

РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ имени А.И.ГЕРЦЕНА

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ,
ЭКОЛОГИЯ И ЖИЗНЕННЫЕ ЦИКЛЫ
ЖИВОТНЫХ

Научные труды кафедры зоологии

Выпуск 11

Санкт-Петербург
2011

Печатается по решению кафедры зоологии
Российского государственного педагогического
университета имени А.И.Герцена

Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. Сборник научных трудов кафедры зоологии РГПУ им. А.И.Герцена. Выпуск 11 // СПб: ТЕССА, 2011. – 115 с.

ISBN 5-94086-027-3

Настоящее издание (выпуск 11) представляет продолжение публикаций результатов научных исследований, выполненных на кафедре зоологии РГПУ им. А.И.Герцена. Статьи преподавателей, магистрантов и аспирантов кафедры, включенные в настоящее издание, содержат ряд новых данных и посвящены биологии, экологии, систематике и жизненным циклам животных разных систематических групп.

Сборник рассчитан на широкий круг биологов, преподавателей дисциплин биологического цикла, аспирантов и студентов биологических факультетов.

Редакционная коллегия:

М.А. Гвоздев, Г.Л. Атаев, П.С. Горбунов, П.В. Озерский

ISBN 5-94086-027-3

© Авторы, 2011

**К ВОПРОСУ О СВЯЗИ МЕЖДУ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ
СПЕЦИАЛИЗАЦИЕЙ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИМИ
ХАРАКТЕРИСТИКАМИ У САРАНЧОВЫХ (Orthoptera, Acrididae)**

В конце 80-х годов прошлого века в серии работ новосибирских исследователей было сформулировано представление о высокой способности к рекомбинации как одной из основ экологической пластичности у экологически мало специализированных видов саранчовых. Это представление было намечено в совместной работе эколога И. В. Стебаева и цитогенетиков А. Г. Бугрова и Л. В. Высоцкой (Стебаев и др., 1984) и окончательно сформулировано в статье Бугрова и Высоцкой (1988), посвященной сравнительному анализу частоты хиазм (X-образных пересечений гомологичных хромосом в бивалентах в профазе первого деления мейоза) у саранчовых. По мнению авторов указанных работ, способность к рекомбинации может быть охарактеризована через число хромосом в кариотипе и частоту хиазм (последняя отражает частоту кроссинговера); чем больше величины этих показателей, тем выше процент рекомбинации. На основании цитогенетического исследования 63 видов саранчовых и сопоставления полученных данных по хиазмам с экологической специализацией изученных видов (последняя оценивалась на основании морфологических признаков, согласно системе жизненных форм И. В. Стебаева и Л. В. Омельченко (1981)) Бугров и Высоцкая предположили, что «виды с широкими возможностями рекомбинационной изменчивости экологически пластичнее и обладают большими эволюционными потенциями и, наоборот, виды с ограниченными возможностями рекомбинации экологически специализированные и, как следствие, обладают меньшими эволюционными возможностями» (с. 62). Впоследствии Стебаев (1987) указывал на определенные соответствия цитогенетических признаков (частоты хиазм) жизненным формам саранчовых (в рамках предложенной им же системы жизненных форм).

Данное представление, несмотря на кажущуюся правдоподобность, входит в противоречие с некоторыми нашими предположениями о значении комбинативной изменчивости для

видовых популяций, придерживающихся экологической стратегии эксплерентов (рудералов) (Раменский, 1935, 1938; Grime, 1977), то есть заселяющих экосистемы, находящиеся на ранних стадиях сукцессий, и быстро выселяющихся из них, как только условия обитания перестают быть благоприятными. Из этих предположений (излагаемых во второй нашей работе, публикуемой в настоящем сборнике, – Озерский, 2011) следует необходимость не увеличения, а снижения интенсивности рекомбинаций у представителей данной экологической стратегии. В то же время, в большинстве случаев виды животных и растений, оцениваемые исследователями как «малоспециализированные» или «неспециализированные», в действительности являются выраженными эксплентами. По-видимому, не составляют исключения в этом отношении и саранчовые, ряд видов которых в экологических исследованиях иногда обозначается как «сорные» и отчетливо тяготеет к сильно неравновесным (в том числе антропогенным) биогеоценозам.

В связи с этим, в настоящей работе была предпринята попытка проверить обоснованность выводов новосибирских исследователей о характере связи между экологической специализацией и уровнем рекомбинации у саранчовых. Нами были использованы литературные данные о морфологических и цитогенетических характеристиках саранчовых (Стебаев, 1970; Бугров, Высоцкая, 1981; Бугров и др., 1987, 1991, 1993; Bugrov, 1997; Высоцкая, 1983, 1993; Гусаченко и др., 1993). Не располагая достаточными материалами по эксплентности (то есть сведениями о степени приуроченности к раннесукцессионным сообществам, о миграционной активности и т. д.) в отношении исследованных новосибирскими цитогенетиками саранчовых, автор настоящей работы обратился к данным по морфологии этих видов, а именно, к 4 морфометрическим индексам, полученных для них Стебаевым (1970) и использовавшимися им в системе жизненных форм – индексу Ш/В, лицевому углу, индексу вытянутости бедер задних ног и показателю длинноусости (значения показатель были получены с графиков, приведенных в указанной работе Стебаева (1970)). Исходя из представлений о том, что предельные (очень малые или очень большие) значения этих показателей у саранчовых являются характерными признаками «экологически специализированных» (и, следовательно, скорее всего, обладающих слабой эксплентностью) форм (Стебаев, Омельченко, 1981; Стебаев и др., 1984; Сергеев, 1986;

Стебаев, 1987), автор настоящей работы сравнил указанные 4 морфометрические показателя с количеством хромосом в кариотипах и частотой хиазм у одних тех же видов, в отношении морфометрических показателей как для обоих полов вместе, так и по отдельности для самцов и для самок при помощи 2 вариантов корреляционного анализа – метода Мантеля (Mantel, 1967) и ранговой корреляции Спирмена. Для разных показателей исследовано от 22 до 41 вида из 3 подсемейств (Catantopinae, Oedipodinae, Gomphocerinae), 13 триб (Podismini, Calliptamini; Parapleurini, Epacromiini, Locustini, Bryodemini, Sphingonotini, Oedipodini; Arcypterini, Dociostaurini, Gomphocerini, Stenobothrini, Chrysochraontini) и 29 родов. Морфометрические данные были представлены как модули отклонений исходных значений от медианы: после такого преобразования их величины были тем больше, чем сильнее исходные значения отклонялись от центра распределения. Для использования в методе Мантеля данные были отнормированы и ϕ -преобразованы. Общая формула пересчета показателей:

$$\varphi_i = 2 \arcsin \sqrt{\frac{I_i - \min(I_1 \dots I_n)}{\max(I_1 \dots I_n) - \min(I_1 \dots I_n)}}$$

где φ_i – преобразованный показатель для i -го вида; I_i – исходное значение показателя для i -го вида; n – число видов, использованных при сравнении данной пары показателей. Данное преобразование использовалось для приближения распределения данных к нормальному. При расчете матриц в качестве меры различия использовалось евклидово расстояние между значениями показателей (или показателя) для пары видов.

В результате одновременного сравнения комплекса морфометрических показателей с комплексом цитогенетических показателей по методу Мантеля была выявлена статистически значимая слабая положительная корреляционная связь между этими комплексами: без разделения материала на самцов и самок (24 вида) – $r_m = 0,16$, $p < 0,001$; только для самцов (22 вида) – $r_m = 0,20$, $p < 0,01$; только для самок (23 вида) – $r_m = 0,20$, $p < 0,01$.

В результате попарного сравнения морфометрических показателей с цитогенетическими (методом ранговой корреляции) было установлено, что в ряде случаев (7 из 24 сравнений, см. табл. 1–3) между морфометрическими и цитогенетическими показателями,

действительно, была выявлена статистически значимая, в большинстве случаев положительная корреляционная связь. В то же время, сила этой связи оказалась невелика (лишь в одном случаях абсолютная величина коэффициента ранговой корреляции превысила 0,5), что заставляет усомниться в ее прямом причинно-следственном характере. Возможным объяснением этих связей может послужить то, что группы саранчовых, выделяемые на основании сходства морфометрических показателей, в значительной мере соответствуют систематическим группам (и поэтому, в силу филогенетического родства, члены одной и той же группы с довольно высокой вероятностью сходны друг с другом также и цитогенетически). Важным представляется также и явное преобладание случаев положительной связи, при которой чем сильнее признаки уклоняются от центральной тенденции, тем более выражена способность к рекомбинации (что не согласуется с гипотезой новосибирских исследователей).

Таблица 1.

Связь между отдельными морфометрическими (по отклонениям) и цитогенетическими показателями (данные по обоим полам вместе, корреляция по Спирмену)

Показатели	Ш/В	Лицевой угол	Вытянутость заднего бедра	Длинноусость
Число хромосом	$\rho = 0,36$ $n = 82$ $p < 0,001$	$\rho = 0,21$ $n = 82$ $p > 0,05$	$\rho = 0,08$ $n = 80$ $p > 0,05$	$\rho = -0,03$ $n = 80$ $p > 0,05$
Средняя частота хиазм	$\rho = 0,26$ $n = 48$ $p > 0,05$	$\rho = -0,20$ $n = 48$ $p > 0,05$	$\rho = -0,32$ $n = 45$ $p < 0,05$	$\rho = 0,11$ $n = 45$ $p > 0,05$

Для проверки предположения о том, что связь между пропорциями тела саранчовых и их цитогенетическими особенностями является отражением их филогенетических отношений, мы оценили степень таксономической неродственности исследованных видов с использованием 4-балльной шкалы (0 – один и тот же род; 1 – разные роды в одной и той же трибе; 2 – разные трибы в одном и том же подсемействе; 3 – разные подсемейства) и после

нормирования и ф-преобразования использовали основанную на этой шкале матрицу попарных различий между видами по таксономической близости в корреляционном анализе по методу Мантеля, сравнив ее с аналогичными матрицами для морфометрических и цитогенетических показателей (табл. 4, 5).

Таблица 2.

Связь между отдельными морфометрическими (по отклонениям) и цитогенетическими показателями (данные по самцам, корреляция по Спирмену)

Показатели	Ш/В	Лицевой угол	Вытянутость заднего бедра	Длинноуость
Число хромосом	$\rho = 0,22$ $n = 41$ $p > 0,05$	$\rho = 0,27$ $n = 41$ $p > 0,05$	$\rho = 0,00$ $n = 39$ $p > 0,05$	$\rho = 0,13$ $n = 39$ $p > 0,05$
Средняя частота хиазм	$\rho = 0,47$ $n = 24$ $p < 0,05$	$\rho = -0,27$ $n = 24$ $p > 0,05$	$\rho = -0,09$ $n = 22$ $p > 0,05$	$\rho = -0,01$ $n = 22$ $p > 0,05$

Таблица 3.

Связь между отдельными морфометрическими (по отклонениям) и цитогенетическими показателями (данные по самкам, корреляция по Спирмену)

Показатели	Ш/В	Лицевой угол	Вытянутость заднего бедра	Длинноуость
Число хромосом	$\rho = 0,49$ $n = 41$ $p < 0,01$	$\rho = 0,26$ $n = 41$ $p > 0,05$	$\rho = 0,15$ $n = 41$ $p > 0,05$	$\rho = 0,33$ $n = 41$ $p < 0,05$
Средняя частота хиазм	$\rho = 0,07$ $n = 24$ $p > 0,05$	$\rho = -0,20$ $n = 24$ $p > 0,05$	$\rho = -0,56$ $n = 23$ $p < 0,01$	$\rho = 0,45$ $n = 23$ $p < 0,05$

Как можно видеть из указанных таблиц, связь между степенью отклонения значений морфометрических признаков от центральной тенденции и систематическим положением у саранчовых оказалась (за одним исключением) статистически не значимой. Это, однако, может быть объяснено нелинейностью зависимости, прежде всего – тем, что

систематическое положение влияет не только на абсолютные величины отклонений этих признаков от центра распределения, но на их направленность. Это предположение оказалось легко проверить, используя в корреляционном анализе Мантеля не отклонения от медианы, а нормализованные (нормированные и затем Φ -преобразованные) значения морфометрических показателей как таковые (табл. 6).

Таблица 4.

Связь между отдельными морфометрическими показателями (по отклонениям) и таксономическим родством (корреляция по Мантелю)

Показатели	Ш/В	Лицевой угол	Вытянутость заднего бедра	Длинноуость
Пол				
Самцы	$r_m = 0,01$ $n = 41$ $p > 0,05$	$r_m = 0,05$ $n = 41$ $p > 0,05$	$r_m = -0,04$ $n = 38$ $p > 0,05$	$r_m = -0,03$ $n = 38$ $p > 0,05$
Самки	$r_m = 0,27$ $n = 41$ $p < 0,001$	$r_m = -0,06$ $n = 41$ $p > 0,05$	$r_m = -0,01$ $n = 40$ $p > 0,05$	$r_m = -0,04$ $n = 40$ $p > 0,05$

Таблица 5.

Связь между отдельными цитогенетическими показателями и таксономическим родством (корреляция по Мантелю)

Число хромосом	Средняя частота хиазм
$r_m = 0,44$ $n = 41$ $p < 0,001$	$r_m = 0,19$ $n = 24$ $p < 0,01$

Как можно видеть из сравнения таблиц 4 и 6, при использовании в корреляционном анализе не отклонений от центральной тенденции, а значений морфометрических показателей как таковых (т.е., по сути дела, при учете направленности отклонений) количество признаков, проявляющих статистически значимую положительную корреляционную связь с таксономическим

родством, существенно возросло. В отношении половины исследованных морфометрических показателей у самцов и всех исследованных морфометрических показателей у самок была подтверждена их связь с таксономическим положением видов. Была выявлена также статистически значимая слабая или средней силы положительная корреляционная связь между таксономическим родством видов и обоими исследовавшимися цитогенетическими показателями. Следовательно, можно предположить, что корреляция между морфометрическими и цитогенетическими показателями в какой-то степени является отражением филогенетических отношений между видами, хотя, по-видимому, она определяется также и другими факторами.

Таблица 6.

Связь между отдельными морфометрическими показателями (по значениям) и таксономическим родством (корреляция по Мантелю)

Показатели	Ш/В	Лицевой угол	Вытянутость заднего бедра	Длинноусость
Пол				
Самцы	$r_m = 0,03$ $n = 41$ $p > 0,05$	$r_m = 0,28$ $n = 41$ $p < 0,001$	$r_m = 0,03$ $n = 38$ $p > 0,05$	$r_m = 0,17$ $n = 38$ $p < 0,001$
Самки	$r_m = 0,27$ $n = 41$ $p < 0,001$	$r_m = 0,27$ $n = 41$ $p < 0,001$	$r_m = 0,22$ $n = 40$ $p < 0,001$	$r_m = 0,13$ $n = 40$ $p < 0,001$

Таким образом, результаты этого сравнения не позволили ни опровергнуть, ни подтвердить гипотезу новосибирских исследователей. Однако, как представляется, они достаточно убедительно продемонстрировали, что эта гипотеза пока не является в должной мере обоснованной и нуждается в дальнейшей проверке. По-видимому, наиболее целесообразно было бы исследовать в отношении цитогенетических характеристик как можно больше подсемейств, триб и родов саранчовых, особое внимание уделяя морфологически сходным, но таксономически мало родственным друг другу видам.

Литература

- Бугров А.Г., Высоцкая Л.В., 1988. Частота и локализация хиазм как показатель степени экологической специализации вида на примере саранчовых (Orthoptera, Acrididae) // Ландшафтная экология насекомых. Новосибирск: Наука. С. 56–63.
- Бугров А.Г., Высоцкая Л.В., 1981. Кариологические особенности некоторых саранчовых (Orthoptera: Acridoidea) Сибири, Средней Азии и Дальнего Востока // И.В. Стебаев (ред.). Вопросы экологии. Поведение и экология насекомых, связанных с агробиоценозами. Сб. научн. тр. Новосибирск. С. 3–12.
- Бугров А.Г., Гусаченко А.М., Высоцкая Л.В., 1987. Сравнительный цитогенетический анализ саранчовых триб Gomphocerini, Chrysochraontini (Orthoptera, Acrididae) // А.И. Черепанов (ред.). Экология и география членистоногих Сибири. Новосибирск: Наука. С. 32–34.
- Бугров А.Г., Гусаченко А.М., Высоцкая Л.В., 1991. Кариотипы и с-гетерохроматиновые районы саранчовых трибы Gomphocerini (Orthoptera, Acrididae, Gomphocerinae) фауны СССР // Зоол. журн. Т. 70. № 12. С. 55–63.
- Бугров А.Г., Сергеев М.Г., Высоцкая Л.В., 1993. Филогенетическое положение саранчовых рода *Eremippus* Uv. (Orthoptera, Acrididae). Цитогенетический анализ // Кариосистематика беспозвоночных животных. Сб. научн. тр. Т. 2. СПб. С. 18–20.
- Высоцкая Л.В., 1983. Цитогенетическое исследование видов семейства Acrididae (Orthoptera). Автореф. дисс. канд. биол. н. Новосибирск. 16 с.
- Высоцкая Л.В., 1993. Закономерности эволюционных преобразований кариотипов саранчовых. Автореф. дисс. докт. биол. н. Новосибирск. 48 с.
- Гусаченко А.М., Бугров А.Г., Высоцкая Л.В., 1993. Система внутривидового кариотипического полиморфизма как таксономический признак на примере триб Gomphocerini и Bryodemini (Orthoptera, Acrididae) // Кариосистематика беспозвоночных животных. Сб. научн. тр. Т. 2. СПб. С. 21–23.
- Озерский П.В., 2011. О применимости концепции стабилизирующего отбора к представителям жизненной стратегии эксплерентов // Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. Вып. 11. СПб: Изд-во РГПУ им. А. И. Герцена. С. 11–27.
- Раменский Л.Г., 1935. О принципиальных установках, основных понятиях и терминах производственной типологии земель, геоботаники и

- экологии // Сов. ботаника. № 4. С. 25–42.
- Раменский Л.Г., 1938. Введение в комплексное почвенно-геоботаническое исследование земель. М.: Сельхозгиз. 620 с.
- Сергеев М.Г., 1986. Закономерности распространения прямокрылых насекомых Северной Азии. Новосибирск: Наука. 238 с.
- Стебаев И.В., 1970. Жизненные формы и половой диморфизм саранчовых Тувы и Юго-Западного Алтая // Зоол. Журн. Т. 49. № 3., С. 325–338.
- Стебаев И.В., 1987. Морфоадаптогенез саранчовых и система их жизненных форм // Журн. общ. биол. Т. 48. № 3. С. 626–639.
- Стебаев И.В., Омельченко Л.В., 1981. Общие особенности морфоадаптационных типов, или жизненных форм, саранчовых Южной Сибири и сопредельных территорий // Вопросы экологии. Поведение и экология насекомых, связанных с агробиогеоценозами. Новосибирск: изд-во НГУ. С. 13–39.
- Стебаев И.В., Бугров А.Г., Высоцкая Л.В., 1984. Анализ филогенетических отношений короткоусых прямокрылых (Orthoptera, Caelifera, Eumastacoidea и Acridioidea) фауны СССР на основании синтеза цитогенетических, таксономических и экологических данных // Журн. общ. биол. Т. 45. № 4. С. 456–471.
- Bugrov A., 1997. Karyotype evolution in Palearctic Podisminae (=Melanoplinae) // Metalepeta. Vol. 17. № 2. P. 23.
- Grime J.P., 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory // Am. Nat. Vol. 111. № 977. P. 1169–1194.
- Mantel N., 1967. The detection of disease clustering and generalized regression approach // Cancer Res. Vol. 27. № 2. P. 209–220.

P.V. Ozerski

To a question about the relationship between the ecological specialization and the cytogenetic features in grasshoppers

SUMMARY

A hypothesis about the close relation between the ecological specialization and the level of the combinative variability in grasshoppers (Acrididae) published at the end of the XX century is tested using Mantel's correlation analysis. It is demonstrated that this hypothesis needs the further examination.

П.В. Озерский

О ПРИМЕНИМОСТИ КОНЦЕПЦИИ СТАБИЛИЗИРУЮЩЕГО ОТБОРА К ПРЕДСТАВИТЕЛЯМ ЖИЗНЕННОЙ СТРАТЕГИИ ЭКСПЛЕРЕНТОВ

Описание проблемы. Учение о стабилизирующем и движущем отборе, разработанное академиком И. И. Шмальгаузенем (1939, 1968, 1969, 1982), по праву считается одной из важнейших составных частей современных селекционистских эволюционных теорий, выросших из работ Ч. Дарвина и А. Уоллеса. Согласно Шмальгаузену, постоянство условий обитания благоприятствует поддержанию в популяции одних и тех же фенотипов и способствует элиминации уклоняющихся форм (стабилизирующий отбор), в то время как однонаправленное изменение этих условий приводит к селективному преимуществу новых фенотипов, выходящих за рамки нормы реакции и появляющихся в результате мутационной и последующей комбинативной изменчивости (движущий отбор)¹. Несмотря на свою стройность и кажущуюся очевидность, концепция Шмальгаузена, тем не менее, сталкивается с определенными трудностями при ее приложении к некоторым представителям мира живой природы, а именно, к тем формам, которые используют для достижения биологического успеха жизненную стратегию эксплерентов.

Эксплерентами называются такие растения, животные и представители других царств, жизненная стратегия которых состоит в поддержании постоянства условий своего существования (своей аутоэкологической станции) путем частого переселения популяции или ее части из экосистем, становящихся непригодными для обитания, в другие, более благоприятные. Термин «эксплерент» был введен в

¹ По Шмальгаузену (1969, с. 237), реализация движущей формы естественного отбора — это «обычный результат изменений в экологических условиях и биоценотических соотношениях, при которых установившийся механизм индивидуального развития и его результат, т. е. вся организация вместе со всеми ее реакциями, теряет свою приспособленность», в то время как стабилизирующая форма естественного отбора «явно проявляет свое действие при установившихся экологических условиях и биоценотических соотношениях» и «означает наличие известного равновесия между популяцией и внешней средой».

науку в конце 30-х годов прошлого века отечественным геоботаникам Л. Г. Раменским (1938), еще раньше им же (Раменский, 1935), применительно к растениям, была дана развернутая характеристика данной экологической стратегии в рамках классификации ценобиотических типов (как ценобиотического типа «шакалов»). В 70-х годах XX века британский эколог Дж. Ф. Грайм (Grime, 1977), не будучи знаком с работами Раменского, вторично описал эксплерентов под названием «рудералы».

Чаще всего эксплентами заселяются неравновесные экосистемы, находящиеся в состоянии сукцессии (в частности, типичными эксплентами являются виды-пионеры, осваивающие незаселенные территории на ранних этапах первичных сукцессий). В некоторых случаях популяция вида-эксплента в ходе своей средообразовательной деятельности сама настолько изменяет экосистему, что дальнейшее обитание этой популяции становится в ней невозможным. Примером организмов, реализующих такую стратегию, можно считать, например, насекомых, развивающихся на падали и в экскрементах: таковы, в частности, многие синие падальные (Calliphoridae) и серые мясные (Sarcophagidae) мухи, формирующие недолговечные ценогемипопуляции² личинок в мини-экосистемах, возникающих в экскрементах и трупах животных (Артамонов, 2005). Насекомые значительно ускоряют разложение мертвой органики и, соответственно, особенно при небольших размерах экскрементов или трупов, быстро приводят среду своего обитания в непригодное для их дальнейшего существования состояние, после чего покидают ее (в частности, личинки мух уходят в почву на окукливание)³. Однако даже если необходимость

² Данным словом в настоящей работе обозначены совокупности особей одной популяции, сочетающие в себе свойства ценопопуляций (расположение в пределах одной экосистемы) и гемипопуляций (представленность только особями, находящимися на определенных стадиях онтогенеза, в данном случае – на личиночной).

³ В качестве примера, показывающего большую роль насекомых в разложении мертвой органики, можно привести данные, полученные Дж. А. Пейном (Payne, 1965): в условиях юго-востока США, в летний сезон, в лесу труп поросенка, искусственно изолированный от насекомых, разлагался в течение многих месяцев, в то время как при участии насекомых 90% его тканей были уничтожены за 6 дней, причем в ходе

переселения является результатом средообразовательной деятельности эксплерента, стратегия эксплерентов не является, в большинстве случаев, разрушительной для гомеостаза биосферы. В естественных условиях (и при этом вне ситуаций биоценологических кризисов) вселения и выселения эксплерентов представляют собой проявления естественной циклической процессуальности, идущих в экосистемах, а гомеостаз биосферы – это не просто равновесие, а равновесие динамическое, подразумевающее существование подобных циклических процессов.

Для того, чтобы лучше прояснить соотношение между сукцессиями и динамическим равновесием в пределах территории, используемой популяцией эксплерента, следует обратить внимание на то, что экосистемы меньшего масштаба входят в состав более крупных экосистем в качестве подсистем. Таким образом, «малая» экосистема, подвергающаяся сукцессионной перестройке, (т. е. экосистема, непосредственно из которой выселяется эксплерент) является составной частью экосистемы большего (при этом даже не обязательно биосферного) масштаба, в пределах которой эта сукцессия уже оказывается частью равновесной динамики. При этом популяция эксплерента, в общем случае, имеет ареал, пространственно не ограниченный территорией «малой» экосистемы, он разбросан по «большой» экосистеме в виде фрагментов, которые приурочены к аналогичным «малым» экосистемам, входящим в состав той же самой или других «больших» экосистем. Связь между этими фрагментами (в том числе, и обмен генами, обеспечивающий целостность популяции) обеспечивается посредством миграций (которые в данном случае надо понимать широко, включая в них также и пассивные перемещения, такие, как, например, перенос пыльцы и семян растений ветром и животными). Соответственно, топическая стадия популяции эксплерента пространственно не укладывается в границы одной из «малых» экосистем и оказывается

этого процесса одни виды насекомых, заселявших труп, естественным образом замещались другими, создавая типичную картину экологической сукцессии. Существенное ускорение разложения под действием насекомых было показано также и для экскрементов, например, для помета крупного рогатого скота (опыты К. М. Ли и Р. Уолла: Lee, Wall, 2006), в отношении которого также описана сукцессионная перестройка таксоцены жесткокрылых насекомых (Koskela, Hanski, 1977).

высокодисперсной. Воспроизводство новых «малых» экосистем (компенсирующих утрату старых в ходе сукцессий), то есть поддержание аутоэкологической стадии эксплерента, при этом осуществляется за счет частей «больших» экосистем, пространственно контактирующих с данной популяцией. Если возможность возникновения или существования «малой» экосистемы в какой-либо степени определяется свойствами «большой» экосистемы, если «малая» экосистема в сколь-либо существенных масштабах обменивается энергией, веществом или информацией с «большой» (а именно такая ситуация представляется наиболее реалистичной), то именно «большие» экосистемы обеспечивают возможность существования данной популяции эксплерента.

Очевидно, что стратегия эксплерентов может успешно реализовываться только при условии, что их переселения укладываются в закономерную и равновесную динамику изменения экосистем в пределах сохранения гомеостаза биосферы, – так как только в этом случае им может быть гарантировано нахождение новых мест для поселения.

Таким образом, можно предполагать, что в изменяющейся в определенном направлении среде обитания могут реализовываться две альтернативные стратегии эволюции популяции: путь изменения нормы реакции вслед за изменением аутоэкологической стадии (при этом движущей силой этого изменения оказывается классический движущий отбор «по Шмальгаузену») и путь поддержания высокой способности к расселению («путь эксплерентов»). Очевидно, что второй путь предполагает поддержание у популяции специфических черт ее метафенотипа (эврибионтность, высокая способность к расселению, ярко выраженная способность к адаптивной модификационной изменчивости и т. д.) каким-то эволюционным механизмом. Наиболее вероятным таким механизмом должен, по-видимому, считаться стабилизирующий отбор.

Следует заметить, что предположение о возможности стабилизирующего отбора в условиях сукцессии, на первый взгляд, не укладывается в традиционное, также идущее от работ Шмальгаузена представление о том, что при направленном и неуклонном изменении условий существования популяция подвергается не стабилизирующему, а движущему отбору. При этом действие движущего отбора на популяции эксплерентов должно было бы во

многих случаях приводить к разрушительным для них последствиям. Движущий отбор, заставляя метафенотип популяции подстраиваться под изменения условий среды ее обитания, никоим образом не способен параллельно поддерживать приспособленность этой популяции к исходным, потерявшим актуальность условиям. Эта ситуация грозит тем, что во многих случаях гиперобъем экологической ниши этой популяции будет по мере изменений условий и действия движущего отбора не расширяться в факторном гиперпространстве, а смещаться, захватывая новые области, соответствующие условиям нового этапа сукцессии, но при этом отступая из занятых прежде. Представляется, что для изменения (с высокой вероятностью – в форме смещения) ниши достаточно того, чтобы в пределах одной и той же находящейся в состоянии сукцессионной перестройки экосистемы происходила хотя бы одна смена поколений. Более того, при представленности популяции одним поколением в сочетании с более или менее синхронным развитием особей (что нередко встречается, например, в зонах умеренного климата у насекомых и однолетних растений) не требуется и ее: достаточно того, чтобы движущий отбор изменил генофонд популяции к моменту наступления половой зрелости ее членов по сравнению с исходным для этого поколения. В итоге же смещение ниши должно привести к потере популяцией способности осваивать экосистемы, находящиеся на более ранних стадиях сукцессий. Вполне возможно, что в некоторых случаях такая эволюция популяции способна привести ее к смене экологической стратегии (утрате эксплерентности) и к ее переходу к обитанию в стабильных условиях. Более вероятным, однако, представляется поражение такой популяции в конкурентной борьбе с давно специализированными к обитанию в поздне-сукцессионных и климаксных экосистемах популяциями других видов (и, в итоге, ее вымирание). В то же время, вытеснение эксплерентов из биоты было бы чревато затруднением прохождения демулационных сукцессий и, как следствие, нарушением самоподдержания гомеостаза биосферы.

По-видимому, однако, противоречие между необходимостью поддержания эксплерентами своей стратегии и возможностью ее разрушения движущим отбором лишь кажущееся. Как можно было видеть выше, направленные изменения условий в экосистемах, в которых существуют эксплеренты, укладываются в картину

равновесной динамики экосистемы большего масштаба. Таким образом, если ареал, занимаемый популяцией эксплерента, достаточно велик (значительно превышает размеры «малой» экосистемы, целиком вовлеченной в процесс сукцессии и охватывает достаточно много таких «малых» экосистем, находящихся на разных этапах сукцессий), то в целом для этой популяции нет направленного изменения условий существования и, таким образом, есть возможность для стабилизирующего отбора. В то же время, фрагментация «большой» популяции эксплерента на «малые» популяции (приуроченные к «малым» экосистемам, находящимся каждая на какой-либо определенной стадии сукцессии) и утрата ею свойств единой системы, обладающей определенным генофондом и определенным метафенотипом, способна сделать реальной описанную выше опасность потери ею эксплерентных свойств⁴. Поэтому следует ожидать существования у эксплерентов различных механизмов, способных противостоять этой опасности.

«Расселительный» механизм противодействия эксплерентов движущему отбору. В качестве одного (а возможно, и основного) из механизмов, противостоящих движущему отбору и, тем самым, поддерживающих стабилизирующий отбор, направленный на поддержание высокого уровня эксплерентности, следует рассматривать высокую расселительную способность особей, которая препятствует «замыканию» ареала популяции в пределах «малой» экосистемы и, наоборот, способствует расширению этого ареала до

⁴ Такие «малые» популяции в составе «малых» экосистем, безусловно, полностью соответствуют определению ценопопуляции. Следует, однако, заметить, что в понятийной системе, принятой в настоящей работе, ценопопуляцией считается всякая часть популяции, находящаяся в пределах одной экосистемы, безотносительно того, в какой мере она автономна с генетической точки зрения. Таким образом, совокупность особей – членов одной популяции, находящихся в составе одной и той же экосистемы, рассматривается в настоящей работе как ценопопуляция также и в том случае, если они не ослабляют генетических взаимодействий с членами своей популяции, обитающими в других экосистемах. Именно поэтому в данном случае речь идет не об опасности превращения части популяции в ценопопуляцию, а об опасности ее генетической автономизации.

таких масштабов, в которых «малые» экосистемы оказываются лишь частями единой станции, находящейся в состоянии динамического равновесия. Эта способность является неперенным, характеристическим свойством всех эксплерентов. В качестве ее иллюстрации можно указать на эффективное распространение с помощью ветра большого количества семян у таких типичных растений-эксплерентов, как характерный для лесных вырубок и пожарищ в зоне бореальных лесов иван-чай (*Chamerion angustifolium* (L.) Holub), приуроченные к преимущественно антропогенным сукцессиям сложноцветные: представители родов одуванчик (*Taraxacum* Cass.), осот (*Sonchus* L.), мать-и-мачеха (*Tussilago* L.) и др. В качестве аналогичного примера из животного мира можно указать на пресноводных ветвистоусых ракообразных (*Cladocera*), например, дафний (род *Daphnia* Müller), способных заселять временные водоемы благодаря разносимыми ветром яйцевым коконам (эфиппиям). В целом, и у растений, и у животных, и у представителей других царств расселяться на большие расстояния могут как носители сформированных генотипов (споры бесполого размножения, семена, яйца, личинки, взрослые особи), так и гаметы (например, планктонные сперматозоиды двустворчатых моллюсков). Во втором случае обмен генами между частями популяции, заселяющими пространственно изолированные друг от друга части станции, обеспечивается благодаря перекрестному оплодотворению, хотя особи, производящие гаметы, остаются пространственно изолированными друг от друга. В обоих случаях, однако, благодаря обмену особями или гаметами, создаются условия, препятствующие превращению пространственно обособленных частей популяции в автономные мини-популяции, внутри каждой из которых мог бы начаться движущий отбор вслед за сукцессионными изменениями «малой» экосистемы.

Специфика данного механизма, с помощью которого популяция противостоит фрагментации, состоит в том, что он опирается на те же самые свойства эксплерентов, которые позволяют им быстро осваивать свободные от конкурентов территории. Поэтому практически невозможно определить в конкретных случаях, что именно — защита от движущего отбора или необходимость освоения новых территорий — являлось эволюционной первопричиной возникновения высокой расселительной способности у того или иного эксплерента. В то же время, не вызывает особых сомнений, что в

любом случае такая способность позволяет решать обе задачи.

Гипотеза о возможности генетического противодействия эксплерентов движущему отбору. Как представляется, описанный выше «расселительный» механизм, препятствующий действию движущего отбора, может быть не единственным для эксплерентов. Необходимость существования также и других механизмов может быть аргументирована следующим образом. «Расселительный механизм» может не срабатывать при высокой плотности заселения «малой экосистемы» эксплерентом, когда иммигрантам из других ценопопуляций может просто не оставаться возможности для вселения из-за острой конкуренции с аборигенной ценопопуляцией.

Автор настоящей работы предполагает, что эти, другие, механизмы могут быть генетическими по своей природе и представлять собой всевозможные ограничения способности к образованию новых генотипов, то есть к пополнению исходного материала для движущего отбора. Прежде всего, это отказ от полового размножения и перекрестного оплодотворения (или, по меньшей мере, уменьшение их роли в воспроизводстве популяции). Следует заметить, что можно привести некоторые примеры, свидетельствующие в пользу такого предположения. Например, исследования популяционной структуры крестоцветного растения резушка Таля *Arabidopsis thaliana* (L.) Neunh. – типичного эксплерента – на территории Великобритании (Англии и Шотландии) (Abbott, Gomes, 1988) выявили у данного вида сравнительно небольшое внутривидовое генетическое разнообразие, высокую степень гомозиготности особей и, в то же время, большие генетические различия между популяциями. Авторы этого исследования связали полученные результаты с тем, что резушка Талья является почти исключительно самоопыляющимся видом. Аналогично, С. Д. Гребельный (2008) в своей обзорной монографии указывает на то, что полиплоидия (связываемая им со в той или иной степени выраженной утратой способности к рекомбинации) характерна для многих сорных форм растений, ассоциированных с агроценозами, то есть типичных эксплерентов, в то время как диплоидные кариоморфы тех же самых видов растений тяготеют к естественным экосистемам. Примерами таких растений могут послужить пастушья сумка *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik., паслен черный *Solanum nigrum* L., горец птичий *Polygonum aviculare* L.,

звездчатка средняя *Stellaria media* (L.) Vill., дымянка лекарственная *Fumaria officinalis* L. (Tischler, 1946; цит. по: Гребельный, 2008). Из числа животных похожей стратегии, по-видимому, придерживаются уже упоминавшиеся выше дафнии и родственные им другие пресноводные ветвистоусые ракообразные, способные к партеногенетическому размножению и использующие его как основной способ увеличения численности ценопопуляций, пока условия обитания для них достаточно благоприятны. В пользу предположения об использовании дафниями такой стратегии свидетельствует ряд данных, полученных разными авторами в результате изучения нескольких видов этих ракообразных. Так, было доказано, что при партеногенезе у большой дафнии *Daphnia magna* Straus не происходит рекомбинации и при этом каждый партеногенетический клон происходит от одной самки основательницы (Hebert, Ward, 1972). Было установлено также, что динамика генетической структуры популяций этого вида дафний находится в зависимости от того, идет ли речь о длительно существующих или же о неустойчивых популяциях. Если в длительно существующих популяциях имеют место большие изменения генетической структуры, то в неустойчивых популяциях она относительно стабильна и частоты генотипов поддерживаются почти без изменений, хорошо согласуясь с законом Харди-Вайнберга (Hebert, 1974a, b). Следует заметить, что с точки зрения изучения стратегии эксплерентов больший интерес представляет второй случай, так как именно он реализуется во временных водоемах, всё короткое существование которых представляет собой непрерывную сукцессию. К сожалению, однако, основное внимание популяционных генетиков, изучавших дафний, оказалось сосредоточено не на временных, а на длительно существующих популяциях, так как они, в силу существования в них упомянутых выше динамических процессов, представляют гораздо больший интерес с точки зрения изучения микроэволюции. Тем не менее, результаты изучения долговечных популяций также способны пролить некоторый свет на обсуждаемую проблему. Прежде всего, представляет интерес анализ факторов, обуславливающих их генетическую неоднородность. Судя по всему, эта неоднородность не сопровождается вытеснением каким-либо одним клоном всех прочих и все время сохраняется на достаточно высоком уровне (Young, 1979). При этом для дафнии-блохи *D. pulex*

Leydig показано существенное влияние полового размножения на генетическую структуру популяций (Pfrender, Lynch, 2000). Кроме того, для *D. magna* и *D. longispina* (Müller) описано постепенное возрастание генетического разнообразия внутри локальных популяций с течением времени, в то время как различия между популяциями постепенно уменьшаются; предполагается, что в основе этого явления лежат дрейф генов, иммиграция и межпопуляционная гибридизация (Haag et al., 2005). Как представляется, все эти данные косвенно свидетельствуют о том, что именно отсутствие обычного полового размножения и рекомбинации лежит в основе внутренней генетической однородности кратковременно существующих популяций дафний.

По-видимому, высокоэффективной стратегией для популяции эксплорента было бы сочетание механизмов, способствующих обмену генами между пространственно изолированными частями популяции, и механизмов, препятствующих движущему отбору внутри каждой из этих частей. Имеются некоторые основания предполагать, что именно такой стратегии соответствует характер размножения широко распространенной в умеренной зоне Евразии осины (тополя дрожащего) *Populus tremula* L. и близкородственного ей (и сходного с ней экологически) американского вида, тополя осинообразного *Populus tremuloides* Michx. Оба этих вида деревьев в характерны для многих сообществ, находящихся в состоянии сукцессии, из которых впоследствии вытесняются другими видами древесных растений (например, в условиях таежной зоны – хвойными) (Frelich, Reich, 1995; Консенсусный документ..., 2000; Исаев и др. , 2008; Комарова и др., 2008). В пределах сплошных массивов они размножаются преимущественно вегетативно, с помощью корневых отпрысков, а успешное размножение семенами происходит у них редко (обзор: Latva-Karjanmaa et al., 2003; Suvanto, Latva-Karjanmaa, 2005; Johnstone, 2005). В то же время, заселение этими тополями пригодных для их произрастания территорий, представляющих собой «просветы» в хвойных лесах (вырубки, пожарища, места «выпадения» старых деревьев) и изолированных друг от друга массивами хвойного леса, возможно только за счет разносимых ветром плодов, то есть полового размножения. При этом оба рассматриваемых вида тополей являются двудомными ветроопыляемыми растениями, благодаря чему при половом размножении у них обеспечивается высокая степень

рекомбинации генов. Действительно, с точки зрения генетики осина является полиморфным видом, причем этот полиморфизм в ряде случаев отражает различия в экологических условиях ее произрастания в разных частях ареала, в частности, на разной географической широте, в разных условиях фотопериода (Ingvarsson, 2005; Ingvarsson et al., 2006). Таким образом, можно предполагать, что в масштабах «больших» популяций у этого вида эффективно идет движущий отбор, формирующий обусловленные наследственными адаптивными признаками географические различия между популяциями, – в то время как отбор внутри ее клонов, населяющих «малые» экосистемы, как и всякий отбор в «чистых линиях», не может быть эффективным.

В целом, складывается впечатление, что эволюционная стратегия эксплерентов должна включать в себя противодействие давлению движущего отбора, причем это противодействие может основываться, по меньшей мере, на двух механизмах – на «расселительном» (обеспечивающем генетическое единство «больших» популяций и не позволяющем им фрагментироваться на автономные «малые» (цено-)популяции) и «генетическом» (состоящем в блокировке рекомбинации, в результате чего движущий отбор в масштабе «малой» (цено-)популяции становится неэффективным). Следует, однако, заметить, что степень универсальности этих положений не может быть оценена без дополнительных исследований и, соответственно этому, изложенные соображения являются не более, чем гипотезой, нуждающейся в проверке. При этом следует признать существование ряда сложностей и нерешенных вопросов. Прежде всего, в природе не бывает видов и популяций, последовательно придерживающихся какой-либо одной из стратегий Раменского–Грайма: в действительности всегда имеет место сочетание у одной и той же видовой популяции элементов нескольких стратегий. Кроме того, принципиальная возможность блокировки рекомбинации, по-видимому, неодинакова в разных систематических группах, при этом более или менее успешные попытки реализовать стратегию эксплерентов встречаются и среди тех организмов, для которых нормальное половое размножение является единственно или почти единственно возможным способом воспроизводства популяций в силу неких «эволюционных запретов». Так, например, у саранчовых известны так называемые «сорные» виды, тяготеющие к

растительным сообществам, находящимся на ранних этапах сукцессии. То, что этим видам свойственны экологические стратегии с хорошо выраженным эксплерентным компонентом, не вызывает особого сомнения. Так, например, в работе И. В. Стебаева и его соавторов (Стебаев и др., 1999) указывается большое значение саранчовых как средообразователей в условиях пересыхающих речных дельт: эти насекомые охарактеризованы как и ограничители, и ускорители сукцессионных процессов. Некоторые виды саранчовых – например, коньки из комплекса видов *Chorthippus* «biguttulus» – указываются как характерные обитатели раннесукцессионных (пионерных) сообществ (Зиненко и др., 2005), другие же – некоторые травянки из рода *Stenobothrus* Fisch., копьеузка восточная *Myrmeleotettix palpalis* (Zub.) и др. – тяготеют к фитоценозам, подвергнувшимся сильной антропогенной дигрессии (Рубцов, Копанева, 1974). В то же время, партеногенез не является характерным явлением для саранчовых и отмечается у них лишь спорадически (обзор: Hamilton, 1955), а другие способы размножения без рекомбинации у этой группы и вовсе не встречаются.

Неоднозначна ситуация также и со связью между полиплоидией и высокой эксплерентностью. Так, обобщение данных по средневропейским растениям, выполненное Р. Кнаппом (Knapp, 1953), показало, что полиплоиды преобладают не на начальных, а на промежуточных стадиях сукцессий (71,7% от всех видов, присутствующих в фитоценозе), в то время как на начальных и конечных стадиях сукцессий их доля примерно одинакова и невелика (соответственно, 38,8 и 36,4%). Аналогично, анализ представленности видов растений-апомиктов в растительных сообществах Швеции продемонстрировал, что их доля в рудеральных сообществах очень мала, а преобладают они (и по абсолютному количеству видов, и относительно не-апомиктов в пределах сообщества) на пастбищах и в лесах (Asker, Jerling, 1992). Следует, однако, отметить, что приведенные данные сами по себе не опровергают гипотезу о высоком значении блокировки рекомбинации у эксплерентов. С точки зрения проверки этой гипотезы имели бы значение, во-первых, рассмотрение представленности не только апомиктов и полиплоидов, но и облигатных и преимущественных самоопылителей, а во-вторых, учет не только их видового состава, но и обилия и значения в сообществах.

Отдельного внимания заслуживает вопрос о совместимости

предлагаемой в настоящей работе гипотезы о генетическом механизме противостояния движущему отбору у эксплерентов с представлением о высокой способности к рекомбинации как основе экологической пластичности у экологически мало специализированных видов. Это представление было намечено в работе новосибирских биологов И. В. Стебаева, А. Г. Бугрова и Л. В. Высоцкой (Стебаев и др., 1984) и окончательно сформулировано в статье А. Г. Бугрова и Л. В. Высоцкой (1988), посвященной сравнительному анализу частоты хиазм (X-образных пересечений гомологичных хромосом в бивалентах в профазе первого деления мейоза) у саранчовых. По мнению авторов указанных работ, способность к рекомбинации может быть охарактеризована через число хромосом в кариотипе и частоту хиазм (последняя отражает частоту кроссинговера); чем больше величины этих показателей, тем выше процент рекомбинации.

Как нетрудно видеть, предположение, высказанное Бугровым и Высоцкой, трудно совместить со сформулированной выше гипотезой о генетическом противостоянии эксплерентов движущему отбору. В самом деле, «малоспециализированность», о которой идет речь в цитируемой статье, прямо связана с высокой эксплерентностью, а у выраженных эксплерентов, согласно этой гипотезе, следует ожидать не большей, а меньшей способности к рекомбинации по сравнению с низкоэксплерентными формами. Следует, однако, заметить, что предположение Бугрова и Высоцкой пока тоже нельзя считать достаточно обоснованным. Эта недостаточность продемонстрирована в другой нашей статье, опубликованной в настоящем сборнике (Озерский, 2011).

В заключение следует заметить, что возможная ошибочность конкретных предположений о сущности механизмов противостояния эксплерентов действию на них движущего отбора не отменяет необходимости самого существования таких механизмов для поддержания данной стратегии в филогенезе. В свою очередь, как представляется, только благодаря использованию такой экологической стратегии возможно эффективное прохождение сукцессионных процессов в экосистемах, особенно – их ранних этапов.

Литература

Артамонов С.Д., 2005. Формирование адаптаций к синантропизму на примере двукрылых семейств Sarcophagidae и Calliphoridae (Insecta,

- Diptera) // Чтения памяти Алексея Ивановича Куренцова. Вып. 14. С. 14–20.
- Бугров А.Г., Высоцкая Л.В., 1988. Частота и локализация хиазм как показатель степени экологической специализации вида на примере саранчовых (Orthoptera, Acrididae) // Ландшафтная экология насекомых. Новосибирск: Наука. С. 56–63.
- Гребельный С.Д., 2008. Клонирование в природе. СПб: изд-во ЗИН РАН. 288 с.
- Зиненко Н.В., Корсуновская О.С., Стриганова Б.Р., 2005. Прямокрылые и богомолы степных биоценозов Саратовской области // Поволжск. Экол. Журн. № 1. С. 12–28.
- Исаев А.С., Суховольский В.Г., Бузькин А.И., Овчинникова Т.М., 2008. Сукцессионные процессы в лесных сообществах: модели фазовых переходов // Биология и экология, лесное хозяйство. Т. 25. № 1–2. С. 9–15.
- Комарова Т.А., Сибирина Л.А., Ли Д.К., Кан Х.С., 2008. Демутационные сукцессии после пожаров в лианово-разнокустарниковых широколиственно-кедровых лесах Южного Сихотэ-Алиня // Лесоведение. № 4. С. 10–19.
- Консенсусный документ по биологии тополя *Populus L.*, 2000. // ENV/JM/MONO(2000)10. № 16. Париж: Директорат по охране окружающей среды, Организация Экономического Сотрудничества и Развития. 25 с. <http://www.oecd.org/dataoecd/5/20/43479909.pdf> (16.01.11).
- Озерский П.В., 2011. К вопросу о связи между экологической специализацией и цитогенетическими характеристиками у саранчовых // Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. Вып. 11. СПб: ТЕССА. С. 3–11.
- Раменский Л.Г., 1935. О принципиальных установках, основных понятиях и терминах производственной типологии земель, геоботаники и экологии // Сов. ботаника. № 4. С. 25–42.
- Раменский Л.Г., 1938. Введение в комплексное почвенно-геоботаническое исследование земель. М.: Сельхозгиз. 620 с.
- Рубцов И.А., Копанева Л.М., 1974. Местообитания и условия массового размножения саранчовых Приангарья // Тр. Всесоюзн. Энтомол. об-ва. Т. 57. Систематика и экология прямокрылых насекомых. Л.: Наука. С. 86–97.
- Стебаев И.В., Бугров А.Г., Высоцкая Л.В., 1984. Анализ филогенетических отношений короткоусых прямокрылых (Orthoptera, Caelifera, Eumastacoidea и Acridoidea) фауны СССР на основании синтеза цитогенетических, таксономических и экологических данных //

Журн. общ. биол. Т. 45. № 4. С. 456–471.

- Стебаев И.В., Пшеницына Л.Б., Молодцов В.В., Гижицкая С.А., 1999. Растительный покров и его деструкторы – саранчовые (Acridoidea) в сукцессионных рядах пересыхающих речных потоков в Убсунурской котловине Тувы // Сибирский экологический журнал. № 5. С. 533–543.
- Шмальгаузен И.И., 1939. Пути и закономерности эволюционного процесса. М. –Л.: изд-во АН СССР. 232 с.
- Шмальгаузен И.И., 1968. Факторы эволюции. М.: Наука. 451 с.
- Шмальгаузен И.И., 1969. Проблемы дарвинизма. 2-е изд. Л.: Наука. 493 с.
- Шмальгаузен И.И., 1982. Стабилизирующий отбор и эволюция индивидуального развития // И.И. Шмальгаузен. Избранные труды. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М.: Наука. С. 348–372.
- Abbott R.J., Gomes M.F., 1988. Population genetic structure and outcrossing rate of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // Heredity. Vol. 62. P. 411–418.
- Asker S.E., Jerling L., 1992. Apomixis in Plants. Boca Raton and London: CRC Press. 298 p.
- Frelich L.E., Reich P.B., 1995. Spatial patterns and succession in a Minnesota southern-boreal forest // Ecological monographs. Vol. 65. № 3. P. 325–346.
- Grime J.P., 1977 Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory // Am. Nat. Vol. 111. № 977. P. 1169–1194.
- Haag C.R., Riek M., Hottinger J.W., Pajunen V.I., Ebert D., 2005. Genetic diversity and genetic differentiation in *Daphnia* metapopulations with subpopulations of known age // Genetics. Vol. 170. № 4. P. 1809–1820.
- Hamilton A.G., 1955. Parthenogenesis in the desert locust (*Schistocerca gregaria* Forsk.) and its possible effect on the maintenance of the species // Proceedings of the Royal Entomological Society of London. Series A, General Entomology. Vol. 30. № 7–9. P. 103–114.
- Hebert P.D.N., 1974a. Enzyme variability in natural populations of *Daphnia magna*. II. Genotypic frequencies in permanent populations // Genetics. Vol. 77. №2. P. 323–334.
- Hebert P.D.N., 1974b. Enzyme variability in natural populations of *Daphnia magna*. III. Genotypic frequencies in intermittent populations // Genetics. 1974. Vol. 77. № 2. P. 335–344.
- Hebert P.D.N., Ward R.D., 1972. Inheritance during parthenogenesis in *Daphnia magna* // Genetics. Vol. 71. № 4. P. 639–642.
- Ingvarsson P.K., Garcia M.V., Hall D., Luquez V., Jansson S., 2006. Clinal

- variation in phyB2, a candidate gene for day-length induced growth cessation and bud set, across a latitudinal gradient in European aspen (*Populus tremula*). *Genetics*. Vol. 172. P. 1845–1853.
- Ingvarsson P.K., 2005. Nucleotide polymorphism and linkage disequilibrium within and among natural populations of European aspen (*Populus tremula* L., Salicaceae) // *Genetics*. Vol. 169. P. 945–953.
- Johnstone J.F., 2005. Effects of aspen (*Populus tremuloides*) sucker removal on postfire conifer regeneration in central Alaska // *Can. J. For. Res.* Vol. 35. № 2. P. 483–486.
- Knapp R., 1953. Über Zusammenhänge zwischen Polyploidie, Verbreitung, systematischer und soziologischer Stellung von Pflanzenarten in Mitteleuropa // *Zeitschrift für induct. Abstammungs- und Vererbungslehre*. Bd. 85. S. 163–179.
- Koskela H., Hanski I., 1977. Structure and succession in a beetle community inhabiting cow dung // *Ann. Zool. Fennici*. Vol. 14. P. 204–223.
- Latva-Karjanmaa T., Suvanto L., Leinonen K., Hannu R., 2003. Emergence and survival of *Populus tremula* seedlings under varying moisture conditions // *Can. J. For. Res.* Vol. 33. P. 2081–2088.
- Lee C.M., Wall R., 2006. Cow-dung colonization and decomposition following insect exclusion // *Bull. Entomol. Res.* Vol. 96. № 3. P. 315–322.
- Payne J.A., 1965. A summer carrion study of the baby pig *Sus scrofa* Linnaeus // *Ecology*. Vol. 46. № 5. P. 592–602.
- Suvanto L., Latva-Karjanmaa T.B., 2005. Clone identification and clonal structure of the European aspen (*Populus tremula*) // *Molecular Ecology*. Vol. 14. P. 2851–2860.
- Young J.P.W., 1979 Enzyme polymorphism and cyclic parthenogenesis in *Daphnia magna*. I. Selection and clonal diversity // *Genetics*. Vol. 92. № 3. P. 953–970.

P.V. Ozerski

About the applicability of the stabilizing selection concept to the representatives of the explerent life strategy

SUMMARY

Difficulties of using the Schmalhausen's stabilizing selection concept in relation to the explerent (ruderal) species and possible ways to overcome these difficulties are discussed.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ШАПЕРОНЫ И ИХ РОЛЬ В КЛЕТКЕ

Понятие молекулярных шаперонов. Шапероны – класс белков, главная функция которых состоит в восстановлении правильной третичной структуры повреждённых белков, а также в образовании и диссоциации белковых комплексов.

Трудно переоценить значение молекулярных шаперонов. Эти белки выполняют жизненно важные функции во всех организмах. Они помогают формированию правильной конформации белков, сборке их в надмолекулярные структуры, транслокации полипептидных цепей через многочисленные биологические мембраны. Исследования последних лет продемонстрировали важную роль молекулярных шаперонов в развитии иммунного ответа. Более того, высказано предположение, что внутриклеточные шапероны являются важнейшими элементами системы естественного внутриклеточного иммунитета, которая распознаёт, изолирует и способствует протеолитическому расщеплению неправильно свёрнутых или неправильно ассоциированных в результате стрессового воздействия на клетку (теплового шока (ТШ) или окислительного стресса) или генетических повреждений (мутаций или опухолевого перерождения клетки) собственных белков, а также чужеродных белков – продуктов вирусной или внутриклеточной бактериальной инфекции.

Термин «молекулярный шаперон» впервые был использован в работе Р. Ласки (Laskey, 1978) при описании ядерного белка нуклеоплазмина, способного предотвращать агрегирование белков-гистонов с ДНК при образовании нуклеосом. Впоследствии этот термин был применён к обширным семействам белков различных компартментов бактериальных и эукариотических клеток, которые вовлекаются в складывание, формирование ансамблей и транслокацию белков, но не входят в состав собираемых структур и не участвуют в реализации их функций (Ellis, van der Vies, 1991).

Шапероны есть во всех живых организмах, и механизм их действия, нековалентное присоединение к белкам и их «расплетение» с использованием энергии гидролиза АТФ, также консервативен.

Эти белки ассистируют процессы фолдинга, принимая участие в биосинтетических процессах. Они также важны в защите протеинов

от агрегации при тепловом шоке и играют важную роль во множестве клеточных событий, включая трансдукцию сигналов, транслокацию и деградацию протеинов. К функциям шаперонов также можно отнести:

1. Участие в фолдинге только что созданных белков;
2. Защиту полипептидов от нежелательного межмолекулярного взаимодействия в процессе фолдинга;
3. Участие в транспортировке веществ через мембраны, например, в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме у эукариот;
4. Участие в разрушении белка и в реакциях на заболевания, связанные с агрегацией белков.

Белки теплового шока, их основные функции. Многие шапероны являются белками теплового шока (БТШ), т. е. белками, экспрессия которых начинается в ответ на повышение температуры или другие виды клеточного стресса. Поскольку большинство БТШ экспрессируется в клетках не только под действием стресса, но и в нормальных условиях, различают индуцибельные и конститутивные формы этих белков (Benjamin, McMillan, 1998). Вызываемое стрессом увеличение синтеза БТШ происходит одновременно со снижением синтеза большинства других клеточных белков (рис. 1). Возвращение клеток к нормальным условиям функционирования приводит к снижению синтеза БТШ и нормализации синтеза других белков.

К основным функциям БТШ относятся:

- 1) формирование и стабилизация трехмерной конформации вновь синтезированных полипептидов (Burston, Clarke, 1995);
- 2) АТФ-зависимое участие в поддержании функциональной активности внутриклеточных белков и элиминация поврежденных форм;
- 3) транспорт белков через клеточные мембраны;
- 4) обеспечение процессов ассоциации-диссоциации внутриклеточных надмолекулярных комплексов;
- 5) предупреждение формирования внутриклеточных нерастворимых белковых агрегатов, участие в ренатурации денатурированных БТШ белков (Hartl, 1996; Smith et al., 1998);
- 6) сохранение системы сплайсинга (Yost, Lindquist, 1986);
- 7) поддержание процессов трансляции (Mayrand, Pederson, 1983; Brostrom, Brostrom, 1998).

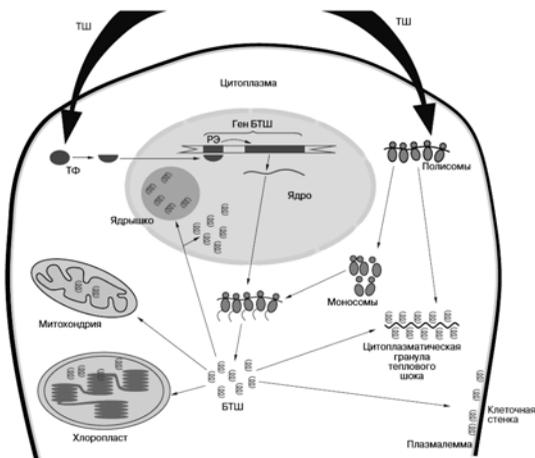


Рис. 1. Схема индукции синтеза БТШ в клетках
 (ТШ – тепловой шок, ТФ – трансфактор генов БТШ, РЭ – регуляторный элемент генов БТШ, включающий их экспрессию при ТШ)

Роль БТШ не ограничивается выполнением только защитных и обслуживающих функций, они участвуют в транспорте антигенов в антигенпрезентирующие клетки (*APC*), обуславливая иммуногенность различных опухолей и инфицированных вирусом клеток (рис. 2).

Классификация БТШ. В рамках существующей классификации БТШ разделяются по молекулярным массам. Например, у *Drosophila melanogaster* выделяют три семейства БТШ: 1) БТШ70 и 68; 2) высокомолекулярный БТШ83 (гомолог у человека БТШ90); а также 3) низкомолекулярные БТШ22, 23, 26 и 27. (Войников, Иванова, 1988) У человека существует не менее 11 генов семейства БТШ70, БТШ90, БТШ100, БТШ 60, БТШ27 и др.

Белки семейства БТШ70 (68–73 кДа). Шапероны БТШ70 с их кошаперонами ассистируют множество процессов белкового складывания почти во всех клеточных компартментах. Исторически они были идентифицированы при стрессорных условиях, в течение которых они осуществляют важную функцию, предотвращая агрегацию и ассистируя раскладывание неправильно сложенных белков.

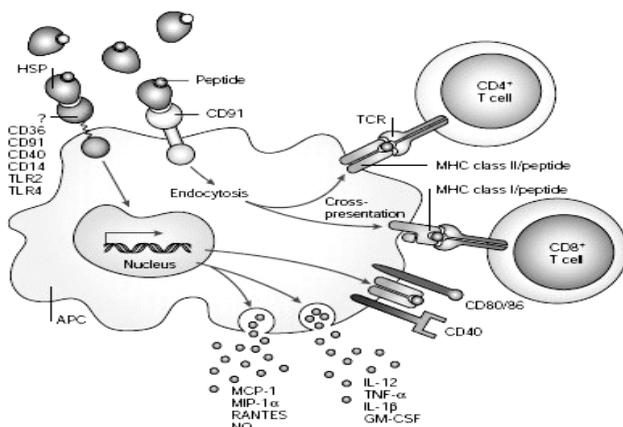


Рис. 2. Роль белков теплового шока в иммунных реакциях

Связываясь с поверхностью иммунных клеток, БТШ стимулируют выработку противовоспалительных молекул – цитокинов (Asea et al., 2000).

Белки семейств БТШ90, БТШ70 и низкомолекулярные БТШ также задействованы в процессах роста и дифференцировки клеток и тканей.

Вместе с тем, БТШ70 экспрессируются конститутивно и играют важную физиологическую роль в нормальных условиях, включающую:

- 1) ассистирование и ускорение складывания некоторых, только что транслированных белков;
- 2) транслокацию белков через мембраны;
- 3) непосредственное участие в сборке и разборке олигомерных белковых структур;
- 4) облегчение протеолитической деградации нестабильных белков;
- 5) контроль совместно с кошаперонами и другими шаперонами биологической активности некоторых регуляторных белков или комплексов.

В реакциях складывания, ассистируемых БТШ70, субстраты подвергаются повторным циклам связывания/освобождения. Связывание БТШ70 не индуцирует глобальные конформационные

изменения в субстрате, но скорее действует локально. Субстраты, освобождённые от шаперона, подвергаются кинетическому разделению между последующим самостоятельным складыванием до нативного состояния, ресвязыванию с другими шаперонами (или шаперонинами) или связыванию с протеазами как частями многонаправленной сети складывания.

Все БТШ70 состоят из высококонсервативного NH₂-терминального АТРазного домена и СООН-терминального домена, разделённого на консервативный субстрат-связывающий домен и менее консервативный С-концевой домен (домен белка – элемент третичной структуры белка, представляющий собой достаточно стабильную и независимую подструктуру белка, чей фолдинг проходит независимо от остальных частей).

БТШ70 шапероны эндоплазматического ретикулума. Одним из наиболее интенсивно изучаемых БТШ70 эндоплазматического ретикулума является *BiP*, или 78 кДа глюкозо-регулируемый белок *Grp78*. Первоначально он был идентифицирован как белок эндоплазматического ретикулума, находящийся в стабильной ассоциации с тяжёлыми цепями антител, почему и был назван «белком, связывающим тяжёлые цепи иммуноглобулинов». Как было показано впоследствии, *BiP* принимает непосредственное участие в фолдинге антител. Как и все члены семейства БТШ70, *BiP* обладает субстрат-связывающим доменом, взаимодействующим с линейными последовательностями из семи аминокислот, содержащим гидрофобные остатки. *BiP* экспрессируется конститутивно и является одним из главных компонентов ретикулоплазмы при нормальных условиях роста. Тем не менее, его экспрессия существенно возрастает при тепловом шоке и многих стрессовых условиях. Помимо белкового фолдинга, *BiP* вовлекается в исправление ошибочно сложенных полипептидов и белковых агрегатов. Не исключено, что в этих процессах *BiP* ассоциирует с БТШ90, ибо его аналог (*Grp94*) присутствует в значительных количествах в эндоплазматическом ретикулуме. Показано, что *Grp94* ассоциируется с полипептидными цепями, транслоцируемыми в эндоплазматическом ретикулуме, и что экспрессия этого протеина увеличивается в стрессорных условиях, способствующих накоплению несложённых белков, в том числе и в эндоплазматическом ретикулуме. Вторым членом семейства БТШ70 эндоплазматического ретикулума является протеин *Lhs1p*. *Lhs1p*

вовлекается в белковый фолдинг, а также играет определённую роль в нормальном клеточном ответе на накопление несложённых белков (Ellgaard, Helenius, 2003).

Шаперонины БТШ60. Это важные мультисубъединичные ансамбли, которые способствуют фолдингу протеинов, совмещённому с гидролизом АТФ. Они были идентифицированы во всех трёх таксономических доменах и разделяются на два различных класса на основе их эволюционного происхождения. Так, шаперонины класса I существуют в эубактериях (*GroEl*), в эндосимбиотически произошедших митохондриях (БТШ60) и хлоропластах (*Rubisco-subunit-binding protein; RSBP*) эукариотических клеток. Шаперонины класса II находятся в археях (термосомы, *TF55*) и в цитозоле эукариот (*CCT/TRiC*).

Высокомолекулярные БТШ (80–110 кДа) также консервативны в эволюции и обнаруживаются у далеко дивергировавших видов (Войников, Иванова, 1988).

БТШ90. Являются одними из самых обильных белков цитозоля эукариот. Их количество достигает до 1 % растворимых белков даже в отсутствии стресса. В отличие от других белков теплового шока, БТШ90 оказался шапероном, важным для созревания некоторых протеинов, таких как рецепторы стероидных гормонов (*SHR*) и киназы клеточного цикла. Однако обилие БТШ90, высокие уровни экспрессии в ответ на стресс и существование гомологов допускают, что известные функции этого шаперона являются только частью всех их функций. В дополнение к той важной роли, которую он выполняет в конформационной регуляции ключевых сигнальных молекул, цитозольный БТШ90 может вносить вклад в гомеостаз протеинов при физиологических и стрессорных условиях (Мюльберг, 2004).

БТШ90 обладает модульной структурой, в которой два высококонсервативных региона связываются высокозаряженным линкером переменной длины. N-терминальный домен состоит из 8-цепочечного антипараллельного β -слоя и 9 α -спиралей, которые формируют α - β -сэндвич. БТШ90 обладает нуклеотид-связывающим сайтом, который действует как АТФ/АДФ–переключающий домен и регулирует конформацию БТШ90. Связывающий сайт для АТФ локализуется в пакете глубиной 15Å, β -слой лежит на дне пакета, а спирали и петли окружают лиганд. БТШ90 обладает двумя шапероновыми сайтами, локализованными в N- и C- фрагментах

соответственно. С-терминальный фрагмент связывается с частично сложенными протеинами АТФ-независимым путём. N-терминальный домен содержит пептид-связывающий сайт, который в АДФ-форме связывает преимущественно крупные пептиды в несложенном состоянии. Связывание АТФ индуцирует диссоциацию пептида. Существование двух функционально различных шапероновых сайтов позволяет БТШ90 управлять фолдингом субнабора белков-мишеней при участии БТШ70 и ряда кошаперонов и проявлять в то же самое время общие шаперонные функции.

БТШ90 является вытянутым димером, сайты диссоциации которого лежат в крайнем С-терминальном регионе протеина. Электронно-микроскопические исследования совместно с изучением связывания антител показали, что С-терминальные части белка сходятся в середине димера, тогда как N-терминальные домены расположены в противоположных направлениях. Димер является гибким, так как могут быть обнаружены различные формы молекулы. Это напоминает конформационную гибкость антител. ТШ запускает дополнительные и специфические структурные трансформации БТШ90, сближающие N-терминальные домены.

БТШ90 представлен в цитоплазме эубактерий, дрожжей и многоклеточных организмов. Его гомологи существуют также в эндоплазматическом ретикулуме и хлоропластах (Мюльберг, 2004). В ответ на стресс экспрессия БТШ90 увеличивается 10-кратно, как у прокариот, так и у эукариот. Генетический анализ дрожжей позволил установить, что высокие концентрации БТШ90 требуются для роста клеток при высоких температурах. Таким образом, физиологические уровни БТШ90 при нормальных условиях, вероятно, действуют как буфер, защищающий клетки от последствий внезапного увеличения числа ненативных протеинов в ответ на тепловой шок или другие виды стресса.

БТШ100. Развертывание протеинов является критическим процессом для разборки протеиновых комплексов, транспортировки протеинов между клеточными компартментами и подготовки белков для деструкции. Реакции развертывания вовлекаются во многие биологические процессы, осуществляются членами семейства *C1p/Hsp104* и могут быть частью механизма, используемого многими архитектурно сходными протеин-деградирующими машинами. Члены семейства *C1p/Hsp104* являются цилиндрическими комплексами,

составленными из 6 или 7 субъединиц. Они вовлекаются в процессы, простирающиеся от ДНК-репликации и деградации протеинов до реактивации белков, агрегированных при ТШ, и наследования прион-подобных факторов. Изучение бактериальных *ClpA* и *ClpX* и дрожжевого *Hsp104* привело к гипотезе, согласно которой члены семейства *Clp/Hsp104* узнают специфические протеины и способствуют конформационным изменениям в них, используя энергию гидролиза АТФ.

Малые БТШ конститутивно экспрессируются в клетках практически всех организмов, имеют молекулярную массу мономеров от 12 до 43 кДа и образуются в избытке при различных стрессах и патологических состояниях. Внутри клетки они могут формировать олигомерные комплексы от 200 кДа до 1 МДа. Все малые БТШ характеризуются наличием общей аминокислотной последовательности размером 80–100 остатков, которая гомологична α -кристаллину хрусталика глаза и располагается в С-терминальном домене. Эта последовательность получила название α -кристаллического домена (α -кристаллинового кора), и этот домен участвует в формировании четвертичной структуры малых БТШ, придаёт стабильность и растворимость их олигомерам. Было показано сходство α -кристаллинов не только с малыми БТШ, но и с членами семейства БТШ70. Это позволяет предположить, что малые и большие БТШ могут иметь как сходную структуру, так и сходные функции (Lee et al., 1993). Повышенные уровни БТШ, особенно БТШ70, а также БТШ25 и α -кристаллина обнаружены в миокарде. Возможно, они играют защитную роль, будучи вовлечены в морфологическую и функциональную интеграцию компонентов сократительного аппарата и цитоскелета (Lutsch et al., 1997).

Содержание и экспрессия малых БТШ существенно различаются в клетках бактерий, растений и животных; например, при ТШ растительные клетки экспрессируют более 25 малых БТШ, тогда как клетки млекопитающих – от 3 до 5. Для ряда малых БТШ млекопитающих были описаны две биохимические активности *in vitro*. Первая активность ограничивается мономерными малыми БТШ, такими, как БТШ27 или БТШ25. Фосфорилирование БТШ27 при стрессе или стимуляции факторами роста регулировало полимеризацию актина и модулировало стабильность или реорганизацию его филаментов. Вторая активность была описана для

олигомерных комплексов малых БТШ. *In vitro* олигомерные комплексы рекомбинантного БТШ27 могли адсорбировать денатурированные тепло протеины, предотвращая их агрегацию и храня их в фолдинг-компетентном состоянии. Последующее действие других шапероновых белков, таких как БТШ70, ведёт к рефолдингу несложённых протеинов. Эта шаперон-подобная функция, очевидно, не требует АТФ, а сами малые БТШ ей не обладают. В клетках млекопитающих малые БТШ функционируют как объединяющий элемент клеточного ответа на стресс, т. к. они проявляют как стресс-индуцируемое увеличение их экспрессии, так и фосфорилирование.

БТШ с самым низким молекулярным весом – убиквитины – задействованы во внелизосомальной АТФ-зависимой протеолитической системе. Они присоединяются к протеину, который становится мишенью для протеаз (Rogers et al., 2010). Присоединение убиквитина влияет на внутриклеточную локализацию и функцию белков. Самым первым открытием стала деградация белков, помеченных мультиубиквитиновыми цепями, с помощью 26S-протеосомы. Однако система убиквитина вовлечена и в такие важные процессы, как пролиферация, развитие и дифференцировка клеток, реакция на стресс и патогены, репарация ДНК (Mayer, Layfield, 2005). Убиквитины – это одни из самых распространённых белков в природе. Они синтезируются во всех эукариотических клетках – от дрожжей до человека. Функции убиквитинов распространяются и на регулирование аппарата ядра: Показана их роль в регулировании транскрипции генов путём модификации РНК-полимеразного комплекса. Также показано, что БТШ сами могут иметь протеазную активность (Schlesinger, 1975).

БТШ являются чрезвычайно важной системой, помогающей клетке преодолеть последствия стрессорных воздействий. Универсальные свойства БТШ, обеспечивающие сохранение надлежащей конформации белков, имеют всеобъемлющий характер и могут быть востребованы в самых различных клеточных реакциях.

Регуляция БТШ. Известно, что синтез БТШ контролируется на всех уровнях от транскрипционного до посттрансляционного с использованием различных механизмов. Все они служат двум основным целям: максимизируют экспрессию генов БТШ при высокой температуре, при которой они помогают клеткам справиться с

токсическим эффектом температуры, и минимизируют их экспрессию при нормальной температуре. Механизмы индукции экспрессии генов БТШ интенсивно изучаются.

Регуляция экспрессии генов БТШ на транскрипционном уровне. Транскрипционная регуляция генов БТШ определяется по меньшей мере двумя важнейшими элементами: цис-действующей регуляторной последовательностью, получившей название *HSE* (*heat shock element*), и транс-действующим связывающимся с ней транскрипционным фактором *HSF* (*heat shock factor*) (Wu, 1995).

Известно, что промоторы неиндуцированных "хит-шоковых" генов, в частности генов БТШ70 и БТШ26, готовы к быстрому ответу на тепловой стресс. Они содержат, по крайней мере, два транскрипционных фактора, *TFHD* и *GAGA*-фактор (*GAF*), и РНК-полимеразу II, которая инициирована к транскрипции, но находится в состоянии паузы после синтеза коротких транскриптов размером 20–50 оснований. Основное изменение, которое происходит при ТШ, это связывание "хит-шокового" транскрипционного фактора (*HSF*) со специфическими консервативными последовательностями ДНК (*HSE*) в промоторах генов БТШ. Их взаимодействие зависит от архитектуры промотора и происходит только в присутствии *TFIID*, но существенно легче, если промотор свободен от нуклеосом. В целом эффективность транскрипции генов БТШ в условиях стресса определяется взаимодействием, по крайней мере, трех транскрипционных факторов (*TFIID*, *GAF* и *HSF*) и РНК-полимеразы II, в котором принимают участие ядерные и цитоплазматические киназы.

HSF – транскрипционный активатор генов БТШ у эукариот, он играет важную роль в обеспечении способности организма выживать в экстремальных условиях. *HSF* содержит консервативные районы, ответственные за связывание с ДНК, а также за олигомеризацию. Эти районы структурно консервативны от дрожжей до млекопитающих (Liu et al., 1997). *HSF* белок находится в клетке в неактивном состоянии и активируется ТШ.

При длительном действии стрессора, а тем более при возвращении в физиологические условия, стрессорная реакция затихает, *HSF* переходит в неактивную мономерную форму и возвращается к нормальному субклеточному распределению, скорость транскрипции генов БТШ падает, и синтез БТШ прекращается.

Регуляция экспрессии генов БТШ на посттранскрипционном уровне. Во время ТШ резко снижается число молекул РНК, которые транскрибируются, претерпевают процессинг и транспортируются в цитоплазму. Общей чертой ответа на стресс у эукариот является преимущественная трансляция мРНК для БТШ, что позволяет клетке за короткий период продуцировать значительное количество БТШ, необходимых для защиты клетки от повреждений, индуцируемых ТШ. Важную роль играют особенности строения самих генов БТШ, синтезируемой мРНК, ее процессинга, транспорта и трансляции. Преимущественный синтез БТШ во время стресса связан с отсутствием в структуре большинства этих генов интронов, в связи с чем синтезирующаяся мРНК не требует сплайсинга, который нарушается при высокой температуре.

Тепловой шок блокирует экспорт из ядра в цитоплазму большинства поли(А)+РНК, но не мРНК белков теплового шока. Как оказалось, по крайней мере, у дрожжей, важным компонентом селективного экспорта мРНК хит-шоковых белков является белок *Rip1p*, который связан с ядерными порами, содержит нуклеопорин-подобные повторы и функционирует во время стресса. 5'-нетранслируемая область мРНК БТШ имеет минимальную вторичную структуру, что позволяет ей преодолеть блок инициации трансляции и эффективно транслироваться при высокой температуре. Трансляция этой мРНК (исключая БТШ83) не требует присутствия фактора инициации трансляции *eIF-4E*, который инактивируется в условиях теплового шока.

Высокотемпературный блок деградации нормально короткоживущих мРНК БТШ70 приводит к существенному увеличению их стабильности. Это способствует быстрому накоплению матриц, и в этом процессе ключевую роль играют последовательности, локализованные в 3'-нетранслируемой области мРНК, которые детерминируют нестабильность несущих их транскриптов в нормальной температуре и их стабилизацию при тепловом шоке (Тодоров, Тодоров, 2003).

Таким образом, БТШ представляют собой сложную систему, отдельные части которой регулируются самостоятельно. Сложность данной системы, очевидно, обусловлена многообразием присущих ей функций.

- Войников В.К., Иванова Г.Г. 1988. Физиологический стресс и регуляция активности генома клеток эукариот // Успехи совр. биологии. Т. 105. № 1. с. 3–16.
- Мюльберг А.А., 2004. Фолдинг белка. СПб.: Изд-во СПбГУ. 156 с.
- Тодоров И.Н., Тодоров Г.И., 2003. Стресс, старение и их биохимическая коррекция. М.: Наука. 479 с.
- Asea A., Kabingu E., Stevenson M., Calderwood S.K., 2000. Hsp70 peptide-bearing and peptide-negative preparations act as chaperokines // Cell Stress Chaperones. Vol. 5. № 5. p. 425–431.
- Benjamin I.J., McMillan D.R., 1998. Stress (heat shock) proteins: molecular chaperones in cardiovascular biology and disease // Circ. Res. Vol. 83. № 2. P. 117–132.
- Brostrom C.O., Brostrom M.A., 1998. Regulation of translational initiation during cellular responses to stress // Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol. Vol. 58. P. 79–125.
- Burston S.G., Clarke A.R., 1995. Molecular chaperones: physical and mechanistic properties // Essay Biochem. Vol. 29. P. 125–136.
- Ellgaard L., Helenius A., 2003. Quality control in the endoplasmic reticulum // Nature Reviews Molecular Cell Biology. Vol. 4. № 3. P. 181–191.
- Ellis R.J., van der Vies S.M., 1991. Molecular chaperones // Annu. Rev. Biochem. Vol. 60. P. 321–347.
- Hartl F.U., 1996. Molecular chaperones in cellular protein folding // Nature. Vol. 381. P. 571–579.
- Laskey R.A., Honda B.M., Mills A.D., Finch J.T., 1978. Nucleosomes are assembled by an acidic protein which binds histones and transfers them to DNA // Nature. Vol. 275. P. 416–420.
- Lee D.C., Kim R.Y., Wistow G.J., 1993. An avian α B-crystallin. Non-lens expression and sequence similarities with both small (*HSP27*) and large (*HSP70*) heat shock proteins. J. Mol. Biol. Vol. 232. № 4. P. 1221–1226.
- Liu X.D., Liu P.C.C., Santoro N., Thiell D.J., 1997. Conservation of a stress response: human heat shock transcription factors functionally substitute for yeast *HSF* // EMBO J. Vol. 16. № 21. P. 6466–6477.
- Lutsch G., Vetter R., Offhauss U., Wiese M., Schimke I., Stahl J., Benndorf R., 1997. Location of small heat shock proteins *Hsp25* and α B-crystallin in rat and human heart // Eirop. J. Cell Biol. Vol. 74. P. 43.
- Mayer J., Layfield R. (eds), 2005. Essays in Biochemistry. Vol. 41: The ubiquitin-proteasome system. London: Portland Press. 222 p.
- Mayrand S., Pederson T., 1983. Heat shock alters nuclear ribonucleoprotein assembly in *Drosophila* cells // Mol. Cell Biol. Vol. 3. № 2. P. 161–171.

- Rogers N., Paine S., Bedford L., Layfield R., 2010. Review: the ubiquitin-proteasome system: contributions to cell death or survival in neurodegeneration // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* Vol. 36. № 2. P. 113–124.
- Schlesinger D.H., Goldstein G., Niall H.D., 1975. The complete amino acid sequence of ubiquitin, an adenylate cyclase stimulating polypeptide probably universal in living cells // *Biochemistry.* Vol. 14. P. 2214–2218.
- Smith D.F. Whitesell L., Katsanis E., 1998. Molecular chaperones: biology and prospect for pharmacological intervention // *Pharmacol. Rev.* Vol. 50. № 4. P. 493–514.
- Wu C., 1995. Heat shock transcription factors: structure and regulation // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* Vol. 11. P. 441–469.
- Yost H.J., Lindquist S., 1986. RNA splicing is interrupted by heat shock and is rescued by heat shock protein synthesis // *Cell.* Vol. 45. № 2. P. 185–193.

E.A. Nikitina

Molecular chaperones and their role in cell

SUMMARY

Most proteins must fold into defined three-dimensional structures to gain functional activity. But in the cellular environment, newly synthesized proteins are at great risk of aberrant folding and aggregation, potentially forming toxic species. To avoid these dangers, cells invest in a complex network of molecular chaperones, which use ingenious mechanisms to prevent aggregation and promote efficient folding. Because protein molecules are highly dynamic, constant chaperone surveillance is required to ensure protein homeostasis (proteostasis). In response to stress stimuli, eukaryotic cells activate signaling pathway leading to the transient expression of HSPs. HSPs are a family of proteins serving as molecular chaperones that prevent the formation of nonspecific protein aggregates and assist proteins in the acquisition of their native structures. Heat shock proteins are evolutionarily conserved and essential proteins that play a key role in cell survival through cytoprotective mechanisms. The induction of heat shock protein activity is also of potential benefit in many other diseases where structural and functional preservation of proteins may enhance cell survival, including neurodegeneration, trauma, stroke, and cardiovascular disease. In addition, the immune properties of chaperones can potentially be exploited for such diseases as diabetes, atherosclerosis, and other chronic inflammatory conditions. Thus, continuing efforts to clarify the role of chaperones may guide the development of new therapeutic modalities capable of minimizing the impact of diseases such as cancer, heart disease, and diabetes as well as obtaining better results in neurological conditions currently lacking alternative treatments.

ГИДРОГЕНОСОМЫ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *BALANTIDIUM* (Ciliophora, Litostomatea)

У многих анаэробных протистов – представителей различных таксономических групп – были обнаружены гидрогеносомы или их дериваты (митосомы) (Hampfl, Simpson, 2008; Tachezy, Šmíd, 2007). Гидрогеносомы – ограниченные двойной мембраной органеллы, в которых происходит расщепление (декарбоксилирование) пирувата обычно с образованием ацетата, углекислого газа, АТФ и молекулярного водорода (Müller, 1993). В настоящее время гидрогеносомы выявлены у представителей таких крупных таксонов, как парабазалии, микроспоридии, архамебы и цилиаты (Lithgow, Schneideider, 2009). Вопрос об эволюции данных органелл длительное время обсуждался в литературе, и были предложены две альтернативные гипотезы: 1. Гидрогеносомы в своем происхождении непосредственно связаны с митохондриями; 2. Гидрогеносомы возникли в процессе эволюции независимо (Embley, 2006).

В настоящее время, в свете накопления биохимических и морфологических данных, в большинстве случаев наиболее вероятным считается наличие единого предка у митохондрий и гидрогеносом, которым, по всей видимости, могли быть симбиотические α -протеобактерии (Sutak et al., 2004, Dolezal et al., 2005, Dyall, Dolezal, 2007, Lithgow, Schneider, 2009). В то же время в пределах некоторых таксонов (в первую очередь, инфузорий) гидрогеносомы, по-видимому, являются дериватами митохондрий, при этом в пределах одной систематической группы (отряда или семейства) присутствуют как аэробы, имеющие типичные митохондрии, так и анаэробы, в клетках которых обнаруживаются гидрогеносомы (Embley et al., 2010).

Безусловно, исследования структуры и функции гидрогеносом в первую очередь были сосредоточены на *паразитических протистах*. Основными модельными объектами при изучении биохимии гидрогеносом сейчас являются *Trichomonas vaginalis*, *Giardia lamblia*, в меньшей степени – *Entamoeba histolytica* (см., например, Šmíd et al., 2008, Dolezal et al., 2010, Jedelsky et al., 2011). Можно сказать, что к настоящему времени практически расшифрованы биохимические

процессы, протекающие в матриксе гидрогеносом (в первую очередь, *Trichomonas vaginalis*), а также выделены многие белки, локализованные в наружной и внутренней мембранах и принимающие участие в трансмембранном переносе различных веществ (Hrdý et al., 2008, Rada et al., 2011). При этом обнаружено значительное сходство белкового состава гидрогеносом и митохондрий, что является важным доказательством эволюционного единства этих органелл. В то же время, показано, что имеются значительные вариации в биохимии гидрогеносом различных организмов, что, вероятно, может отражать их независимую эволюцию в различных филогенетических ветвях протистов (Embley, 2006). В связи с этим, значительный интерес приобретают исследования энергообразующих органелл не только паразитических, но и свободноживущих анаэробных одноклеточных, в том числе в связи с необходимостью разграничения адаптаций к паразитизму и адаптаций к обитанию в бескислородной среде.

В пределах цилиат виды, обитающие в анаэробных условиях, встречаются среди представителей различных отрядов и семейств, и у многих из них были выявлены гидрогеносомы (Hackstein et al., 2008). Как мы уже отмечали, это дает возможность предположить, что у инфузорий гидрогеносомы как модификация митохондрий возникали неоднократно вследствие приспособления к обитанию в бескислородной среде (Embley et al., 2010). Возможно, инфузории в этом отношении являются достаточно лабильной группой, более того, известны виды – факультативные анаэробы, способные существенно менять свой метаболизм в зависимости от концентрации кислорода в среде, что отражается, по крайней мере, на структуре энергообразующих органелл (Finlay, Fenchel, 1989). Здесь же следует отметить, что *Nyctoterus ovalis* – единственный пока организм, в гидрогеносомах которого была обнаружена ДНК, что является еще одним доводом в пользу того, что в данном случае гидрогеносомы представляют собой дериваты митохондрий (Martin, 2005).

Проведенные нами исследования ультраструктуры эндобионтной инфузории *Balantidium entozoon* показали, что в цитоплазме этих протистов присутствуют микротельца овальной или округлой в сечении формы, заполненные электронноплотным матриксом; по их периферии часто выявляются сильно уплощенные цистерны (везикулы), ограниченные мембраной (рис. 1).

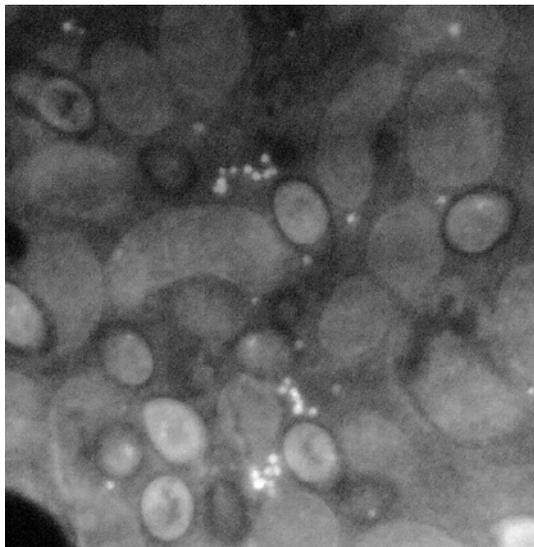


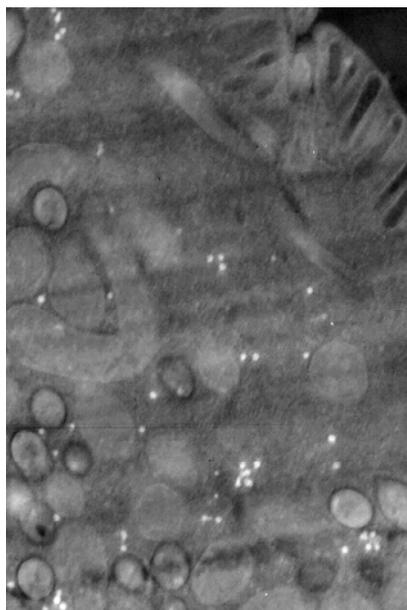
Рис. 1. Микротельца инфузории *Balantidium entozoan*

По своей морфологии эти микротельца сходны с гидрогеносомами, обнаруженными у различных видов анаэробных инфузорий, в том числе у представителей подкласса *Trichostomatia* Buetschli, 1889 (Корнилова и др., 2006; Finlay, Fenchel, 1989).

Как правило, подобные органеллы располагаются по периферии клетки, в непосредственной связи с кинетосомами. У *B. entozoan* такой связи обнаружено не было, микротельца образуют достаточно плотные скопления в цитоплазме, причем внутри этих скоплений, иногда в тесном контакте с микротельцами, обнаруживаются многочисленные бактерии (рис. 2). Нужно отметить, что образование агрегатов, включающих гидрогеносомы и симбиотические бактерии (как правило, метаногены), – черта, весьма характерная для анаэробных инфузорий (Fenchel, Finlay, 1991, 1992). Однако в литературе до сих пор не было опубликовано сообщений о присутствии симбиотических бактерий в цитоплазме представителей рода *Balantidium*.

Вообще, сведения об энергообразующих органеллах балантидиумов достаточно противоречивы. С одной стороны, имеются

данные о наличии в клетках *B. coli* митохондрий с типичными трубчатыми кристами (Nilles-Bije, Rivera, 2009).



*Рис. 2. Микротельца инфузории **Balantidium entozoon***

С другой стороны, по данным некоторых авторов, у *B. entozoon* имеются гидрогеносомы, располагающиеся в кортикальном слое цитоплазмы, часто между кинетосомами (Grim, Buonanno, 2008); однако их структура совершенно отлична от обнаруженных нами микротелец, которые, по нашему мнению, представляют собой гидрогеносомы. Мы предполагаем, что существующие разногласия могут быть в значительной степени связаны с различным функциональным состоянием исследованных организмов (в зависимости от стадии жизненного цикла или адаптации к различной концентрации кислорода в среде).

Очевидно, что для уточнения представлений о строении энергообразующих органелл представителей рода *Balantidium* необходимы дальнейшие исследования.

Литература

- Корнилова О.А., Брагина Е.Е., Чистякова Л.В., 2006. Использование эндобионтных инфузорий из старых коллекций в электронно-микроскопических исследованиях // Паразитология. Т. 40. № 2. С. 192–201.
- Dolezal P., Smid O., Rada P., Zubáčová Z., Bursác D., Sutak R., Nebesárová J., Lithgow T., Tachezy J., 2005. *Giardia* mitosomes and trichomonad hydrogenosomes share a common mode of protein targeting // PNAS. Vol. 102. № 31. P. 10924-10929.
- Dolezal P., Dagley M.J., Kono M., Wolyneć P., Likić V.A, Foo J.H., Sedinová M., Tachezy J., Bachmann A., Bruchhaus I., Lithgow T., 2010. The essentials of protein import in the degenerate mitochondrion of *Entamoeba histolytica* // PloS Pathog. Vol. 6. № 3. P. e1000812.
- Dyall S.D., Dolezal P., 2007. Protein import into hydrogenosomes and mitosomes // J. Tachezy (ed.). Hydrogenosomes and mitosomes: Mitochondria of anaerobic eukaryotes. Microbiol. Monogr. Berlin–Heidelberg: Springer. P. 22–62.
- Embley T.M., Finlay B.J., Dyall P.L., Hirt R.P., Wilkinson M., Williams A.M., 1995. Multiple origins of anaerobic ciliates with hydrogenosomes within the radiation of aerobic ciliates // Proc. R. Soc. Lond. B. Vol. 262. № 1363. P. 87–93.
- Embley T.M., 2006. Multiple secondary origins of the anaerobic lifestyle in eukaryotes // Phil. Trans. R. Soc. Lond. Vol. 361. № 1470. P. 1055–1067.
- Fenchel T., Finlay B.J., 1995. Ecology and evolution in anoxic world. Oxford Ser. Ecol. Evol. Oxford: Oxford Univ. Press. 276 p.
- Finlay B.J., Fenchel T., 1989. Hydrogenosomes in some anaerobic protozoa resemble mitochondria // FEMS Microbiol. Letters. Vol. 65. № 3. P. 311–314.
- Grim J.N., Buonanno F., 2009. A re-description of the ciliate genus and type species, *Balantidium entozoon* // Eur. J. Protistol. Vol. 45. № 3. P. 174–182.
- Hackstein J.H.P., de Graaf R.M., van Hellemond J.J., Tielens A.G.M., 2008. Hydrogenosomes of anaerobic ciliates // J. Tachezy (ed.). Hydrogenosomes and mitosomes: Mitochondria of anaerobic eukaryotes (Microbiol. Monogr. Vol. 9). Berlin–Heidelberg: Springer. P. 97–112.
- Hampl V., Simpson A.G.B., 2008. Possible mitochondria-related organelles in “poorly studied” amitochondrial eukaryotes // J. Tachezy (ed.). Hydrogenosomes and mitosomes: Mitochondria of anaerobic eukaryotes (Microbiol. Monogr. Vol. 9). Berlin–Heidelberg: Springer. P. 265–281.
- Hrdý I., Tachezy J., Müller M., 2008. Metabolism of trichomonad hydrogenosomes // J. Tachezy (ed.). Hydrogenosomes and mitosomes: Mitochondria of

- anaerobic eukaryotes (Microbiol. Monogr. Vol. 9). Berlin–Heidelberg: Springer. P. 114–141.
- Jedelský P.L., Doležal P., Rada P., Pyrih J., Smíd O., Hrdý I., Sedinová M., Marcinčíková M., Voleman L., Perry A.J., Beltrán N.C., Lithgow T., Tachezy J., 2011. The minimal proteome in the reduced mitochondrion of the parasitic protist *Giardia intestinalis* // PLoS One. Vol. 6. № 2. P. e17285.
- Lithgow T., Schneider A., 2010. Evolution of macromolecular import pathways in mitochondria, hydrogenosomes and mitosomes // Phil. Trans. R. Soc. B. Vol. 365. № 1541. P. 799–817.
- Martin W., 2005. The missing link between hydrogenosomes and mitochondria // Trend. Microbiol. Vol. 13. № 10. P. 457–459.
- Müller M., 1993. The hydrogenosome // J. Gen. Microbiol. Vol. 139. № 12. P. 2879–2889.
- Nilles-Bije M.L., Rivera W.L., 2010. Ultrastructural and molecular characterisation of *Balantidium coli* isolated in Philippines // Parasitol. Res. Vol. 106. № 2. P. 387–394.
- Rada P., Doležal P., Jedelský P.L., Bursac D., Perry A.J., Šedinová M., Smíšková K., Novotný M., Beltrán N.C., Hrdý I., Lithgow T., Tachezy J., 2011. The core components of organelle biogenesis and membrane transport in the hydrogenosomes of *Trichomonas vaginalis* // PLoS One. Vol. 6. № 9. P. e24428.
- Šmíd O., Matušková A., Harris S.R., Kučera T., Novotný M., Horváthová L., Hrdý I., Kutějová E., Hirt R.P., Embley T.M., Janata J., Tachezy J., 2008. Reductive evolution of the mitochondrial processing peptidases of the unicellular parasites *Trichomonas vaginalis* and *Giardia intestinalis* // PLoS Pathog. Vol. 4. № 12. P. e1000243.
- Sutak R., Doležal P., Fiumera H.L., Hrdý I., Dancis A., Delgadillo-Correa M., Johnson P.J., Muller M., Tachezy J., 2004. Mitochondrial-type assembly of FeS centers in the hydrogenosomes of the amitochondriate eukaryote *Trichomonas vaginalis* // PNAS. Vol. 101. № 28. P. 10368–10373.
- Tachezy J., Šmíd O., 2008. Mitosomes in parasitic protists // J. Tachezy (ed.). Hydrogenosomes and mitosomes: Mitochondria of anaerobic eukaryotes. Microbiol. Monogr. Berlin–Heidelberg: Springer. P. 202–226.

O.A. Kornilova, L.V. Chistyakova

Hydrogenosomes in *Balantidium* (Ciliophora, Litostomatea)

SUMMARY

Balantidium intestinalis is a ciliate inhabiting the colon of frogs. The ciliate has hydrogenosomes – organelles which are typical for anaerobic habitants. Based on TEM organelles have some features which were not found in other species of ciliates.

**ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ К ИЗУЧЕНИЮ
ЭКОЛОГИИ ВЕСЛОНОГИХ РАКООБРАЗНЫХ КАК
ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ХОЗЯЕВ ДИФИЛЛОБОТРИИД В
УСЛОВИЯХ РЕКИ ОРЕДЕЖ (ЛЕНИНГРАДСКАЯ ОБЛАСТЬ)**

Дифиллоботриозы – гельминтозы, вызываемые ленточными червями рода *Diphyllobothrium*. Человек является хозяином более 10 видов лентецов, принадлежащих к этому роду. Наибольшее медицинское значение имеет лентец широкий (*Diphyllobothrium latum*) (Шувалова и др., 2001). Лентец широкий – один из самых крупных гельминтов человека (до 10 м и более). Паразитируя в тонком отделе кишечника, он вызывает серьезное заболевание – дифиллоботриоз, клинически проявляющееся в сенсibiliзации организма и развитии анемии.

Лентец широкий регистрируется в качестве возбудителя дифиллоботриоза среди населения Ленинградской области (Лобзин, Казанцев, 1996).

Экологической предпосылкой распространения дифиллоботриоза является большое количество разномасштабных пресноводных водоемов (озера, реки, водохранилища и т. д.), на берегах которых расположено значительное количество поселков и деревень.

Поселок городского типа Вырица растянулся по обоим берегам реки Оредеж в 60 км от Санкт-Петербурга. В настоящее время это один из самых густонаселенных пунктов в Ленинградской области, особенно в летний сезон. В связи с этим, значительный практический интерес приобретает изучение паразитологической ситуации в отношении дифиллоботриоза в данном районе.

В эпидемиологии дифиллоботриоза громадное значение играют промежуточные хозяева, а среди них выделяются низшие ракообразные сем. Cyclopidae и подсем. Diaptominae.

Целью данного исследования было изучить видовой состав, биотопическое распределение и количественное развитие веслоногих ракообразных – потенциальных хозяев возбудителей дифиллоботриозов.

На пятикилометровом участке реки Оредеж в районе Вырицкого водохранилища было заложено 5 станций, отличающихся друг от друга биотопическими характеристиками.

В данном сообщении приведены результаты исследования веслоногих ракообразных на одной из станций, расположенных на участке реки Оредеж в районе населенного пункта Поселок. Пробы собирали в заливе (площадью 3 га), глубоко вдающемся в сушу. Залив сообщается с руслом реки каналом длиной 20 м и шириной 4 м.

Сбор и обработка проб проводилась по общепринятым в гидробиологии методам (Лобзин, 1996), в 2011 году с мая по сентябрь включительно.

В результате исследований в фауне зоопланктона данного водоема выявлено 7 видов веслоногих ракообразных.

Diaptomus gracilis. Представитель северной фауны. Отличается высокой экологической валентностью. Является одним из основных и массовых компонентов планктического комплекса озер всех лимнологических типов и водохранилищ. Расселяется по всему водоему от пелагиали до прибрежья, включая все его биотопы.

Количественное развитие вида летом выше в центре водоема (в среднем до 3 тыс. экз./м³), а в литорали и особенно среди зарослей – около 200 экз/м³.

В планктоне круглый год. Летом рачок наиболее многочислен с июля по сентябрь (2–4 тыс. экз./м³). Период полового размножения в марте. Яйцевые мешки содержат значительное количество яиц. В неглубоких озерах и водоемах заселяет толщу воды от поверхности до дна.

Периоды осенней и весенней гомотермии характеризуются более или менее равномерным распределением по вертикали. Самые теплые месяцы отличаются обилием молодежи, концентрирующейся в слое 1–2 м. Взрослые особи держатся в это время у дна. Важнейший кормовой компонент всей подростой рыбьей молодежи. Особенно велика в этом отношении его роль зимой, когда рачок является почти моноформой в зоопланктоне.

Macrocyclus albidus. Космополит. Обычный компонент микрофауны зарослевой литорали. Многочислен среди макрофитов с плавающими и погруженными листьями (до 1 тыс. экз./м³).

Встречается круглый год. Полициклический. Яйценосные самки встречаются с весны по осень.

Eucyclops serrulatus. Обычный компонент фауны озерных зарослей. Встречается круглогодично. Летом до 1 тыс. экз./м³. Полициклический. Яйценосные самки зарегистрированы с мая по октябрь. Отмечен в пищевом рационе налима и щуки. По литературным данным, способность его инвазировать лентецом широким достигает 13,8% с интенсивностью 1–2 корацидиев в 1 рачке.

Cyclops strennus. Отличается широким распространением. Характерен для малых водоемов (дамбы, лужи и пр.), где достигает высокой численности, особенно в начале лета. Среднесезонная численность 1200 экз./м³. Способность к заражению *C. strennus* высока (88,8). Велика и интенсивность инвазии (по 2–4 корацидия в одном рачке). Отмечено также нормальное развитие процеркоидов. В условиях, обеспечивающих высокую численность рачка, последний может сыграть заметную роль в распространении лентеца, тем более, что он, благодаря крупным размерам, охотно поедается как взрослыми планктофагами, так и мальками плотвы, окуня, ерша и других рыб.

Cyclops vicinus. Отличается широким распространением. В ряде случаев выступает как ведущий компонент зоопланктона, особенно в открытой части акватории водоема. Избегает зарослей высшей водной растительности. В составе планктонной фауны держится в течение всего года. В мае–июне рачок представлен в планктоне всеми стадиями развития (около 30% по численности). Следует отметить для *C. vicinus* его способность переносить высокую степень загрязнения сточными водами. Среднесезонная численность 800 экз./м³.

Acanthocyclops viridis. Космополит. Отличается высокой экологической валентностью, обитает в водоемах самого различного типа, от больших озер, где в основном держится зарослевой зоны и придонных горизонтов (иногда на значительной глубине), встречаясь и в пелагиали, до малых дистрофных водоемов (лужи, канавы и пр.). В планктоне круглый год. В малых дистрофных водоемах полициклический (самки с яйцевыми мешками с мая по ноябрь), в больших озерах, по-видимому, моноциклический: период полового размножения в июле–августе. Зимой в толще воды единичные особи – половозрелые самки.

Служит кормом ряпушке, сига и молоди других рыб. В период максимального развития (июль-август) численность составляет десятки особей в 1 м³.

Mesocyclops leucarti. Космополит. Отличается широким распространением и высокой численностью. Один из основных компонентов летнего планктического комплекса. Более характерен для озер повышенной трофности. Вид теплолюбивый. В планктоне с мая по октябрь. В период массового размножения достигает сравнительно высокой численности – до 10 тыс. экз./м³ (июнь-август). Расселяется по всей акватории от пелагиали до литорали, включая и зарослевые биотопы. В хорошо прогреваемых озерах заселяет всю водную толщу.

Необходимым условием для развития и поддержания очага дифиллоботриоза является наличие определенной численности веслоногих – промежуточных хозяев паразита. Минимальная численность, при которой может произойти становление очага, должна быть примерно 1000 экз./м³ без учета науплиальных стадий.

К таким видам в исследованном участке реки Оредеж можно отнести *Diaptomus gracilis*, *Eucyclops serruletus*, *Cyclops strennus* и особенно *Mesocyclops leucarti*. Эпидемиологическое значение веслоногих как промежуточных хозяев *D. latum* обусловлено не только способностью инвазировать, т. е. специфичностью, но и шириной их распространения и уровнем развития численности этих рачков.

Литература

- Лобзин Ю.В., Казанцев А.П. (ред.). 1996. Руководство по инфекционным болезням Санкт-Петербурга. СПб.: Комета. 720 с.
- Шувалова Е.П., Белозеров Е.С., Беляева Т.В., Змушко Е.И. 2001. Инфекционные болезни. Ростов-на-Дону: Феникс. 960 с.

M.A. Gvozdev, E.A. Vasilyeva

**Preliminary data to the study of ecology of copepods
as intermediate hosts of Diphyllbothriidae
under the conditions of the river Oredezh (Leningrad region)**

А.А. Поспелова, Е.Е. Прохорова, Н.В. Цымбаленко, Г.Л. Атаев

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ТРЕМАТОД РОДА *LEUCOCHLORIDIUM* С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Система «тремато́ды-моллюски» является одной из наиболее часто используемых моделей для анализа паразито-хозяйинных отношений. Решение вопроса о специфичности взаимодействий «паразит–хозяин» напрямую зависит от точного определения их видовой принадлежности.

Партениты трематод рода *Leucochloridium* паразитируют в моллюсках *Succinea*, а мариты – в птицах отряда Воробьиные. Разветвленные материнские спороцисты трематод рода *Leucochloridium*, паразитирующие в печени моллюсков *Succinea*, демонстрируют один из интереснейших примеров мимикрии среди беспозвоночных животных. Яркоокрашенные, пульсирующие ответвления этих спороцист, заполненные метацеркариями, очень похожи на личинок насекомых. Они проникают в щупальца моллюска, промежуточного хозяина, и привлекают представителей воробьиных, являющихся окончательными хозяевами данных трематод.

Морфология и окраска ответвлений спороцист послужила основой для систематики партенит *Leucochloridium*. На территории Европы описаны два вида *Leucochloridium*: *L. paradoxum* Carus, 1835 и *L. perturbatum* Pojmanska, 1965, с ответвлениями спороцист зеленой и коричневой окраски соответственно. Однако форма, число ответвлений спороцист, интенсивность их окраски и характер чередования темных полос на них – чрезвычайно варьирующие признаки.

Поведенческая экология, как и морфология, этих организмов находится под жестким избирательным контролем за привлекательностью для окончательного хозяина. Последнее делает представителей рода *Leucochloridium* отличной моделью для изучения эволюционной экологии паразитов. Однако исследования такого рода также зависят от решения ряда таксономических проблем. Взрослые особи *Leucochloridium* spp. трудно дифференцируемы из-за отсутствия структур, определяющих различия между видами (Pojmańska, 1963, 1967, 1978; Vakke, 1978, 1980, 1982). В связи с этим, оказывается

проблемой идентифицировать взрослых особей, основываясь на обычных морфологических признаках – цвете спорцист, числе и размерах ответвлений, ширине и рисунке чередования окрашенных и неокрашенных полос на отростках.

Для уточнения систематики рассматриваемых видов трематод, а также для оценки уровня внутривидовой изменчивости все чаще используются методы молекулярного генотипирования с применением различных ДНК-маркеров, как неспецифических, т. е. случайных, так и специфических, которые выявляют строго определенный участок ДНК – например рДНК, кодирующий рибосомные РНК.

Структурные элементы рДНК обладают различной степенью эволюционного консерватизма, наиболее вариабельными являются спейсерные последовательности. Сравнительный анализ молекулярно-генетической изменчивости этой части генома эукариот многие годы используется в качестве удобного инструмента для понимания закономерностей эволюционного процесса (Forterre et al., 2002; Hillis et al., 1996).

В настоящее время в литературе имеются немногочисленные работы, которые содержат результаты генотипирования рДНК трематод рода *Leucochloridium*. Это исследования двух групп ученых из лабораторий Великобритании, которые доложили о частичном секвенировании участка рДНК трематод рода *Leucochloridium*: часть ITS1, весь участок, кодирующий 5,8S рРНК и ITS2, а также часть участка гена 28S рРНК, особей *Leucochloridium* spp., имеющих зеленую и коричневую окраску спорцист (Casey et al., 2003); часть последовательностей гена 18S рРНК и часть гена 28S рРНК *Leucochloridium perturbatum* (Olson et al., 2003). Есть сообщение о частичном секвенировании гена 28S рРНК *Leucochloridium perturbatum*, которое осуществили ученые из Киева, Украина (Tkach et al., 2001). Все указанные нуклеотидные последовательности рДНК аннотированы в Gene Bank и доступны для сравнения с новыми результатами секвенирования ДНК трематод рода *Leucochloridium*.

Материалы и методы. *Объектом исследования* послужили партениты трематод *Leucochloridium* spp. зеленого (n=11) и коричневого (n=5) цвета, паразитирующих в гепатопанкреасе моллюсков р. *Succinea*, собранных на территории поселка Вырица Ленинградской области в 2008–2009 гг.

Выделение хромосомной ДНК осуществляли из отдельных отростков спороцист трематод *Leucochloridium* spp. Ткани гомогенизировали в буфере А (10 мМ трис-Cl, pH 8.0; 0.1 М ЭДТА; 0.25 М сахараза) и центрифугировали при 1600g в течение 10 минут. Полученный осадок ресуспендировали в буфере А, наслаивали на 1.5М сахарозную подушку, содержащую 10 мМ трис-Cl, pH 8.0; 0.1М ЭДТА, и центрифугировали в течение 1 ч при 5000 об/мин и 4°C. Осадок ядер ресуспендировали в буфере В, содержащем 10 мМ трис-Cl, pH 8.0; 0.1М ЭДТА, добавляли панкреатическую РНК-азу до концентрации 20 мкг/мл и инкубировали при 37°C в течение 1 часа. К лизату добавляли протеиназу К до конечной концентрации 100 мкг/мл; SDS до конечной концентрации 5 мг/мл и инкубировали при 56°C 2 часа. Экстракцию ДНК проводили смесью фенол-хлороформ (1:1) и двукратной обработкой смесью хлороформ – изоамиловый спирт (24:1). Органическую и водную фазы разделяли центрифугированием при 1600g, 4°C в течение 15 минут. Высокополимерную ДНК осаждали двумя объемами охлажденного 96% этанола. Осадок промывали 70% этанолом, высушивали до отсутствия запаха этанола, который определяли органолептически, и растворяли в минимальном количестве ТЕ-буфера (10 мМ трис-Cl, pH 7.4 и 0.1 мМ ЭДТА).

Электрофоретический анализ ДНК осуществляли в агарозе, приготовленной на TBE-буфере, pH 8.0, содержащем 0.089М трис-Cl, 0.089М борную кислоту и 0.002М ЭДТА, с 0.5 мкг/мл бромистого этидия по стандартной методике (Sambrook et al., 1991).

Аmplификацию рДНК осуществляли методом полимеразной цепной реакции (Simpson et al., 1993). Специфические праймеры для амплификации подбирали с помощью программы *Gene Runner 3.0* (<http://www.generunner.com>).

Секвенирование образцов ПЦР-продуктов, полученных с помощью специфических праймеров выполнено в коммерческой фирме «Синтол» (127550, Москва, ул. Тимирязевская, 42).

Результаты и их обсуждение. Моллюски *Succinea* для исследования были собраны в районе поселка Вырица Ленинградской области в 2008–2009 гг. Зараженные моллюски и спороцисты трематод р. *Leucochloridium* с ответвлениями зеленой и коричневой окраски были каталогизированы и помещены на хранение при –75°C.

Работа выполнена на индивидуальных препаратах хромосомной ДНК из 16 спорцист трематод *p. Leucochloridium*: 5 – из особей с коричневой окраской отростка и 11 – с зеленой окраской. Для исследований по генотипированию выравнивание концентрации ДНК во всех взятых в рассмотрение образцах проводили с помощью программы **Scion Image**.

Для подбора специфических праймеров на участок рДНК, включающий нуклеотидные последовательности внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS1 и ITS2) и последовательности, кодирующие 5,8 S рРНК трематод *Leucochloridium* spp. (рис. 1), использовали ресурсы базы данных **Gene Bank**.

На момент начала наших исследований (октябрь 2009 г.) в Gene Bank были представлены пять последовательностей нуклеотидов рДНК трематод *p. Leucochloridium*, соответствующие разным участкам рибосомных генов (табл. 1).



Рис. 1. Организация транскрипционной единицы рДНК

(L1 и L2 – прямой и обратный праймеры для амплификации фрагмента рДНК, содержащего внутренние транскрибируемые спейсеры (ITS1 и ITS2), а также последовательности, кодирующие 5,8S РНК)

Для подбора специфических праймеров L1 и L2 мы использовали последовательность AY258145.1., которая включает в себя участки внутренних транскрибируемых спейсеров рДНК (ITS1 и ITS2) и последовательности, кодирующие 5,8 S рРНК (рис. 1, табл. 1). Именно этот участок рДНК отличается наибольшей вариабильностью и изменчивостью, что дает возможность обнаружить отличия между особями, которые относятся к разным видам одного и того же рода. В таблице 2 приведены характеристики праймеров L1 и L2, которые использовали при сравнительном анализе ДНК особей *Leucochloridium* spp. с зелеными и коричневыми спорцистами.

На всех 16 матрицах ДНК, выделенных из индивидуальных

спороцист *Leucochloridium* spp. зеленого и коричневого цвета, в реакциях амплификации с указанными специфическими праймерами были получены ПЦР-продукты ДНК, размеры которых, как видно из рисунка 2, находятся в диапазоне расчетной длины – 921 п.н. (табл. 2).

Нуклеотидные последовательности ПЦР-продуктов, полученных на всех шестнадцати образцах ДНК трематод разной морфологии, анализировали с помощью программы BioEdit между собой и с аннотированными в Gene Bank последовательностями рДНК.

Так, сравнение с последовательностью AY258145, руководствуясь которой подбирали специфические праймеры, по указанными в таблице 2 координатам, показало что сравниваемые последовательности рДНК гомологичны. Гомология составляет 96%. Это указывает на идентичность исследуемого ПЦР-продукта, аннотированному в Gene Bank участку рДНК *Leucochloridium* spp., по которому мы осуществляли дизайн специфических праймеров. Фрагменты рДНК *Leucochloridium* spp. одинаковой окраски, как среди коричневых, так и среди зеленых, оказались идентичными по последовательности нуклеотидов, т.е. все 11 секвеннограмм «зеленых» образцов и 5 «коричневых» гомологичны на 100%. В таблице 3 представлены для сравнения между собой по два образца (А и Б) каждой разновидности *Leucochloridium* spp.

Между последовательностями нуклеотидов в секвеннограммах ПЦР-продуктов, полученных на ДНК спороцист разной окраски, выявлены различия в районе ITS1 и ITS2, составившие 3,88% (табл. 4). На рисунке также видно, что последовательности, кодирующие 5,8S рРНК, которые расположены между обоими участками ITS1 и ITS2, как и начало последовательностей гена 28S РНК, расположенного сразу за ITS2, гомологичны на 100%.

Таким образом, на участке, соответствующем внутренним транскрибируемым спейсерам 1 и 2 (ITS1; ITS2) рДНК *Leucochloridium* spp., были выявлены различия, составляющие 3,88% от общей длины ПЦР-фрагмента.

Нуклеотидные последовательности трематод р. *Leucochloridium*, представленные в Gene Bank

№	Обозначение	Число нукл. в цепи	Продукт	Объект	Авторы и дата анотирования последовательности
1	AY258145.1	1197	ITS 1 (частичное секвенирование); 5.8S рРНК и ITS2 (полное секвенирование); 28S рРНК (частичное секвенирование)	<i>Leucochloridium</i> sp. (зеленый)	Casey S.P., Bakke T.A., Harris P.D., Cable J. (Casey et al., 2003). 23.01.2004
2	AY258144.1	1239	ITS 1 (частичное секвенирование); 5.8S рРНК и ITS2 (полное секвенирование); 28S рРНК (частичное секвенирование)	<i>Leucochloridium</i> sp. (коричневый)	Casey S.P., Bakke T.A., Harris P.D., Cable J. (Casey et al., 2003). 23.01.2004
3	AY222087.1	1837	18S рРНК (частичное секвенирование)	<i>Leucochloridium perturbatum</i>	Olson P.D., Cribb T.H., Tkach V.V., Bray R.A., Littlewood D.T. (Olson et al., 2003). 09.01.2007
4	AY222169.1	1389	28S рРНК (частичное секвенирование)	<i>Leucochloridium perturbatum</i>	Olson P.D. (Olson, 2003). 13.06.2003
5	AF184261.1	1259	28S рРНК (частичное секвенирование)	<i>Leucochloridium perturbatum</i>	Tkach V.V., Pawlowski J., Mariaux J., Swiderski Z. (Tkach, 2001). 06.10.2000

Таблица 2.

Специфические праймеры, подобранные для анализа ДНК трематод р. *Leucochloridium*

Обозначение праймера	Нуклеотидная последовательность	Координаты	Расчетный размер продукта (п.н.)	t°C отжига
L1	5' ATGCTCTGATGGTATGCTCGTAG 3'	225–247	921	62
L2	5' TTCCTCCGCTTAGTGATATGC 3'	112–1145		

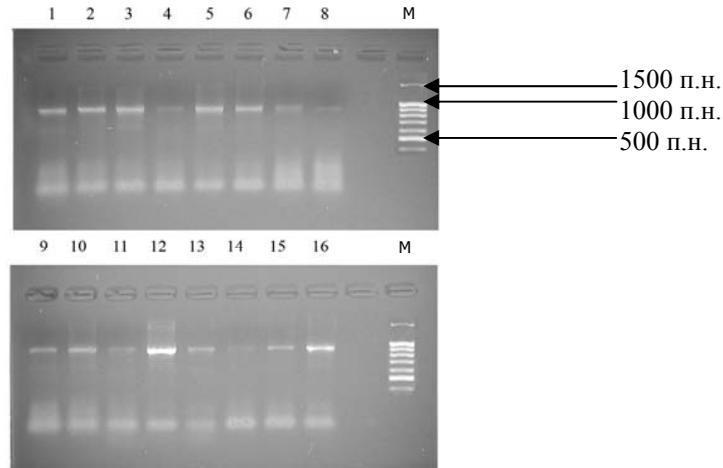


Рис. 2. Электрофореграмма ПЦР-продуктов рДНК *Leucochloridium* spp.

1–5 – образцы ПЦР-продуктов зелёных спороцист; 6–16 – образцы ПЦР-продуктов коричневых спороцист; М – маркер молекулярного размера (стрелками указаны размеры реперных фрагментов ДНК)

Таблица. 3.

Сравнение между собой нуклеотидных последовательностей ITS1 и TS2 рДНК двух коричневых и двух зеленых спорист трематод *Leucochloridium spp.*

(в левом столбце указан рабочий номер секвенируемого образца ДНК; числа над сравниваемыми последовательностями нуклеотидов указывают на позиции нуклеотидов в исследуемых секвенограммах-протоколах)

A

	55	65	75	85	95
4zel	TCCCACCAGA	TGTTGCTATC	CTACTA-ATC	TACCAGTCAT	GCTTAGAGCG
6zel	--CGACCAGA	TGTTGCTATC	CTACTATATC	TACCTGTCAT	GCTTAGAGCG

	105	115	125	135	145
4zel	ACAGGATAGT	ACTGTGTACA	ACACTGTGCT	AGGCTCAAAG	AGGAGTGCAG
6zel	ACAGGATAGT	ACTGTGTACA	ACACTGTGCT	AGGCTCAAAG	AGGAGTGCAG

	155	165	175	185	195
4zel	GACTACGGAC	CGGCTCCCGC	CTCATTTGTT	GTTATTTTAA	TТАCTATTAT
6zel	GACTACGGAC	CGGCTCCCGC	CTCATTTGTT	GTTATTTTAA	TТАCTATTAT

	205	215	225	235	245
4zel	TACTACTGTTT	AAGCTAACTA	AATTAGATTT	AATTCGATT	TTGTTAGTTG
6zel	TACTACTGTTT	AAGCTAACTA	AATTAGATTT	AATTCGATT	TTGTTAGTTG

	255	265	275	285	295
4zel	AATAATGGCA	TGCACCTGAT	TGCTAGTCAA	TTGGACTGCA	TGTGACGATC
6zel	AATAATGGCA	TGCACCTGAT	TGCTAGTCAA	TTGGACTGCA	TGTGACGATC

	305	315	325	335	345
4zel	GCCTAGCGGT	GCCTTATCCT	AGGCTCGATC	GGTAAATCGA	AATGTTTGTT
6zel	GCCTAGCGGT	GCCTTATCCT	AGGCTCGATC	GGTAAATCGA	AATGTTTGTT

	355	365	375	385	395
4zel	TTCATTAATT	TAATGAAACA	AATATTGTAC	AACSTTTAAGC	GGTGGATCAC
6zel	TTCATTAATT	TAATGAAACA	AATATTGTAC	AACSTTTAAGC	GGTGGATCAC

	405	415	425	435	445
4zel	TCGGCTCGTG	TGTCGATGAA	GAGTGCAGCC	AACTGTGTGA	ATTAATGTGA
6zel	TCGGCTCGTG	TGTCGATGAA	GAGTGCAGCC	AACTGTGTGA	ATTAATGTGA

	455	465	475	485	495
4zel	ACTGCATACT	GCTTTGAACA	TCGACCTCTT	GAACGCATAT	TGCGGCCACG
6zel	ACTGCATACT	GCTTTGAACA	TCGACCTCTT	GAACGCATAT	TGCGGCCACG

	505	515	525	535	545
4zel	GGATATCCTG	TGGCCACGCC	TGGCCGAGGG	TCGGCTTATA	AACTATCACG
6zel	GGATATCCTG	TGGCCACGCC	TGGCCGAGGG	TCGGCTTATA	AACTATCACG

	555	565	575	585	595
4zel	ATGCCCAAAA	AGTCGTGGAT	TGGATGCTGT	GCCAGCTGGC	ATGATTTCTT
6zel	ATGCCCAAAA	AGTCGTGGAT	TGGATGCTGT	GCCAGCTGGC	ATGATTTCTT

	605	615	625	635	645
4zel	TAATGTAGTA	TTTAATATAC	AAACATATGA	GGTGCCAGAT	CTATGGCTCC
6zel	TAATGTAGTA	TTTAATATAC	AAACATATGA	GGTGCCAGAT	CTATGGCTCC

	655	665	675	685	695
4zel	GTCCTAATGT	ATCCGGTTAC	AGCCAAGTCT	ATATTTATTA	TAATATTAAA
6zel	GTCCTAATGT	ATCCGGTTAC	AGCCAAGTCT	ATATTTATTA	TAATATTAAA

	705	715	725	735	745
4zel	TGAAATTGCT	GTAATGGATT	ATGCTCAGGT	CGTGGCTCAA	TGATTTTGAA
6zel	TGAAATTGCT	GTAATGGATT	ATGCTCAGGT	CGTGGCTCAA	TGATTTTGAA

	755	765	775	785	795
4zel	CACGCTTGAT	GTTATAATTT	ATATATATAT	AAATATAGAC	ATTGGATTAT
6zel	CACGCTTGAT	GTTATAATTT	ATATATATAT	AAATATAGAC	ATTGGATTAT

	805	815	825	835	845
4zel	TTTGTAGCCG	AGGGAGTGTA	AATACTCTAT	AATTTGGGTA	ATTTATTGAT
6zel	TTTGTAGCCG	AGGGAGTGTA	AATACTCTAT	AATTTGGGTA	AATTTATTGAT

	855	865			
4zel	TTATATGATA	CCCTACATTA			
6zel	TTATATGATA	CCCTACATTA			

Б

	5	15	25	35	45
11 kr	CGCCATGTAT	TATTGAGTAA	CTACCAGTAT	GCTTGGAGCG	ACAGGATAGT
3kr	--CCATGTAT	TATTGAGTAA	CTACCAGTAT	GCTTGGAGCG	ACAGGATAGT

	55	65	75	85	95
11 kr	ACTGTGTACA	ACACTGTGCT	AGGCTCAAAG	AGGAGTGCAG	GACTACGGAC
3kr	ACTGTGTACA	ACACTGTGCT	AGGCTCAAAG	AGGAGTGCAG	GACTACGGAC

	105	115	125	135	145
11 kr	CGGCTCCCGC	CTCATTTGTT	GTTAATTTAA	TTACTATTAT	TACACTGTTT
3kr	CGGCTCCCGC	CTCATTTGTT	GTTAATTTAA	TTACTATTAT	TACACTGTTT

	155	165	175	185	195
11 kr	AAGCTAACTA	AATTAGATTT	AATTCTGATT	TTGTTAGTTG	ACTTATGGCA
3kr	AAGCTAACTA	AATTAGATTT	AATTCTGATT	TTGTTAGTTG	ACTTATGGCA

	205	215	225	235	245
11 kr	TGCACCTGAT	TGCTAGTCAA	TTGGACTGCA	TGTGACGATC	GCCTAGCGGT
3kr	TGCACCTGAT	TGCTAGTCAA	TTGGACTGCA	TGTGACGATC	GCCTAGCGGT

	255	265	275	285	295
11 kr	GCCTTATCCT	AGGCTCGATC	GGTAAATCGA	AATGTTTGTT	TTCATTAATT
3kr	GCCTTATCCT	AGGCTCGATC	GGTAAATCGA	AATGTTTGTT	TTCATTAATT

	305	315	325	335	345
11 kr	TTCATTAATG	AAACAAATAT	TGTACAACCT	TAAGCGGTGG	ATCACCTGGC
3kr	TTCATTAATG	AAACAAATAT	TGTACAACCT	TAAGCGGTGG	ATCACCTGGC

	355	365	375	385	395
11 kr	TCGTGTGTCG	ATGAAGAGTG	CAGCCAACCTG	TGTGAATTA	TGTGAACCTGC
3kr	TCGTGTGTCG	ATGAAGAGTG	CAGCCAACCTG	TGTGAATTA	TGTGAACCTGC

	405	415	425	435	445
11 kr	ATACTGCTTT	GAACATCGAC	CTCTTGAACG	CATATTGCGG	CCACGGGATA
3kr	ATACTGCTTT	GAACATCGAC	CTCTTGAACG	CATATTGCGG	CCACGGGATA

	455	465	475	485	495
11 kr	TCCTGTGGCC	ACGCCTGGCC	GAGGGTCGGC	TTATAAACTA	TCACGATGCC
3kr	TCCTGTGGCC	ACGCCTGGCC	GAGGGTCGGC	TTATAAACTA	TCACGATGCC

	505	515	525	535	545
11 kr	CAAAAAGTCG	TGGATTGGAT	GCTGTGCCAG	CTGGCATGAT	TTCCTCAATG
3kr	CAAAAAGTCG	TGGATTGGAT	GCTGTGCCAG	CTGGCATGAT	TTCCTCAATG

	555	565	575	585	595
11 kr	TAGTATTTAA	TTAATATACT	AACATATGAG	GTGCCAGATC	TATGGCTCCA
3kr	TAGTATTTAA	TTAATATACT	AACATATGAG	GTGCCAGATC	TATGGCTCCA

	605	615	625	635	645
11 kr	TCCTAATGTA	TCCGGTTACA	GCCAAGTCTA	TATTTATTAT	TATTAATGA
3kr	TCCTAATGTA	TCCGGTTACA	GCCAAGTCTA	TATTTATTAT	TATTAATGA

	655	665	675	685	695
11 kr	TAAAATTGCT	GTATTACTGG	ATTATGCTCA	GGTCGTGGCT	CAATGATTTT
3kr	TAAAATTGCT	GTATTACTGG	ATTATGCTCA	GGTCGTGGCT	CAATGATTTT

	705	715	725	735	745
11 kr	GAACACGCTT	GATGTTATAA	TCCATATATT	AATTATATAA	ATATAGACAT
3kr	GAACACGCTT	GATGTTATAA	TCCATATATT	AATTATATAA	ATATAGACAT

	755	765	775	785	795
11 kr	TGGATTATTT	TGTAGCCGAT	GGAGTGTA	TACTCTATAA	TATGGGTAAT
3kr	TGGATTATTT	TGTAGCCGAT	GGAGTGTA	TACTCTATAA	TATGGGTAAT

	805	815	825	835	845
11 kr	TTATTGATTT	ATATGATACC	CTAATTATAT	ATATTTGACC	CTGACCTCGG
3kr	TTATTGATTT	ATATGATACC	CTAATTATAT	ATATTTGACC	CTGACCTCGG

	855	865	875		
11 kr	ATCAGACGTG	ATTACCCGCT	GAACTTAAGA		
3kr	ATCAGACGTG	ATTACCCGCT	GAACTTAAGA		

Полученное расхождение достоверно, так как результаты совпадают с данными морфологических исследований, представленными в литературе. Согласно литературным источникам (Carus, 1835; Pojmanska, 1965), существуют два вида рода *Leucochloridium* Carus, 1835: *L. paradoxum*, имеющий спороцисты с отростками зелёного цвета, и *L. perturbatum* с коричневой окраской отростков.

Таблица 4.

Сравнение нуклеотидных последовательностей рДНК спороцист трематод р. *Leucochloridium* зеленой и коричневой окраски

(цветом выделены нуклеотидные последовательности внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS1; ITS2);

расхождения в нуклеотидной последовательности выделены жирным шрифтом; в левом столбце указан рабочий номер секвенируемого образца ДНК;

числа над сравниваемыми последовательностями нуклеотидов указывают на позиции нуклеотидов в исследуемых секвенограммах-протоколах)

	55	65	75	85	95
2 zel	-----	-----	-----	-----	-----
12 krasn	-----	-----	-----	-----	-----

	105	115	125	135	145
2 zel	CAGGATAGTA	CTGTGTACAA	CACTGTGCTA	GGCTCAAAGA	GGAGTGCAGG
12 krasn	CAGGATAGTA	CTGTGTACAA	CACTGTGCTA	GGCTCAAAGA	GGAGTGCAGG

	155	165	175	185	195
2 zel	ACTACGGACC	GGCTCCC GCC	TCATTTGTTG	TTATTTTAAT	TACTATTATT
12 krasn	ACTACGGACC	GGCTCCC GCC	TCATTTGTTG	TTATTTTAAT	TACTATTATT

	205	215	225	235	245
2 zel	ACACTGTTTA	AGCTAACTAA	ATTAGATTTA	ATTCTGATTT	TGTTAGTTGA
12 krasn	ACACTGTTTA	AGCTAACTAA	ATTAGATTTA	ATTCTGATTT	TGTTAGTTGA

	255	265	275	285	295
2 zel	ATAATGGCAT	GCACCTGATT	GCTAGTCAAT	TGGACTGCAT	GTGACGATCG
12 krasn	ATAATGGCAT	GCACCTGATT	GCTAGTCAAT	TGGACTGCAT	GTGACGATCG

	305	315	325	335	345
2 zel	CCTAGCGGTG	CCTTATCCTA	GGCTCGATCG	GTA AATCGAA	ATGTTTGTTT
12 krasn	CCTAGCGGTG	CCTTATCCTA	GGCTCGATCG	GTA AATCGAA	ATGTTTGTTT

	355	365	375	385	395
2 zel	TCATTAATTT	-----AATGA	AACA AATATT	GTACA A CTTT	AAGCGGTGGA
12 krasn	TCATTAATTT	TCATTAATGA	AACA AATATT	GTACA A CTTT	AAGCGGTGGA

	405	415	425	435	445
2 zel	TCACTCGGCT	CGTGTGTCGA	TGAAGAGTGC	AGCCAACGTGT	GTGAATTAAT
12 krasn	TCACTCGGCT	CGTGTGTCGA	TGAAGAGTGC	AGCCAACGTGT	GTGAATTAAT

	455	465	475	485	495
2 zel	GTGAACTGCA	TACTGCTTTG	AACATCGACC	TCTTGAACGC	ATATTGCGGC
12 krasn	GTGAACTGCA	TACTGCTTTG	AACATCGACC	TCTTGAACGC	ATATTGCGGC

	505	515	525	535	545
2 zel	CACGGGATAT	CCTGTGGCCA	CGCTGGCCG	AGGGTCGGCT	TATAAATAT
12 krasn	CACGGGATAT	CCTGTGGCCA	CGCTGGCCG	AGGGTCGGCT	TATAAATAT

	555	565	575	585	595
2 zel	CACGATGCC	AAAAAGTCGT	GGATTGGATG	CTGTGCCAGC	TGGCATGATT
12 krasn	CACGATGCC	AAAAAGTCGT	GGATTGGATG	CTGTGCCAGC	TGGCATGATT

	605	615	625	635	645
2 zel	TCCTTAATGT	AGTATTTAAT	----ATAGAA	ACATATGAGG	TGCCAGATCT
12 krasn	TCCTCAATGT	AGTATTTAAT	TAATAACTTA	ACATATGAGG	TGCCAGATCT

	655	665	675	685	695
2 zel	ATGGCTCCGT	CCTAATGTAT	CCGGTTACAG	CCAAGTCTAT	ATTTATTATA
12 krasn	ATGGCTCCAT	CCTAATGTAT	CCGGTTACAG	CCAAGTCTAT	ATTTATTAT-

	705	715	725	735	745
2 zel	ATATTAAATG	A---AATTGC	TGTA--A-TG	GATTATGCTC	AGGTCGTGGC
12 krasn	-TATTAAATG	ATAAATTGC	TGTTTACTTG	GATTATGCTC	AGGTCGTGGC

	755	765	775	785	795
2 zel	TCAATGATTT	TGAACACGCT	TGATGTTATA	ATT--TATAT	--AT-ATATA
12 krasn	TCAATGATTT	TGAACACGCT	TGATGTTATA	ATCCAATATAT	TAATTATATA

	805	815	825	835	845
2 zel	AATATAGACA	TTGGATTATT	TTGTAGCCGA	GGGAGTGTAA	ATACTCTATA
12 krasn	AATATAGACA	TTGGATTATT	TTGTAGCCGA	TGGAGTGTAA	ATACTCTATA

	855	865	875	885	895
2 zel	ATTTGGGTAA	TATATTGGAT	TTATATGATA	CCSTACATTA	TATATATTAT
12 krasn	ATATGGGTAA	T-TATTGGAT	TTATATGATA	CCSTACATTA	TATATATTAT

	905	915	925		
2 zel	GACCSTAGAC	CTCTGATCAG	ATATG----		
12 krasn	GACCSTAGAC	CTCTGATCAG	ATATG----		

В 2003 году в Европе (Голландия, Дания, Норвегия) подобное исследование выявило различие между последовательностями спороцист разной окраски, составившее 6,8%. Расхождения наблюдались только в областях ITS1 и ITS2 (Casey et al., 2003).

В 2009 году, когда мы приступили к данному исследованию, как было отмечено выше, в генетических базах данных, в частности в

базах **Gene Bank**, была аннотирована только одна нуклеотидная последовательность рДНК трематод рода *Leucochloridium*, включающая неполную последовательность внутреннего транскрибируемого спейсера ITS1, полную последовательность 5,8S рРНК и второго внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2: AY258145.1 и AY258144.1, полученные для рДНК трематод с зелеными и коричневыми окрасками отростков спороцист, соответственно (Casey et al., 2003).

На завершающей стадии нашего исследования – при обработке секвеннограмм всех 16 образцов ДНК, в марте 2011 года, на сайте **Gene Bank** группой ученых из Польши (Rzad et al., 2011a,b,c) были заявлены еще три последовательности рассматриваемого участка рДНК: JF346883.1 и JF274482.1 для *Leucochloridium paradoxum* и JF331664 *Leucochloridium perturbatum*. Авторами аннотирования (Rzad I., Hofsoe P., Panicz R., Nowakowski J.K.) данные о заявленных последовательностях в печати еще не опубликованы.

На основании данных о первичной последовательности нуклеотидов одного и того же участка рДНК трематод *Leucochloridium* spp., экстрагированных из баз **Gene Bank**, а также полученных нами в ходе данного исследования, мы провели сравнительный анализ представленных вариантов нуклеотидных цепочек рДНК (ITS1, 5,8S рРНК и ITS2) (табл. 5 и 6).

Проведенное сравнение первичных последовательностей участка рДНК ITS1 – 5.8S – ITS2 трематод рода *Leucochloridium*, представленное на рисунках 5 и 6, выявило полное совпадение между нашими данными и полученными польскими учеными.

Поскольку д-р Rzad и ее коллеги в паспорте аннотированных ими последовательностей однозначно определили таксономическое положение объектов исследования с зеленой и коричневой окраской отростков спороцист как *Leucochloridium paradoxum* и *Leucochloridium perturbatum*, мы полагаем, что исследуемые в нашей работе трематоды Вырицкой популяции также являются представителями этих видов.

Установленные последовательности нуклеотидов рДНК, включающие ITS1 и ITS2, а также ген 5,8S РНК и частично участок гена 28S рРНК особей *Leucochloridium paradoxum* и *Leucochloridium perturbatum* зарегистрированы в **Gene Bank**:

- JN639012.1 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JN639012.1>);
- JN639011.1 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JN639011.1>).

Таблица 5.

Сравнение нуклеотидных последовательностей участка ITS1 - 5.8S - ITS2 рибосомных генов *Leucochloridium sp.* со спороцистой зеленого цвета

1 – JF274482.1 *Leucochloridium paradoxum*
(Rzad et al., <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>);

2 – JF346883.1 *Leucochloridium paradoxum*
(Rzad et al., <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>);

3 – AY258145.1 (Casey et al., 2003);

4 – последовательность, секвенированная в данной работе;

цветом выделены расхождения в нуклеотидной последовательности

1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
4	GTATGTATAA	GTCTACTTGA	TGTTTGGTAT	TTAAAAGTAA	CTAAACATTA	AGAGACTATA	AATTATATA	CATCAATAAA
81	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
3	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
4	TTTATGTAAA	CAATAATAAG	TAATACTTAT	TTAATCAAAG	AAATTAACGG	ATGGATCTTA	TGGATCCGG	GCTTAGGGCT
161	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
1	-----	-TTCAAATTT	GTTATGCATA	GTGCCTGTGT	TAGACGAGGT	GTCTAACCTG	TCAGATGCTC	TGATGGTATG
2	ATGCCTGACA	ATTCAAATTT	GTTATGCATA	GTGCCTGTGT	TAGACGAGGT	GTCTAACCTG	TCAGATGCTC	TGATGGTATG
3	-----	-----	-----	-----	-ACCCCTTTT	TCTCCCTT	CTCAAGCTT	TGCCGTATG
4	ATGCCTGACA	ATTCAAATTT	GTTATGCATA	GTGCCTGTGT	TAGACGAGGT	GTCTAACCTG	TCAGATGCTC	TGATGGTATG
241	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
1	CTCGTAGTTT	ATTATTATTA	TTATTATTAT	TATAATAATA	AACCTACCAGT	CATGCCTAGA	GCGACAGGAT	AGTACTGTGT
2	CTCGTAGTTT	ATTATTATTA	TTATTATTAT	TATAATAATA	AACCTACCAGT	CATGCCTAGA	GCGACAGGAT	AGTACTGTGT
3	TTCACCGCT	ATTCCACCA	-GATTTTC	TATCTATTA	ACTACCAGT	CATGCCTAGA	GCGACAGGAT	AGTACTGTGT
4	CTCGTAGTTT	ATTATTATTA	TTATTATTAT	TATAATAATA	ACTACCAGT	CATGCCTAGA	GCGACAGGAT	AGTACTGTGT
321	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
1	ACAACACTGT	GCTAGGCTCA	AAGAGGAGTG	CAGGACTACG	GACCGGCTCC	CGCCTCATT	GTTGTTATTT	TAATTACTION
2	ACAACACTGT	GCTAGGCTCA	AAGAGGAGTG	CAGGACTACG	GACCGGCTCC	CGCCTCATT	GTTGTTATTT	TAATTACTION
3	ACAACACTGT	GCTAGGCTCA	AAGAGGAGTG	CAGGACTACG	GACCGGCTCC	CGCCTCATT	GTTGTTATTT	TAATTACTION
4	ACAACACTGT	GCTAGGCTCA	AAGAGGAGTG	CAGGACTACG	GACCGGCTCC	CGCCTCATT	GTTGTTATTT	TAATTACTION
401	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
1	TATTACACTG	TTTAAGCTAA	CTAAATTAGA	TTTAATCTG	ATTTTGTAG	TTGAATAATG	GCATGCACCT	GATTGCTAGT
2	TATTACACTG	TTTAAGCTAA	CTAAATTAGA	TTTAATCTG	ATTTTGTAG	TTGAATAATG	GCATGCACCT	GATTGCTAGT
3	TATTACACTG	TTTAAGCTAA	CTAAATTAGA	TTTAATCTG	ATTTTGTAG	TTGAATAATG	GCATGCACCT	GATTGCTAGT
4	TATTACACTG	TTTAAGCTAA	CTAAATTAGA	TTTAATCTG	ATTTTGTAG	TTGAATAATG	GCATGCACCT	GATTGCTAGT
481	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
1	CAATTGGACT	GCATGTGACG	ATCGCCTAGC	GGTGCCCTTAT	CCTAGGCTCG	ATCGGTAATG	CGAAATGTTT	GTTTTCATTA
2	CAATTGGACT	GCATGTGACG	ATCGCCTAGC	GGTGCCCTTAT	CCTAGGCTCG	ATCGGTAATG	CGAAATGTTT	GTTTTCATTA
3	CAATTGGACT	GCATGTGACG	ATCGCCTAGC	GGTGCCCTTAT	CCTAGGCTCG	ATCGGTAATG	CGAAATGTTT	GTTTTCATTA
4	CAATTGGACT	GCATGTGACG	ATCGCCTAGC	GGTGCCCTTAT	CCTAGGCTCG	ATCGGTAATG	CGAAATGTTT	GTTTTCATTA
561	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
1	ATTTAATGAA	ACAAATATTG	TACAACCTTA	AGCGGTGGAT	CACTCGGCTC	GTGTGTCGAT	GAAGAGTGCA	GCCAACTGTG
2	ATTTAATGAA	ACAAATATTG	TACAACCTTA	AGCGGTGGAT	CACTCGGCTC	GTGTGTCGAT	GAAGAGTGCA	GCCAACTGTG
3	ATTTAATGAA	ACAAATATTG	TACAACCTTA	AGCGGTGGAT	CACTCGGCTC	GTGTGTCGAT	GAAGAGTGCA	GCCAACTGTG
4	ATTTAATGAA	ACAAATATTG	TACAACCTTA	AGCGGTGGAT	CACTCGGCTC	GTGTGTCGAT	GAAGAGTGCA	GCCAACTGTG
641	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
1	TGAATTAATG	TGAACCTGAT	ACTGCTTTGA	ACATCGACCT	CTTGAACGCA	TATTGCGGCC	ACGGGATATC	CTGTGGCCAC
2	TGAATTAATG	TGAACCTGAT	ACTGCTTTGA	ACATCGACCT	CTTGAACGCA	TATTGCGGCC	ACGGGATATC	CTGTGGCCAC
3	TGAATTAATG	TGAACCTGAT	ACTGCTTTGA	ACATCGACCT	CTTGAACGCA	TATTGCGGCC	ACGGGATATC	CTGTGGCCAC
4	TGAATTAATG	TGAACCTGAT	ACTGCTTTGA	ACATCGACCT	CTTGAACGCA	TATTGCGGCC	ACGGGATATC	CTGTGGCCAC

1 GCCTGGCCGA GGGTCGGCTT ATAAACTATC ACGATGCCCA AAAAGTCGTG GATTGGATGC TGTGCCAGCT GGCATGATTT
 2 GCCTGGCCGA GGGTCGGCTT ATAAACTATC ACGATGCCCA AAAAGTCGTG GATTGGATGC TGTGCCAGCT GGCATGATTT
 3 GCCTGGCCGA GGGTCGGCTT ATAAACTATC ACGATGCCCA AAAAGTCGTG GATTGGATGC TGTGCCAGCT GGCATGATTT
 4 GCCTGGCCGA GGGTCGGCTT ATAAACTATC ACGATGCCCA AAAAGTCGTG GATTGGATGC TGTGCCAGCT GGCATGATTT

801

1 CCTTAATGTA GTATTTAATA TACAACATA TGAGGTGCCA GATCTATGGC TCCGTCCTAA TGTATCCGGT TACAGCCAAG
 2 CCTTAATGTA GTATTTAATA TACAACATA TGAGGTGCCA GATCTATGGC TCCGTCCTAA TGTATCCGGT TACAGCCAAG
 3 CCTTAATGTA GTATTTAATA TACAACATA TGAGGTGCCA GATCTATGGC TCCGTCCTAA TGTATCCGGT TACAGCCAAG
 4 CCTTAATGTA GTATTTAATA TACAACATA TGAGGTGCCA GATCTATGGC TCCGTCCTAA TGTATCCGGT TACAGCCAAG

881

1 TCTATATTTA TTATAATATT AAATGAAATT GCTGTAATGG ATTATGCTCA GGTCGTGGCT CAATGATTTT GAACACGCTT
 2 TCTATATTTA TTATAATATT AAATGAAATT GCTGTAATGG ATTATGCTCA GGTCGTGGCT CAATGATTTT GAACACGCTT
 3 TCTATATTTA TTATAATATT AAATGAAATT GCTGTAATGG ATTATGCTCA GGTCGTGGCT CAATGATTTT GAACACGCTT
 4 TCTATATTTA TTATAATATT AAATGAAATT GCTGTAATGG ATTATGCTCA GGTCGTGGCT CAATGATTTT GAACACGCTT

961

1 GATGTTTATA TTTATATATA TATAAATATA GACATTGGAT TATTTTGTAG CCGAGGGAGT GTAAACTACT TATAAATTTGG
 2 GATGTTTATA TTTATATATA TATAAATATA GACATTGGAT TATTTTGTAG CCGAGGGAGT GTAAACTACT TATAAATTTGG
 3 GATGTTTATA TTTATATATA TATAAATATA GACATTGGAT TATTTTGTAG CCGAGGGAGT GTAAACTACT TATAAATTTGG
 4 GATGTTTATA TTTATATATA TATAAATATA GACATTGGAT TATTTTGTAG CCGAGGGAGT GTAAACTACT TATAAATTTGG

1041

1 GTAATTTATT GATTTATATG ATACCCTA-A TTATATATAT TATGACCCT- GACCTCGGAT CA-GACGTGA TTACACT
 2 GTAATTTATT GATTTATATG ATACCCTA-A TTATATATAT TATGACCCT- GACCTCGGAT CA-GACGTGA TTACCCGCTG
 3 GTAATTTATT GATTTATATG ATACCCTA-A TTATATATAT TATGACCCT- GACCTCGAT CA-GACGTGA TTACCCGCTG
 4 GTAATTTATT GATTTATATG ATACCCTA-A TTATATATAT TATGACCCT- GACCTCGGAT CA-GACGTGA TTACCCGCTG

1121

1 ACCGACCA A-----A-----
 2 AACCTAAGCA TATCACTAAG CGGAGGAAAA GAAACTAACC AGGATTCCCC CAGTAAACGC GAGTGAACGG GGATTAGCC--
 3 -----
 4 AACCTAAGCA TATCACTAAG CGGAGGAAAA GAAACTAACC AGGATTCCCC CAGTAAACGC GAGTGAACGG GGATTAGCC

Таблица 6.

Сравнение нуклеотидных последовательностей участка рДНК (ITS1 - 5.8S - ITS2) *Leucochloridium* sp. со спороцистой коричневого цвета

1 – JF331664 *Leucochloridium perturbatum*

(Rzad et al., <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore>)

2 – последовательность, секвенированная в работе

3 – AY258144.1 (Casey et al., 2003)

цветом выделены расхождения в нуклеотидной последовательности

1 -----
 2 CATATATAAA TTACGTTTA TATATGTGTA TATGTGCATG TGTGCATGTA TGTATGTATA AAAGTCTACT TGATGTTTGG
 3 -----

81

1 -----
 2 TATTTAAAG TAACSTAACA TTAAAAGACT ATAAATTTAT ATGTAACAA TATTAATATT TATTTAAAGA AATTGACGGA
 3 -----

161

1 -----G CTTAGGGCTA TGCCTATCAA TTTAAATTTG TTATGCATAG TGCCTGTGTT AGACGAGGTG
 2 TGGATTTTAT GGATCCGCGG CTTAGGGCTA TGCCTATCAA TTTAAATTTG TTATGCATAG TGCCTGTGTT AGACGAGGTG
 3 -----

241

1 TCTAACCTGT CAGATGCTCT GATGGTATGC TCGTAGATTA TTATTATTAT TATTATTATA GTAAACTACC AGTCATGCTT
 2 TCTAACCTGT CAGATGCTCT GATGGTATGC TCGTAGATTA TTATTATTAT TATTATTATA GTAAACTACC AGTCATGCTT
 3 -----T TGTGTATGC TCGTAGATTA TGGGAT TATTATTATA GTAACTACC AGTATGCTT

321

1 GGAGCGACAG GATAGTACTG TGTACAACAC TGTGCTAGGC TCAAAGAGGA GTGCAGGACT ACGGACCGGC TCCCGCCTCA
 2 GGAGCGACAG GATAGTACTG TGTACAACAC TGTGCTAGGC TCAAAGAGGA GTGCAGGACT ACGGACCGGC TCCCGCCTCA
 3 GGAGCGACAG GATAGTACTG TGTACAACAC TGTGCTAGGC TCAAAGAGGA GTGCAGGACT ACGGACCGGC TCCCGCCTCA

401
1 TTTGTTGTTA ATTTAATTAC TATTATTACA CTGTTTAAGC TAACTAAATT AGATTTAATT CTGATTTTGT TAGTTGACTT
2 TTTGTTGTTA ATTTAATTAC TATTATTACA CTGTTTAAGC TAACTAAATT AGATTTAATT CTGATTTTGT TAGTTGACTT
3 TTTGTTGTTA ATTTAATTAC TATTATTACA CTGTTTAAGC TAACTAAATT AGATTTAATT CTGATTTTGT TAGTTGACTT
481
1 ATGGCATGCA CCTGATTGCT AGTCAATTGG ACTGCATGTG ACGATCGCCT AGCGGTGCCT TATCCTAGGC TCGATCGGTA
2 ATGGCATGCA CCTGATTGCT AGTCAATTGG ACTGCATGTG ACGATCGCCT AGCGGTGCCT TATCCTAGGC TCGATCGGTA
3 ATGGCATGCA CCTGATTGCT AGTCAATTGG ACTGCATGTG ACGATCGCCT AGCGGTGCCT TATCCTAGGC TCGATCGGTA
561
1 AATCGAAATG TTTGTTTTCA TTAATTTTCA TTAATGAAAC AAATATTGTA CAACTTTAAG CCGTGGATCA CTCGGCTCGT
2 AATCGAAATG TTTGTTTTCA TTAATTTTCA TTAATGAAAC AAATATTGTA CAACTTTAAG CCGTGGATCA CTCGGCTCGT
3 AATCGAAATG TTTGTTTTCA TTAATTTTCA TTAATGAAAC AAATATTGTA CAACTTTAAG CCGTGGATCA CTCGGCTCGT
641
1 GTGTCGATGA AGAGTGCAGC CAACTGTGTG AATTAATGTG AACTGCATAC TGCTTTGAAC ATCGACCTCT TGAACGCATA
2 GTGTCGATGA AGAGTGCAGC CAACTGTGTG AATTAATGTG AACTGCATAC TGCTTTGAAC ATCGACCTCT TGAACGCATA
3 GTGTCGATGA AGAGTGCAGC CAACTGTGTG AATTAATGTG AACTGCATAC TGCTTTGAAC ATCGACCTCT TGAACGCATA
721
1 TTGCGGCCAC GGGATATCCT GTGGCCACGC CTGCGCGAGG GTCGGCTTAT AAATATCAC GATGCCCAA AAGTCGTGGA
2 TTGCGGCCAC GGGATATCCT GTGGCCACGC CTGCGCGAGG GTCGGCTTAT AAATATCAC GATGCCCAA AAGTCGTGGA
3 TTGCGGCCAC GGGATATCCT GTGGCCACGC CTGCGCGAGG GTCGGCTTAT AAATATCAC GATGCCCAA AAGTCGTGGA
801
1 TTGGATGCTG TGCCAGCTGG CATGATTTC CCAATGTAGT ATTTAATTA TATACTAACA TATGAGGTGC CAGATCTATG
2 TTGGATGCTG TGCCAGCTGG CATGATTTC CCAATGTAGT ATTTAATTA TATACTAACA TATGAGGTGC CAGATCTATG
3 TTGGATGCTG TGCCAGCTGG CATGATTTC CCAATGTAGT ATTTAATTA TATACTAACA TATGAGGTGC CAGATCTATG
881
1 GCTCCATCCT AATGTATCCG GTTACAGCCA AGTCTATATT TATTATTATT AAATGATAAA ATTGCTGTAT TACTGGATTA
2 GCTCCATCCT AATGTATCCG GTTACAGCCA AGTCTATATT TATTATTATT AAATGATAAA ATTGCTGTAT TACTGGATTA
3 GCTCCATCCT AATGTATCCG GTTACAGCCA AGTCTATATT TATTATTATT AAATGATAAA ATTGCTGTAT TACTGGATTA
961
1 TGCTCAGGTC GTGGCTCAAT GATTTTGAAC ACGCTTGATG TTATAATCCA TATATTAATT ATATAAATAT AGACATTGGA
2 TGCTCAGGTC GTGGCTCAAT GATTTTGAAC ACGCTTGATG TTATAATCCA TATATTAATT ATATAAATAT AGACATTGGA
3 TGCTCAGGTC GTGGCTCAAT GATTTTGAAC ACGCTTGATG TTATAATCCA TATATTAATT ATATAAATAT AGACATTGGA
1041
1 TTATTTTGTG GCCGATGGAG TGTAAATACT CTATAATATG GGTAATTTAT TGATTTATAT GATACCCTAA TTATATATAT
2 TTATTTTGTG GCCGATGGAG TGTAAATACT CTATAATATG GGTAATTTAT TGATTTATAT GATACCCTAA TTATATATAT
3 TTATTTTGTG GCCGATGGAG TGTAAATACT CTATAATATG GGTAATTTAT TGATTTATAT GATACCCTAA TTATATATAT
1121
1 TATGACCCTG ACCTCGGATC AGACGTGATT ACCCGCTGAA CTTAAGCATA TCACTAAGCG GAGGAAAAGA AACTAACCAG
2 TATGACCCTG ACCTCGGATC AGACGTGATT ACCCGCTGAA CTTAAGCATA TCACTAAGCG GAGGAAAAGA AACTAACCAG
3 TATGACCCTG ACCTCGGATC AGACGTGATT ACCCGCTGAA CTTAAGCATA TCACTAAGCG GAGGAAAAGA AACTAACCAG
1201
1 -----
2 GATTCCCCA GTAACGGCA GTGAACGGG ATTAGCCCA
3 -----

Lumepamypa

Bakke T.A., 1972. Studies of the helminth fauna of Norway. XXIII. The common gull, *Larus canus* L., as final host for Digenea (Platyhelminthes). II. The relationship between infection and sex, age and weight of the common gull // Norwegian Journal of Zoology. Vol. 20. P. 189–204.

Bakke T.A., 1980. A revision of the family Leucochloridiidae Poche (Digenea) and studies on the morphology of *Leucochloridium paradoxum* Carus, 1835 // Systematic Parasitology. Vol. 1. P. 189–202.

Bakke T.A., 1982. The morphology and taxonomy of *Leucochloridium* (*L.*) *variae* McIntosh (Digenea, Leucochloridiidae) from the Nearctic as revealed by light and scanning electron microscopy // Zoologica Scripta. Vol. 11. P. 87–100.

- Casey S.P., Bakke T.A., Harris P.D., Cable J., 2003. Use of ITS rDNA for discrimination of European green- and brown-banded sporocysts within the genus *Leucochloridium* Carus, 1835 (Digenea: Leucochloriidae) // Systematic Parasitology. Vol. 56. P. 163–168.
- Forterre P., Brochier C., Philippe H., 2002. Evolution of the Archaea // Theor. Popul. Biol. Vol. 61. № 4. P. 409–422.
- Hillis D.J., Crowe B.L., McDonald I.G., Kelly W.J., Truran R.D., Hailey D.M., 1996. Initial qualitative evaluation of computed radiography in an intensive care unit // Australas Radiol. Vol. 40. № 3. P. 291–297.
- Olson P.D., Cribb T.H., Tkach V.V., Bray R.A., Littlewood D.T., 2003. Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda) // Int. J. Parasitol. Vol. 33. № 7. P. 733–755.
- Pojmańska T., 1962. On sporocysts of the genus *Leucochloridium* in Poland // Acta Parasitologica Polonica. Vol. 10. P. 369–376.
- Pojmańska T., 1963. Experimental development of *Leucochloridium* sp. (Trematoda, Brachylaemidae) // Acta Parasitologica Polonica. Vol. 11. P. 153–159.
- Pojmańska T., 1967. Variability of *Leucochloridium paradoxum* Carus (= *L. heckerti* Kagan, 1952) (Trematoda: Brachylaemidae) in natural and experimental conditions // Acta Parasitologica Polonica. Vol. 14. P. 381–398.
- Pojmańska T., 1978. Life cycle of *Leucochloridium vogtianum* Baudon, 1881 (= *L. phragmitophila* Bykovskaja-Pavlovskaja et Dubinina, 1951 in parte) (Trematoda, Leucochloridae) // Acta Parasitologica Polonica. Vol. 25. P. 11–20.
- Rzad I., Hofsoe P., Panicz R., Nowakowski J.K., 2011a. *Leucochloridium paradoxum* isolate PLSzcz-2009 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence // <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JF346883.1>
- Rzad I., Hofsoe P., Panicz R., Nowakowski J.K., 2011b. *Leucochloridium paradoxum* isolate PLKopan-2009 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence // <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JF274482.1>
- Rzad I., Hofsoe P., Panicz R., Nowakowski J.K., 2011c. *Leucochloridium perturbatum* isolate PLHel-2009 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence // <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JF331664.1>

- Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T., 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd Edition. Tome 1–3. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1659 p.
- Simpson A. J., Dias Neto E., Johnston D.A., Kaukas A., Rollinson D., 1993. Recent molecular approaches to the study of schistosome genetics // *Experimental Parasitology*. Vol. 77. № 3. P. 376–379.
- Tkach V.V., Pawlowski J., Mariaux J., Swiderski Z., 2001. Molecular phylogeny of the suborder Plagiorchiata and its position in the system of Digenea // D.T.J. Littlewood, R.A. Bray (eds.). *Interrelationships of Platyhelminthes*. London: Taylor & Francis. P. 186–193.

A.A. Pospelova, E.E. Prohorova, N.V. Tsymbalenko, G.L. Ataev

Determination of the trematode species of genus *Leucochloridium* using molecular genetic techniques

SUMMARY

Parthenitae trematodes of the genus *Leucochloridium* are parasitic in shellfish *Leucochloridium Succinea*, and *Marita* – in passerine birds. Transmission of *Leucochloridium* species to their definitive avian hosts may be facilitated by the rhythmic movement of coloured sporocyst broodsacs in the ocular tentacles of infected snails. Customary to distinguish two types of morphological sporocyst: *Leucochloridium* sp. – *L. paradoxum* (Carus, 1835) and *L. perturbatum* (Pojmanska, 1965, with green and brown). Broodsac banding pattern and colour (green and brown) have traditionally formed part of the taxonomic criteria for the genus. However, other morphological features of sporocyst – extremely varying characteristics. In this paper, criteria for determining membership in a certain kind of *Leucochloridium* sp. individuals with different color sporocysts, was the sequence divergence of the 5.8S rDNA gene and associated internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2). Alignment of the nucleotide sequences of amplified rDNA regions confirmed their homology with the sequences of internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) and 5.8 S rRNA gene of trematodes, represented in the Gene Bank. DNA fragments sporocysts *Leucochloridium* sp. the same color were identical. Between sequences of different colors and sporocysts revealed differences in the ITS1 and ITS2, amounting to 3.88%. Specific nucleotide sequences reported in Gene Bank.

**МАЛАЯ ПЕСТРОГРУДКА (*BRADYPTERUS THORACICUS*,
SYLVIIDAE, PASSERIFORMES) НА СЕВЕРНОЙ ГРАНИЦЕ
АРЕАЛА:
РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ЭКОЛОГИЯ ВИДА ПО МАТЕРИАЛАМ
ИЗ БАЙКАЛО-САЯНСКОГО РЕГИОНА**

Малая пестрогрудка (*Bradypterus thoracicus suschkini* Stegmann, 1929) и в наши дни остается одной из наименее изученных птиц России. Публикации о деталях распространения и экологии этого вида за последние 30 лет были немногочисленны (Ильяшенко, 1986; Рогачева, 1988; Назаренко, 1990; Round, Loskot, 1994; Михайлов и др., 1997; Рябицев и др., 2001; Бисеров, Медведева, 2002; Тиунов, 2002; Назаренко и др., 2003; Васильченко, 2004). Классические работы, к сожалению, также немного добавляют к представлениям специалистов о его жизни (Hume, 1889; Сушкин, 1938).

Мы начали свои наблюдения за малой пестрогрудкой летом 1974 года в среднегорных лесах Хамар-Дабана; таким образом в статье обобщены данные, полученные за 35-летний период. Автор искренне благодарен Е.Н. Панову и И.Н. Сирохину, принявшим участие в полевых работах на различных этапах исследования. Основная часть многолетних наблюдений и сборов была выполнена в предгорьях Хамар-Дабана в долине реки Талой на базе сейсмостанции Байкальского филиала Геофизической службы СО РАН, наблюдателям которой В.Ф. и В.А. Ощепковым, автор выражает свою особую благодарность.

Методы и материалы. Учет малых пестрогрудок в гнездовой период выполнялся по методу, предложенному Р.Л. Наумовым (1964). Найденные гнезда описывались по общепринятой схеме; после вылета птенцов гнездовые постройки забирались для тщательного анализа строительного материала (определение растений проводилось известным флористом М.М. Ивановой, которой автор выражает свою благодарность). В целях установления трофических связей вида по модернизированной методике А.С. Мальчевского и Н.П. Кадочникова (1953) были собраны и исследованы пробы рациона птенцов (n=62); проанализированы желудки всех добытых взрослых особей (n=6), установлен состав 103 экскрементов гнездовых птенцов и слетков

(Вержуцкий, 1975; Дурнев и др., 1982). Использовались и прямые наблюдения за кормящимися птицами. За весь период исследования нами проведено 311 учетов в местах обитания малой пестрогрудки общей протяженностью более 2000 км, найдено 9 гнезд, добыто 6 коллекционных экземпляров, сфотографировано и описано около 150 гнездовых участков, на которых активно пели самцы и беспокоились пары.

Биотопы. Типичным биотопом малой пестрогрудки в районе наших исследований являются кустарниково-травяные и папоротниковые варианты среднегорных пихтовых и кедрово-пихтовых лесов, произрастающих по речным долинам. Интервал высот, заселяемый этим видом, достаточно широк: от 450 м до 1400 м н.ур.м.; в ландшафтном плане он представляет собой темнохвойно-таежное среднегорье. Чрезвычайно большое количество атмосферных осадков (более 1000 мм в год), локальные режимы температуры, инсоляции и ветра формируют особые микро- и наноклиматические условия речных долин и отдельных падей, населенных малой пестрогрудкой, и определяют развитие особого типа растительности, который назван ботаником А.В. Смирновым (1967) «холодными субтропиками Хамар-Дабана».

Для описываемых пихтовых и кедрово-пихтовых лесов характерно присутствие огромных отдельно стоящих деревьев душистого тополя (*Populus suaveolens*), примесь березы и осины, наличие хорошо развитого подлеска из черемухи, рябины, крупных ив, ольхи, свиды белой, различных видов смородины. Напочвенный ярус формируют здесь достигающие 2-метрового роста травянистые цветковые растения (*Delphinium elatum*, *Heracleum dissectum*, *Crepis sibirica*, *Saussurea parviflora*, *Cacalia hastata*, *Cirsium heterophyllum*, *Aconitum baicalense*, *Calamagrostis langsdorffii*, *Veratrum lobelianum*, *Lilium martagon*) и крупные папоротники (*Athyrium filix-femina*, *A. crenatum*, *Dryopteris spinulosa*, *Struthiopteris filicastrum*).

Несколько отличны биотопы в небольших очагах обитания малой пестрогрудки в Приморском хребте в долине речки Крестовая (впадающей в Байкал с западного берега близ истока реки Ангары) и в Тункинском хребте в среднем течении реки Тубота (левобережный приток Иркуты). Травяные заросли в обоих этих пунктах не достигают такого развития, как в среднегорье Хамар-Дабана и представлены в обедненном составе.

Фенология жизненных циклов. Малая пестрогрудка, вместе с сибирской пестрогрудкой (*Bradypterus taczanowskii*), сверчками (*Locustella fasciolata*, *L. certhiola*, *L. lanceolata*), соловьем-свистуном (*Luscinia sibilans*) и коростелем (*Crex crex*) входит в группу наиболее поздно прилетающих в Прибайкалье видов: средним многолетним сроком начала пения самцов на юге Байкала является 6 июня (табл. 1). Вполне вероятно, что прилетевшие самцы могут молчать 2–3 дня, что, впрочем, не меняет общей картины появления малой пестрогрудки на местах гнездования в первой декаде июня.

Пролет у малой пестрогрудки не выражен, однако в первые 5–10 дней после своего появления на местах гнездования самцы активно перемещаются, перераспределяя между собой подходящие участки местности, и нередко конфликтуют, преследуя друг друга с характерным стрекотанием (высокотравье к этому моменту развивается лишь на 25–30% своих полных размеров и достигает 45–50 см высоты). С середины июня поющих самцов можно наблюдать на постоянных местах, которые к концу первой недели активного брачного пения полностью скрываются за стеблями стремительно подрастающего высокотравья.

Начало постройки гнезд в середине июня отмечается по встречам птиц со строительным материалом в клювах. Сооружение гнезда занимает от 4–5 дней до недели. Появление кладок приходится на последнюю декаду июня; оно маркируется наиболее интенсивным пением самцов и максимальным развитием всех основных элементов хамар-дабанского высокотравья. Активность пения начинает снижаться с вылуплением птенцов, но оно продолжается до середины июля и постепенно затухает в конце второй – начале третьей декады этого месяца.

Наблюдения слетков регистрируются со второй декады июля; отдельные плохо летающие выводки встречаются практически до последних чисел июля. В это же время начинается переход ранних слетков к самостоятельной жизни и позднее первой декады августа выводки не встречаются.

В августе и без того очень скрытные малые пестрогрудки «растворяются» в травяных джунглях и вновь становятся заметны лишь в период осенней миграции.

Таблица 1.

**Данные по фенологии жизненных циклов малой пестрогрудки
на северо-западном макросклоне Хамар-Дабана (1974–2009 гг.)**

Этапы жизненного цикла	Крайние даты	Средневзвешенная многолетняя дата
Прилет (условно отмечается по дате 1-й песни)	03.06.2004 – 12.06.1999	6 июня ± 3 дня
Занятие гнездовых участков и активное брачное пение на них (отмечается по конфликтному поведению самцов, проявляемому при демонстрации фонограммы видовой песни)	07.06.1979 – 16.06.1987	12 июня ± 4 дня
Начало постройки гнезд (отмечается по встречам птиц, переносящих строительный материал)	10.06.2001 – 19.06.1982	15 июня ± 2 дня
Окончание постройки гнезд (отмечается по находкам готовых гнезд без кладки)	14.06.2003 – 23.06.2005	18 июня ± 3 дня
Начало кладки	15.06.2003 – 25.06.2005	21 июня ± 2 дня
Окончание кладки	19.06.2003 – 28.06.2005	24 июня ± 2 дня
Вылупление птенцов	02.07.2003 – 11.07.2005	7 июля ± 3 дня
Период насиживания (установлен по 3 гнездам, находящимся под наблюдением с момента окончания кладки)	–	13 дней
«Затухание» брачного пения	10.08.1975 – 21.08.1989	13 июля ± 4 дня
Период выкармливания птенцов в гнездах (установлен по прямым наблюдениям за 9 гнездами)	–	12 дней
Появление слетков	10.07.1984 – 24.07.2007	16 июля ± 4 дня
Период выкармливания слетков (отмечается по встречам взрослых птиц с кормом у выводков)	–	13 дней
Распадение выводков	25.07.2002 – 04.08.2009	29 июля ± 2 дня
Отлет	26.08.1986 – 07.09.2009	1 сентября ± 3 дня

В последней декаде августа отмечается движение пестрогрудок вверх по речным долинам к горным перевалам (которые, кстати, в это время уже покрыты первым снегом, выпадающим на Хамар-Дабане в последних числах августа-первых числах сентября).

Нередко птицы вылетают прямо из-под ног человека и с беспокойными голосами вновь исчезают в уже пожухлом и частично полегшем высокотравье. Наиболее поздняя встреча малой пестрогрудки на местах гнездования зарегистрирована 7 сентября 2009 года в среднем течении реки Талой, впадающей в южную оконечность Байкала.

На южном горно-лесостепном макросклоне Хамар-Дабана пролетные пестрогрудки отмечаются в середине сентября в ксерофитных биотопах, подобных описанному В.М. Лоскотом (1986) для северных предгорий восточной оконечности хребта Сайлюгем.

Численность. Литературные данные о численности малой пестрогрудки в Южной Сибири немногочисленны (Васильченко, 2004). Собственная информация автора об обилии вида и его сезонной динамике касается лишь трех граничащих друг с другом участков Байкало-Саянской горной страны: северного и западного макросклонов Хамар-Дабана и восточного макросклона Тункинского хребта.

Учеты проводились в оптимальных для малой пестрогрудки биотопах, и их результаты, на наш взгляд, убедительно показывают, что специфические условия северного макросклона Хамар-Дабана являются оптимальными для этой птицы. Ее гнездовое обилие изменяется здесь в разные годы от 52,4 экз./км² в долине реки Талой до 38,7 экз./км² в долине реки Бабхи, что позволяет малой пестрогрудке входить в группу доминирующих в населении долинных лесов видов. На западном макросклоне Хамар-Дабана обилие малой пестрогрудки ниже в 2 и более раз (от 22,8 экз./км² в долине реки Большой Быстрой до 9,4 экз./км² в долине реки Малый Зангисан). Тем не менее, и в этом участке обитания она уверенно входит в группу содоминантов с участием в населении птиц от 6,5 до 1,3%. Еще меньше малой пестрогрудки в Тункинском хребте, где ее гнездовья обнаружены пока только в среднем течении реки Тубота: здесь ее обилие изменяется в разные годы в интервале от 11,8 экз./км² до 3,4 экз./км².

В послегнездовое время, несмотря на вылет молодых птиц из

гнезд, обилие малой пестрогрудки парадоксальным образом снижается, что, по-видимому, связано с особенностями ее экологии и поведения: уходя от гнезд в травяные заросли, и взрослые и молодые птицы практически перестают издавать голоса, что приводит к их значительному недоучету. Этим же объясняется выпадение малой пестрогрудки из группы содоминирующих в орнитонаселении видов на всех исследованных участках.

В период отлета на краткий период обилие малой пестрогрудки существенно возрастает за счет повышения заметности мигрирующих птиц для учетчика, но уже к концу первой 5-дневки сентября падает до нуля.

Биология размножения. Обозначающие свои гнездовые участки самцы малой пестрогрудки поют на небольших (30–50 м²) выровненных горизонтальных или полого-наклонных полянках с обязательным присутствием на них кустарников с сухими побегами или валежником. Поющий самец исполняет свою несложную песню «тррзи... тррзи... тррзи...», сидя именно на этих свободных от листвы и хвои присадах (которые, впрочем, уже к концу первой недели активного брачного пения полностью скрываются за стеблями стремительно подрастающего высокотравья). Полянки граничат с непроходимыми зарослями из нагромождения упавших деревьев и проросших через их мертвые кроны кустарников, переплетенных живыми и отмершими травянистыми растениями, достигающими к концу июня максимальной высоты в полтора–два метра. Именно здесь пестрогрудки устраивают свои гнезда, поиск которых весьма затруднен. Тем не менее, нам за весь период работ удалось найти 9 жилых гнезд этого вида, общая характеристика которых приведена в таблице 2.

Расположение гнезд оказалось вполне однотипно: все они были устроены под кучами истлевающего хвороста у основания мощных куртин вейника Лангсдорфа; при этом новые побеги этого злака и его прошлогодние стебли и листья, переплетаясь, создавали достаточно плотную основу для гнезда, приподнятого, таким образом, над поверхностью почвы на 3–4 см. Под чашей гнезда обычно находились прошлогодние листья рябины, ивы и папоротников, принесенные самой птицей или оставшиеся на месте постройки с прошлой осени. Внешняя часть всех гнезд состояла исключительно из прошлогодних листьев и стеблей вейника Лангсдорфа. Во внутренней

Таблица 2.

Характеристика гнезд малой пестрогрудки с северного макросклона хребта Хамар-Дабан

№	Географический пункт находки	Высота над уровнем моря (м)	Дата находки	Содержимое гнезда в момент находки	Размеры гнезда (мм)			
					диаметр гнезда	высота гнезда	диаметр лотка	глубина лотка
1	Долина реки Талая	750	14.06.2003	Пустое	92 × 88	98	41 × 40	85
2	Долина реки Большая Осиновка	900	23.06.2005	Пустое	94 × 90	111	40 × 40	90
3	Долина реки Утулик	600	05.07.2006	4 2-3-дневных птенца и 1 яйцо-болтун	90 × 90	110	42 × 40	88
4	Долина реки Большая Быстрая	700	25.06.2007	Свежая кладка из 5 яиц	91 × 90	112	40 × 40	90
5	Долина реки Большой Мамай	450	17.06.2008	Кладка из 2 яиц	92 × 89	95	40 × 40	83
6	Долина реки Талая	470	29.06.2009	Свежая кладка из 5 яиц	95 × 90	100	42 × 41	80
7	Долина реки Талая	450	29.06.2009	Насиженная кладка из 4 яиц	92 × 92	110	41 × 40	85
8	Долина реки Талая	450	29.06.2009	Насиженная кладка из 4 яиц	91 × 88	103	40 × 40	84
9	Долина реки Талая	460	29.06.2009	Насиженная кладка из 5 яиц	92 × 88	105	41 × 41	90
Средние значения размерных характеристик:					92.1 × 89.4	104.9	40.8 × 40.2	86.1

Кладка малой пестрогрудки состоит из 4–5 широко-овальных слегка суженных с одного конца белых яиц с мелкими багряно-коричневыми крапинами, сгущающимися к тупому концу и образующими на нем венчик; на некоторых яйцах из разных кладок на тупом конце имелись также сероватые размытые пятна. Ненасиженные яйца имеют розоватый оттенок за счет содержимого; по мере инкубации яйца белеют. Средние размеры яиц представлены в таблице 3.

В период насиживания яиц взрослые пестрогрудки ведут себя чрезвычайно скрытно. Самки покидают кладку только когда рука человека уже касается гнезда и бесшумно «выскальзывают» из него, мгновенно исчезая среди стеблей травы. Участие самца в инкубировании яиц вполне возможно в дневные часы, когда он почти не поет. Насиживание продолжается 13 дней и в первой декаде июля в гнездах малых пестрогрудок появляются птенцы.

Таблица 3.

Размерная характеристика кладок малой пестрогрудки с северного макросклона хребта Хамар-Дабан

№ п/п	Географический пункт находки	Дата находки гнезда	Средние размеры яиц в данной кладке (мм)
1	Долина реки Талая	14.06.2003	17.9 × 13.4
2	Долина реки Большая Осиновка	23.06.2005	17.7 × 13.4
3	Долина реки Утулик	05.07.2006	-
4	Долина реки Большая Быстрая	25.06.2007	17.9 × 13.4
5	Долина реки Большой Мамай	17.06.2008	17.9 × 13.5
6	Долина реки Талая	29.06.2009	18.0 × 13.5
7	Долина реки Талая	29.06.2009	17.7 × 13.4
8	Долина реки Талая	29.06.2009	17.9 × 13.5
9	Долина реки Талая	29.06.2009	18.3 × 13.5

Поведение родителей при регулярных посещениях человеком гнезда с птенцами резко изменяется. Сначала самки активно пытаются отводить человека и бегают у него под ногами с расправленным вертикально вверх крылом. При осмотре гнезда самки клюют руку человека, издавая характерное стрекотание; самцы при этом также

появляются у гнезда, но держатся осторожнее. Через 2–3 посещения птицы успокаиваются и продолжают согревать птенцов даже при осмотре гнезда. На средних и поздних стадиях выкармливания взрослые птицы нередко склёвывают комаров и слепней с одежды сидящего рядом с гнездом наблюдателя и кормят ими птенцов. В дождливые дни самки обогревают птенцов даже 10–12-дневного возраста. Приносы корма 1–3 дневным птенцам отмечаются каждые 4–6 минут; птенцов более старшего возраста кормят 5–6 раз в час. Примерно с недельного возраста птенцов самец также включается в их выкармливание, в связи с чем его песенная активность заметно снижается.

После вылета птенцов из гнезд поведение взрослых птиц вновь меняется: при приближении человека к выводку они активно беспокоятся, стрекочут, постоянно подергивают хвостом и «вспархивают» крыльями. Однако через 3–5 минут родители успокаиваются и начинают собирать корм чуть ли не под ногами наблюдателя. Выводки обычно прячутся в кучах хвороста и родители с кормом уходят вглубь таких куч к молодым птицам. Сбор корма производится у прикорневых частей трав в приземном ярусе.

Анализируя немногие сообщения о гнездовой жизни малой пестрогрудки в литературе (Ильяшенко, 1986), нельзя не обратить внимания на некоторые несоответствия (возможно, опечатки), имеющиеся в тексте. Вряд ли на территории Зейского заповедника днем вылета птенцов малой пестрогрудки из гнезда может быть 21 июня. Скорее всего, речь идет о 21 июля, что вполне укладывается в общий ход фенологии жизненного цикла этого вида. Напротив, когда речь идет об интенсивном пении самца пестрогрудки 28–29 июля, вероятно, следует читать 28–29 июня.

Питание и трофические связи. Прямые наблюдения за кормящимися малыми пестрогрудками показывают, что свою пищу они находят в лесной подстилке и на прикорневых частях растений. Данные анализа желудков 6 взрослых особей, добытых в начале гнездового периода, показывают, что в их рационе доминируют жесткокрылые, в том числе жужелицы мелких и средних размеров, личинки и имаго щелкунов, личинки чернотелок и имаго долгоносиков. Заметную роль в питании малых пестрогрудок играют также муравьи (бурые садовые, рыжие лесные и почвенные формы из подсемейства мирмицин) и личинки комаров-долгоножек. Третью

позицию в рационе занимают полужесткокрылые (клопы-слепняки), равнокрылые хоботные (мелкие цикадки) и паукообразные (сенокосцы и пауки).

Состав проб питания гнездовых птенцов среднего возраста (4–8 дней), полученных с помощью наложения шейных лигатур, несколько отличается от рациона взрослых птиц (табл. 4). В нем ведущее значение имеют нимфы саранчовых (преимущественно, бескрылой кобылки *Primnoa primnoa*), составляющие до $\frac{1}{4}$ суммарного пищевого комка. Существенную роль в питании птенцов малой пестрогрудки играют также паукообразные (особенно, сенокосцы), личинки и имаго жуков – обитателей лесной подстилки (жужелиц, стафилинид, шелкунов), гусеницы бабочек и имаго крупных двукрылых (долгоножек, пестроножек, слепней).

По данным анализа экскрементов (они собирались в гнездах и во временных укрытиях выводков), питание птенцов старшего возраста и слетков приближается к варианту, характерному для взрослых птиц. В их рационе также абсолютно доминируют различные мелкие формы жуков, представляющие не менее пяти семейств (при этом необходимо также учитывать, что именно остатки жесткокрылых лучше всего сохраняются в копроматериалах, собранных от птиц). Значительную роль в питании подрастающих пестрогрудок играют саранчовые, гусеницы бабочек и различные формы муравьев. Обращает на себя внимание небольшое содержание в проанализированных пробах паукообразных; возможно это связано с их почти полным перевариванием в желудках птиц (особенно это касается сенокосцев).

В целом, питание малой пестрогрудки вполне характерно для многих видов пернатых, сходных по размеру и обитающих в нижних ярусах таежных лесов. К специфическим особенностям именно ее рациона можно отнести, пожалуй, значительное количество приносимых птенцам сенокосцев, высокая встречаемость в питании личинок и имаго жуков-шелкунов и комаров-долгоножек.

Скрытный образ жизни спасает малую пестрогрудку от таких традиционных врагов мелких воробьиных, как, например, ястреб-перепелятник. Мы отметили ее лишь среди добычи мохноногого сыча, гнездящегося в долине реки Талой.

Таблица 4.

Питание гнездовых птенцов малых пестрогрудок в условиях северного макросклона хребта Хамар-Дабан
(по данным анализа 62 проб питания)

№ п/п	Наименование компонента	Количество экземпляров		Встречаемость		Объем компонента, (%)
		общее	среднее в 1 пробе	абсолютная	%	
1	Opiliones	6	0.09	6	9.7	12.2
2	Aranei	5	0.08	5	8.1	7.2
3	Acrididae	8	0.1	6	9.7	25.3
3	Miridae	2	0.03	1	1.6	2.3
4	Carabidae (l)	4	0.07	4	6.5	5.6
5	Staphylinidae	3	0.05	3	4.8	2.6
6	Chrysomelidae (l)	3	0.05	3	4.8	4.1
7	Elateridae (l)	6	0.09	6	9.7	5.0
8	Elateridae (i)	1	0.02	1	1.6	0.9
9	Panorpidae	2	0.03	1	1.6	1.2
10	Noctuidae (l)	4	0.07	4	6.5	6.4
11	Geometridae (l)	6	0.09	6	9.7	7.0
12	Tenthredinidae (l)	4	0.07	4	6.5	4.2
13	Tipula	6	0.09	6	9.7	10.6
15	Nephrotoma	2	0.03	1	1.6	3.0
16	Tabanus	1	0.02	1	1.6	2.4
Всего:		62	1.0	-	-	100

Из паразитов, характерных для малой пестрогрудки, следует упомянуть мух, личинки которых поселяются под кожей птенцов и приводят некоторых из них к гибели.

Таким образом, малая пестрогрудка *Bradypterus thoracicus suschkini* является в Байкальском регионе видом весьма стенотопным, связанным в своем гнездовании со вполне определенным описанным выше типом высокоотравья, который мы условно называем «хамар-дабанским». Он, в свою очередь, тесно связан с определенным вариантом атмосферного и почвенного увлажнения, эдафическими факторами, макро- и микро- и нанорельефом горных систем. В соответствии с этим можно уверенно говорить о том, что гнездовой ареал этой птицы на Хамар-Дабане (и в других южносибирских горных хребтах с широтным расположением) имеет вид сложной мозаики, определяемой комплексом условий, создающихся на северных и северо-западных (подветренных) макросклонах, подверженных влиянию господствующего направления переноса воздушных масс с Северного Ледовитого океана. Точно так же в южно-азиатской части ареала распространение соответствующих подвидов малой пестрогрудки связано с макросклоном Гималаев, открытым для муссонов, дующих со стороны Индийского океана (Alström et al., 2008).

Складывающуюся картину размещения вида подтверждает и мнение о том, что и в Южном Приморье на восточном макросклоне Сихотэ-Алиня для него также характерны локальные, пространственно разобщённые поселения (Назаренко и др., 2003). Проведенный анализ основных черт экологии малой пестрогрудки, на наш взгляд, определенно указывает на то, что зоной экологического оптимума этого вида, по крайней мере, в байкало-алтайской части ареала, является северный макросклон Хамар-Дабана в междуречье рек Переемная и Талая, 150-километровой дугой окаймляющий котловину озера Байкал с юго-востока. Кроме того, примечательно, что ареал малой пестрогрудки в горах Южной Сибири в общих чертах совпадает с распространением комплекса растительных неморальных реликтов, сохранившихся ныне в пихтарниках Хамар-Дабана, в «черневых» пихтовых лесах Саян и Алтая, в липовом ценозе Кузнецкого Алатау (Епова, 1956).

Экземпляры коллекции:

1. ♂ ad. 4 июля 1974 г. Среднее течение реки Слюдянка. Старый (1956 года) шелкопрядник. Среднегорье Комарского хребта Хамар-Дабана (Слюдянский р-н Иркутской обл.).
2. ♂ ad. 14 июня 2003 г. Среднее течение реки Талая. Приречный лес с зарослями высокотравья. Среднегорье Комарского хребта Хамар-Дабана (Слюдянский р-н Иркутской обл.).
3. ♂ ad. 23 июня 2005 г. Среднее течение реки Большая Осиновка. Приречный лес с зарослями высокотравья. Среднегорье Осиновских гольцов Хамар-Дабана (Слюдянский р-н Иркутской обл.).
4. ♂ ad. 05 июля 2006 г. Нижнее течение реки Утулик. Приречный лес с зарослями высокотравья. Среднегорье Станового хребта Хамар-Дабана (Слюдянский р-н Иркутской обл.).
5. ♂ ad. 25 июня 2007 г. Среднее течение реки Большая Быстрая. Приречный лес с зарослями высокотравья. Среднегорье Комарского хребта Хамар-Дабана (Слюдянский р-н Иркутской обл.).
6. ♂ ad. 17 июня 2008 г. Среднее течение реки Большой Мамай. Приречный лес с зарослями высокотравья. Среднегорье Мамайских гольцов Хамар-Дабана (Кабанский р-н Республики Бурятия).

Литература

- Бисеров М.Ф., Медведева Е.А., 2002. Малая пестрогрудка *Bradypterus thoracicus* в районе Буреинского хребта // Рус. орнитол. журн. Экспресс-вып. № 179. С. 219–222.
- Васильченко А.А., 2004. Птицы Кемеровской области. Кемерово: Кузбассвузиздат. 488 с.
- Вержущий Б.Н., 1975. Беспозвоночные в геосистемах // Природные режимы и топогеосистемы Приангарской тайги. Новосибирск: Наука. С. 210–245.
- Дурнев Ю.А., Липин С.И., Сирохин И.Н., Сонин В.Д., 1982. Опыт изучения питания птиц методом анализа экскрементов // Науч. докл. высшей школы. Биол. науки. № 9. С.103–107.

- Епова Н.А., 1956. Реликты широколиственных лесов в пихтовой тайге Хамар-Дабана // Известия Биол.-геогр. НИИ при Иркутском гос. ун-те. Т. XVI, вып. 1–4. Л.: Изд-во ЛГУ. С. 25–61.
- Ильяшенко В.Ю., 1986. О птицах бассейна Верхней Зеи // Распространение и биология птиц Алтая и Дальнего востока. Тр. ЗИН АН СССР. Л. Т. 150. С. 77–81.
- Красная книга Красноярского края, 1995. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных. Красноярск: Красноярск. кн. изд-во. 410 с.
- Красная книга Республики Бурятия, 2005. Редкие и исчезающие виды животных. Улан-Удэ: Информполис. 328 с.
- Лоскот В.М., 1986. Материалы по птицам окрестностей Ташанты (Юго-Восточный Алтай) // Распространение и биология птиц Алтая и Дальнего Востока. Тр. ЗИН АН СССР. Т. 150. С. 44–56.
- Мальчевский А.С., Кадочников Н.П., 1953. Методика прижизненного изучения питания гнездовых птенцов насекомоядных птиц // Зоол. журн. Т. 32. № 2. С. 277–282.
- Михайлов К.А., Коблик Е.А., Шибнев Ю.Б., 1997. Редкие и локально распространённые виды птиц России в бассейне верхнего Бикина (север Приморского края) // Рус. орнитол. журн. Экспресс-вып. № 7. С. 3–7.
- Назаренко А.А., 1990. К орнитофауне северо-восточного Приморья // Экология и распространение птиц юга Дальнего Востока. Владивосток: ДВО РАН. С. 106–114.
- Назаренко А.А., Сурмач С.Г., Морозова Е.Ф., 2003. Новые гнездовые находки малой пестрогрудки *Tribura (thoracica) davidi* в Уссурийском Крае // Рус. орнитол. журн. Экспресс-вып. № 242. С. 1241–1245.
- Наумов Р.Л., 1964. Метод абсолютного учета птиц в гнездовой период на маршрутах // Зоол. журн. Т. 54. № 1. С. 81–94.
- Рогачева Э.В., 1988. Птицы Средней Сибири. М.: Наука. С. 152–153.
- Рябицев В.К., Бойко Г.В., Москвитин С.С., Васильченко А.А., Гагина Т.Н., Гашев С.Н., Захаров В.Д., Ирисова Н.Л., Коровин В.А., Митрофанов О.Б., Петров В.Ю., Соловьев С.А., Стрельников Е.Г., Тарасов В.В., Цыбулин С.М., Якименко В.В., 2001. Фауна птиц регионов Западной Сибири // Инвентаризация, мониторинг и охрана ключевых орнитологических территорий России. М.: Союз охраны птиц России. С. 140–168.
- Смирнов А.В., 1967. В джунглях Хамар-Дабана. Иркутск: Вост.-Сиб. кн. изд-во. 96 с.
- Сушкин П.П., 1938. Птицы Советского Алтая и прилежащих частей северо-западной Монголии. Т. 2. М.–Л.: Изд-во АН СССР. 436 с.

- Тиунов И.М., 2002. К орнитофауне Ботчинского заповедника (восточные склоны центрального Сихотэ-Алиня) // Рус. орнитол. журн. Экспресс-вып. № 176. С. 146–150.
- Alström P, Rasmussen P.C., Olsson U., Sundberg P., 2008. Species delimitation based on multiple criteria: the Spotted Bush-warbler *Bradypterus thoracicus* complex (Aves, Megaluridae) // Zool. Journ. of the Linnean Society. № 154. P. 291–307.
- Hume A.O., 1889. The nests and eggs of Indian birds. Vol. 1. London: R. H. Porter. 407 p.
- Round P.D., Loskot V.M., 1994. A reappraisal of the taxonomy of the Spotted Bush-warbler *Bradypterus thoracicus* // Forktail. № 10. P. 159–172.

Yu.A. Durnev

Spotted Bush-warbler (*Bradypterus thoracicus*, Sylviidae, Passeriformes) on the northern border of the distribution area: the species distribution and ecology according to the data from Baikal–Sayan region

SUMMARY

The present article is an analysis of materials related to the biology of the Spotted Bush-warbler which remains today one of the least studied birds of Russia. The data received for the 35-year-old period is generalized. Data about the biotope, phenology of life cycles, number, reproduction biology, food and trophic communications of this species are resulted. It is concluded that Spotted Bush-warbler is a stenotopic bird connected in the life with thickets of high grasses. Its nesting area represents a complex mosaic defined by a summation of conditions created on the leeward macroslopes due to influence of the dominating direction of movement of air masses from oceans.

К ВОПРОСУ О ГЕМОЦИТАХ ЛИЧИНОК СТАРШЕГО ВОЗРАСТА *CHIRONOMUS PLUMOSUS*

Исследованию гемолимфы двукрылых насекомых посвящено большое количество работ, особенно в зарубежной литературе, хотя число изученных видов невелико (Горбунов, 2004). Это может быть связано с тем, что многие объекты исследования имеют очень малые размеры, и, как следствие, малое количество гемолимфы, а также с тем, клетки, циркулирующие в гемолимфе двукрылых, малочисленны (Hillyer, 2009).

В литературе зарубежных исследователей имеются данные о составе гемоцитов падальных мух *Callifora erythrocephala*. Первоначально в гемолимфе этого вида на разных стадиях онтогенеза выделено было 5 типов клеток: пролейкоциты, гранулоциты, плазматоциты, сферулоциты и фагоцитирующие амебоциты (Akesson, 1953). Однако, позднее у личинок и имаго падальных мух было обнаружено только три типа гемоцитов: плазматоциты, эноцитоиды и тромбоцитоиды. Самым многочисленным типом гемолимфы являются плазмциты, которые представлены двумя группами клеток: агранулярными и гранулярными, последние имеют четыре морфологические формы. Тромбоцитоиды выделены как специализированные на образование плазматических телец, представляющих участки цитоплазмы, окруженные мембраной. Эти клетки гемолимфы обладают способностью к аглютинации и осуществляют функции тромбоза при нарушении целостности покровов насекомого, данный процесс аналогичен процессу образования тромбоцитов из мегакариоцитов млекопитающих (Crosley, 1964; Zachari, Hoffmann, 1973). Имеются данные о наличии сферулярных клеток у имаго падальных мух (Price, Ratcliffe, 1974). У серой мясной мухи *Sarcophaga buliata* на разных стадиях онтогенеза выявлены гранулярные клетки, плазматоциты и сферулярные клетки (Jones, 1956, 1967).

У каллифорид другими авторами выделены шесть типов гемоцитов: пролейкоциты, макронуклеоциты, микронуклеоциты, трофические клетки, фагоциты и эноцитоиды. Сходные типы гемоцитов описаны и у комнатной мухи. Отмечено, что у имаго

трофические клетки отсутствуют. Клеточный состав гемолимфы зависит от возраста мух. Наиболее полный набор гемоцитов у комнатной мухи характерен для гемолимфы личинок третьего возраста, у синей падальной мухи – для гемолимфы предкуколок и имаго (Викторов-Набоков и др., 1977).

Из других работ по исследованию гемолимфы двукрылых насекомых следует выделить изучение с помощью фазово-контрастного микроскопа личинок мух *Psilopa petrolei*, у которой были обнаружены прогемоциты, эноцитоиды, гемоциты с гранулами и коагулоподобные клетки (Coffinet, Gregoire, 1975). С процессами коагуляции гемолимфы могут быть связаны гранулоциты, обнаруженные личинок комара долгоножки *Tipula paludosa*, кроме этих клеток описаны также прогемоциты, амeboидные и веретенновидные плазматоциты, эноцитоиды и гранулоциты (Carter, Green, 1987).

Исследования гемолимфы с помощью просвечивающего электронного микроскопа личинок мух детритниц *Trichostia pubescens* позволили выявить гемоциты четырех типов: прогемоциты, полиморфные плазматоциты, эноциты и вакуолизированные клетки, которые характеризуются наличием больших вакуолей и каналов, образованных втягиванием цитоплазмы (Barracco, Cestari, 1987).

В гемолимфе личинок лиственничной мухи *Chortophila laricicola* обнаружены пролейкоциты, макронуклеоциты, микронуклеоциты, зернистые лейкоциты, фагоциты, сфероциты, эозинофилы, эноциты и эноцитоиды. Наиболее многочисленны зернистые лейкоциты и пролейкоциты, а активными фагоцитами являются макронуклеоциты и фагоциты (Тюльпанова, Тюльпанов, 1968).

У комнатной мухи *Musca domestica vicina* обнаружено 4 типа гемоцитов: прогемоциты, плазматоциты, гранулоциты и эноцитоиды, типичные сферулоциты отсутствуют (Jiang et al., 1998).

С помощью светового и электронного микроскопа у 2-3-дневных самок *Anopheles albimanus* (Diptera; Culicidae) обнаружены 3 типа гемоцитов: прогемоциты, плазматоциты и гранулированные клетки. Данные морфологического и цитохимического анализа свидетельствуют, что плазматоциты проявляют фагоцитную активность и подвижность, а гранулированные клетки показали феноксидазную и лизосомальную активность, вероятно, эти клетки играют важную роль

в защитных ответах насекомых при внедрении в них инородных организмов (Hernandez et al., 1999).

Наибольшее число клеточных элементов было определено в гемолимфе мошек: пролейкоциты, макронуклециты, микронуклециты, веретенovidные гемоциты, зернистые гемоциты, адипогемоциты и энцитойды (Рубцов, 1959).

При исследовании гемоцитов личинок *Anastrepha obliqua* (Diptera, Tephritidae) третьего возраста при помощи световой и сканирующей электронной микроскопии Сильва с соавторами (Silva et al., 2001) выделили следующие типы клеток: прогемоциты, плазматоциты, гранулоциты, адипогемоциты, сферулоциты и энцитойды, причем прогемоциты были указаны как стволовые клетки. Описание типов клеток соответствует данным, приведенным в литературе по гемоцитам насекомых.

Хильер и Кристенсен (Hillyer, Christensen, 2002) исследовали гемоциты взрослых самок желтолихорадочного комара *Aedes aegypti*. В результате исследований при помощи методов световой и трансмиссионной электронной микроскопии они выделили следующие клеточные типы: гранулоциты, энцитойды, адипогемоциты и тромбоцитойды. Исследователи полагают, что гранулоциты и энцитойды являются циркулирующими клетками, в то время как адипогемоциты и тромбоцитойды, скорее всего, прикреплены к определенным тканям. Авторы сообщают, что другие исследователи описывали клетки, похожие на адипогемоциты, под другими названиями (сферулоциты) (Каауа, Ratcliffe, 1982), однако объясняют, что выбор названия обусловлен функциями, выполняемыми данными клетками: запасание энергии в форме липидов и гликогена.

Кастилло с соавторами (Castillo et al., 2009) провели сравнительный анализ гемоцитов двух видов mosкитов – *Aedes aegypti* и *Anopheles gambiae*, причем объектами исследования были не только взрослые особи (самцы и самки), но и личинки и куколки. В результате авторы, взяв за основу классификацию, использованную Хильером и Кристенсеном (Hillyer, Christensen, 2002), выделили три типа клеток, характерных для указанных видов двукрылых: гранулоциты, энцитойды и прогемоциты.

Брейнер с соавторами (Brauner et al., 2005) исследовали гемоцитарный состав и ультраструктурные особенности клеток гемолимфы представителя другого рода двукрылых – *Culex*

quinquefasciatus. Авторами были использованы методы световой и трансмиссионной электронной микроскопии. В результате исследования они выделили определили 6 типов гемоцитов, встречающихся у данного вида – прогемоциты, сферулоциты, адипогемоциты, энцитойды, плазматоциты и гранулоциты. Описание прогемоцитов и других клеточных типов совпадает с описанием, приведенным в других литературных источниках.

В недавнем исследовании, проведенном рядом авторов (Wang et al., 2011) на личинках, куколках и имаго *Culex pipiens quinquefasciatus* (*C. quinquefasciatus*), были выявлены следующие типы гемоцитов – прогемоциты, энцитойды, плазматоциты и гранулоциты. Авторы ссылаются на работы Хильера и Кристенсена (Hillyer, Christensen, 2002) и других исследователей и указывают на то, что их описание прогемоцитов и энцитойдов фактически совпадает с описаниями этих типов клеток у других авторов, однако в остальном данные по типам клеток расходятся. В гемолимфе *C. quinquefasciatus* не были обнаружены сферулоциты, описанные в работах других исследователей, а адипогемоциты встречались единично и только у куколок, поэтому в общую классификацию они занесены не были.

Таким образом, анализ литературных источников, свидетельствует, что работ посвященных изучению клеточного состава гемолимфы представителей рода *Chironomus* и вида *Chironomus plumosus* L. в частности, ранее не проводилось.

Chironomus plumosus L. относится к семейству хирономид (Chironomidae) подотряда длинноусых (комаров) отряда Двукрылых (Diptera). Представители этого семейства – гетеротопы, большая часть их жизни протекает в стадии личинки, и лишь несколько дней – в воздушной среде в стадии имаго. Несмотря на краткость своего существования, имаго имеют решающее значение для сохранения вида, так как на них лежат функции размножения и расселения.

Представители этого семейства благодаря своеобразному циклу развития, ряду физиологических и биохимических особенностей очень быстро заселяют новые водоемы и встречаются практически повсеместно. В некоторых местах личинки хирономид могут составлять до 70% биомассы макрозообентоса. На их долю приходится 25% видов всех известных в Европе пресноводных насекомых (Израэль, Цыбань, 1988).

Личинки хирономид являются важным кормовым объектом

для рыбного хозяйства и чувствительными биоиндикаторами в водоемах (Балушкина, Петрова, 1989; Johnson, 1995). Рыболовы широко используют хирономид в качестве наживок. Мотыль (обшеупотребительное название личинок, обусловленное способом их движения, произошло от глагола «мотыляться») является не только привлекательным, но и ценным кормом для рыб (в том числе аквариумных), поскольку содержит большое количество белков, углеводов, минеральных веществ и витаминов. В пересчете на сухое вещество, тело личинки мотыля содержит 49-70% белка, 3-16% липидов, 8-30% углеводов.

Также важна роль личинок хирономид в процессах самоочищения водоемов и миграции минеральных веществ. Хирономиды широко используются в исследованиях по биоиндикации; имея продолжительную водную стадию, они отвечают всем требованиям, предъявляемым к индикаторным организмам (Шилова, 1976; Зинченко, 2004).

Оценка продуктивности водоёмов и определение их пригодности для интродукции тех или иных видов или пород рыб, составление прогнозов биологической динамики искусственных водоёмов невозможны без знания систематического состава и особенностей экологии и биологии хирономид (Линевич, 1981).

Важным параметром, позволяющим оценить физиологическое состояние насекомого, является состояние гемолимфы. Именно клетки гемолимфы, их морфология, состав изменяются под действием факторов внешней среды и являются надежным показателем внутреннего состояния организма насекомого.

Клеточный состав гемолимфы личинок хирономид ранее не исследовался, что и определило выбор темы данного исследования.

Для работы использовали личинок старшего (IV) возраста *Chironomus plumosus*, собранных в водоемах Ленинградской области. Четвертый возраст играет особую роль в онтогенезе личинок. Продолжительность этого возраста составляет больше половины всего жизненного цикла хирономид. В этом возрасте происходят важные морфофункциональные преобразования: формируются некоторые куколочные и имагинальные органы, созревают половые продукты у самцов и протекают ранние фазы оогенеза у самок, накапливаются энергетические ресурсы, обеспечивающие метаморфоз, созревание яиц и существование непитающихся имаго.



Рис. 1. Личинка старшего возраста Chironomus plumosus L.

Личинок содержали в аквариумах с температурой воды 17-18°C; воду и ил брали из водоемов парков Санкт-Петербурга и Ленинградской области.

Гемолимфу личинок старшего возраста хирономид получали одним из следующих способов: прокалывая покровы в области третьего грудного сегмента сразу за слюнными железами со спинной стороны или покровы задних подталкивателей стерильной иммунологической иглой; отрезая задние подталкиватели скальпелем.

На предметное стекло, предварительно выдержанное в спирт-эфире (для обезжиривания), тонким слоем наносили капли гемолимфы, не размазывая их (в противном случае происходит повреждение гемоцитов). Для фиксации мазков использовали абсолютный метиловый спирт или смесь Карнуа. Фиксированные мазки окрашивали азур-эозином по Гимза (стандартный метод), а также гематоксиллином по Эрлиху.

Помимо световой микроскопии для исследования клеточного состава гемолимфы личинок хирономид использовали фазово-контрастную микроскопию. Капли гемолимфы помещали на предметные стекла (микроаквариум) и просматривали в режимах темной и светлой фазы на микроскопе Nikon Eclipse E200, пластина E2-S Nikon.

Гемоциты измеряли с помощью линейки окуляр-микрометра на мазках, фиксированных метиловым спиртом и окрашенных по Гимза и по Эрлиху, на микроскопе Zeiss Axio Scope.A1; фотографии делали при помощи камеры AxioCam ICm1 на окуляре EC Plan-NEOFLUAR

100x/1,3 Oil 420490-9900.

Гемоцитарные формулы получали путем подсчитывания количественного соотношения гемоцитов разных групп на 100 клеток. Цифровой материал обрабатывали методами вариационной статистики.

В результате проведенного исследования в гемолимфе личинок старшего возраста *Chironomus plumosus* были выделены следующие типы клеток: прогемоциты, фагоциты (веретенновидные и амeboидные), сферулоциты и энцитойды (рис. 2).

Прогемоциты представляют собой наиболее мелкие клетки гемолимфы, округлой или овальной формы, иногда с неровной поверхностью (рис. 2-1). Характерной особенностью данного типа клеток является крупное ядро, округлое или овальное, занимающее большую часть клетки. Чаще всего ядро занимает центральное положение, однако в некоторых случаях наблюдается его смещение к периферии. Азур-эозином оно окрашивается в темный красно-фиолетовый цвет. Хроматин ядра сконденсирован в мелкие глыбки, которые расположены в периферической части ядра. Цитоплазма плотная, окрашивается в сине-фиолетовый цвет. Вследствие интенсивности окраски цитоплазмы, ядро иногда слабо различимо.

Размеры прогемоцитов варьируют от 2,6 до 8,2 мкм (табл. 2), размеры ядра – от 1 до 5,2 мкм (табл. 3).

Прогемоциты способны к митотическому делению. Число прогемоцитов, находящихся на разных фазах митоза, составляет у личинок старшего возраста 1-2%.

Прогемоциты – это малодифференцированные, пролиферирующие полипотентные клетки, дающие в результате дифференциации специализированные по функциональной активности гемоциты. В гемолимфе личинок хирономид обнаружены переходные формы от прогемоцитов к другим типам клеток (фагоциты, энцитойды) (рис. 3).

Процентное содержание прогемоцитов у личинок старшего возраста относительно невелико и составляет 11,2% от общего числа клеток гемолимфы (рис. 4).

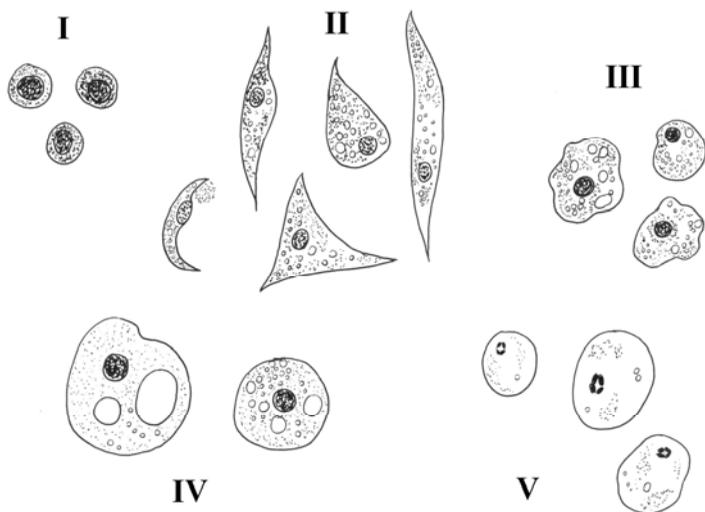


Рис. 2. Клеточный состав гемолимфы личинки IV возраста *Chironomus plumosus*

Фагоциты личинок хирономид старшего возраста разнообразны по форме и размерам. Они составляют самую многочисленную группу специализированных клеток гемолимфы, процентное соотношение их достигает 66,3% от общего числа клеток. Морфологически можно выделить две группы фагоцитов – амебоидные и веретеновидные.

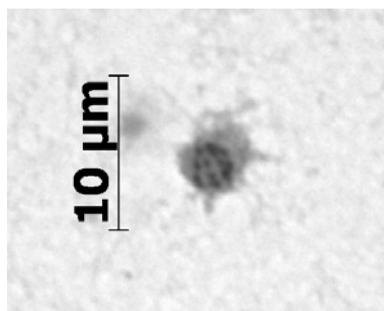


Рис. 3. Переходная форма от прогемоцита к фагоциту

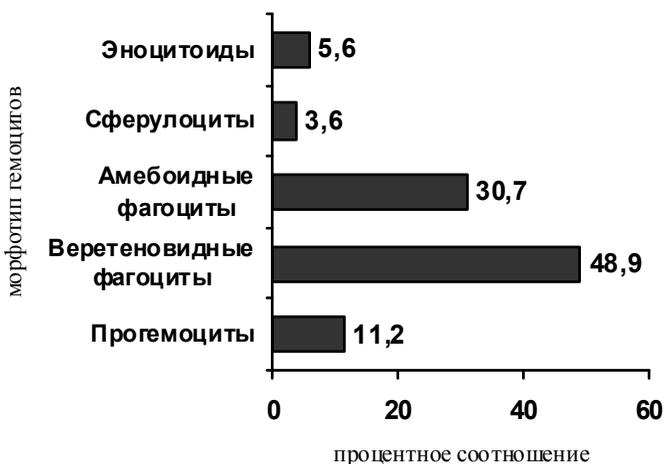


Рис. 4. Гемограмма личинки *Chironomus plumosus* L.

Веретеновидные фагоциты – наиболее часто встречающиеся клетки гемолимфы личинок *Ch. plumosus* старшего возраста. Это достаточно крупные клетки характерной веретеновидной формы, которая, однако, может варьировать от почти треугольной до червеобразной в зависимости от степени зрелости клеток (рис. 5, 2-II). Молодые фагоциты могут быть почти овальными, с крупным овальным ядром, по мере созревания приобретая веретеновидную форму с довольно длинными цитоплазматическими отростками; ядро при этом может смещаться из центра клетки. Форма и длина отростков может быть различной. Размеры клеток варьируют от 6,2 до 24 мкм (табл. 2), а размеры ядер – от 1 до 5 мкм (табл. 3).

Цитоплазма окрашивается азур-эозином в сине-фиолетовый цвет, ядро – в более темный оттенок, причем становится видна его зернистая структура. В цитоплазме встречаются мелкие вакуоли, иногда их настолько много, что цитоплазма кажется сетчатой; также часто встречаются гранулы.

Структура цитоплазмы и ядра, наличие вакуолей и гранул, а также многообразие форм свидетельствует о том, что веретеновидные фагоциты представляют собой высокоспециализированные клетки, основными функциями которых являются фагоцитоз и пиноцитоз.

В гемолимфе личинок хирономид встречаются формы,

переходные от прогеммоцитов к фагоцитам (рис. 6).

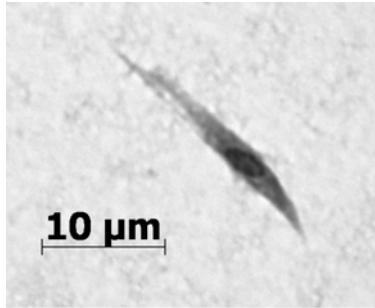


Рис. 5. Веретеновидный фагоцит личинки *Chironomus plumosus* L.

Процентное содержание веретеновидных фагоцитов составляет 48,9%, т.е. почти половину всех клеток, встречающихся в гемолимфе личинок старшего возраста (рис. 4).

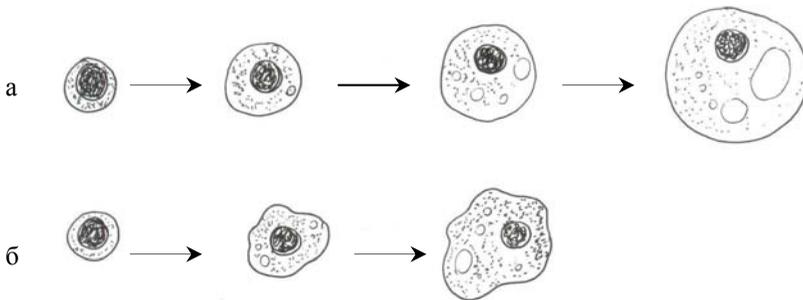


Рис. 6. Дифференциация прогеммоцитов личинки *Chironomus plumosus* L.
(а – в сферулоциты; б – в фагоциты)

Амебоидные фагоциты представлены довольно крупными клетками, получившими свое название из-за способности образовывать множество цитоплазматических выростов и вследствие этого приобретать разнообразную форму (рис. 2-III, 7). Ядро плотное, овальной формы, может располагаться в разных частях клетки, азур-эозином окрашивается в фиолетовый цвет. Цитоплазма мелкозернистая, при окраске по Гимза становится светло-фиолетовой или фиолетово-голубой.

Для амeboидных фагоцитов характерно наличие довольно хорошо развитой системы вакуолей. Обычно они располагаются группами в периферической части клетки, но бывают сосредоточены и возле ядра. Также в цитоплазме содержится большое количество гранул.

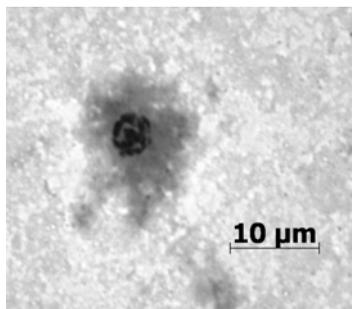


Рис. 7. Амeboидный фагоцит личинки *Chironomus plumosus* L.

Амeboидные фагоциты, как можно судить по их морфологии и включениям цитоплазмы, несут защитную функцию в равной степени с веретеновидными фагоцитами. Они способны к активному движению и захвату инородных частиц, а также участвуют в выводе накопленных продуктов обмена веществ из организма насекомого.

Размеры клеток составляют от 3,2 до 20,6 мкм (табл. 2), размеры ядер – от 1,2 до 8,2 мкм (табл. 3). Процентное соотношение амeboидных фагоцитов в гемолимфе личинок хирономид составляет 30,7% (рис. 4).

Сферулоциты представляют собой крупные (10,2-22,6 мкм) клетки округлой формы, часто с небольшими выпячиваниями цитоплазмы (рис. 2-IV, 8). При окраске по Гимза цитоплазма окрашивается в светло-синий цвет, ядро – в более темный сине-фиолетовый оттенок. Ядро небольшое, плотное, его границы четкие; у молодых клеток ядро располагается в центре клетки, у зрелых смещается к периферии.

Характерной особенностью данного типа клеток является наличие в цитоплазме вакуолей. У молодых клеток вакуоли мелкие и многочисленные, по мере развития клеток размеры вакуолей увеличиваются.

Таблица 2.

Размеры клеток гемоцитов (мкм) личинок старшего возраста *Chironomus plumosus*

	длина			ширина		
	lim (мкм)	M±m (мкм)	Cv (%)	lim (мкм)	M±m (мкм)	Cv (%)
Прогемоциты	2,6-8,0	4,76±0,16	0,33	2,4-8,2	4,15±0,17	0,38
Веретенovidные фагоциты	6,2-24,0	12,54±0,19	0,30	2,0-6,6	3,40±0,06	0,37
Амебоидные фагоциты	4,0-20,6	8,80±0,32	0,43	3,2-12,6	6,53±0,25	0,45
Сферулоциты	10,2-22,6	16,31±0,80	0,26	6,4-16,4	11,43±0,69	0,32
Эноцитойды	6,0-22,2	15,37±0,93	0,40	4,2-18,2	12,00±0,78	0,43

Таблица 3.

Размеры ядер гемоцитов (мкм) личинок старшего возраста *Chironomus plumosus*

	длина			ширина		
	lim (мкм)	M±m (мкм)	Cv (%)	lim (мкм)	M±m (мкм)	Cv (%)
Прогемоциты	1,2-5,2	2,49±0,12	0,44	1-4,6	2,35±0,12	0,47
Веретенovidные фагоциты	1,2-5,0	2,74±0,05	0,36	1,0-4,4	1,91±0,03	0,34
Амебоидные фагоциты	1,2-8,2	2,80±0,13	0,55	1,0-6,2	2,51±0,13	0,58
Сферулоциты	2,0-6,2	3,71±0,27	0,38	2,2-6,4	3,89±0,26	0,35
Эноцитойды	1,8-3,2	2,46±0,06	0,17	1,6-4,2	2,6±0,15	0,37

Часто в цитоплазме присутствуют две-три крупных вакуоли и несколько мелких. Вакуоли всегда округлые с четко выраженными контурами.

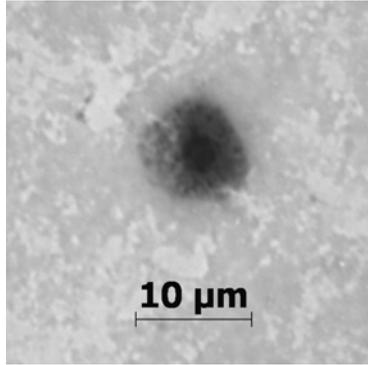


Рис. 8. Сферулоцит личинки *Chironomus plumosus* L.

Стареющие сферулоциты окрашиваются слабо, теряют четкость очертаний, сильно вакуолизируются; ядро может выталкиваться из клетки.

Сферулоциты являются высокоспециализированными клетками гемолимфы. Наличие сферических вакуолей, содержимое которых выводится в гемолимфу, позволяет предположить, что по функциональным особенностям они представляют собой секреторные клетки.

Сферулоциты – наиболее редко встречающиеся клетки гемолимфы личинок старшего возраста, их процентное соотношение составляет 3,6% (рис. 4).

Эноцитойды – клетки округлой или овальной формы с эксцентрично расположенным ядром. По своей структуре ядро эноцитойдов хромосомного типа и состоит из 4-6 хроматиновых глыбок, сходных с хромосомами (рис. 2-V, 9). Оболочка ядра чаще всего не видна.

Цитоплазма данного типа клеток достаточно равномерная, окрашивается азур-эозином в фиолетовый оттенок, ядро – в темно-фиолетовый цвет. В цитоплазме встречаются гранулы, иногда – вакуоли.

Размеры клеток – от 6 до 22,2 мкм (табл. 2), размеры ядер – от 1,6 до 4,2 мкм (табл. 3).

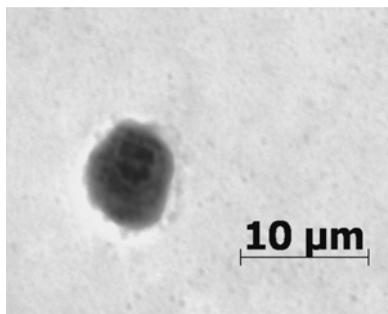


Рис. 9. Эноцитоид личинки *Chironomus plumosus* L.

Эноцитоиды не способны к делению и фагоцитозу. Особенности их морфологии, наличие вакуолей, содержимое которых выводится в плазму гемолимфы, говорит об их секреторной функции.

Данный тип клеток встречается в гемолимфе личинок старшего возраста достаточно редко; процентное соотношение эноцитоидов составляет 5,6% (рис. 4).

Таким образом, в результате проведенного исследования установлен клеточный состав личинок старшего возраста *Chironomus plumosus* L. Из пролиферирующих клеток гемолимфы обнаружены **прогемоциты**, из специализированных – **фагоциты**, **сферулоциты** и **эноцитоиды**.

Полученные данные согласуются с данными литературы по клеточному составу личинок разных отрядов, и в том числе Двукрылых. Например, гемоцитарный состав личинок *Chironomus plumosus* сходен с клеточным составом гемолимфы личинок комара долгоножки *Tipula paludosa*, у которых описаны прогемоциты, амeboидные и веретенновидные плазматоциты, эноцитоиды (Carter, Green, 1987). Определенное сходство можно отметить и с клеточным составом гемолимфы личинок *Anastrepha obliqua* (Diptera, Tephritidae), общие для обоих видов морфотипы клеток – прогемоциты, сферулоциты и эноцитоиды, прогемоциты так же, как и во многих литературных источниках, описаны как стволовые клетки (Silva et al.,

2002). Прогемоциты и энотоиды были также обнаружены у личинок *Aedes aegypti* и *Anopheles gambiae* (Castillo et al., 2009), их описание схоже с приведенным в данной работе. В недавнем исследовании гемоцитарного состава *Culex pipiens quinquefasciatus*, проведенном рядом авторов (Wang et al., 2011), для личинок также были описаны прогемоциты и энотоиды, что позволяет предположить, что данные типы клеток характерны для личинок многих представителей отряда Двукрылые.

Следует отметить, что многие зарубежные авторы описывают так называемые гранулоциты. В классификации Запольских О.В. (1993), которая использована в настоящей работе, описание данного типа гемоцитов (клетки разнообразной формы, с цитоплазматическими выростами, в цитоплазме множество гранул) соответствует фагоцитам.

Интересно было сравнить данные, полученные в настоящем исследовании, с данными, приведенными по личинкам старшего возраста у других насекомых. У ряда представителей жуков семейства чернотелок, исследования гемоцитарного состава которых были проведены Сагды (1991), описаны сходные морфотипы клеток, встречающиеся в гемолимфе личинок старшего возраста. Также есть сходство в гемограмме личинок старшего возраста некоторых видов чернотелок (например, *Tenebrio molitor* L.) и личинок *Chironomus plumosus* – преобладающим типом клеток являются фагоциты, сферулоциты и энотоиды немногочисленны и встречаются редко, число прогемоцитов также невелико. Различия заключаются в размерах клеток (у личинок *Chironomus plumosus* они более мелкие), а также в том, что для чернотелок описано большее количество морфотипов гемоцитов. К тому же, характерной особенностью гемолимфы Двукрылых является достаточно малое число циркулирующих гемоцитов (Hillyer, 2009).

Как видно из гемограммы на рисунке 4, в гемолимфе личинок старшего возраста *Chironomus plumosus* специализированные клетки составляют 88,8% от всех встречающихся в гемолимфе клеток. Преобладающим типом клеток являются фагоциты, что, вероятно, связано с подготовкой личинки к переходу стадии куколки, когда начинается разрушение тканей личинки, а также подъем защитных сил организма насекомого. О большой активности данного типа клеток говорит наличие у многих клеток многочисленных и длинных

цитоплазматических выростов, а также большое число вакуолей в их цитоплазме. Небольшое количество эноцитойдов и сферулоцитов говорит о том, что их секреторные функции на данном этапе развития насекомого не играют большой роли. Относительно малое число пролиферирующих клеток характерно для многих насекомых на стадии личинки старшего возраста (Сагды, 1991), а наличие переходных форм от прогемотитов к фагоцитам и сферулоцитам свидетельствует о том, что осуществляется пополнение состава гемотитов новыми специализированными клетками.

Данные по ультраструктуре гемотитов можно использовать как доказательство физиологических процессов или функциональной активности разных типов клеток гемолимфы. Например, изучение ультраструктуры фагоцитов у чернотелок показало, что в их цитоплазме сильно развита гранулярная и гладкая эндоплазматическая сеть, аппарат Гольджи, лизосомный аппарат (Сагды, 1991). Вторичные лизосомы (пищеварительные вакуоли) содержат фрагменты погибших клеток. Иногда встречаются фагоцитированные и находящиеся в цитоплазме амебоидных фагоцитов паразитические организмы, что указывает на защитную функцию в организме насекомых (Price, Ratcliffe, 1974; Сагды и др., 1995).

Несмотря на некоторую специфику клеточного состава личинок старшего возраста *Chironomus plumosus*, морфотипы гемотитов были выделены без особых затруднений. Описание выделенных типов клеток соответствует данным, приведенным в литературных источниках (Горбунов, 2005). В гемолимфе личинок присутствует достаточно большое количество переходных форм от пролиферирующих клеток к специализированным (рис. 6).

В данной работе были исследованы только свободные клеточные элементы, однако следует помнить, что для гемолимфы насекомых характерно наличие и седентарных гемотитов, что могло бы отчасти объяснить малое количество циркулирующих клеток как у хирономид, так и у двукрылых в целом (Hillyer, 2009).

Гемолимфа насекомых изучается давно. Многие авторы в разное время проводили исследования ее клеточного состава, в результате которых предлагались многочисленные классификации, основанные на самых разных признаках клеток: их форме, структуре ядра и цитоплазмы, происхождении и др. Обилие названий клеточных элементов насекомых и противоречивых описаний в литературе

затрудняет работу по изучению гемолимфы.

Последние предложенные классификации были основаны на данных, полученных при помощи электронной микроскопии, что позволило более полно и точно описать основные типы клеток. В данной работе была использована классификация, предложенная О.В. Запольских (1993). Она представляется нам наиболее полной, так как учитывает не только морфологические особенности клеток, но и их функциональную активность, а также гистогенетические связи разных морфотипов гемоцитов.

Гемолимфа является индикатором внутреннего состояния насекомого. Клетки гемолимфы, их морфология и состав изменяются под воздействием факторов внешней среды. Гемограмма крайне чувствительна к разнообразным физиологическим изменениям в организме насекомого. Она может использоваться в качестве теста «упитанности» личинок или для ранней диагностики заболеваний, зараженности паразитами и отравления загрязняющими веществами в водоемах.

Полученные нами данные могут быть использованы для определения физиологического состояния личинок *Chironomus plumosus*, что может иметь огромное значение при биоиндикационных исследованиях.

Представленные результаты исследования гемолимфы характеризуют нормальное состояние гемолимфы одной из стадии индивидуального развития хирономид. В работе не исследовались патологические изменения гемолимфы хирономид, что, несомненно, представляет большой интерес и может явиться темой дальнейшего исследования.

Литература

- Викторов-Набоков С.В., Корнеева Л.А., Харченко Л.В., Малеванная З.А. 1977. Сравнительная характеристика клеточного состава гемолимфы комнатной и синей падальной мух // Вестник зоологии. 4. 44–49.
- Горбунов П.С. 2004. Исторический обзор исследования клеточного состава гемолимфы насекомых // Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. Научные труды кафедры зоологии РГПУ им. А.И.Герцена. Выпуск 4. СПб.: Тесса. 134–170.
- Горбунов П.С. 2005. Морфология и функциональная активность клеточных элементов гемолимфы насекомых // Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных. Научные труды кафедры

- зоологии РГПУ им. А.И. Герцена. Выпуск 5. СПб.: Тесса. 114–148.
- Запольских О.В. 1993. Морфо-физиологические принципы классификации клеток гемолимфы насекомых. Бирск: БирГПИ. 53. (Рукопись деп. в ВИНТИ № 2724-В93).
- Зинченко Т.Д. 2004. Биоиндикация природных и техногенных гидросистем Волжского бассейна на примере хирономид (Diptera: Chironomidae) // Автореф. дис... док. биол. наук. Тольятти. 38.
- Израэль Ю.А., Цыбань А.В. 1988. Антропогенная экология океана. Гидрометеиздат. 528.
- Линевиц А.А. 1981. Хирономиды Байкала и Прибайкалья. Новосибирск: Наука. 152.
- Рубцов И.А. 1959. Гемолимфа и ее функции у мошек // Энтотомол. обзор. 28, 1. 32–57.
- Сагды Ч.Т. 1991. Сравнительная и функциональная морфология гемоцитов жуков семейства чернотелки. Кызыл: Тувинское книжное изд-во. 143.
- Сагды Ч.Т., Суханова К.М., Комаров С.А. 1995. Ультраструктура и функциональная активность клеток гемолимфы большого мучного хрущака. // Цитология. СПб, Т. 37, №12. С. 1207-1215.
- Тюльпанова В.А., Тюльпанов В.Г. 1969. К вопросу гематологии гусениц сибирского шелкопряда // Биология и культивирование микроорганизмов. Красноярск. 52–57.
- Шилова А.И. 1976. Хирономиды Рыбинского водохранилища. Л: Наука. 164.
- Akesson B. 1953. Observation on the hemocytes during the metamorphosis of *Calliphora erythrocephala* // Ark. Zool. 6. 203–211.
- Barracco M.A., Cestari A.N. 1987. The ultrastructure of the larval hemocytes of *Trichostia pubescens* (Diptera, Sciaridae) // Rev. Bras. Genet. 10. 435–447.
- Brayner F.A., Araújo H.R.C., Cavalcanti M.G.S., Alves L.C., Peixoto C.A. 2005. Ultrastructural characterization of the hemocytes of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) // Micron. 36. 359–367.
- Carter J. B., Green, E. I. 1987. Hemocytes and granular cell fragments of *Tipula paludosa* larvae // Journal of Morphology. 191, 3: 289–294.
- Castillo J. C., Robertson A. E., Strand M. R. 2006. Characterization of hemocytes from the mosquitoes *Anopheles gambiae* and *Aedes aegypti* // Insect Biochem Mol Biol. 36. 891–903.
- Coffinet G., Gregoire Ch. 1975. Coagulocyte alterations in clotting hemolymph of *Carauseus morosus* L. // Arch. Int. Physiol. Biochem. 83. 702–722.
- Crossley A.C. 1964. An experimental analysis of the origin and physiology of haemocytes in the blue bottleblowfly *Calliphora erythrocephala* (Meig.). // J. Exp. Zool. 157. 375–397.
- Hernandez S., Lanz H., Rodriguez M.H., Torres J.A., Martinez-Palomo A., Tsutsumi V. 1999. Morphological and cytochemical characterization of

- female *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae) hemocytes // J. Med. Entomol. 36, 4. 426–434.
- Hillyer J.F. 2009. Transcription in mosquito hemocytes in response to pathogen exposure // J. Biol. 8. 51.
- Hillyer J.F., Christensen B.M. 2002. Characterization of hemocytes from the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti* // Histochem Cell Biol. 117(5). 431–440.
- Jiang Yong, Lei Zhaoliang, Zong Liang-bing, Zhang Changzhen. 1998. Huanzheng nongye daxue xuebao // J. Huanzhong (Cent. China) Agr. Univ. 17, 2. 126–129.
- Jones J.C. 1956. The hemocytes of *Sarcophaga bulata* Parker // J. Morphol. 99, 2. 233–257.
- Johnson R.K. 1995. The indicator concept in freshwater biomonitoring // Chironomids: From genes to ecosystems/ed P. Cranston. Melbourne: CSIRO. 11–27.
- Jones J.C. 1967. Normal differential count of haemocytes in relation to ecdysis and feeding in *Rhodnius* // J. Insect Physiol. 13. 1133–1141.
- Kaaya G.P., Ratcliffe N.A. 1982. Comparative study of hemocytes and associated cells of some medically important dipterans // Journal of Morphology. 173. 351–365.
- Price C.D., Ratcliffe N.A. 1974. A reappraisal of insect haemocyte classification by the examination of blood from fifteen insect orders // Z. Zellforsch. 147. 537–549.
- Silva J. E. B., Boleli I. C., Simões Z. L. P. 2002. Hemocyte types and total and differential counts in unparasitized and parasitized *Anastrepha obliqua* (Diptera, Tephritidae) larvae // Braz. J. Biol. 62(4a). 689–699.
- Zachary D., Hoffmann J.A. 1973. The haemocytes of *Calliphora erythrocephala* (Meig.) (Diptera) // Z. Zellforsch. 141. 55–73.
- Wang Z., Lu A., Li X., Shao Q., Beerntsen B.T., Liu Ch., Ma Ya., Huang Ya., Zhu H., Ling E. 2011. A systematic study on hemocyte identification and plasma prophenoloxidase from *Culex pipiens quinquefasciatus* at different developmental stages // Experimental parasitology. 127(1). 135–41.

P.S. Gorbunov, K.O. Buinevich

To a question about the hemolymph cells in the larvae of *Chironomus plumosus*

SUMMARY

The cell composition of hemolymph has been studied at the larvae of the *Chironomus plumosus*. The following types of hemocytes were isolated and described: prohemocytes, phagocytes, sphaerulocytes, oenocytoides.

К.К. Каримов

ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ПРОГРАММА ПО ПРИКЛАДНОЙ ЗООЛОГИИ

Прикладная биология – это комплекс частных биологических наук, изучающих актуальные вопросы, имеющие большое практическое значение в таких областях народного хозяйства, как здравоохранение, ветеринария, фармакология, биологическая промышленность, лесное, рыбное и сельское хозяйство и т.д. Поскольку ботаника и зоология являются профильными предметами для выпускников факультетов биологии, изучение их прикладного аспекта представляет собой завершающий этап подготовки компетентного специалиста по биологии.

В учебном плане для изучения прикладной зоологии отведено 22 часа на лекционный курс и столько же на лабораторно-практические занятия. Очевидно, что о преподавании прикладной зоологии в полном объеме, включающем даже самые основные отрасли животноводства, за такое количество времени говорить не приходится. В связи с этим неизбежно возникают задачи, связанные с вопросами сокращения большого объема учебного материала и его адаптации к изучению в редуцированном варианте. При этом очень важно находить оптимальный вариант такой работы, соответствующий специфике подготовки специалистов определенных профессий.

Данная программа рассчитана на студентов, обучаемых по специальностям «Биология» со специализацией «Экологическая психология» и «Биология» со специализацией «Экологический туризм», которые в будущем к производственной деятельности в качестве специалиста отношения иметь не будут. Поэтому содержание данного курса определено, исходя из соображений полезности закрепления у студентов теоретического материала по генетике, анатомии, физиологии, гистологии, эмбриологии и т. д. на примерах решения практических задач селекции, разведения, кормления и содержания сельскохозяйственных животных. Реализация этой идеи и является целью данной образовательной программы.

Данная программа направлена на решение следующих задач:

– отбор и распределение материала по темам лекционного курса и лабораторно-практических занятий, постоянное обновление и углубление их содержания согласно поставленной цели;

– активное использование современных технических средств в реализации задач теоретического курса и лабораторно-практических занятий;

– оказание методической помощи студентам в выборе и выполнении самостоятельных, курсовых и дипломных работ;

– контроль за качеством выполнения задач практических занятий и освоения теоретического материала из лекционного курса в форме опроса и решения тестовых задач.

Трудоемкость программы – 66 часов (22 ч лекций, 22 ч лабораторных занятий, 22 ч самостоятельной работы). Учебная (полевая) практика – 12 часов. Форма аттестация – зачет.

Программа подразумевает изучение следующих отраслей животноводства: 1) скотоводство; 2) свиноводство; 3) овцеводство; 4) коневодство; 5) кролиководство; 6) птицеводство (куры, индейки, перепела, утки, гуси). Рассматриваются различные разделы животноводства, разведение и селекция животных, кормление животных, содержание животных, основы ветеринарии и технология производственного цикла. Ниже представлены темы лекционного курса (табл. 1) и лабораторно-практических занятий (табл. 2).

Самостоятельная работа студентов включает в себя: изучение специальных тем и разделов теоретического курса, вынесенных за рамки аудиторных занятий по рекомендованным литературным источникам; написание рефератов; выполнение курсовых и выпускных квалификационных работ.

При выполнении любого из этих видов самостоятельных работ является важным: 1) осмысление сути работы; 2) обоснование актуальности изучаемой темы или вопроса; 3) формулировка ожидаемых результатов и области их применения; 4) формулировка цели работы; 5) формулировка задач как этапов достижения намеченной цели; 6) составление плана изложения материала; 7) распределение материала по схеме его изложения; 8) обобщение изложенных материалов; 9) формулировка выводов; 10) создание презентации по теме работы; 11) составление библиографического списка использованных материалов, включающего печатные и

электронные издания.

Таблица 1.

Темы лекционного курса

№	Тема	Кол-во часов
1	Зоологическая система, происхождение, время и место одомашнивания	2
2	Основные технологические и полезные свойства продуктов животноводства	2
3	Значение животноводства в мировой и национальной экономике	2
4	Экстерьер, интерьер и конституция животных	2
5	Порода, породные ресурсы, классификация пород	2
6	Теоретические основы селекции, факторы породообразования, генетические параметры отбора	2
7	Методы разведения животных	2
8	Методы биотехнологии	2
9	Кормление животных	2
10	Содержание животных	2
11	Основы ветеринарии	2
	ВСЕГО	22

Таблица 2.

Темы лабораторно-практических занятий

№	Тема	Кол-во часов
1	Экстерьер, интерьер и конституция животных	2
2	Методы изучения экстерьера	4
3	Экстерьер разных пород крупного рогатого скота	2
4	Мечение и племенной учет	2
5	Составление генеалогических карт, оценка степени инбридинга	4
6	Методы оценки генотипа животных	2
7	Классификация и питательная ценность кормов	2
8	Техника составления рациона	4
	ВСЕГО	22

Ниже представлены примерные темы рефератов.

1. История выведения орловских рысаков и современные направления племенной работы с ними;

2. Тяжеловозные породы лошадей Франции, история их использования в российском коневодстве;
3. Технология производства, химический состав и полезные свойства кумыса;
4. Служебные породы собак России: поголовье, распространение и особенности племенной работы;
5. Охотничьи породы собак России: поголовье, распространение и особенности племенной работы;
6. Декоративные породы собак в России: поголовье, распространение и особенности племенной работы;
7. Породы кошек;
8. Содержание и разведение канареек;
9. Содержание волнистых попугайчиков;
10. Техника дрессировки служебных собак;
11. Технология производства и полезные свойства йогурта;
12. Методы глубокого замораживания гамет и зигот;
13. Методы лиофилизации гамет и зигот;
14. Полезные свойства молочнокислых продуктов;
15. Биотические и абиотические компоненты аквариума, их оптимальные соотношения;
16. Опасные инфекционные болезни домашних птиц, их лечение и профилактика;
17. Опасные инфекционные болезни собак, их лечение и профилактика;
18. Опасные инвазионные болезни собак, лечение и профилактика;
19. Опасные инвазионные болезни кошек, лечение и профилактика;
20. Режимы инкубации яиц домашних птиц;
21. Разведение мясных пород кроликов в личном подворье;
22. Декоративные породы кур;
23. Декоративные породы кроликов;
24. Карликовые породы свиней;
25. Породы пони;
26. История и география игр петушиных боев;
27. История возникновения и развития испанской корриды;
28. Овцы в культовых обрядах;
29. Высшая школа верховой езды;

30. Конкур;
31. Гусиные бои в России – в истории и в наши дни;
32. Хаски – друг и помощник человека;
33. Конард Лоренц и его серые гуси;
34. Критический анализ книги «Соломоново кольцо» К. Лоренца;
35. Гусиная печень – деликатес: способы приготовления и полезные свойства;
36. Пищевая ценность яиц водоплавающих птиц;
37. Генетика масти лошадей;
38. Разведение коз, их породы. Полезные свойства козьего молока;
39. Термическая обработка мяса и ее влияние на вкусовые качества. Полезные свойства мясных продуктов;
40. Лошади – участники великих военных сражений (по картинам художников);
41. Собаки – участники сражений в Великой отечественной войне (по материалам литературных произведений);
42. Собаки – охранники государственной границы;
43. Яки в жизни горцев;
44. Буйволы – неумолимые и выносливые землепашцы;
45. Мораль романа «Собачье сердце» М. Булгакова.

Ниже приводятся примерные темы курсовых работ.

1. Технология заготовки и способы улучшения кормовых достоинств сенажа;
2. Значение витаминов А и Е в повышении плодовитости свиней;
3. Повышение качества овчины за счет минеральной подкормки овец;
4. Использование простагландинов в повышении плодовитости коров;
5. Межпородное скрещивание как средство повышения мясной продуктивности кроликов;
6. Особенности зоотехнической и племенной работы в создании орловских рысаков;
7. Перспективы разведения ондатры в неволе;
8. Создание оптимальных условий для выращивания цыплят.

Тематика данной дисциплины позволяет студентам выполнять также и выпускные квалификационные работы. Ниже представлены их примерные темы.

1. Исследование динамики частот аллелей по 3 парам независимо наследуемых генов в зависимости от изменения соотношения полов и числа особей в генофондных популяциях кур;

2. Усиление иммунной защиты для снижения заболеваемости кроликов пастереллезом;

3. Аномалии в развитии эмбрионов при нарушении режима инкубации куриных яиц;

4. Межпородные различия в устойчивости к кокцидиозу кроликов биологической станции;

5. Влияние разных сроков отъема крольчат на их мясную продуктивность.

Аттестация по данной дисциплине проводится в форме зачета. Требования к промежуточной и итоговой аттестациям представлены в таблице 3. Минимум баллов для оформления зачета – 80, при меньшем количестве баллов проводится зачет в устной форме.

Таблица 3.

Требования к промежуточной и итоговой аттестациям

№	Виды оценки учебной деятельности	Количество баллов	
		минимальное	максимальное
1	Конспект	15	20
2	Доклад	15	20
3	Решение тестовых задач	25	30
4	Результаты зачета	25	30
	Итого	80	100

Ниже приводятся вопросы к зачету.

1. Порода, ее структура и функции структурных групп породы;

2. Факторы породообразования, значение использования породистых животных в повышении производительности труда;

3. Принципы классификации пород. Древние и античные породы домашних и сельскохозяйственных животных;

4. Высококультурные заводские и аборигенные породы отечественной и зарубежной селекции;

5. Заводская и генеалогическая линии и их роль в совершенствовании пород;
6. Семейство, методы, цель и задачи его создания;
7. Производственная характеристика голландской, голштино-фризской и ярославской пород крупного рогатого скота;
8. Производственная характеристика симментальской и костромской пород крупного рогатого скота;
9. Принципы организации и ведения крупномасштабной селекции, предпосылки ее экономической эффективности;
10. Сравнительная характеристика лошадей арабской, орловской и чистокровной английской пород;
11. Инбридинг и аутбридинг, цель и задачи их применения в разведении животных;
12. Генетические предпосылки производства гибридных животных, экономическая эффективность их производственной эксплуатации;
13. Английская крупная белая порода и ландрас – основы производства гибридных поросят и повышения эффективности производства свинины;
14. Очаги и время одомашнивания, биологические свойства, обуславливающие хозяйственно полезные признаки крупного рогатого скота;
15. Романовская порода овец и ее уникальные свойства продуктивности;
16. Орловские рысаки: история создания, современное состояние племенного дела по совершенствованию этой породы;
17. Тонкорунные породы овец. Показатели качественной оценки тонкой шерсти и руна;
18. Биологически полезные свойства продуктов животноводства, нормы их потребления;
19. Методы создания промышленных кроссов сельскохозяйственных птиц;
20. Закономерности лактации и факторы молочной продуктивности коров;
21. Закономерности наследования количественных признаков: удоя, мясной, яичной продуктивности, показателей их оценки.
22. Сущность и необходимость вычисления коэффициента инбридинга.

23. 10 преимуществ искусственного осеменения самок по сравнению с ручной и вольной случкой;
24. Государственная племенная книга и ее значение в чистопородном разведении животных;
25. Методы получения химерных животных и перспективы их широкомасштабного хозяйственного использования;
26. Генетическая опасность широкомасштабного использования высокоценных генотипов. Методы выявления носителей рецессивных мутаций;
27. Методы (биотехнологии) повышения генетического вклада самок в прогрессивное развитие породы;
28. Цель, задачи и примеры использования методов вводного скрещивания животных;
29. Понятие об общей племенной ценности животных и методы ее оценки;
30. Методы получения трансгенных животных, состояние и перспективы их широкомасштабного применения в разведении животных;
31. Экстерьер, стати тела, измерение животных. Методы оценки экстерьера животных;
32. Производственная характеристика пород шаролье, лимузин и герефорд, целесообразность их хозяйственного использования;
33. Показатели оценки мясной продуктивности животных;
34. Яичная продуктивность современных кроссов кур, особенности технологии производства яиц;
35. 10 преимуществ машинного доения коров. Типы и производительность современных доильных установок;
36. Очаги и время одомашнивания крупного рогатого скота, овец, коз и свиней;
37. Типы конституции, характерные анатомо-морфологические и гистологические признаки разных типов конституции;
38. Современные широко распространенные бройлерные кроссы кур, показатели их продуктивности, экономическая эффективность их использования;
39. Сибирская язва, бруцеллез и туберкулез животных. Пути заражения человека и меры профилактики;
40. Технология и режим инкубации яиц разных видов сельскохозяйственных птиц;

41. Широко распространенные породы мясных кроликов, показатели их продуктивности, факторы экономической эффективности производства крольчатины;

42. Классификация кормов, факторы питательной ценности кормов и единицы ее оценки;

43. Сущность понятия общей племенной ценности животных и методы ее оценки;

44. Методы определения норм кормления и техника составления рациона;

45. Симментальская и костромская породы крупного рогатого скота: тип и уровень продуктивности, районы распространения, экономическая эффективность хозяйственного использования;

46. Прогноз генетического прогресса с использованием показателей коэффициента наследуемости, селекционного дифференциала, средней арифметической и достоверности различия;

47. Методы и эффективность отбора по высоко- и низконаследуемым признакам;

48. Промышленное скрещивание, цель и задачи его применения, примеры широкомасштабного производственного использования;

49. Мясо, виды мяса, морфологическая структура, химический состав и полезные свойства мяса;

50. Теоретические основы разведения и селекции животных, источники их обогащения новыми научными достижениями.

Рекомендуемая литература

Основная:

1. Ващенко И.М. Биологические основы сельского хозяйства. М., 2004.
2. Щеглов Е.В., Попов В.В. Разведение сельскохозяйственных животных. М., 2007.
3. Арзуманян Е.А., Бегучев А.П. и др. Животноводство. М., 1985.
4. Лэсли Дж.Ф. Генетические основы селекции сельскохозяйственных животных. М., 1982.
5. Егоров Т.А. Основы биотехнологии. Новосибирск, 2008.
6. Ковалев Ю.Н. Кормопроизводство. М., 2004.
7. Боголюбский С.Н. Происхождение и преобразование домашних животных. М., 1959.
8. Константинов В.М. Сравнительная анатомия позвоночных животных. М., 2005.

Дополнительная:

1. Серебровский А.С. Селекция животных и растений. М., 1969.
2. Кулешов П.Н. Избранные труды по биологии и разведению сельскохозяйственных животных. М., 1949.
3. Богданов Е.А. Избранные труды по проблемам кормления сельскохозяйственных животных. М., 1949.
4. Кемпп, Армс К. Введение в биологию. М., 1988.
5. Дарвин Ч. Происхождение видов путем естественного отбора. СПб, 1991.
6. Филипченко Ю.А. Эволюционная идея в биологии. М., 1977.
7. Яблоков А.В, Юсуфов А.Г. Эволюционное учение. М., 1989.
8. Сулей М., Уилкоккс Б. Биология охраны природы. М., 1983.
9. Сулей М. Жизнеспособность популяций. «Мир», 1989.
10. Бабков В.В. Московская школа эволюционной генетики. М., 1985.
11. Никоро З.С. и др. Теоретические основы селекции животных. М., 1968.
12. Петухов В.Л., Гудилин И.М. (ред.). Генетические основы селекции животных. М., 1989.
13. Иоганссон И. и др. Генетика и разведение домашних животных. М., 1970.
14. Рокицкий П.Ф. Основы вариационной статистики. Минск, 1961.
15. Дубинин Н.П. Общая генетика. М., 1986.
16. Хатт Ф. Генетика животных. М., 1969.
17. Визнер Э, Виллер З. Ветеринарная патогенетика. М., 1979.
18. Дубинин Н.П. Новое в современной генетике. М., 1986.
19. Завертяев Б.П. Биотехнология в воспроизводстве и селекции крупного рогатого скота. Л., 1989.
20. Сассон А. Биотехнология – свершения и надежда. М., 1987.
21. Красота В.Ф. и др. Разведение сельскохозяйственных животных. М., 1990.
22. Кузнецов А.Ф. Крупный рогатый скот. СПб., 2007.
23. Сиротинин В.И., Волков В.Д. Выращивание молодняка в скотоводстве. СПб., 2007.
24. Фисинин В.И. и др. Мясное птицеводство. СПб., 2007.
25. Костомахин Н.М. Скотоводство. СПб., 2009.

K.K. Karimov

Educational program “Applied zoology”

SUMMARY

This work contains a concept and methodical basis for teaching of such particular educational discipline as “Applied zoology” in the system of life science disciplines. The relevance of its teaching is emphasized and the it's purpose for the students of biological faculties is explained. Tasks of this discipline reveal the ways of achieving the set goal. The program has been developed taking into account the requirements of the third generation standard for this type of product.

СОДЕРЖАНИЕ

<i>П.В. Озерский</i> К вопросу о связи между экологической специализацией и цитогенетическими характеристиками у саранчовых (Orthoptera, Acrididae)	3
<i>П.В. Озерский</i> О применимости концепции стабилизирующего отбора к представителям жизненной стратегии эксплерентов	12
<i>Е.А. Никитина</i> Молекулярные шапероны и их роль в клетке	28
<i>О.А. Корнилова, Л.В. Чистякова</i> Гидрогеносомы представителей рода <i>Balantidium</i> (Ciliophora, Litostomatea)	41
<i>М.А. Гвоздев, Е.А. Васильева А.А.</i> Предварительные материалы к изучению экологии веслоногих ракообразных как промежуточных хозяев дифиллоботриид в условиях реки Оредеж (Ленинградская область)	47
<i>А.А. Поспелова, Е.Е. Прохорова, Н.В. Цымбаленко, Г.Л. Атаев</i> Определение видовой принадлежности трематод рода <i>Leucochloridium</i> с помощью молекулярно-генетических методов	51
<i>Ю.А. Дурнев</i> Малая пестрогрудка (<i>Bradypterus thoracicus</i> , <i>Sylviidae</i> , <i>Passeriformes</i>) на северной границе ареала: распространение и экология вида по материалам из Байкало-Саянского региона	69
<i>П.С. Горбунов, К.О. Буйневич</i> К вопросу о гемоцитах личинок старшего возраста <i>Chironomus plumosus</i>	85
<i>К.К. Каримов</i> Образовательная программа по прикладной зоологии	104

Научное издание

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ,
ЭКОЛОГИЯ И ЖИЗНЕННЫЕ ЦИКЛЫ
ЖИВОТНЫХ**

Научные труды кафедры зоологии
РГПУ им. А.И. Герцена

ВЫПУСК 11

Научный редактор **М.А. Гвоздев**
Технический редактор **П.С. Горбунов**

Лицензия ИД № 01957 от 05.06.2000

Подписано в печать 20.12.11 Формат 60×88 1/16
Бумага офсетная. Печать оперативная.
Гарнитура «Таймс». Усл. печ. л.
Тираж 300 экз. Заказ 148

ООО «ТЕССА»
190121, Санкт-Петербург, Английский пр., 2