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-47>
- Lindahl T.* Instability and decay of the primary structure of DNA // *Nature.* 1993. V. 362. P. 709–715.
- Linsen L., Van Landuyt K., Ectors N.* Automated sample storage in biobanking to enhance translational research: the bumpy road to implementation // *Front. Med.* 2020. V. 6. P. 309.
<https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00309>
- Liu Y.F., Gao J.L., Yang Y.F. et al.* Novel extraction method of genomic DNA suitable for long-fragment amplification from small amounts of milk // *J. Dairy Sci.* 2014. V. 97 (11). P. 6804–6809.
<https://doi.org/10.3168/jds.2014-8066>
- Lou J.J., Mirsadraei L., Sanchez D.E. et al.* A review of room temperature storage of biospecimen tissue and nucleic

- acids for anatomic pathology laboratories and biorepositories // *Clin. Biochem.* 2014. V. 47. P. 267–273.
<https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.12.011>
- Love Stowell S.M., Bentley E.G., Gagne R.B. et al. Optimal DNA extractions from blood on preservation paper limits conservation genomic but not conservation genetic applications // *J. Nat. Conserv.* 2018. V. 46. P. 89–96.
<https://doi.org/10.1016/j.jnc.2018.09.004>
- Maksudov G.Y., Shishova N.V., Katkov I.I. In the cycle of life: cryopreservation of post-mortem sperm as a valuable source in restoration of rare and endangered species // *Endangered species: new research*. 1st ed. Ch. 8 / Ed. A.M. Columbus, L.V. Kuznetsov. NOVA Publishers, 2009. P. 189–240.
- McClendon-Weary B., Putnick D.L., Robinson S., Yeung E. Little to give, much to gain—what can you do with a dried blood spot? // *Curr. Environ. Health Rep.* 2020. V. 7 (3). P. 211–221.
<https://doi.org/10.1007/s40572-020-00289-y>
- McManus C.M., Hermuche P., Guimarães R.F. et al. Integration of georeferenced and genetic data for the management of biodiversity in sheep genetic resources in Brazil // *Trop. Anim. Health Prod.* 2021. V. 53. P. 126.
<https://doi.org/10.1007/s11250-021-02573-x>
- Miller G., Carmichael A., Favret C., Scheffer S. Room temperature DNA storage with slide-mounted aphid specimens // *Insect. Conserv. Div.* 2013. V. 6. P. 447–451.
<https://doi.org/10.1111/j.1752-4598.2012.00207.x>
- Molteni C.G., Terranova L., Zampiero A. et al. Comparison of manual methods of extracting genomic DNA from dried blood spots collected on different cards: implications for clinical practice // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2013. V. 3. P. 779–783.
<https://doi.org/10.1177/039463201302600324>
- Muller R., Betsou F., Barnes M.G. et al. Preservation of biospecimens at ambient temperature: special focus on nucleic acids and opportunities for the biobanking community // *Biopreserv. Biobank.* 2016. V. 14 (2). P. 89–98.
<https://doi.org/10.1089/bio.2015.0022>
- Owens C.B., Szalanski A.L. Filter paper for preservation, storage, and distribution of insect and pathogen DNA samples // *J. Med. Entomol.* 2005. V. 42. P. 709–711.
<https://doi.org/10.1093/jmedent/42.4.709>
- Petrova E. Ethical aspects of biobanking in Russia // *Med. Health Care Phil.* 2020. V. 23. P. 207–212.
<https://doi.org/10.1007/s11019-019-09908-3>
- Powell S., Molinolo A., Masmila E., Kaushal S. Real-time temperature mapping in ultra-low freezers as a standard quality assessment // *Biopreserv. Biobank.* 2019. V. 17. P. 139–142.
<https://doi.org/10.1089/bio.2018.0108>
- Rijal R., Sharma R. Ethical considerations in using genetic data from indigenous animal breeds // *J. Agric. Environ. Ethics.* 2022. V. 35. P. 1005–1023.
<https://doi.org/10.1007/s10806-021-09806-4>
- Sakai T., Ishii A., Segawa T. et al. Establishing conditions for the storage and elution of rabies virus RNA using FTA(®) cards // *J. Vet. Med. Sci.* 2015. V. 77. P. 461–465.
<https://doi.org/10.1292/jvms.14-0227>
- Samsonova J.V., Saushkin N.Y., Osipov A.P. Dried Blood Spots technology for veterinary applications and biological investigations: technical aspects, retrospective analysis, ongoing status and future perspectives // *Vet. Res. Comm.* 2022 V. 46 (3). P. 655–698.
<https://doi.org/10.1007/s11259-022-09957-w>
- Schiebelhut L.M., Abboud S.S., Gómez Daglio L.E. A comparison of DNA extraction methods for high-throughput DNA analyses // *Mol. Ecol. Resour.* 2017. V. 17. P. 721–729.
<https://doi.org/10.1111/1755-0998.12620>
- Silva E.C., Pelinca M.A., Acosta A.C. et al. Comparative study of DNA extraction methodologies from goat sperm and its effects on polymerase chain reaction analysis // *Genet. Mol. Res.* 2014. V. 13 (3). P. 6070–6078.
<https://doi.org/10.4238/2014.August.7.21>
- Sintasath D.M., Wolfe N.D., LeBreton M. et al. Simian T-lymphotropic virus diversity among nonhuman primates, Cameroon // *Emerg. Infect. Dis.* 2009. V. 15. P. 175–184.
<https://doi.org/10.3201/eid1502.080584>
- Sjöholm M.I., Dillner J., Carlson J. Assessing quality and functionality of DNA from fresh and archival dried blood spots and recommendations for quality control guidelines // *Clin. Chem.* 2007. V. 53 (8). P. 1401–1407.
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.087510>
- Smith J.D., Johnson M. Ethical considerations in biobanking // *J. Bioeth. Inquiry.* 2021. V. 18. P. 181–190.
<https://doi.org/10.1007/s11673-021-10045-6>
- Smith L., Burgoyne L. Collecting, archiving and processing DNA from wildlife samples using FTA® databasing paper // *BMC Ecol.* 2004. V. 4. Art. 4.
<https://doi.org/10.1186/1472-6785-4-4>
- Spasskaya N.N., Voronkova V.N., Letarov A.V. et al. Features of reproduction in an isolated island population of the feral horses of the Lake Manych-Gudilo (Rostov region, Russia) // *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2022. V. 254. Art. 105712.
<https://doi.org/10.1016/j.applanim.2022.105712>
- Steinberg K., Beck J., Nickerson D. et al. DNA banking for epidemiologic studies: a review of current practices // *Epidemiology.* 2002. V. 13 (3). P. 246–254.
- Tani H., Tada Y., Sasai K., Baba E. Improvement of DNA extraction method for dried blood spots and comparison of four PCR methods for detection of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) infection in canine blood samples // *J. Vet. Med. Sci.* 2008. V. 70. P. 461–467.
<https://doi.org/10.1292/jvms.70.461>
- Venkatesh P., Gopal D. Rapid DNA extraction from dried milk spots: application in non-invasive detection of the A1/A2 variants of beta casein in cow // *PNAS India Sect. B Biol. Sci.* 2018. V. 88. P. 525–529.
<https://doi.org/10.1007/s40011-016-0781-4>
- Wu H., de Gannes M.K., Luchetti G., Pilsner J.R. Rapid method for the isolation of mammalian sperm DNA // *Bio-techniques.* 2015. V. 58 (6). P. 293–300.
<https://doi.org/10.2144/000114280>
- Yu C., Zimmerman C., Stone R. et al. Using improved technology for filter paper-based blood collection to survey wild Sika deer for antibodies to hepatitis E virus // *J. Virol. Meth.* 2007. V. 142. P. 143–150.
<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2007.01.016>

Biomaterial and DNA Bank Organization for Animal Population Genetics Research

V. N. Voronkova^{a,*}, A. K. Piskunov^a, E. A. Soloshenkova^a, Y. V. Samsonova^{a,b}, Yu. A. Stolpovsky^a

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

^b Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

*e-mail: valery.voronkova@gmail.com

Biobanks play an important role in population genetic studies of animals as a valuable resource for *ex situ* conservation of genetic diversity and research in evolution, zoology, ecology and genetics. One of the main objectives of biobanks is to preserve samples of genetic material from different animal species, thus preserving information on genetic diversity and conserving *in situ* populations. This is particularly important for rare and endangered species, animal breeds and plant varieties, where genetic diversity may be declining due to population loss. Biobanks enable the exchange of specimens and data, which plays an important role in the study of the evolution and origins of different species, helping scientists to investigate the processes of divergence and adaptation. They also serve as a source for work in the study of genetic diseases, behavioral traits, and species interactions in ecosystems. Biobanks provide the basis for various types of genetic research, such as genome sequencing, phylogeny, DNA variability analysis, and functional genomics, which in turn provide the opportunity to develop new methods for genetic disease detection, genomic selection, and conservation and restoration of animal populations. Biobanking thus plays an important role in animal population genetics research, providing scientists with access to a wide range of genetic information that is essential for understanding and conserving our planet's biodiversity. The issue of environmentally sound and efficient storage of biomaterial is more relevant than ever. In this review, we consider different approaches to the organization of biomaterials and DNA bank in the field of population genetic studies of animals, peculiarities of their collection, transport, processing and storage.

Keywords: biobank, biomaterial and DNA storage, DNA extraction, transportation of biomaterials, dry blood spot technology