

Том 85, Номер 4

ISSN 0044-4596

Июль–Август 2024



ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ



НАУКА
— 1727 —

СОДЕРЖАНИЕ

Том 85, номер 4, 2024

(воспроизводится в журнале “Current Contents”)

Генетическая концепция вида в приложении к мультилокусным ядерным данным <i>В. Л. Лебедев, С. А. Косушкин, А. А. Банникова</i>	269
Роль микроядер в элиминации хроматина <i>Ю. Р. Ахмадуллина, П. О. Хоменко</i>	284
Влияние нейрохронаксической теории Рауля Юссона (Raoul Husson) на развитие исследований физиологических механизмов голосообразования в Советском Союзе (1950–1970-е годы) <i>А. А. Никольский</i>	299
Моделирование современного климатического ареала <i>Cydalima perspectalis</i> (Lepidoptera, Crambidae) в Евразии <i>И. О. Попов, Е. Н. Попова</i>	313
Успешность размножения межвидовых гибридов: пониженная плодовитость в гибридогенной популяции сорок (<i>Pica pica</i> × <i>Pica serica</i> , Aves) <i>А. П. Крюков, О. А. Горошко</i>	332

CONTENTS

Vol. 85, No. 4, 2024

(Indexed in “Current Contents”)

Genetic species concept as applied to multilocus nuclear data <i>V. S. Lebedev, S. A. Kosushkin, A. A. Bannikova</i>	269
The role of micronuclei in chromatin elimination <i>Yu. R. Akhmadullina, P. O. Khomenko</i>	284
Influence of Raoul Husson’s neurochronaxic theory for the development of research on the physiological mechanisms of voice production in the Soviet Union (1950–1970s) <i>A. A. Nikol’skii</i>	299
Modeling of the modern climatic range of <i>Cydalima perspectalis</i> (Lepidoptera, Crambidae) in Eurasia <i>I. O. Popov, E. N. Popova</i>	313
Breeding success of the interspecies hybrids: Reduced fertility in the hybridogeneous magpie population (<i>Pica pica</i> × <i>Pica serica</i> , Aves) <i>A. P. Kryukov, O. A. Goroshko</i>	332

УДК 599.113

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ КОНЦЕПЦИЯ ВИДА В ПРИЛОЖЕНИИ К МУЛЬТИЛОКУСНЫМ ЯДЕРНЫМ ДАННЫМ

© 2024 г. В. Л. Лебедев^{1, *}, С. А. Косушкин^{2, **}, А. А. Банникова^{3, ***}

¹Зоологический музей Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова
ул. Большая Никитская, 2, Москва, 125009 Россия

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН
ул. Вавилова, 32, Москва, 119991 Россия

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, кафедра зоологии позвоночных
Ленинские горы, 1, стр. 12, Москва, 119234 Россия

*E-mail: wslebedev@mail.ru

**E-mail: toki@mail.ru

***E-mail: hylomys@mail.ru

Поступила в редакцию 05.11.2023 г.

После доработки 28.11.2023 г.

Принята в печать 05.12.2023 г.

На примере целого ряда видовых групп и сложных видовых комплексов млекопитающих эмпирически показано, что для изучения их генетической дифференциации разрешающей способности набора из 10–20 ядерных локусов недостаточно. Для удовлетворительного анализа филогенетических отношений (включая события ретикуляций) и определения уровня дивергенции в пределах таких групп близкородственных видов необходимо умножение числа ядерных локусов и переход на уровень глубокого секвенирования нового поколения. Однако вопрос о том, какая часть исследуемого генома позволит достигнуть желаемого результата, иными словами, какое именно количество генов необходимо для того, чтобы получить генетическую дистанцию, разрешающую отношения ветвей филогенетического дерева комплекса близкородственных видов, остается открытым. В качестве стандартного набора маркеров мы выбрали белок-кодирующие участки генов. Дистанции для 160–180 генов общей длиной 270–300 тыс. п.н. использовали для оценки уровня дивергенции близких видов млекопитающих. Выяснено, что в большинстве случаев дистанции между видами находятся в диапазоне от 0.15 до 0.75% (медиана 0.33%). Диапазон дистанций между полувидами составляет от 0.12 до 0.28% (медиана 0.14%). Внутривидовые дистанции всегда меньше 0.11%. У грызунов наблюдаются более высокие значения межвидовых дистанций — от 0.25 до 2.3% (медиана 0.72%); дистанции между полувидами находятся в диапазоне от 0.1 до 0.35%. Для определения числа ядерных локусов и их совокупной длины, необходимых для расчета генетической дистанции, использовали симуляции на основании модели, включавшей следующие параметры: средняя скорость эволюции генов, ее дисперсия, уровень полиморфизма в современных и предковых популяциях. Предварительно был проведен анализ распределения скоростей локусов среди таксонов млекопитающих на основе ранее опубликованных данных по ~50 тыс. ядерных маркеров. Показано, что относительная ошибка в 10–15%, сопоставимая с аналогичной величиной для митохондриальных дистанций по отдельным генам (длиной примерно 1000 п.н.) между близкими видами, достигается при использовании около 100 локусов длиной 300 п.н. На основе этих данных выдвинуто следующее предположение: порог межвидовой/внутривидовой генетической дистанции, рассчитываемой по наиболее часто используемым в молекулярной филогенетике млекопитающих экзонам, составляет около 0.15%. Данная гипотеза предполагает признание за формами *in statu nascendi* видовой ранг. Следует заметить, что не все “хорошие” виды имеют значительные генетические дистанции в связи с тем, что репродуктивные барьеры иногда формируются быстрее, чем накапливаются замены по геному.

DOI: 10.31857/S0044459624040014, EDN: UTXNCJ

ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОНЦЕПЦИИ ВИДА

Генетическая концепция вида (ГКВ) прошла длительную эволюцию, и существует множество ее интерпретаций (Bateson, 1909; Taverner, 1920; Muller, 1939; Simpson, 1943; Dobzhansky, 1950; Mayr, 1969; Nei, 1976; Baker, Bickham, 1986; Masters, Spencer, 1989; Avise, Ball, 1990; Mayden, 1997; Schilthuizen, 2000; Butlin, 2005). Основа генетической концепции видов впервые изложена Бейтсоном более 100 лет назад (Bateson, 1909) и получила дальнейшее развитие у Добжанского (Dobzhansky, 1937, 1950) и Мюллера (Muller, 1939). По Добжанскому, вид — это система популяций, генный обмен между которыми ограничен или запрещен из-за репродуктивных изолирующих механизмов или комбинации нескольких таких механизмов. Таким образом, ГКВ Добжанского — это практически изоляционная концепция, так как подчеркивает репродуктивную изолированность видов, чем фактически напоминает концепцию Бейтсона (Bateson, 1909). Позже была предложена модель Бейтсона–Добжанского–Мюллера (Bateson–Dobzhansky–Muller, BDM), согласно которой к образованию двух видов приводит накопление генетических изменений в двух отдельных популяциях (Gavrilets, 2003). Здесь имеется в виду довольно сложная архитектура репродуктивной изоляции, а именно, указание на “несовместимость” аллелей в локусах (Gavrilets, 2003).

В такой интерпретации ГКВ частично совпадает с биологической концепцией вида (БКВ), поскольку скрещивающиеся популяции, которые репродуктивно и генетически не изолированы, считаются конспецифичными, а популяции, репродуктивно и генетически изолированные, — отдельными видами. Эти две концепции расходятся в том случае, когда генетическая изоляция популяций существует, но репродуктивная изоляция отсутствует. В этом случае БКВ в трактовке Добжанского (Dobzhansky, 1937) и Майра (Mayr, 1942), но не Койна и Орра (Coyn, Orr, 2004) должна считать такие популяции конспецифичными, а ГКВ — принадлежащими к разным видам.

Многочисленные примеры гибридизации между видами, известные на сегодня, сильно ослабляют ориентацию исключительно на репродуктивно изолированные популяции. С учетом этого соображения Койн и Опп (Coyn, Orr, 2004) предложили новое определение биологической концепции вида, дополнив ее возможностью

гибридизации. С точки зрения этих авторов, ГКВ эквивалентна БКВ или является подмножеством последней.

В приложении к млекопитающим, согласно современной ГКВ, две генетические линии являются видами, если целостность их генофондов сохраняется даже в присутствии потока генов, т.е. защищена (Baker, Bradley, 2006). Таким образом, вид — это совокупность природных популяций, которые генетически совместимы друг с другом, но изолированы от других подобных совокупностей, а видообразование есть аккумуляция генетических изменений между двумя филогенетическими линиями, что обеспечивает защиту и изоляцию их генофондов (Baker, Bradley, 2006).

Практически в любой интерпретации ГКВ для вывода о репродуктивной изоляции и эволюционной независимости генетических линий предполагается измерение генетических различий (Mayden, 1997). Однако главное критическое замечание в адрес ГКВ состоит в неопределенности величины и единиц измерения генетической изменчивости, необходимой для решения вопроса “вид/подвид”. Таким образом, проведение границы между видовым и внутривидовым уровнем дивергенции по-прежнему остается нерешенной задачей теоретического уровня.

Бэйкер и Брэдли (Baker, Bradley, 2006) предложили операциональный критерий, который состоит в количественной оценке уровня дивергенции геномов через (1) генетические дистанции, (2) анализ потока генов между таксонами, (3) оценку уровня гибридизации, (4) оценку времени дивергенции. Брэдли и Бэйкер (Bradley, Baker, 2001) разработали методику, позволяющую практически реализовать ГКВ в пределах класса млекопитающих. Анализируя генетические дистанции между сестринскими видами в разных группах млекопитающих по митохондриальному гену цитохрома *b* (*cyt b*), Брэдли и Бэйкер (Bradley, Baker, 2001) пришли к заключению, что большинство из них отличается на 4–11% нуклеотидных замен, дистанция $\leq 2\%$ обычна для внутривидового уровня, дистанция $\geq 10\%$ характеризует сложившиеся виды “...наиболее прагматичным первым шагом является использование порога генетической дистанции в 5% по гену цитохрома *b*, поскольку во многих случаях адекватная оценка внутривидовой изменчивости не доступна; при этом дистанция $\geq 5\%$ — это очевидно приблизительная оценка, она не дает окончательного решения” (Baker, Bradley, 2006, p. 657). Хотя эту методологию, как и всю генетическую

концепцию, нельзя применять без информации об уровнях генетических дистанций между сестринскими видами в составе определенного таксона, она сделалась полезным инструментом практикующих систематиков.

ПЕРЕХОД К МУЛЬТИЛОКУСНЫМ И ГЕНОМНЫМ ДАННЫМ

Итак, ранее ГКВ в интерпретации Брэдли и Бэйкера (Bradley, Baker, 2001; Baker, Bradley, 2006) предложила подход, который состоит в оценке генетических дистанций и выборе в качестве видового уровня таких различий, которые соответствуют дивергенции между ближайшими таксонами, для которых показано наличие генетической изоляции. Этот количественный, довольно удобный и по-настоящему операциональный критерий тем не менее на практике реализуется только на базе митохондриальных данных, что нередко приводит к ошибкам из-за интрогрессии чужеродной митохондриальной ДНК (мтДНК) вследствие исторической или современной гибридизации. Применение этого критерия к ядерным данным затрудняется меньшей изменчивостью ядерных генов и использованием в разных случаях разных локусов и разного их числа.

Между тем мультилокусный анализ генетического разнообразия — это ключевой подход к современному решению филогенетических, филогеографических и популяционно-генетических задач. В настоящее время общепринятой практикой становится использование данных высокопроизводительного секвенирования, что связано с постепенным исчерпанием возможностей секвенирования сотен отдельных генов по методу Сэнгера, с одной стороны, и накоплением материала по полногеномным или редуцированным геномным данным (например, транскриптомы или маркеры RADSeq) — с другой. Стремительный переход от однолокусных, в том числе митохондриальных, наборов данных к геномным ресурсам поднимает вопрос о том, как из этих новых огромных массивов информации получать представление о структуре филогенетических отношений и о временах дивергенций и как эти данные транслировать в стандартные таксономические ранги. Это означает и необходимость трансформации современной генетической концепции вида.

Адаптация ГКВ к мультилокусному анализу будет означать появление нового операционального критерия вида — мультигенной дистанции.

В последнем случае встает важная задача определения минимального объема генетической информации (числа генетических локусов и их информативности), необходимого для получения устойчивого филогенетического сигнала, восстановления порядка кладогенетических событий, верной оценки величины генного потока и в конечном итоге вывода о том, соответствуют ли изучаемые группы видам или внутривидовым категориям. В результате приложения операционального критерия ГКВ к мультигенным ядерным данным должно быть установлено соответствие между уровнем дивергенции по сумме ядерных локусов и уровнем репродуктивной изоляции. В свою очередь, уровень различия ядерных генов должен быть сопоставлен со временем дивергенции и приведен в соответствие с таксономическим рангом. Поскольку количественные критерии ГКВ могут различаться в разных таксономических группах, важно определить диапазон этих различий. Следовательно, мультигенная дистанция и время дивергенции как критерии вида должны представлять собой не точечные значения, а диапазоны дистанций и времен. В рамках практической систематики это должно облегчить принятие таксономических решений в сложных с точки зрения систематики группах и определить ревизию целого ряда проблемных таксонов.

МУЛЬТИГЕННАЯ ДИСТАНЦИЯ И ВРЕМЯ ДИВЕРГЕНЦИИ

Перевод генетической концепции в плоскость времени обуславливает практическую применимость еще одного видового критерия — времени дивергенции.

Использование генетических дистанций для сопоставления ранга таксонов, предложенное Бэйкером и Брэдли (Baker, Bradley, 2006), часто вызывает неприятие. На самом деле, оценка генетических дистанций предлагалась ими только как первая и наиболее прагматическая ступень анализа. Как альтернативу генетическим дистанциям эти авторы рассматривают продолжительность видообразования (“We considered duration of speciation for sister species as an alternative to the 1st step value of genetic distance between sister species for application of the Genetic Species Concept”; Baker, Bradley, 2006, p. 658) и полагают, что настоящим показателем видообразования будет оценка времени, связанного

с накоплением генетических изменений, необходимых для формирования изолирующих механизмов.

Таким образом, современная ГKB оперирует временем, которое необходимо для достижения изоляции. Это очень важный момент, потому что время дивергенции никогда не принимается во внимание биологической концепцией, иногда — морфологической, если имеются ископаемые остатки, иногда — филогенетической, но всегда — ГKB (Baker, Bradley, 2006).

Вопрос нестандартизованных таксономических рангов не является новым (Hennig, 1966; Avise, Johns, 1999; Avise, Mitchell, 2007). Хенниг (Hennig, 1966) был первым, кто отметил, что абсолютное время эволюции могло бы быть стандартом для синхронизации таксономических рангов. Обзор и обобщение проблем синхронизации линнеевских рангов в далеких группах организмов на основании времени происхождения был выполнен Эвайсом и Лю (Avise, Liu, 2011). В настоящее время линнеевские ранги по-прежнему активно используются, но уже, очевидно, не соответствуют задачам таксономии и не отражают современный уровень знания о филогенетических связях организмов. Их объективные характеристики отсутствуют, они мало соотносимы в разных группах, их невозможно непосредственно наложить на шкалу времени (Avise, Liu, 2011), и потому временные несоответствия пронизывают нынешние классификации. В безранговой филогенетической систематике (филокодексе) система сводится к кодексу номенклатуры видов, для которых установлены филогенетические связи (Queiroz, Gauthier, 1992). Однако иерархическая система классификации представляется большинству систематиков более привычной и логичной, и научное сообщество пока не готово отказаться от нее. Можно ли не отказываться от рангов совсем, но сделать их объективными?

Разумеется, нет смысла напрямую сопоставлять внутривидовые, межвидовые или межродовые генетические и временные дистанции в далеких группах, например, у млекопитающих с такими у рептилий и амфибий. В последней группе они всегда будут выше по той простой причине, что любые таксоны рептилий и амфибий в основном древнее видов млекопитающих. Более того, таксоны рептилий и амфибий не только последовательно старше на каждом таксономическом уровне, чем аналогичные им таксоны птиц и млекопитающих, но похоже, что их эволюционный

возраст увеличивается быстрее с ростом таксономического ранга (Hedges, Kumar, 2003). Проблема согласованности рангов в разных группах на основе времени происхождения этих групп усугубляется тем, что клады каждого таксономического ранга имеют больший или меньший диапазон эволюционных возрастов. Например, эволюционный возраст принятых в современной таксономии семейств плацентарных млекопитающих по молекулярным данным изменяется в среднем от 12 до 60 млн лет (Meredith et al., 2011; Reis et al., 2012), а эволюционный возраст семейств амфибий варьирует от 55 до 180 млн лет (Zhang, Wake, 2009; Kamei et al., 2012; Feng et al., 2017). В диапазоне датировок семейств млекопитающих с некоторой натяжкой попадают времена дивергенции родов *Anura*: 65–20 млн лет назад (Feng et al., 2017).

Виды амфибий расходятся примерно от позднего миоцена до границы плиоцена и плейстоцена, при этом информация о времени дивергенции близких видов в составе родов амфибий для европейских и североамериканских таксонов (в основном плиоценовые и раннеплейстоценовые (Veith et al., 2003; Dufresnes et al., 2018) и позднемиоценовые (Hofman et al., 2007)) отличается от таковой для тропических групп: здесь миоценовая радиация отмечена даже для комплексов близких видов (Yang et al., 2017; Gorin et al., 2020). Возможно, впрочем, это артефакт меньшей изученности тропической фауны. Времена дивергенции близких видов рептилий также приходятся в основном на миоцен–плиоцен (Poyarkov et al., 2014; Schöneberg et al., 2023), иногда доходят до раннего плейстоцена (Salvi et al., 2021).

В любом случае, учитывая все известные сложности синхронизации рангов по времени, в рамках конкретных таксонов все же представляется вполне логичным использовать времена для размышлений о таксономическом ранге и статусе и для проведения границы между видовым и внутривидовым уровнем дифференциации.

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Вопрос о том, какая часть исследуемого генома позволит достигнуть желаемого результата, иными словами, какое именно количество генов необходимо для того, чтобы получить генетическую дистанцию, разрешающую отношения

ветвей филогенетического дерева комплекса близкородственных видов, остается открытым.

Учитывая, что разные функционально-структурные области генома эволюционируют с разной скоростью, задача определения уровня дивергенции по ядерным данным связана с задачей определения генетической дистанции по мультилокусным данным и оценкой ее ошибки. Поэтому на первом этапе исследования необходимо подобрать стандартный набор маркеров, который будет служить эталоном генетической дистанции. Наиболее рациональным выбором представляется экзом. Существующие в настоящее время данные в большинстве случаев представлены лишь относительно небольшим числом генов, последовательности которых получены с помощью таргетного секвенирования или из транскриптомов (десятки и сотни). Поэтому для получения сравнимых дистанций необходимо вводить поправочные коэффициенты, учитывающие отношение средней скорости по исследуемой выборке генов к средней скорости экзона в целом. Учитывая, что как отдельные локусы, так и целые геномы испытывают значительные изменения скоростей накопления мутаций в своей эволюции, очевидно, что сравнимость дистанций может быть достигнута только в пределах таксономически компактных групп животных.

Цель нашего исследования состоит в том, чтобы, сохраняя преемственность при переходе от классической систематики к геносистематике, обеспечить практикующих систематиков новым объективным инструментом, который облегчит принятие таксономического решения (вид/подвид). Во-первых, используя уже существующие мультилокусные данные, мы хотим определить уровень различий, характеризующий близкие виды и внутривидовые формы млекопитающих. На этом основании, возможно, удастся сформулировать критерий по ядерным генам, аналогичный предложенному ранее (Bradley, Baker, 2001; Baker, Bradley, 2006), и в конечном итоге разработать мультигенный и временной критерий вида для млекопитающих. Во-вторых, мы пытаемся оценить диапазон изменчивости мультигенной генетической дистанции и определить примерный объем данных, необходимый для получения информационно значимой генетической дистанции с необходимой точностью.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эмпирические дистанции между близкими видами

Для эмпирического определения генетических дистанций между близкими видами (сестринские виды или члены единой видовой группы с неразрешенными взаимоотношениями) исходно было отобрано 188 белок-кодирующих генов длиной от 1000 до 4000 п.н. Для удобства работы использовались гены, кодирующая последовательность которых включала единственный экзон (согласно аннотации генома китайского хомячка *Cricetulus barabensis griseus* GCF_000223135.1). Предварительно, с использованием ресурсов базы Orthomam (v.12a) (<https://orthomam.mbb.cnrs.fr/>; Allio et al., 2024), проверялось присутствие каждого гена кандидата в геномных последовательностях не менее 170 видов млекопитающих и их аутосомная принадлежность. Из списка видов, последовательности которых доступны в GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), выбирали пары или группы близких видов и определяли ближайший к ним (референсный) вид, для генома которого существовала аннотация Refseq. Геномные аннотации в формате GTF из базы данных NCBI были использованы для извлечения координат CDS отобранных 188 генов. Сами последовательности CDS были извлечены из соответствующих референсных геномов при помощи программы bedtools getfasta. Поиск ортологов в остальных родственных геномах для каждой пары/группы близких видов проводили при помощи программы BLASTn с параметрами соответствия 95% сходства и 50% длины последовательностей. Наиболее подходящий результат поиска BLAST для каждого из геномов был сведен в множественное выравнивание ортологов определенного гена с помощью программы MAFFT (Katoh, Standley, 2013) с параметром `—ep 0.123`. Все гены для конкретной группы сравниваемых геномов были сведены в конкатенат при помощи программы seqkit concat. Между конкатенированными последовательностями вычислялась p-дистанция в программе PAUP, version 4.0b10 (Swofford, 2003). В ряде случаев кроме пар близких видов в исследуемую группу включались более далекие виды из того же рода или внутривидовые формы. Список исследованных таксонов приведен в табл. 1.

Симуляция генетических дистанций для разных значений параметров

Помимо определения эмпирических дистанций, проводили симуляции генетических дистанций для разных значений параметров. Цель симуляций — оценить зависимость ошибки генетической дистанции от объема данных и определить, при каком объеме данных относительная ошибка дистанции будет сопоставима с аналогичной величиной для мтДНК. Предварительно был проведен анализ распределения скоростей локусов среди таксонов млекопитающих на основе данных по ~50 тыс. ядерных маркеров, использованных в работе Хекера и Хиллера (Hecker, Hiller, 2020). Параметры для симуляции включают, с одной стороны, характеристики эволюционного процесса, а с другой — параметры, касающиеся формирования объема данных в процессе исследования.

Важнейший параметр эволюционного процесса — скорость накопления замен, она может быть неодинаковой и отличаться как между генами, так и между линиями (концепция свободных часов). Мы предполагаем, что распределение скоростей разумно моделировать с помощью логнормального распределения со следующими параметрами:

μ_{exp} — средняя скорость накопления замен;

$\sigma(\mu)$ — дисперсия скорости, учитывает различия скоростей как в разных линиях, так и у разных генов;

Ne — эффективная численность; в общем случае их три — для современных таксонов, между которыми считается дистанция, и для их общего предка; от этих величин будут зависеть времена коалесценции аллелей;

T — время дивергенции.

В общем случае мы предполагаем, что сиквенсы соответствуют нефазированным генотипам, в которых гетерозиготные позиции кодируются с помощью стандартных обозначений для вырожденных позиций (ambiguity codes).

Подсчет дистанций производится между отдельными экземплярами, а не выборками.

Ожидаемая дистанция для гена k будет равна $2\mu_k T = \mu_k(2T_{div} + 2t_{anc} - t_1 - t_2)$, где T_{div} — время дивергенции, а t_{anc} , t_1 , t_2 — времена коалесценции аллелей у предка и современных форм.

Эти параметры моделируются с помощью экспоненциальных распределений с математическими ожиданиями, равными $2Ne$. Если уровень анцестрального полиморфизма соответствует

среднему значению для современных форм, то ожидаемая дистанция будет равна $2\mu_k T_{div}$. Это упрощение принято в наших симуляциях.

Наконец, последние два параметра характеризуют процесс формирования выборки — это число генов (n) и длины их последовательностей (L).

Учитывая, что при небольших временах дивергенции количество замен на ген длиной около 1000 п.н. обычно не превосходит несколько нуклеотидов, для моделирования числа замен в случайно выбранном гене использовалось распределение Пуассона с параметром $L \times \mu_k(2T_{div} + 2t_{anc} - t_1 - t_2)$, где μ_k — случайная величина из логнормального распределения с параметрами $(\mu_{exp}, \sigma(\mu))$, а t_{anc} , t_1 и t_2 — независимые случайные величины, извлеченные из экспоненциального распределения с математическим ожиданием $2Ne$. Процедуру повторяли по числу генов. Дистанция по совокупности генов равна сумме числа замен, деленной на nL . Симуляции повторяли 10000 раз для каждого набора параметров, включавшего μ_{exp} , $\sigma(\mu)$, T_{div} , Ne , n и L . На основе эмпирических распределений вычисляли коэффициент вариации дистанции как показатель ее относительной ошибки. Эту величину сравнивали с коэффициентом вариации дистанции по митохондриальному гену *cyt b* для сходных уровней дивергенции (детали вычислений приведены в Приложении). На выходе определяли, какой объем данных (n и L) достаточен для получения дистанций с ошибкой не выше, чем для митохондриальных данных. Все симуляции проводились в среде R с использованием встроенных функций `ltnorm`, `gexp`, `grois`.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Величины межвидовых и внутривидовых дистанций

Априори было выделено три категории дистанций: 1) дистанции между видами в пределах рода, по возможности мы не включали туда виды из относительно далеких ветвей ранга подродов; 2) дистанции между конспецифичными формами, включая подвиды, а также домашними и дикими формами; 3) категория полувидов, статус которых по-разному принимается разными авторами (например, *Mus musculus* и *M. domesticus*), или крайне близкие виды, между которыми известны зоны гибридизации (например, косули *Capreolus capreolus* и *C. pygargus*). Учитывая, что скорость нуклеотидных замен в некоторых

группах, по крайней мере в некоторых таксонах, грызунов заметно отличается от таковой у других млекопитающих (Bergeron et al., 2023; наши данные), дистанции между видами Rodentia мы рассматриваем отдельно, выделяя все те же три категории. Результаты приведены в табл. 1 и на рис. 1. Как видим, дистанции между видами для большинства млекопитающих находятся в диапазоне от 0.15 до 0.75% с медианой 0.33%. Дистанции между полувидами находятся в диапазоне от 0.12 до 0.28% с медианой 0.14%. Внутривидовые дистанции (межпопуляционные или внутривидовые) всегда меньше 0.11%.

Таблица 1. Мультигенные межвидовые и внутривидовые дистанции, рассчитанные по 188 ядерным локусам для грызунов, рукокрылых, парнокопытных и китообразных

Таксоны	Дистанции	Таксоны	Дистанции
RODENTIA			
Mus		Acomys	
<i>domesticus</i> / <i>castaneus</i> / <i>musculus</i>	0.00319** 0.00349**	<i>russatus</i> /	0.02166***
<i>domesticus</i>	0.00083+ 0.00115+	<i>percivali</i> /	0.02084***
<i>musculus</i>	0.00081+	<i>kempi</i> /	0.00929***
<i>castaneus</i>	0.0001+	<i>cahirinus</i> / <i>dimidiatus</i>	0.00078
<i>musculus</i> + <i>domesticus</i> / <i>spretus</i> + <i>spicilegus</i>	0.00759***	Cavia	
<i>spretus</i> / <i>spicilegus</i>	0.0069***	<i>aperea</i> /	0.00382***
<i>spretus</i>	6.65E+05+	<i>tschudii</i> / <i>porcellus</i>	0.0005*
<i>caroli</i> /	0.01704***	Marmota	
<i>pahari</i> /	0.03218	<i>marmota</i> / <i>himalayana</i>	0.00257***
<i>minutoides</i> /	0.03198	<i>monax</i> /	0.00396***
Peromyscus		<i>vancouverensis</i> / <i>flaviventris</i>	0.0037***
<i>maniculatus</i> / <i>polionotus</i>	0.00621***	<i>vancouverensis</i> + <i>flaviventris</i> / <i>marmot</i> + <i>himalayana</i> + <i>monax</i>	0.0043***
<i>maniculatus</i>	0.00037+	Rhabdomys	
<i>nudipes</i> / <i>melanophrys</i>	0.00974***	<i>pumilio</i> / <i>dilectus</i>	0.0051***
<i>eremicus</i> / <i>californicus</i>	0.01259***	Mastomys	
<i>eremicus</i> 1 / <i>eremicus</i> 2	0.00567	<i>natalensis</i> / <i>coucha</i>	0.00583***
<i>nudipes</i> + <i>melanophrys</i> / <i>eremicus</i> + <i>californicus</i>	0.0195***		
<i>maniculatus</i> + <i>polionotus</i> / <i>eremicus</i> + <i>californicus</i> + <i>nudipes</i> + <i>melanophrys</i>	0.0233***		
CHIROPTERA			
Rousettus		Pipistrellus	
<i>aegyptiacus</i> / <i>madagascariensis</i>	0.0033***	<i>pygmaeus</i> / <i>pipistrellus</i>	0.0074***
<i>leshenaultii</i> / <i>aegyptiacus</i> + <i>madagascariensis</i>	0.00485***	<i>kuhlii</i> / <i>pygmaeus</i> + <i>pipistrellus</i>	0.0161***
Pteropus		Hipposideros	
<i>giganteus</i> / <i>vampyrus</i>	0.00283***	<i>armiger</i> / <i>pendlebury</i>	0.0037***
<i>pselaphon</i> /	0.00331***	<i>larvatus</i> / <i>pendlebury</i> + <i>armiger</i>	0.0065***
<i>alecto</i> /	0.00602***		
CARNIVORA			
Mustela		Canis	
<i>eversmanii</i> / <i>nigripes</i>	0.00118**	<i>dingo</i> / <i>familiaris</i>	0.0007*
<i>putorius</i> / <i>furo</i>	0.0004*	<i>lupus</i> / <i>familiaris</i> +	0.00095*
<i>eversmanii</i> + <i>nigripes</i> / <i>putorius</i>	0.0022***	Neofelis	
<i>lutreola</i> /	0.00348***	<i>diardi</i> / <i>nebulosa</i>	0.0022***

Таблица 1. Окончание

Таксоны	Дистанции	Таксоны	Дистанции
Martes		Ursus	
<i>martes</i> / <i>zibellina</i>	0.0026***	<i>maritimus</i> / <i>arctos</i>	0.0016***
Felis		<i>americanus</i> / <i>maritimus</i> + <i>arctos</i>	0.00265***
<i>catus</i> / <i>nigripes</i>	0.0035***	Prionailurus	
<i>chaus</i> / <i>catus</i> + <i>nigripes</i>	0.004***	<i>bengalensis</i> / <i>iriomotensis</i>	0.00094*
Lynx		<i>viverrinus</i> / <i>bengalensis</i> +	0.00254***
<i>canadensis</i> / <i>pardinus</i>	0.0013**	Mirounga	
<i>rufus</i> / <i>canadensis</i> + <i>pardinus</i>	0.00285***	<i>leonina</i> / <i>angustirostris</i>	0.0017***
CETARTIODACTYLA			
Bubalus		Moschus	
<i>bubalis</i> / <i>carabanensis</i>	0.0021**	<i>chryzogaster</i> / <i>berezovskii</i>	0.0017***
<i>depressicornis</i> / <i>bubalis</i>	0.0027***	<i>moschiferus</i> / <i>chryzogaster</i> + + <i>berez</i>	0.0044***
<i>depressicornis</i> / <i>carabanensis</i>	0.0023***	Ovis	
Capra		<i>nivicola</i> / <i>canadensis</i>	0.00134**
<i>aegagrus</i> / <i>hircus</i>	0.0011	<i>aries</i> / <i>orientalis</i>	0.00155**
<i>aegagrus</i> + <i>hircus</i> / <i>sibirica</i>	0.0035***	<i>ammon</i> / <i>aries</i> + <i>ori</i>	0.00276**
Cervus		<i>pachyceros</i> / <i>ovis</i>	0.00357***
<i>canadensis</i> / <i>hanglu</i>	0.0013**	Sus	
<i>elaphus</i> / <i>canadensis</i> + <i>hanglu</i>	0.0016**	<i>scrofa</i> / <i>cebifrons</i>	0.0042***
<i>albirostris</i> /	0.0019***	Camelus	
Capreolus		<i>bactrianus</i> / <i>ferus</i>	0.0009*
<i>capreolus</i> / <i>pygargus</i>	0.0037***	<i>dromedarius</i> / <i>bactrianus</i> +	0.00245***
Tursiops		Balaenoptera	
<i>truncatus</i> / <i>aduncus</i>	0.002***	<i>acutorostrata</i> / <i>bonariensis</i>	0.0034***

Примечание. ***дистанции между видами; **между полувидами; *между внутривидовыми группами; + индивидуальные дистанции внутри группировок.

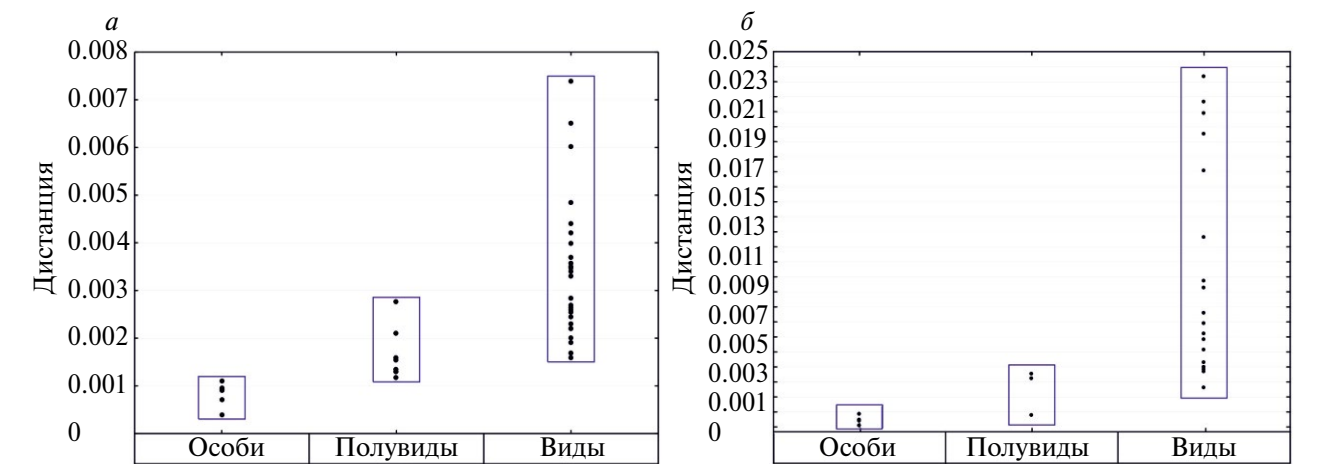


Рис. 1. Диапазон межвидовой и внутривидовой изменчивости: а — для разных отрядов млекопитающих, б — для отряда Rodentia.

У грызунов можно наблюдать более высокие значения межвидовых дистанций — от 0.25 до 2.3% с медианой 0.72%. Дистанции между полувидами находятся в диапазоне от 0.1 до 0.35%. Внутривидовые дистанции у грызунов меньше 0.12%.

Определение необходимого объема выборки в зависимости от параметров модели

Результаты симуляции эволюции *сут b* показали, что относительная ошибка (CV) для величин дистанций, характерных для близких видов или полувидов (4–6%), равна 0.11–0.14. Соответственно, нам требуется определить, при каких значениях параметров и объеме выборки ядерных генов будет достигаться пороговое значение, равное 0.11.

Симуляции показали, что относительная ошибка уменьшается с ростом величины самой дистанции и, соответственно, с ростом времени дивергенции (табл. 2, А). Пороговое значение CV при длине гена 300 п.н. для времени дивергенции в 500 тыс. лет (дистанция = 0.003) достигается при выборке в 100 генов, но требуется больше 200 генов для времени дивергенции в 200 тыс. лет (дистанция = 0.00125). Если длина гена увеличивается до 1000 п.н., то пороговое

значение для времени дивергенции 0.5 млн лет достигается уже при 50 генах (табл. 2, Б).

Вклад увеличения дисперсии скоростей генов (табл. 2, В) заключается в том, что увеличение $\sigma(\mu)$ с $1e-9$ до $3e-9$ приводит к необходимости увеличения выборки с 100 до 200 генов.

При увеличении Ne объем выборки, необходимый для достижения порогового значения CV, существенно возрастает при величинах Ne , сопоставимых со временем дивергенции (табл. 2, Г).

Примеры генетических различий между полувидами и дикими и домашними формами у млекопитающих

Хотя в Кодексе зоологической номенклатуры ранг полувида не принят, тем не менее этот термин обычен и широко употребляется в литературе (Mallet, 2007), наряду с близким по значению понятием “*species in statu nascendi*” (Singh, 2021) для обозначения одного из начальных этапов формирования вида, когда ему не может еще быть присвоен таксономический ранг, однако мы наблюдаем процессы, которые могут привести к его полному становлению.

В качестве классического примера полувида можно привести надвидовой комплекс *Mus musculus* / *M. domesticus*. Эти географические

Таблица 2. Зависимость коэффициента вариации (CV) от параметров модели

Число генов	Параметры модели														
	А время дивергенции (тыс. лет)				Б длина гена (п.н.)			В $\sigma(\mu)$ – дисперсия скорости			Г Ne – эффективная численность				
	200	300	500	800	300	600	1000	1e-9	2e-9	3e-9	5000	10000	50000	100000	300000
	Неварьирующие переменные														
	$\sigma(\mu) = 1e-9$ $\mu = 3e-9$ $Ne = 5e4$ длина гена = 300 п.н.				$\sigma(\mu) = 1e-9$ $\mu = 3e-9$ $Ne = 5e4$ $t = 500$ тыс. лет			$\mu = 3e-9$ $Ne = 5e4$ длина гена = 300 п.н.			$\sigma(\mu) = 1e-9$ $\mu = 3e-9$ $t = 500$ тыс. лет длина гена = 300 п.н.				
5	0.85	0.65	0.50	0.41	0.50	0.38	0.32	0.50	0.58	0.67	0.49	0.50	0.50	0.53	0.69
10	0.60	0.46	0.36	0.29	0.36	0.27	0.23	0.36	0.41	0.47	0.35	0.35	0.36	0.39	0.49
20	0.42	0.33	0.26	0.21	0.26	0.19	0.16	0.26	0.28	0.33	0.25	0.25	0.26	0.27	0.34
30	0.35	0.27	0.21	0.17	0.21	0.16	0.13	0.21	0.23	0.27	0.20	0.20	0.21	0.22	0.28
50	0.27	0.21	0.16	0.13	0.16	0.12	0.10	0.16	0.18	0.21	0.16	0.16	0.16	0.17	0.22
100	0.19	0.15	0.11	0.09	0.11	0.09	0.07	0.11	0.13	0.15	0.11	0.11	0.11	0.12	0.16
200	0.13	0.10	0.08	0.06	0.08	0.06	0.05	0.08	0.09	0.11	0.08	0.08	0.08	0.08	0.11
500	0.08	0.07	0.05	0.04				0.05	0.06	0.07					
1000	0.06	0.05	0.04	0.03				0.04	0.04	0.05					

формы с контактной зоной в Центральной Европе разными авторами рассматриваются как близкие виды или подвиды политипического вида *M. musculus*, при этом поток генов в гибридной зоне ограничен и асимметричен (Good et al., 2008; Baird, Macholan, 2012). Дистанция между ними по ядерным генам составляет 0.32%. Примерно тот же уровень различий характеризует *M. musculus* и *M. castaneus* (0.35%). Внутривидовые дистанции для *M. musculus* и *M. domesticus* составляют 0.08%, для *M. castaneus* — 0.01%. Дистанции от них до других близких видов, ранее тоже относимых к *M. musculus* s.l., существенно выше. *M. caroli* из Юго-Восточной Азии — это относительно далекий вид, однако принадлежащий к тому же подроду. *M. pahari* и *M. minotoides* относятся к другим под родам и дистанции от них до *M. musculus* / *M. domesticus* значительно выше (~3%).

Другой пример близких викарирующих форм — хорьки р. *Mustela*. Степной и лесной хори, *M. eversmanni* и *M. putorius*, распространены парапатрично и скрещиваются в природе. Дистанция между ними 0.22%. К лесному хорю много ближе домашняя форма *M. furo* (0.04%). Ближайшая сестринская группа степного хоря — черноногий хорь *M. nigripes* (0.12%). Дистанция между хорями и относительно близкой к ним европейской норкой — 0.35%.

Дистанция между безусловно сестринскими видами бурый (*Ursus arctos*) и белым медведем (*U. maritimus*) — 0.16%. Дистанция до ближайшего к ним вида, *U. americanus*, 0.27%.

Ириомотейская кошка *Prionailurus iriomotensis* считается островным подвидом бенгальской кошки *P. bengalensis*, хотя исходно была описана как отдельный вид. По нашим данным, дистанция между ними 0.094%, что заметно меньше дистанции между *P. bengalensis* и *P. viverrinus* — 0.25%.

Некоторое время назад все разнообразие благородных оленей Голарктики по мтДНК было сведено к трем группам: европейский благородный олень *Cervus elaphus*, южно-азиатская форма *C. hanglu* и канадский олень *C. canadensis*, объединяющий оленей Сибири и Северной Америки (Mackiewicz et al., 2022). Данные по ядерным геномам подтверждают родство этих трех форм при диапазоне дистанций между ними 0.13–0.19%. К ним близок тибетский беломордый олень *C. albirostris* (0.19%), что тоже согласуется с митохондриальными данными.

Систематика рода горных баранов (*Ovis*) всегда трактовалась неоднозначно. Разные

исследователи включали сюда от двух до семи видов (Grubb, 2005). Данные по ядерным генам согласуются с делением на три группы. Азиатский муфлон *O. orientalis* оказался относительно близок к домашней овце *O. aries* (0.16%), чье происхождение связывают с подвидом *O. aries musimon*. С ними объединяется архар *O. ammon* с дистанцией 0.28%. Азиатские и американские снежные бараны очень близки (0.14%).

Среди диких и домашних форм млекопитающих наиболее показательны следующие примеры. Волк и домашняя собака в настоящее время считаются консpezifичными формами (Bergström et al., 2022). Дистанция между волком, домашней собакой и динго составляет 0.095%.

Дикий и домашний двугорбый верблюд, *Camelus ferus* и *C. bactrianus*, по митохондриальным данным относятся к разным, хотя и родственным,кладам. Геномные данные указывают на их близость при дистанции (0.09%). Дистанция между двугорбым и одногорбым верблюдами — 0.25%.

Между *Bos taurus* и *B. indicus* — родоначальниками домашнего рогатого скота — дистанция по ядерным генам составляет 0.15%. Несколько большая дистанция (0.2%) между речным и болотным буйволами, *Bubalus bubalis* и *B. carabanensis*, которые также участвовали в формировании домашнего скота. Несколько дальше от них целебесский буйвол *B. depressicornis* (0.23%).

Лабораторная морская свинка *Cavia porcellus* считается производной от дикого вида *C. tschudii*. Это полностью соответствует дистанциям по ядерным генам, которые между этими двумя формами очень малы (0.05%). Относительно далек от них другой дикий вид *C. aperea* (~0.4%).

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее на примере видовых комплексов *Sorex araneus* (Rasporova et al., 2022), *Crocidura suaveolens* (Грицышин и др., 2023), *Dipus sagitta* (Лисенкова и др., 2023), а также некоторых видовых комплексов р. *Allactaga* (Lebedev et al., 2022) нами было показано, что разрешающей способности набора из 10–20 ядерных локусов недостаточно для изучения диверсификации филетических линий в сложных видовых комплексах и группах близкородственных видов. Для удовлетворительного анализа филогенетических отношений и событий гибридизации в пределах этих видовых групп необходим

переход к методикам глубокого секвенирования нового поколения.

Почему экзом?

Довольно часто исследуют характеристики генома как целого, в частности такой показатель, как скорость мутирования на поколение или год по геному в среднем. Кроме того, довольно часто, рассматривая белок-кодирующие гены, исследователи фокусируются на интронных последовательностях, мотивируя свой выбор их большей скоростью эволюции, что приводит к большей информативности данных. Однако в качестве стандартного набора маркеров, с нашей точки зрения, больше подходит экзом, или как минимум большая выборка кодирующих последовательностей. Аргументом в пользу такого выбора может быть тот факт, что в этом случае проще установить гомологию. С другой стороны, эволюция интронов часто осложнена такими событиями, как инсерции диспергированных повторов и индели в tandemных повторах (Fedorova, Fedorov, 2003; Zhang, Hewitt, 2003), что может затруднять оценку уровня дивергенции и искажать результат. Кроме того, скорость изменения экзонов по сравнению с интронами ниже в 1.5–2 раза (Zhang, Hewitt, 2003), но проблем с выравниванием экзонных последовательностей значительно меньше.

Проблемы определения генетической дистанции и возможности их преодоления

Результаты нашего исследования показывают, что у млекопитающих разница между видом и внутривидовой формой на уровне генома составляет 0.1–0.15%. Эти данные являются предварительными и подлежат уточнению после изучения большего числа групп, содержащих полувиды. Среди грызунов дистанции в видовом комплексе домового мыши (см. ниже) указывают на больший уровень различий, чем в случае полувидов из других отрядов. В сочетании с более высоким уровнем различий между “хорошими” видами у грызунов это говорит в пользу предположения, что единого порога для всех млекопитающих не существует и его величина зависит, возможно, от скорости мутирования в тех или иных группах. Например, у грызунов скорость мутирования на единицу времени выше, чем у других млекопитающих (Bergeron et al., 2023).

Кроме того, следует проверить предположение, что разница между внутри- и межвидовой изменчивостью лучше видна не по генетическим

дистанциям, а по временам дивергенций. Если это окажется так, то будет подтверждена гипотеза, что процесс видообразования не напрямую связан с количеством различий по первичной структуре ДНК, а зависит от какого-то другого процесса, протекающего с более или менее постоянной скоростью относительно физического времени. С другой стороны, такой вывод противоречил бы существующим данным, которые указывают на положительную корреляцию между скоростью видообразования и скоростью молекулярной эволюции (Webster et al., 2003). Этот сложный вопрос требует дальнейших исследований.

Тем не менее, даже если ранг таксона лучше соответствует времени, чем дистанции, оценка уровня генетических различий является необходимой частью анализа. Соответственно, вопрос о необходимой точности оценки дистанции остается актуальным. Принимая величину коэффициента вариации в 0.1–0.15 за минимальный уровень относительной ошибки, мы приходим к выводу, что для получения надежной оценки дистанции по ядерным генам необходимый объем данных составляет 50–100 генов длиной примерно в 1000 п.н. или для генов длиной 300 п.н. требуется 100–200 генов. Необходимость большой длины совокупного выравнивания есть следствие существенно более медленной эволюции ядерных генов. Однако при высоких значениях анцестральной эффективной численности ($N_e = 1e5$) существенным оказывается вклад ошибки, связанной с числом генов.

Тем самым результаты исследования показывают, что выборки ядерных генов числом менее 10 абсолютно недостаточны для проверки гипотезы по уровню дивергенции ядерного генома, потому что относительная ошибка очень велика (25–75%). В частности, невозможно проверить гипотезу о том, что уровень различия по митохондриальному геному соответствует уровню различий по ядерному геному, и, следовательно, отвергнуть гипотезу о заимствовании мтДНК. Этот вывод ставит предел возможностям сэнгеровского секвенирования в связи с временными и финансовыми затратами.

Итак, наши результаты по ядерным генетическим дистанциям в целом соответствуют ожиданиям в том, что дистанции между полувидами меньше дистанций между “хорошими” видами в тех же группах, при этом внутривидовые дистанции еще меньше. Основываясь на представленных данных, можно сделать следующее

заклучение: порог межвидовой/внутривидовой генетической дистанции для млекопитающих, рассчитываемой по экзонам, которые наиболее часто используются в молекулярной филогенетике этой группы, составляет около 0.15%. Данная гипотеза предполагает признание за видами *in statu nascendi* видового ранга. Следует заметить, однако, что не все “хорошие” виды имеют значительные генетические дистанции в связи с тем, что репродуктивные барьеры иногда формируются быстрее, чем накапливаются замены по геному.

Потенциальные источники ошибок

Проведенная нами работа с последовательностями, получаемыми из депонированных в GenBank геномов, может содержать в себе потенциальные ошибки. Во-первых, при небольшом числе экзонов оценка дистанции может быть искажена давлением отбора на динамику появления мутаций в их последовательностях, однако мы предполагаем, что достаточно большая выборка локусов позволяет нивелировать это влияние. Во-вторых, геномная последовательность, представленная в базах данных, псевдогаплоидна, так как обычно не учитывается, что организм реально диплоидный. Кроме того, в самих геномных данных довольно часто встречаются ошибки. Оба последних фактора приводят к тому, что генетические дистанции между близкими геномами могут оказаться завышенными. Чтобы избавиться от искажения результата, желательно, вычисляя дистанцию, вводить поправку на эти источники ошибок, рассчитывая *net*-дистанцию с учетом дистанции между геномами внутри одного таксона. В этом случае мы можем оценить внутрипопуляционную дистанцию между геномами. Однако, к сожалению, эти показатели в настоящее время практически недоступны для немодельных объектов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Приносим благодарность В.А. Горину за помощь в обзоре литературы по временам дивергенций амфибий и рептилий.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана Российским научным фондом (грант РНФ № 21-14-00007).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит экспериментальных исследований с использованием животных в качестве объектов.

ПРИЛОЖЕНИЕ

В случае быстро эволюционирующих митохондриальных последовательностей использование для симуляции распределения Пуассона не подходит. Вместо этого мы симулировали последовательности для пары таксонов на основании реалистичных эволюционных моделей в программе Indelible v.1.03 (Fletcher, Yang, 2009). Истинная эволюционная дистанция между таксонами принимала одно из пяти значений (0.15–0.10–0.07–0.049–0.0343), для каждого варианта проводили 10000 симуляций. Три позиции кодонов имели каждая свою модель (соответственно, TrN + I + G, HKY + I + G, TrN + G), скорости позиций соотносились как 0.045 : 0.01 : 0.245. Параметры моделей приведены в контрольном файле ниже, вычислялись в PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2003). Результаты отражены в табл. П1.

Контрольный файл (часть):

```
[MODEL] m1
[submodel] TrN30.0 15.0
[statefreq] 0.25 0.25 0.25 0.25
[rates] 0.5 0.5 4
[MODEL] m2
[submodel] HKY15.0
[statefreq] 0.4 0.25 0.20 0.15
[rates] 0.8 1.0 4
[MODEL] m3
[submodel] TrN12.0 36.0
```

Таблица П1. Некорректированные (*p*-)дистанции между симулированными последовательностями гена *cyt b*

Истинная дистанция	0.15	0.10	0.07	0.049	0.0343
Средняя <i>p</i> -дистанция	0.0914	0.0724	0.0551	0.0413	0.0303
CV	0.0888	0.1026	0.118	0.140	0.1628

[statefreq] 0.20 0.40 0.35 0.05
 [rates] 0.0 2.5 4
 [TREE] t1 (A:1.0, B:1.0);
 [treelength] 0.06300
 [TREE] t2 (A:1.0, B:1.0);
 [treelength] 0.01400
 [TREE] t3 (A:1.0, B:1.0);
 [treelength] 0.34300
 [PARTITIONS] p0
 [t1 m1 380]
 [t2 m2 380]
 [t3 m3 380]

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Грицышин В.А., Лисенкова А.А., Сперанская А.С., Артюшин И.В., Шефтель Б.И. и др., 2023. Мультилокусный анализ филогенетических отношений в видовом комплексе *Crociodura suaveolens sensu lato*: сравнение с митохондриальными данными // Докл. РАН. Т. 509. № 3. С. 147–154.
<https://doi.org/10.1134/S0012496623700308>
- Лисенкова А.А., Лебедев В.С., Ундрахбаяр Э., Богатырева В.Ю., Мельникова М.Н. и др., 2023. Филогения видового комплекса *Dipus sagitta* по результатам секвенирования ядерных генов // Докл. РАН. Т. 509. С. 155–160.
<https://doi.org/10.1134/S0012496623700230>
- Allio R., Delsuc F., Belkhir K., Douzery E.J., Ranwez V., Scornavacca C., 2024. OrthoMaM v12: A database of curated single-copy ortholog alignments and trees to study mammalian evolutionary genomics // Nucleic Acids Res. V. 52. № D1. P. D529–D535.
- Avise J.C., Ball R.M., 1990. Principles of genealogical concordance in species concepts and biological taxonomy // Oxford Surveys in Evolutionary Biology. V. 7 / Eds Futuyma D.J., Antonovics J. Oxford: Oxford Univ. Press. P. 45–67.
- Avise J.C., Johns G.C., 1999. Proposal for a standardized temporal scheme of biological classification for extant species // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 96. P. 7358–7363.
- Avise J.C., Liu J.X., 2011. On the temporal inconsistencies of Linnean taxonomic ranks // Biol. J. Linn. Soc. V. 102. P. 707–714.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2011.01624.x>
- Avise J.C., Mitchell D., 2007. Time to standardize taxonomies // Syst. Biol. V. 56. № 1. P. 130–133.
<https://doi.org/10.1080/10635150601145365>
- Baird S.J., Macholan M., 2012. What can the *Mus musculus musculus*/*M. m. domesticus* hybrid zone tell us about speciation? // Turkish J. Zool. V. 30. P. 459–464.
- Baker R.J., Bickham J.W., 1986. Speciation by monobrachial centric fusions // Proc. Natl. Acad. Sci. V. 83. P. 8245–8248.
<https://doi.org/10.1073/pnas.83.21.8245>
- Baker R.J., Bradley R.D., 2006. Speciation in mammals and the genetic species concept // J. Mammal. V. 87. № 4. P. 643–662.
<https://doi.org/10.1644/06-MAMM-F-038R2.1>
- Bateson W., 1909. Heredity and variation in modern lights // Darwin and Modern Science / Ed. Seward A.C. Cambridge: Cambridge Univ. Press. P. 85–101.
- Bergeron L.A., Besenbacher S., Zheng J., Li P., Bertelsen M.F., et al., 2023. Evolution of the germline mutation rate across vertebrates // Nature. V. 615. P. 285–290.
<https://doi.org/10.1038/s41586-023-05752-y>
- Bergström A., Stanton D.W., Taron U.H., Frantz L., Sinding M.H.S., et al., 2022. Grey wolf genomic history reveals a dual ancestry of dogs // Nature. V. 607. № 7918. P. 313–320.
<https://doi.org/10.1038/s41586-022-04824-9>
- Bradley B.D., Baker R.J., 2001. A test of the genetic species concept: cytochrome-*b* sequences and mammals // J. Mammal. V. 82. № 4. P. 960–973.
[https://doi.org/10.1644/1545-1542\(2001\)082<0960:ATOTGS>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1644/1545-1542(2001)082<0960:ATOTGS>2.0.CO;2)
- Butlin R.K., 2005. Recombination and speciation // Mol. Ecol. V. 14. № 9. P. 2621–2635.
- Coyne J.A., Orr H.A., 2004. Speciation. Sunderland: Sinauer Associates. 545 p.
- Dobzhansky T., 1937. Genetics and the Origin of Species. N.-Y.: Columbia Univ. Press. 364 p.
- Dobzhansky T., 1950. Mendelian populations and their evolution // Am. Nat. V. 84. № 819. P. 401–418.
- Dufresnes C., Lymberakis P., Kornilios P., Savary R., Perin N., Stöck M., 2018. Phylogeography of Aegean green toads (*Bufo viridis* subgroup): continental hybrid swarm vs. insular diversification with discovery of a new island endemic // BMC Evol. Biol. V. 18. P. 1–12.
<https://doi.org/10.1186/s12862-018-1179-0>
- Fedorova L., Fedorov A., 2003. Introns in gene evolution // Origin and Evolution of New Gene Functions / Ed. Long M. Dordrecht: Springer. 199 p.
- Feng Y.-J., Blackburn D.C., Liang D., Hillis D.M., Wake D.B., et al., 2017. Phylogenomics reveals rapid, simultaneous diversification of three major clades of Gondwanan frogs at the Cretaceous–Paleogene boundary // Proc. Natl. Acad. Sci. V. 114. № 29. P. E5864–E5870.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1704632114>
- Fletcher W., Yang Z., 2009. INDELible: A flexible simulator of biological sequence evolution // Mol. Biol. Evol. V. 26. № 8. P. 1879–1888.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msp098>
- Gavrilets S., 2003. Perspective: Models of speciation: What have we learned in 40 years? // Evolution. V. 57. № 10. P. 2197–2215.
<https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00233.x>
- Good J.M., Dean M.D., Nachma M.W., 2008. A complex genetic basis to X-linked hybrid male sterility

- between two species of house mice // *Genetics*. V. 179. P. 2213–2228.
<https://doi.org/10.1534/genetics.107.085340>
- Gorin V.A., Solovyeva E.N., Hasan M., Okamiya H., Karunaratna D.M.S.S., et al., 2020. A little frog leaps a long way: compounded colonizations of the Indian Subcontinent discovered in the tiny Oriental frog genus *Microhyla* (Amphibia: Microhylidae) // *Peer J*. V. 8. Art. e9411.
<https://doi.org/10.7717/peerj.9411>
- Grubb P., 2005. Order Artiodactyla // *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*. 3rd ed. / Eds Wilson D.E., Reeder D.M. Maryland: Johns Hopkins Univ. Press. P. 637–722.
- Hecker N., Hiller M., 2020. A genome alignment of 120 mammals highlights ultraconserved element variability and placenta-associated enhancers // *Gigascience*. V. 9. № 1. Art. giz159.
<https://doi.org/10.1093/gigascience/giz159>
- Hedges S.B., Kumar S., 2003. Genomic clocks and evolutionary timescales // *Trends Genet.* V. 19. № 4. P. 200–206.
[https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(03\)00053-2](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(03)00053-2)
- Hennig W., 1966. *Phylogenetic Systematic*. Urbana: Univ. of Illinois Press. 284 p.
- Hofman S., Spolsky C., Uzzell T., Cogălniceanu D., Babik W., Szymura J.M., 2007. Phylogeography of the fire-bellied toads *Bombina*: independent Pleistocene histories inferred from mitochondrial genomes // *Mol. Ecol.* V. 16. № 11. P. 2301–2316.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03309.x>
- Kamei R.G., Mauro D.S., Gower D.J., Bocxlaer I., van Sherratt E., et al., 2012. Discovery of a new family of amphibians from northeast India with ancient links to Africa // *Proc. Roy. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* V. 279. № 1737. P. 2396–2401.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2012.0150>
- Katoh K., Standley D.M., 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability // *Mol. Biol. Evol.* V. 30. № 4. P. 772–780.
<https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
- Lebedev V.S., Shenbrot G.I., Krystufek B., Mahmoudi A., Melnikova M.N., et al., 2022. Phylogenetic relations and range history of jerboas of the Allactaginae subfamily (Dipodidae, Rodentia) // *Sci. Rep.* V. 12. № 1. Art. 842.
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-04779-x>
- Mackiewicz P., Matosiuk M., Świsłocka M., Zachos F.E., Hajji G.M., et al., 2022. Phylogeny and evolution of the genus *Cervus* (Cervidae, Mammalia) as revealed by complete mitochondrial genomes // *Sci. Rep.* V. 12. Art. 16381.
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-20763-x>
- Mallet J., 2007. Subspecies, semispecies, superspecies // *Encyclop. Biodivers.* V. 5. P. 523–526.
- Masters J.C., Spencer H.G., 1989. Why we need a new Genetic Species Concept // *Syst. Biol.* V. 38. № 3. P. 270–279.
<https://doi.org/10.2307/2992287>
- Mayden R.L., 1997. A hierarchy of species concepts: The denouement in the saga of the species problem // *Species: the Units of Biodiversity* / Eds Claridge M.F., Dawah H.A., Wilson M.R. L.: Chapman & Hall. P. 381–424.
- Mayr E., 1942. *Systematics and the Origin of Species*. N.-Y.: Columbia Univ. Press. 334 p.
- Mayr E., 1969. The biological meaning of species // *Biol. J. Linn. Soc.* V. 1. № 3. P. 311–320.
- Meredith R.W., Janecka J.E., Gatesy J., Ryder O.A., Fisher C.A., et al., 2011. Impacts of the Cretaceous Terrestrial Revolution and KPg extinction on mammal diversification // *Science*. V. 334. № 6055. P. 521–524.
<https://doi.org/10.1126/science.1211028>
- Muller H.J., 1939. Reversibility in evolution considered from the standpoint of genetics // *Biol. Rev.* V. 14. № 3. P. 261–280.
- Nei M., 1976. Mathematical models of speciation and genetic distance // *Population Genetics and Ecology* / Eds Karlin S., Nevo E. N.-Y.: Academic Press. P. 723–765.
- Poyarkov N.A., Orlova V.F., Chirikova M.A., 2014. The mitochondrial phylogeography and intraspecific taxonomy of the Steppe Racerunner, *Eremias arguta* (Pallas) (Lacertidae: Sauria, Reptilia), reflects biogeographic patterns in Middle Asia // *Zootaxa*. V. 3895. № 2. P. 208–224.
- Queiroz K., de, Gauthier J., 1992. Phylogenetic taxonomy // *Annu. Rev. Ecol. Syst.* V. 23. P. 449–480.
- Raspopova A.A., Lebedev V.S., Searle J.B., Bannikova A.A., 2023. Discordant phylogenies in the *Sorex araneus* group (Soricidae, Mammalia): Footprints of past reticulations? // *Zool. Scr.* V. 52. № 4. P. 331–344.
<https://doi.org/10.1111/zsc.12590>
- Reis M., dos, Inoue J., Hasegawa M., Asher R.J., Donoghue P.C., Yang Z., 2012. Phylogenomic datasets provide both precision and accuracy in estimating the timescale of placental mammal phylogeny // *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B. Biol. Sci.* V. 279. № 1742. P. 3491–3500.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2012.0683>
- Salvi D., Pinho C., Mendes J., Harris D.J., 2021. Fossil-calibrated time tree of *Podarcis* wall lizards provides limited support for biogeographic calibration models // *Mol. Phyl. Evol.* V. 161. Art. 107169.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107169>
- Schilthuizen M., 2000. Dualism and conflicts in understanding speciation // *BioEssays*. V. 22. № 12. P. 1135–1141.
- Schöneberg Y., Winter S., Arribas O., Nicola M.R., Master M., et al., 2023. Genomics reveals broad hybridization in deeply divergent Palearctic grass and

- water snakes (*Natrix* spp.) // *Mol. Phyl. Evol.* V. 184. Art. 107787.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2023.107787>
- Simpson G.G., 1943. Criteria for genera, species, and subspecies in zoology and paleontology // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* V. 44. № 2. P. 145–178.
- Singh B.N., 2021. Taxonomic status of *Drosophila pallidosa*: A species *in statu nascendi* // *J. Sci. Res.* V. 65. № 1. P. 85–87.
- Swofford D.L., 2003. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). v. 4.0b10. Sunderland: Sinauer Associates.
- Taverner P.A., 1920. A test of the subspecies // *J. Mammal.* V. 1. № 3. P. 124–127.
- Veith M., Kosuch J., Vences M., 2003. Climatic oscillations triggered post-Messinian speciation of Western Palearctic brown frogs (Amphibia, Ranidae) // *Mol. Phyl. Evol.* V. 26. № 2. P. 310–327.
- [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00324-X](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00324-X)
- Webster A.J., Payne R.J.H., Pagel M., 2003. Molecular phylogenies link rates of evolution and speciation // *Science.* V. 301. № 5632. P. 478.
<https://doi.org/10.1126/science.1083202>
- Yang B.T., Zhou Yu., Min M.S., Matsui M., Dong B.J., et al., 2017. Diversity and phylogeography of Northeast Asian brown frogs allied to *Rana dybowskii* (Anura, Ranidae) // *Mol. Phyl. Evol.* V. 112. P. 148–157.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.04.026>
- Zhang D.X., Hewitt G.M., 2003. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects // *Mol. Ecol.* V. 12. № 3. P. 563–584.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01773.x>
- Zhang P., Wake D.B., 2009. Higher-level salamander relationships and divergence dates inferred from complete mitochondrial genomes // *Mol. Phyl. Evol.* V. 53. № 2. P. 492–508.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.07.010>

Genetic species concept as applied to multilocus nuclear data

V. S. Lebedev^{a, *}, S. A. Kosushkin^{b, **}, A. A. Bannikova^{c, ***}

^aMoscow State University, Zoological Museum
 Bolshaya Nikitskaya, 2, Moscow, 125009 Russia

^bEngelhardt Institute of Molecular Biology, RAS
 Vavilova, 32, Moscow, 119991 Russia

^cMoscow State University, Department of Vertebrate Zoology
 Leninskiye Gory, 1, Bld. 12, Moscow, 119234 Russia

*E-mail: wslebedev@mail.ru

**E-mail: toki@mail.ru

***E-mail: hylomys@mail.ru

Using the example of multiple species groups and species complexes, it is empirically shown that the resolving power of a set of 10–20 nuclear loci is insufficient for the study of their genetic differentiation. For the adequate analysis of phylogenetic relationships (including reticulation events) and assessment of divergence levels within such groups of closely related species, it is necessary to multiply the number of nuclear loci and transit to high-throughput next-generation deep sequencing. However, the question of the genomic coverage required for the purposes of such study remains open. In other words, exactly how many genes in a set are needed to measure the genetic distance resolving the relationships between branches on the phylogenetic tree reconstruction of a complex of closely related species? We chose protein-coding sequences as a standard set of markers. Distances for 160–180 genes with a combined length of 270 000–300 000 bp were used to estimate the divergence levels of closely related mammalian species. In most cases, the interspecific distances are within the 0.15–0.75% range (median of 0.33%). The range of distances between semi-species is 0.12–0.28% (median of 0.14%). Intraspecific distances are always lower than 0.11%. Rodents show higher values of interspecific distances, 0.25–2.3% (median of 0.72%); distances between half-species range from 0.1 to 0.35%. To determine the number of nuclear loci and their combined length sufficient for the calculation of a genetic distance, we use simulations based on a model that included the following parameters: the average rate of gene evolution, its dispersion, and the level of polymorphism in the modern and ancestral populations. We performed a preliminary analysis of the distribution of loci evolution rates among mammalian taxa based on the data on ~50 thousand nuclear markers. It is shown that a relative error of 10–15%, comparable to the same value for mitochondrial distances between close species based on individual genes (approximately 1000 bp in length), is achieved using approximately 100 loci of 300 bp in length. Based on these data, we propose the following working hypothesis: the threshold of interspecific/intraspecific genetic distance calculated on the basis of the exons most frequently used in mammalian molecular phylogenetics is approximately 0.15%. This hypothesis assumes a species rank for the forms *in statu nascendi*. It should be noted that not all “good” species have significant genetic distances, since in some cases reproductive barriers form faster than substitutions accumulate in the genome.

УДК 57.042; 576.385

РОЛЬ МИКРОЯДЕР В ЭЛИМИНАЦИИ ХРОМАТИНА

© 2024 г. Ю. Р. Ахмадуллина^{1, 2, *}, П. О. Хоменко¹

¹Уральский научно-практический центр радиационной медицины
Федерального медико-биологического агентства

ул. Воровского, 68А, Челябинск, 454141 Россия

²Челябинский государственный университет

ул. Братьев Кашириных, 129, Челябинск, 454001 Россия

*E-mail: akhmadullina.yul@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.10.2023 г.

После доработки 22.02.2024 г.

Принята в печать 03.08.2024 г.

Микроядра представляют собой внеядерные хроматиновые компартменты, отделенные от основного ядра и окруженные собственной ядерной оболочкой. Долгое время считалось, что микроядра являются конечным этапом патологических процессов в клетке, и поэтому они использовались только в качестве биомаркеров влияния генотоксических факторов, а также нестабильности генома при различных заболеваниях. В настоящее время показано, что микроядра могут участвовать в процессе жизнедеятельности клеток, оказывать воздействие на ядерный геном и приводить к изменениям физиологии клеток и тканей. Известно, что образование микроядер является одним из этапов избирательной элиминации хроматина в онтогенезе некоторых видов растений и животных. При этом на уровне генома происходит узнавание участков, которые подлежат маркировке и удалению из ядра клеток; часто этот процесс сопровождается модификациями с образованием гетерохроматина, изменением конденсации хромосом и их положения в ядре. Процессы, наблюдаемые при избирательной и неизбирательной элиминации хроматина, во многом схожи. Поскольку роль микроядер в функционировании клеток еще плохо изучена, а состав микроядер и способы элиминации хроматина могут влиять на их роль в развитии патогенеза, это подчеркивает важность дополнительных исследований в этой области.

DOI: 10.31857/S0044459624040026, EDN: UTXEZI

Микроядра представляют собой внеядерные хроматиновые компартменты, отделенные от основного ядра и окруженные собственной ядерной оболочкой. Согласно современным представлениям, микроядра являются следствием элиминации хроматина из ядра клетки посредством различных механизмов.

Длительное использование микроядерного теста в целях токсикологического скрининга закрепило за ними статус биомаркеров генотоксического действия факторов различной природы. На основании убеждения о том, что ядро клетки посредством микроядер навсегда теряет хроматин, считалось, что образование микроядер, как правило, приводит к гибели клетки. Кроме гибели клетки микроядра часто связывают с такими неблагоприятными явлениями, как анеуплоидия, хромосомные аберрации, нарушения

кариогенеза, или с общим термином “нестабильность генома” (Hayashi, 2006; Fenech et al., 2011).

В последнее время эта парадигма постепенно пересматривается, поскольку становится очевидным, что микроядра не всегда являются конечным этапом патологических изменений, а могут быть активными участниками процессов изменения ядерного генома, например, в злокачественных клетках. Кроме того, микроядра образуются спонтанно, без очевидного влияния генотоксических и цитотоксических веществ, и, более того, являются биомаркерами клеточного старения, т.е. их образование является опосредованным в результате возраст-зависимых изменений хроматина в ядре клетки (Guo et al., 2019; Bao et al., 2023).

Известно, что у некоторых организмов образование микроядер связано с процессом

избирательной (запрограммированной) элиминации хромосомных фрагментов или целых хромосом, что необходимо для сохранения правильной работы генетического аппарата в ходе онтогенеза (Dedukh, Krasikova, 2022). У многоклеточных организмов процесс избирательной элиминации хроматина происходит на ранних стадиях развития у предшественников соматических клеток, а у простейших — во время формирования макронуклеуса. Под воздействием же генотоксических и цитотоксических факторов на клетку происходят комплексные изменения, которые включают повреждение ДНК, изменения структуры хроматина, дисфункцию белков, обеспечивающих поддержание функционирования хроматина, репарационные процессы и деление клеток. Эти изменения также приводят к элиминации хроматина, но это уже не связано с некой онтогенетической программой и называется неизбирательной (незапрограммированной) элиминацией хроматина. В результате такой элиминации хроматина также образуются микроядра, которые не всегда деградируют, а сохраняются в клетке и прямо или опосредованно участвуют в различных патологических процессах (Кисурина-Евгеньева и др., 2016).

Избирательная и неизбирательная элиминации хроматина изучаются в контексте различных научных задач и объектов исследования. Эти процессы, хотя направлены на разные цели, могут обнаруживать схожие черты, обусловленные общими биологическими закономерностями, такими как пластичность и консервативность генома. В исследованиях молекулярных механизмов избирательной элиминации хроматина накоплен значительный материал, раскрывающий механизмы модификации ядерного генома. Этот процесс направлен на удаление последовательностей ДНК, которые больше не требуются для нормального функционирования клеток и тканей, таких как некоторые гены, тандемные повторы, мобильные генетические элементы, целые хромосомы и даже геномы. В то же время молекулярные механизмы неизбирательной элиминации хроматина менее изучены, накоплен обширный, но разрозненный материал. Это подчеркивает необходимость более глубокого исследования этой области.

Таким образом, одним из важных аспектов является изучение современной концепции микроядер как структур, играющих важную роль в процессе элиминации хроматина. Предмет данной статьи — проблема образования

микроядер, исследование их функциональной активности, а также закономерностей, регулирующих попадание хроматина в микроядра.

ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ЭЛИМИНАЦИЯ ХРОМАТИНА

Важным аспектом исследования микроядер является разделение между избирательной и неизбирательной элиминацией хроматина. Избирательная элиминация хроматина связана с сохранением генетической целостности и функции клеток и тканей, в то время как неизбирательная элиминация обычно происходит в ответ на генотоксические и цитотоксические воздействия.

Подробный анализ современных представлений об избирательной элиминации хроматина систематизирован в обзоре Дедух и Красиковой (Dedukh, Krasikova, 2022). Несмотря на то, что механизмы избирательной элиминации генетического материала различны, на уровне генома происходит “понимание” того, какие участки подлежат маркировке и удалению. Например, хорошо изучено, что у инфузорий элиминация генетического материала сопровождается эпигенетической маркировкой. Большую роль при этом играют короткие некодирующие РНК, которые у класса инфузорий *Oligohymenophorea* привлекают гистоновые метилтрансферазы к участкам, которые должны быть удалены. Это приводит к образованию гетерохроматина, который вырезается белками *piggyBac*, относящимися к классу транспозаз (Mochizuki, 2010; Fang et al., 2012).

У других организмов особая роль эпигенетических модификаций и некодирующих РНК в маркировке геномных последовательностей, которые должны быть сохранены или элиминированы, изучена недостаточно. Тем не менее особенности изменения структуры хроматина, которые сопровождают запрограммированную элиминацию, описаны и у других видов. Чаще всего элиминация хроматина также связана с его гетерохроматизацией и аномальной конденсацией. Например, у *Petromyzon marinus* в элиминированных районах хромосом накапливаются гетерохроматиновые модификации (5meC, H3K9me3), а затем и в микроядрах, которые в последствии деградируют (Timoshevskiy et al., 2016).

Если говорить о механизмах избирательной элиминации целых хромосом (чаще это половые или В-хромосомы), то их удаление обычно

опосредуется изменениями в области центромеры, например, связанными с утерей белка CENH3. Это приводит к неспособности хромосомы прикрепиться к микротрубочкам веретена деления и к закономерному отставанию ее в анафазе. Так, например, происходит элиминация В-хромосомы у козлятника (*Aegilops speltoides*) (Ruban et al., 2020). Элиминация хромосом опосредуется эпигенетическими модификациями также и у бенгальских зябликов (*Lonchura striata domestica*): хромосома, ограниченная зародышевой линией перед элиминацией, накапливает различные гистоновые модификации на разных стадиях мейоза, которые приводят к нарушению работы кинетохора и центромеры. В результате элиминации образуется микроядро с признаками высокой фрагментации ДНК (Priore, Pigozzi, 2014).

У чешуекрылых насекомых элиминации предшествует гетерохроматизация (хромосомы накапливают эпигенетические маркеры, характерные для гетерохроматина, такие как H3K9me3, H4K20me3 и белки, связанные с HP1), которая происходит у них на ранних стадиях развития. Последующее удаление может происходить во время раннего развития самцов или во время сперматогенеза (Prantera, Bongiorno, 2012). Похожий механизм обнаружен также у *Sciara ocellaris*. При этом элиминация сопровождается аномальным дефосфорилированием H3S10, что приводит к неспособности отцовских хромосом к сегрегации (Greciano, Goday, 2006).

У межвидовых гибридов растений хроматин, предназначенный для элиминации, пространственно разделен в интерфазном ядре и локализуется на ядерной периферии (Gernand et al., 2006). У насекомых из р. *Sciara* элиминация сверхнормативных и отцовских половых хромосом часто происходит путем отпочкования микроядер в зародышевых клетках (Staiber, 2006). В половых клетках одна из двух отцовских Х-хромосом и некоторые другие хромосомы находятся в полуконденсированном состоянии, соединяются с ядерной мембраной и выводятся из ядра в цитоплазму путем формирования почки. Авторы (Perondini, Ribeiro, 1997) на микрофотографиях, выполненных с помощью электронной микроскопии, показывают, что в элиминации хроматина активно участвует ядерная мембрана, эндоплазматическая сеть (ЭПС) с рибосомами, митохондрии, актиновые филаменты. Для процесса элиминации синтезируется новая ядерная мембрана, в которую и помещается хроматин.

ОБРАЗОВАНИЕ МИКРОЯДЕР ПРИ НЕИЗБИРАТЕЛЬНОЙ ЭЛИМИНАЦИИ ХРОМАТИНА

В литературе описаны три общие причины образования микроядер при незапрограммированной элиминации хроматина: первая связана с отставанием ацентрических фрагментов хромосом, вторая — с отставанием хромосом или хроматид с центромерой, третья — с почкованием ядра. В настоящее время активно исследуются молекулярные причины этих процессов.

Считается, что ацентрические фрагменты хромосом образуются в результате невозстановленных двунитевых разрывов ДНК при действии кластогенных факторов (например, некоторые химические соединения и ионизирующая радиация). Разрывы ДНК могут быть связаны с процессом репликации, что подтверждают исследования, которые показали, что различные нарушения факторов репликации и репарации ДНК приводят к образованию микроядер с ацентрическими фрагментами (Bartsch et al., 2017; Bailey et al., 2019; Leimbacher et al., 2019). Также показано, что ацентрические фрагменты образуются в результате разрывов полицентрических хромосом, что приводит к образованию микроядер и/или незащищенных концов хроматид. Незащищенные концы хроматид подвержены различным процессам реорганизации и могут запускать циклы “разрыв—слияние—мост” (BFB-циклы, Breakage-fusion-bridge cycle), которые также приводят к образованию микроядер (этот процесс рассматривается как один из механизмов хромосомной нестабильности злокачественных клеток) (Gisselsson et al., 2001; Umbreit et al., 2020).

Нормальная сегрегация хромосом обусловлена правильной конденсацией хромосом и разделением сестринских хроматид. К факторам, ответственным за отставание хромосом, можно отнести неисправные центромеры, кинетохоры, дефекты в сборке и функционировании centrosом и микротрубочек. Например, при дефектах кинезин-связывающих белков KIF18A и KIF15 происходят нарушения движения и выравнивания митотических хромосом, уменьшение длины веретена деления, что в конечном счете выражается в нарушении сегрегации хромосом и образовании микроядер (Malaby et al., 2019). В другом исследовании сообщалось о повышении частоты микроядер при истощении деубиквитирующего фермента Cezanne/OTUD7B, участвующего в контроле сегрегации

хромосом путем регулирования активности анафаза-стимулирующего комплекса / циклосо-мы (APC/C) (Bonacci, Emanuele, 2019).

В настоящее время наиболее изученными являются вопросы функционирования веретена деления в контексте врожденного генетического заболевания — первичной микроцефалии. Первичная микроцефалия — это аутосомно-рецессивное заболевание, сопровождающееся уменьшением объема головного мозга ввиду различных мутаций в генах, ответственных за конденсацию хромосом и организацию веретена деления нейрогенных клеток (так называемые *МСПН* гены) (Faheem et al., 2015). В моделях микроцефалии показано, что клетки характеризуются преждевременной конденсацией хромосом, повышенной анеуплоидией и частотой микроядер, что является следствием нарушения молекулярных механизмов деления клеток (Pang et al., 2022).

Интересными являются результаты исследований, показывающие, что в процессе правильной сегрегации хромосом важную роль играют лизосомы. Умеренная активность лизосомальных ферментов обеспечивает правильную работу целого набора белков, участвующих в изменениях упаковки хроматина и его движения в процессе клеточного цикла, например, на уровне деградации гистона H3 или компонентов когезинового механизма (Hämälistö et al., 2020; Almacellas et al., 2021).

Исследования на культурах клеток показывают, что при формировании единого ядра из набора индивидуализированных митотических хромосом важную роль играет семейство белков BAF. Белки семейства BAF взаимодействуют с хроматином и белками внутренней оболочки ядра (LEM-домены), что способствует тому, что отдельные хромосомы окружаются ядерной оболочкой (Боголюбова, Боголюбов, 2023). Как показало исследование Самвера с соавт. (Samwer et al., 2017), димеры BAF образуют плотный слой на поверхности хроматина, который ограничивает доступ других клеточных компонентов внутрь объема хроматина. Это позволяет хроматину функционировать как единому целому и стимулирует образование единого ядра. В мутантных клетках по белку BAF наблюдается образование нескольких ядер, которые могут распознаваться как микроядра.

Также показано, что на отстающих хромосомах с высокой частотой нарушается правильная сборка ядерной оболочки (например, отсутствие ламина B) (Okamoto et al., 2011). В литературе обсуждаются гипотезы, объясняющие неполную

сборку микроядерной оболочки, например, на основе сигнальных каскадов, контролируемых Aurora B или при участии микротрубочек веретена деления, которые предположительно ингибируют рекрутирование неосновных белков ядерной оболочки (Maiato et al., 2015; Liu, Pellman, 2020), но точные механизмы пока не ясны.

Почкование интерфазных ядер с последующим образованием микроядер является плохо изученным процессом, особенно в клетках человека (Shimizu et al., 1998). Образование микроядер почкованием неоднократно предсказывалось на основании обнаружения ядерных почек или выпячиваний в цитогенетических препаратах и близкого сходства некоторых из них с микроядрами (Fenech, 2007). Известно, что таким образом образуются микроядра из ДМ-хромосом (Double minute chromosome). ДМ-хромосомы — это внехромосомные элементы, представляющие собой многократно амплифицированные копии генов (зачастую онкогенов), которые связывают с результатом геномной нестабильности (Utani et al., 2011). Во время G1-фазы деления клетки ДМ-хромосомы располагаются на периферии ядра, и при наличии разрывов или нестабильности ламины образуется почка путем выпячивания ядерной мембраны (Itoh, Shimizu, 1998). Часто такие микроядра не содержат ядерную ламину или имеют дефекты в ней, что влияет на их способность к экспрессии. Отметим, что ДМ-микроядра могут образовываться и в другие фазы митоза.

Помимо амплификации онкогенов, отпочкование хроматина может происходить в результате образования большого числа двухцепочечных разрывов, например, при воздействии ионизирующего излучения. Показано, что хроматин с двухцепочечными разрывами становится подвижным и часто перемещается на периферию ядра для репарации (Oza et al., 2009; García Fernández, Fabre, 2022). Предположительно, если репарация хроматина невозможна, он удаляется из ядра путем образования микроядер (Medvedeva et al., 2007).

Результаты исследований на дрозофиле и клетках мышей указывают на возможное воздействие белков D1, ProD и HMGA1 на процесс ядерного почкования. Эти белки регулируют правильную организацию прицентромерных участков ДНК в хромоцентры. Аномалии в функции D1/ProD/HMGA1 приводят к образованию микроядер посредством ядерного

почкования, сопровождаясь значительным (иногда 10-кратным) увеличением повреждений ДНК в этих микроядрах (Jagannathan et al., 2018, 2019).

Изучение механизмов образования микроядер посредством почкования интерфазного ядра является актуальной темой, поскольку часто наблюдается в стареющих клетках (Ivanov et al., 2013; Robijns et al., 2018).

РОЛЬ МИКРОЯДЕР В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ КЛЕТОК

В ряде случаев микроядра являются активными структурами, в которых могут проходить процессы репликации, репарации и транскрипции. Как показывают исследования, вероятнее всего, данные процессы зависят от интактности ядерной оболочки микроядра и наличия ядерного порового комплекса, т.е. важна возможность осуществлять ядерно-цитоплазматический транспорт (Robijns et al., 2018). Также имеется предположение, что если хромосома или ее фрагмент содержит в достаточном количестве участки связывания с ядерной ламиной (LADs) и ядерным поровым комплексом, то микроядро будет иметь нормальную ядерную оболочку (Кисурина-Евгеньева и др., 2016; Chang et al., 2022).

Клетки, содержащие микроядра, могут элиминироваться путем апоптоза, что является важным для тканей с высоким регенерационным потенциалом, поскольку предотвращает деление аберрантных клеток (Decordier et al., 2002). На делящихся культурах клеток человека при воздействии генотоксических веществ показано, что в клетках с микроядрами снижается пролиферативная активность во второй–пятой клеточной генерации. При этом клетки с микроядрами могут сохраняться в культуре несколько клеточных циклов (до 75–89%), хотя они и подвержены изменениям. В клетках с микроядрами, которые вступили в митоз, часто наблюдается слияние ядер, мультиполярный митоз или гибель клеток после митоза (по сравнению с клетками без микроядер). Включение микроядер обратно в ядро клетки наблюдается с частотой от 10 до 24% (Reimann et al., 2020, 2023). Механизмы, которые позволяют микроядрам возвращаться в ядерный геном, пока остаются недостаточно изученными. В работе Варески с соавт. (Warecki et al., 2020) показано, что в нейробластах дрозофилы запаздывающие хромосомы в телофазе могут реинтегрироваться в ядро через каналы в ядерной оболочке. Этот процесс

связан с образованием единой ядерной мембраны вокруг каждой хромосомы и зависит от работы семейств белков ESCRT-III совместно с BAF (Halfmann et al., 2019).

В настоящее время накопились доказательства того, что микроядра являются активатором нестабильности генома. В результате того, что ядерная оболочка микроядер часто собирается с нарушениями, хроматин микроядер характеризуется нарушениями репликации ДНК (Crasta et al., 2012; Liu, Pellman, 2020). Также сообщается, что в клетках человека хромосомы микроядер накапливают сниженные уровни важных факторов сборки кинетохор (MAD1, Auroga B и др.) в течение нескольких делений, что приводит к повторяющейся неправильной сегрегации этих хромосом в течение нескольких клеточных циклов (Soto et al., 2018). Одним из вариантов нестабильности генома является хромотрипсис, который наблюдается при различных видах рака и врожденных заболеваниях. Современная модель хромотрипсиса предполагает участие в этом процессе микроядер, в которых как раз и происходит фрагментация хроматина в процессе нарушенной репликации и лигирование фрагментов с образованием множественных перестроек в процессе негомологичной репарации (Zhang et al., 2015).

В литературе обсуждается связь микроядер с ретротранспозонной активностью. Например, в работе Шимизу с соавт. (Shimizu et al., 2019) показано, что в гибридных клетках человека и мышей микроядра, помимо амплифицированных онкогенов, содержат Alu-фрагменты. В ряде работ изучается влияние гипометилирования LINE-1 на образование центромер-положительных микроядер (Cho et al., 2015b, 2019). Это интересное направление исследований, поскольку активность транспозонов обеспечивает нестабильность генома и связана с многими онкологическими заболеваниями.

Микроядра, имеющие разрывы ядерной оболочки, могут восприниматься как “цитоплазматическая” ДНК, что приводит к их обнаружению циклической гуанозинмонофосфатной (GMP) аденозинмонофосфатной (AMP) синтазой (сGAS). Через ряд промежуточных стадий активируются врожденные иммунные реакции (ключевой белок стимулятор генов интерферонов — STING), что приводит к выработке интерферонов 1 типа (IFN) и провоспалительной продукции цитокинов, а также к усиленной экспрессии лигандов естественных клеток-киллеров и CD8+ Т-лимфоцитов (Chen et al., 2016;

Mackenzie et al., 2017; Li, Chen, 2018). По литературным данным, активация cGAS также связана с клеточной гибелью и аутофагией микроядер (Liu et al., 2022).

Также считается, что активация пути cGAS-STING через микроядра способствует клеточному старению и связанному со старением секреторному фенотипу (senescence associated secretory phenotype, SASP), что приводит к развитию хронического воспаления (Oliveira Mann, Kranzusch, 2017; Ablasser, Chen, 2019). Такие исследования показывают, что, поскольку микроядра стимулируют врожденный иммунитет, они являются ключевыми компонентами, участвующими в инициировании клеточных и генетических изменений, связанных со старением и хроническим воспалением (Fenech et al., 2019; Kirsch-Volders et al., 2020).

До сих пор остается неясным, что именно влияет на функционирование клетки с микроядрами. Почему в одних случаях при элиминации хроматина из ядра в клетке активируются механизмы гибели или аутофагии, а в других случаях становится возможным выживание клетки, хромотрипсис и стимуляция хронического воспаления. С этой точки зрения важным является изучение состава микроядер, поскольку хроматин прямо или косвенно может влиять на образование ядерного порового комплекса и взаимодействие микроядра с ядром клетки.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА МИКРОЯДЕР ПРИ ВЛИЯНИИ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Химические вещества, обладающие генотоксическим эффектом, способны приводить к незапрограммированной элиминации хроматина. К наиболее изученным в этом отношении относятся цитостатические препараты. Цитостатики различаются по химической структуре и механизмам действия, но с точки зрения их генотоксического эффекта их можно разделить на кластогенные (циклофосфамид, карбоплатин, доксорубицин, блеомицин и митомицин) и анеугенные (винкристин и винбластин) (Sgura et al., 1997; Arsoy et al., 2009). Считается, что кластогенные цитостатики вызывают фрагментацию хроматина, а анеугенные вызывают нарушение сборки веретена деления тем, что ингибируют полимеризацию субъединиц тубулина в микротрубочках (Кисурина-Евгеньева и др., 2006).

Чтобы установить, какие хромосомы или их участки включаются в состав микроядер,

применяется метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (Fluorescence *in situ* hybridization, FISH). Для анализа могут быть использованы красители к каким-то конкретным хромосомам или для всего хромосомного набора (метод mFISH).

Для изучения особенностей образования микроядер в одной из работ (Novhannisyan et al., 2012) проводилась флуоресцентная гибридизация *in situ* с использованием панцентромерных и хромосомоспецифических зондов для хромосом 3, 4, 6, 7, 9, 16, 17, 18 и X в лейкоцитах человека, обработанных митомицином С. Митомицин С представляет собой противоопухолевый антибиотик, применяемый в лечении злокачественных заболеваний. Согласно результатам данной работы (Novhannisyan et al., 2012), все исследуемые хромосомы оказались вовлечены в образование микроядер. Корреляции между интерфазным положением, размером и плотностью генов изученных хромосом и их элиминацией в микроядра обнаружено не было. Тем не менее было показано, что в микроядра чаще попадали хромосомы 9 и 16 или их хромосомные фрагменты. В другой работе (Fauth et al., 2000), где сравнивался эффект митомицина и диэтилстильбэстрола (ДЭС), который раньше применялся для лечения злокачественных заболеваний половых желез, было выявлено, что митомицин вызывает деконденсацию перичентромерного гетерохроматина хромосом 1 и 9. ДЭС, в свою очередь, деконденсацию хроматина не вызывал, и в составе микроядер чаще встречали материал из хромосом 14, 19 и 21. Авторы предполагают, что гетерохроматиновый участок в составе хромосомы 9 может быть специфической мишенью для митомицина С. Другой противоопухолевый антибиотик — блеомицин, который, как и митомицин, принадлежит к группе антрациклинов, не увеличивает частоту включения 1, 9, 16-й хромосом, и частота включения фрагментов этих хромосом коррелирует с их размерами (Novhannisyan et al., 2016).

Методом mFISH на предмет состава микроядер исследовалось не только влияние цитостатиков, но и других препаратов. Антигерпетический препарат идоксуридин обладает кластогенным эффектом и в концентрации 40 мкг/мл увеличивает число микроядер в 12 раз. В одной из работ (Fauth, Zankl, 1999) отмечается, что в клетках, обработанных идоксуридином, повышается частота микроядер, содержащих хромосомы 1 и особенно 9, по сравнению с микроядрами контрольных клеток. При этом в составе

микроядер были выявлены в основном гетерохроматиновые участки, а метафазный анализ показал низкое число разрывов в выше указанных хромосомах, но высокую степень деконденсации на хромосоме 9q12 (28–79%) и в меньшей степени на 1q12 (8–21%) (Tommerup, 1984).

Деконденсацию хромосом также могут вызывать активаторы/ингибиторы метилирования ДНК. Например, 5-азациитидин вызывает значительную деконденсацию гетерохроматиновых районов хромосом 1, 9, 15, 16 и Y, что коррелирует с увеличением образования микроядер (Guttenbach, Schmid, 1994). Другие аналоги цитидина (5-фтор-2'-дезоксцитидин, 5,6-дигидро-5-азациитидин, 6-азациитидин) также способны индуцировать образование микроядер (Stopper et al., 1995). Согласно данным работы Фаут и Шертана (Fauth, Scherthan, 1998), обработка культур лимфоцитов 5-азациитидином вызывает преимущественное исключение материала хромосом 1 (34%), 9 (32%) и 16 (20%) в микроядра. Повышенное содержание этих же хромосом в микроядрах наблюдается и при ICF-синдроме. Синдром ICF — это редкое заболевание, при котором у пациентов наблюдается недоконденсация гетерохроматиновых блоков хромосом 1, 9 и 16 и различные иммунодефицитные состояния (Stacey et al., 1995). Таким образом, нарушение конденсации гетерохроматина не только увеличивает частоту образования микроядер, но и коррелирует с частотой включения этих хромосом в их состав.

В работе Телез с соавт. (Télez et al., 2010) антигипертензивный препарат атенолол вызывал образование микроядер с преимущественным вовлечением хромосом 7, 11, 17 и X. Авторы связывают это с феноменом хрупкости хромосом. Хромосомные хрупкие сайты представляют собой участки хромосом, которые особенно чувствительны к физическому или химическому воздействию и легко ломаются. В молекулярном смысле это области хромосом, которые содержат повторяющиеся нуклеотидные последовательности (центромеры, теломеры), триплетные повторы ДНК (в гене *FMRI*), а также гетерохроматиновые области. Результаты этого исследования свидетельствуют о корреляции между хромосомной хрупкостью и содержанием в микроядрах 7-й и 11-й хромосом у пациентов.

Частоту образования микроядер может повысить не только воздействие генотоксических веществ, но и, например, недостаток фолатов в организме. Фолиевая кислота — важный витамин

группы В, участвующий в фолатном цикле, в результате которого образуется S-аденозилметионин (SAM) — ключевой донор метила для метилтрансфераз ДНК. Таким образом, фолиевая кислота имеет огромное значение для метилирования ДНК. Также фолиевая кислота является источником метильных групп, необходимых для синтеза dTMP (дезокситимидинмонофосфат) из dUMP (дезоксидиуринмонофосфат). При недостатке dTMP при репликации или репарации будет происходить избыточное включение урацила в ДНК. Существуют многочисленные исследования, показывающие связь между уровнем фолатов и образованием микроядер (Lindberg et al., 2007; Bull et al., 2012; Lu et al., 2012). Применение фолатов у лиц с сахарным диабетом 2-го типа показало достоверное снижение частоты клеток с микроядрами (Lazalde-Ramos et al., 2012). Образование микроядер при недостатке фолатов может опосредоваться нарушениями метилирования ДНК в области центромеры, что способствует деконденсации хроматина. В свою очередь, деконденсация центромерных районов приводит к неразрешенным соединениям Холидея, разрывам хромосом, транслокациям, неправильной сегрегации хромосом (Sawyer et al., 1995; Tuck-Muller et al., 2000).

Есть вещества, механизм действия которых не связан с нарушением конденсации хромосом. К таким веществам можно отнести бензол. При исследовании действия бензола и его метаболитов было отмечено влияние на хромосомы группы C и X-хромосому (Holecková et al., 2004). Эта закономерность частично подтверждается и в других работах, посвященных исследованию генотоксичности бензола. Например, в другой работе (Zhang et al., 1998) *in vitro* обработка метаболитами бензола и гидрохиноном лимфоцитов человека вызвала анеуплоидию хромосом 5 и 7. В работе Чуна с соавт. (Chung et al., 2002) методом FISH окраски 7-й и 8-й хромосом лимфоцитов, обработанных 1,2,4-бензентриолом, число анеуплоидных клеток росло с увеличением концентрации вещества, при этом хромосома 8 была более чувствительна к действию бензотриола, чем хромосома 7. Авторы предполагают, что, возможно, это связано с пространственным расположением хромосом и их восприимчивостью к эффекту нарушения правильной работы веретена деления.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА МИКРОЯДЕР ПРИ ВЛИЯНИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Среди физических факторов, ведущих к образованию микроядер, огромное число работ посвящено действию ионизирующего излучения (ИИ).

Известно, что ИИ приводит к образованию большого числа двухцепочечных разрывов ДНК, которые связывают с образованием различных хромосомных aberrаций (ХА) (Pfeiffer et al., 2000; Iliakis et al., 2004). Тем не менее не все ХА приводят к образованию микроядер, но, несмотря на это, микроядра являются хорошим маркером радиационно-индуцированной нестабильности хромосом (Terradas et al., 2009). Количество радиационно-индуцированных микроядер коррелирует с дозой излучения и зависит от качества излучения при остром воздействии (Tewari et al., 2016). Считается, что взаимосвязь между увеличением частоты микроядер и увеличением дозы острого облучения (0–4 Гр) соответствует линейно-квадратичной модели (Lee et al., 1994; IAEA, 2011). При сравнении действия гамма- (^{137}Cs) и рентгеновского излучений в дозах от 0 до 3 Гр с шагом в 0.3 Гр было показано, что частота микроядер увеличивается с ростом дозы по линейно-квадратичной зависимости, коэффициенты которой практически совпадают для этих типов излучений (Barbu et al., 2019). По мнению большинства исследователей, в целях биологической дозиметрии использование микроядерного теста ограничено областью низких доз (до 0.1–0.2 Гр) ввиду широкой вариабельности фоновых значений частоты встречаемости клеток с микроядрами (IAEA, 2011).

Актуальным вопросом в настоящее время является радиочувствительность хроматина при воздействии малых доз или излучений с малой интенсивностью облучения (Morgan, Bair, 2013). Результаты некоторых исследований свидетельствуют о том, что длительное хроническое воздействие низких доз приводит к преимущественно анеугенным эффектам, что, скорее всего, свидетельствует об эпигенетических изменениях хроматина (Thierens et al., 2000).

При изучении состава микроядер фибробластов, индуцированных острым гамма-излучением в дозе 4 Гр, наблюдалось включение в микроядра 2-й и 7-й хромосом выше ожидаемых расчетных значений (Mukherjee et al., 1996). Авторы предположили, что это связано с наличием большого числа нетранскрибируемых

областей в этих хромосомах, которые репарируются хуже, чем транскрибируемые регионы.

В работе Балайи с соавт. (Balajee et al., 2014) анализировали состав радиационно-индуцированных микроядер методом mFISH после *in vitro* гамма-облучения в диапазоне доз 1–10 Гр. Авторы отмечают, что хромосомы, принадлежащие к группам А (1, 2, 3) и В (4, 5), обнаруживались чаще на 35–45% как в монохромосомных, так и в мультихромосомных микроядрах. Среди хромосом групп А и В материал 1-й хромосомы встречался чаще у всех доноров после облучения. Помимо этого, хромосомы 13 и 19 наблюдались в микроядрах чаще, чем ожидалось относительно содержания в этих хромосомах ДНК. Также была отмечена высокая индивидуальная изменчивость у доноров относительно частоты включения в микроядра других хромосом. Примечательно, что среди доноров сходство в хромосомном составе радиационно-индуцированных микроядер наблюдалось у доноров-мужчин, у которых наиболее часто встречались хромосомы 1, 2 и 13 после 1 Гр, 1 и 2 – после 2 Гр, 1, 2, 3, 4 и 8 – после 3 Гр, 1, 2 и 4 – после 4 Гр, 1, 2 и 3 – после 5 Гр.

Наше исследование (Ахмадуллина, 2022) микроядер в лимфоцитах облученных женщин методом mFISH показало, что наибольшее число микроядер являются монохромосомными (62.1% у облученных женщин и 79.4% в группе сравнения). При изучении качественного состава микроядер было обнаружено, что материал от хромосом попадает в них не равновероятно. Отклоняются от равновероятного попадания в микроядра в большую сторону 2-й, 16-й и X-хромосомы. Причем частота микроядер с материалом X-хромосомы в группе облученных женщин достигает 40.4%, и 47.5% – в группе сравнения. По оценкам некоторых авторов (Guttenbach et al., 1995; Leach, Jackson-Cook, 2001; Dumont et al., 2020; Giunta et al., 2021), частота микроядер с X-хромосомой может колебаться от 3 до 80%, а также зависит от пола и возраста доноров. С возрастом частота попадания в микроядра X-хромосом увеличивается. К молекулярным механизмам включения X-хромосомы в микроядро принято относить нарушение ее сегрегации в процессе клеточного деления из-за ее гетерохроматизации.

Цитогенетическое исследование, проведенное на лимфоцитах работников больниц, профессионально подвергавшихся воздействию рентгеновского и гамма-излучения в малых

дозах (средние значения для группы 11.25 мЗв за последние 10 лет), показало значительное увеличение количества центромеро-положительных микроядер у работников, подвергшихся облучению, по сравнению с группой сравнения. У женщин частота микроядер была на 40% выше, чем у мужчин (Thierens et al., 2000). При *in vitro* исследовании влияния рентгеновского излучения в дозах 20, 50 и 100 сГр на отсроченное образование числовых хромосомных aberrаций в нормальных фибробластах человека была отмечена повышенная частота анеуплоидии хромосом 1 и 4 через 240 ч культивирования (5 пассажей) после облучения в дозе 100 сГр (Cho et al., 2015a).

Интересно, что радиационно-индуцированные микроядра оказались структурно похожими на основные ядра, поскольку они содержали ядерные ламины А и С, а также были окружены сетью промежуточных филаментов (Walker et al., 1996).

Поскольку образование радиационно-индуцированных микроядер может быть связано с образованием ХА, то изучение качественных характеристик ХА может быть информативным при анализе чувствительности хромосом к разрывам и их восстановлению. В целом в литературе обсуждается два возможных варианта специфики образования радиационно-индуцированных aberrаций. Первая гипотеза предполагает стохастический характер распределения радиационно-индуцированных повреждений ДНК, т.е. случайное распределение разрывов вдоль генома. В этом случае количество точек разрыва будет пропорционально длине хромосомы, следовательно, повышается вероятность участия поврежденной хромосомы в неправильной рекомбинации. Вторая гипотеза предполагает, что разрывы хромосом могут быть связаны с так называемыми горячими точками, хрупкими сайтами в их структуре, конформационными особенностями хромосом, 3D-структурой хромосом и ядра. При изучении этого вопроса в литературе можно найти подтверждения обеим гипотезам, т.е. имеют место как вероятностные процессы, связанные с распределением в объеме квантов энергии, так и особенности самих хромосом, их состав, конформационные особенности, расположение в ядре и т.д. (Barquinero et al., 1998; Foster et al., 2013; Balajee et al., 2018; Nikitina et al., 2022).

Например, при изучении частоты aberrаций различных хромосом методом mFISH в клетках периферической крови человека после

облучения рентгеновскими лучами в дозе 3 Гр были показаны отклонения от случайного ожидаемого значения для некоторых хромосом. Хромосомы 2 и 3 показали значительно меньше симметричных транслокаций, чем ожидалось, а хромосома 4 — больше. Хромосомы 15 и 22 показали больше симметричных транслокаций, чем ожидалось. Для хромосом 2, 3 и 18 выявлено меньше дицентриков, чем ожидалось, а для хромосом 15, 16 и 17 — больше (Suzuki et al., 2003). В работе Никитиной с соавт. (Nikitina et al., 2022) длительное наблюдение стабильных хромосомных aberrаций у работника ЧАЭС выявило, что количество точек разрывов на отдельные хромосомы было почти пропорционально их физической длине, за исключением хромосом 13 и 20.

Кроме того, анализ секвенирования всего генома в облученных клетках, проведенный в работе Морисита с соавт. (Morishita et al., 2016), выявил множественные *de novo* сложные хромосомные перестройки, локализованные в хромосомах 2, 5, 7 и 20, которые напоминают хромотрипсис, а многоцветный FISH показал сложную транслокацию хромосомы 7 с участием хромосом 11 и 12.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные исследования подтверждают, что микроядра соматических клеток не всегда являются конечным этапом патологических изменений. Они могут быть активными участниками процессов изменения ядерного генома, поскольку хроматин в микроядрах может подвергаться повреждениям и включаться в ядро клетки. Кроме этого, микроядра могут восприниматься как “цитоплазматическая” ДНК, что приводит к провоспалительной продукции цитокинов, активации системы врожденного иммунитета, что, в свою очередь, приводит к гибели клеток с микроядрами, аутофагии микроядер или поддержанию секреторного фенотипа, связанного с клеточным старением.

Поскольку микроядра являются следствием элиминации хроматина из ядра клетки, интересным является сравнение механизмов избирательной и неизбирательной элиминации хроматина. Избирательная элиминация хроматина, которая является частью онтогенетической программы организма, обусловлена эпигенетической маркировкой хроматина, подлежащего удалению из генома. В первую очередь эпигенетическая маркировка связана с конденсацией

хромосом до процесса элиминации — присоединений меток гетерохроматина, а также и сами микроядра характеризуются гетерохроматизацией, что предшествует их деградации. У человека в соматических клетках при неизбирательной элиминации хроматина в микроядра часто попадают хромосомы с высоким содержанием конститутивного и факультативного гетерохроматина. В экспериментах с воздействием химических веществ на клетки сообщается о деконденсации хромосом с высоким содержанием гетерохроматина, что предположительно приводит к нарушению сегрегации хромосом и образованию микроядер.

Также обращает на себя внимание избирательная элиминация половых хромосом, которая сопровождается изменением конденсации хромосом и удалением их из ядра через процесс почкования интерфазного ядра. Неизбирательная элиминация хромосом также в некоторых случаях происходит по схожему механизму через образование ядерной почки, но этот процесс пока менее изучен.

Анализ литературы показал, что состав микроядер при неизбирательной элиминации хроматина часто является неслучайным, имеются хромосомы, склонные к попаданию в микроядра (спонтанно и при воздействии повреждающих факторов), что, скорее всего, связано с нарушением конденсации хромосом в течение клеточного цикла, наличием в хромосомах хрупких сайтов и горячих точек.

В заключение изучение микроядер и механизмов элиминации хроматина имеет важное значение для нашего понимания клеточной биологии, генетики и патологии. Эти исследования могут иметь перспективное значение для разработки новых методов диагностики и лечения заболеваний, связанных с изменениями в ядерном геноме, и позволить более глубоко понять процессы клеточного старения и онтогенеза.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа была поддержана Федеральным медико-биологическим агентством России.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит экспериментальных исследований с использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ахмадуллина Ю.Р., 2022. Состав микроядер в Т-лимфоцитах у женщин, подвергшихся хроническому радиационному воздействию // Радиационная биология. Радиоэкология. Т. 62. № 6. С. 591–601. <https://doi.org/10.31857/S0869803122060030>
- Боголюбова И.О., Боголюбов Д.С., 2023. Функциональные взаимодействия BAF и LEM-белков в процессах формирования половых клеток // Цитология. Т. 65. № 5. С. 407–419. <https://doi.org/10.31857/S0041377123050036>
- Кисурина-Евгеньева О.П., Брянцева С.А., Штиль А.А., Онищенко Г.Е., 2006. Антитубулиновые агенты могут инициировать различные пути апоптоза // Биофизика. Т. 51. № 5. С. 875–880.
- Кисурина-Евгеньева О.П., Сутягина О.И., Онищенко Г.Е., 2016. Биогенез микроядер // Биохимия. Т. 81. С. 453–464. <https://doi.org/10.1134/S0006297916050035>
- Ablasser A., Chen Z.J., 2019. cGAS in action: Expanding roles in immunity and inflammation // Science. V. 363. № 6431. Art. eaat8657. <https://doi.org/10.1126/science.aat8657>
- Almacellas E., Pelletier J., Day C., et al., 2021. Lysosomal degradation ensures accurate chromosomal segregation to prevent chromosomal instability // Autophagy. V. 17. № 3. P. 796–813. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1764727>
- Arsoy N.S., Neuss S., Wessendorf S., et al., 2009. Micronuclei in peripheral blood from patients after cytostatic therapy mainly arise *ex vivo* from persistent damage // Mutagenesis. V. 24. № 4. P. 351–357. <https://doi.org/10.1093/mutage/gep015>
- Bailey L.J., Bianchi J., Doherty A.J., 2019. PrimPol is required for the maintenance of efficient nuclear and mitochondrial DNA replication in human cells // Nucleic Acids Res. V. 47. № 8. P. 4026–4038. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz056>
- Balajee A., Bertucci A., Taveras M., Brenner D., 2014. Multicolour FISH analysis of ionising radiation induced micronucleus formation in human lymphocytes // Mutagenesis. V. 29. P. 447–455. <https://doi.org/10.1093/mutage/geu041>
- Balajee A.S., Sanders J.T., Gollosi R., et al., 2018. Investigation of spatial organization of chromosome territories in chromosome exchange aberrations after ionizing radiation exposure // Health Phys. V. 115. P. 77–89. <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000000840>

- Bao H., Cao J., et al. (Aging Biomarker Consortium), 2023. Biomarkers of aging // *Sci. China Life Sci.* V. 66. P. 893–1066.
<https://doi.org/10.1007/s11427-023-2305-0>
- Barbu L., Obreja D., Dului O., 2019. The cell micronuclei response to ionizing radiation in the case of gamma and x-ray exposure // *Romanian J. Physics.* V. 64. Art. 702.
- Barquinero J.F., Knehr S., Braselmann H., et al., 1998. DNA-proportional distribution of radiation-induced chromosome aberrations analyzed by fluorescence *in situ* hybridization painting of all chromosomes of a human female karyotype // *Int. J. Radiat. Biol.* V. 74. № 3. P. 315–323.
<https://doi.org/10.1080/095530098141456>
- Bartsch K., Knittler K., Borowski C., et al., 2017. Absence of RNase H2 triggers generation of immunogenic micronuclei removed by autophagy // *Hum. Mol. Genet.* V. 26. № 20. P. 3960–3972.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddx283>
- Bonacci T., Emanuele M.J., 2019. Impressionist portraits of mitotic exit: APC/C, K11-linked ubiquitin chains and Cezanne // *Cell Cycle.* V. 18. № 6–7. P. 652–660.
<https://doi.org/10.1080/15384101.2019.1593646>
- Bull C.F., Mayrhofer G., Zeegers D., et al., 2012. Folate deficiency is associated with the formation of complex nuclear anomalies in the cytokinesis-block micronucleus cytome assay // *Environ. Mol. Mutagen.* V. 53. № 4. P. 311–323.
<https://doi.org/10.1002/em.21688>
- Chang L., Li M., Shao S., et al., 2022. Nuclear peripheral chromatin-lamin B1 interaction is required for global integrity of chromatin architecture and dynamics in human cells // *Protein Cell.* V. 13. P. 258–280.
<https://doi.org/10.1007/s13238-020-00794-8>
- Chen Q., Sun L., Chen Z.J., 2016. Regulation and function of the cGAS-STING pathway of cytosolic DNA sensing // *Nat. Immunol.* V. 17. № 10. P. 1142–1149.
<https://doi.org/10.1038/ni.3558>
- Cho Y.H., Jang Y., Woo H.D., et al., 2019. LINE-1 hypomethylation is associated with radiation-induced genomic instability in industrial radiographers // *Environ. Mol. Mutagen.* V. 60. № 2. P. 174–184.
<https://doi.org/10.1002/em.22237>
- Cho Y.H., Kim S.Y., Woo H.D., et al., 2015a. Delayed numerical chromosome aberrations in human fibroblasts by low dose of radiation // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* V. 12. P. 15162–15172.
<https://doi.org/10.3390/ijerph121214979>
- Cho Y.H., Woo H.D., Jang Y., et al., 2015b. The association of LINE-1 hypomethylation with age and centromere positive micronuclei in human lymphocytes // *PLoS One.* V. 10. № 7. Art. e0133909.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133909>
- Chung H.W., Kang S.J., Kim S.Y., 2002. A combination of the micronucleus assay and a FISH technique for evaluation of the genotoxicity of 1,2,4-benzenetriol // *Mutat. Res.* V. 516. № 1–2. P. 49–56.
- Crasta K., Ganem N.J., Dagher R., et al., 2012. DNA breaks and chromosome pulverization from errors in mitosis // *Nature.* V. 482. № 7383. P. 53–58.
<https://doi.org/10.1038/nature10802>
- Decordier I., Dillen L., Cundari E., et al., 2002. Elimination of micronucleated cells by apoptosis after treatment with inhibitors of microtubules // *Mutagenesis.* V. 17. № 4. P. 337–344.
<https://doi.org/10.1093/mutage/17.4.337>
- Dedukh D., Krasikova A., 2022. Delete and survive: Strategies of programmed genetic material elimination in eukaryotes // *Biol. Rev.* V. 97. № 1. P. 195–216.
<https://doi.org/10.1111/brv.12796>
- Dumont M., Gamba R., Gestraud P., et al., 2020. Human chromosome-specific aneuploidy is influenced by DNA-dependent centromeric features // *EMBO J.* V. 39. Art. e102924.
- Faheem M., Naseer M.I., Rasool M., et al., 2015. Molecular genetics of human primary microcephaly: An overview // *BMC Med. Genomics.* V. 8. Art. S4.
<https://doi.org/10.1186/1755-8794-8-S1-S4>
- Fang W., Wang X., Bracht J.R., et al., 2012. Piwi-interacting RNAs protect DNA against loss during *Oxytricha* genome rearrangement // *Cell.* V. 151. № 6. P. 1243–1255.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.10.045>
- Fauth E., Scherthan H., 1998. Frequencies of occurrence of all human chromosomes in micronuclei from normal and 5-azacytidine-treated lymphocytes as revealed by chromosome painting // *Mutagenesis.* V. 13. № 3. P. 235–241.
<https://doi.org/10.1093/mutage/13.3.235>
- Fauth E., Scherthan H., Zankl H., 2000. Chromosome painting reveals specific patterns of chromosome occurrence in mitomycin C- and diethylstilbestrol-induced micronuclei // *Mutagenesis.* V. 15. № 6. P. 459–467.
<https://doi.org/10.1093/mutage/15.6.459>
- Fauth E., Zankl H., 1999. Comparison of spontaneous and idoxuridine-induced micronuclei by chromosome painting // *Mutat. Res.* V. 440. № 2. P. 147–156.
[https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(99\)00021-2](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(99)00021-2)
- Fenech M., 2007. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay // *Nat. Protoc.* V. 2. P. 1084–1104.
<https://doi.org/10.1038/nprot.2007.77>
- Fenech M., Holland N., Kirsch-Volders M., et al., 2019. Micronuclei and disease – Report of HUMN project workshop at Rennes 2019 EEMGS conference // *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* V. 850–851. Art. 503133.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2020.503133>
- Fenech M., Kirsch-Volders M., Natarajan A.T., et al., 2011. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells // *Mutagenesis.* V. 26. № 1. P. 125–132.
<https://doi.org/10.1093/mutage/geq052>

- Foster H.A., Estrada-Girona G., Themis M., et al., 2013. Relative proximity of chromosome territories influences chromosome exchange partners in radiation-induced chromosome rearrangements in primary human bronchial epithelial cells // *Mutat. Res.* V. 756. № 1–2. P. 66–77.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.06.003>
- García Fernández F., Fabre E., 2022. The dynamic behavior of chromatin in response to DNA double-strand breaks // *Genes (Basel)*. V. 13. № 2. Art. 215.
<https://doi.org/10.3390/genes13020215>
- Gernand D., Rutten T., Pickering R., Houben A., 2006. Elimination of chromosomes in *Hordeum vulgare* x *H. bulbosum* crosses at mitosis and interphase involves micronucleus formation and progressive heterochromatinization // *Cytogenet. Genome Res.* V. 114. № 2. P. 169–174.
<https://doi.org/10.1159/000093334>
- Gisselsson D., Jonson T., Petersén A., et al., 2001. Telomere dysfunction triggers extensive DNA fragmentation and evolution of complex chromosome abnormalities in human malignant tumors // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. V. 98. № 22. P. 12683–12688.
<https://doi.org/10.1073/pnas.211357798>
- Giunta S., Hervé S., White R.R., et al., 2021. CENP-A chromatin prevents replication stress at centromeres to avoid structural aneuploidy // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. V. 118. № 10. Art. e2015634118.
- Greciano P.G., Goday C., 2006. Methylation of histone H3 at Lys4 differs between paternal and maternal chromosomes in *Sciara ocellaris* germline development // *J. Cell Sci.* V. 119. № 22. P. 4667–4677.
<https://doi.org/10.1242/jcs.03279>
- Guo X., Ni J., Liang Z., Xue J., Fenech M.F., Wang X., 2019. The molecular origins and pathophysiological consequences of micronuclei: New insights into an age-old problem // *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* V. 779. P. 1–35.
<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2018.11.001>
- Guttenbach M., Koschorz B., Bernthaler U., et al., 1995. Sex chromosome loss and aging: *in situ* hybridization studies on human interphase nuclei // *Am. J. Human Genetics*. V. 57. № 5. P. 1143–1150.
- Guttenbach M., Schmid M., 1994. Exclusion of specific human chromosomes into micronuclei by 5-azacytidine treatment of lymphocyte cultures // *Exp. Cell Res.* V. 211. № 1. P. 127–132.
<https://doi.org/10.1006/excr.1994.1068>
- Halfmann C.T., Sears R.M., Katiyar A., et al., 2019. Repair of nuclear ruptures requires barrier-to-autointegration factor // *J. Cell Biol.* V. 218. № 7. P. 2136–2149.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201901116>
- Hämälistö S., Stahl J.L., Favaro E., et al., 2020. Spatially and temporally defined lysosomal leakage facilitates mitotic chromosome segregation // *Nat. Commun.* V. 11. № 1. Art. 229.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-14009-0>
- Hayashi M., 2006. The micronucleus test-most widely used *in vivo* genotoxicity test // *Genes Environ.* V. 38. Art. 18.
<https://doi.org/10.1186/s41021-016-0044-x>
- Holecková B., Piesová E., Sivikova K., Dianovský J., 2004. Chromosomal aberrations in humans induced by benzene // *Ann. Agric. Environ. Med.* V. 11. № 2. P. 175–179.
- Hovhannisyan G., Aroutiounian R., Babayan N., et al., 2016. Comparative analysis of individual chromosome involvement in micronuclei induced by mitomycin C and bleomycin in human leukocytes // *Mol. Cytogenet.* V. 9. Art. 49.
<https://doi.org/10.1186/s13039-016-0258-4>
- Hovhannisyan G., Aroutiounian R., Liehr T., 2012. Chromosomal composition of micronuclei in human leukocytes exposed to mitomycin C // *J. Histochem. Cytochem.* V. 60. № 4. P. 316–322.
<https://doi.org/10.1369/0022155412436587>
- IAEA, 2011. International Atomic Energy Agency Technical Reports Series No. 405. Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment: A Manual. Vienna: IAEA. 127 p.
- Iliakis G., Wang H., Perrault A.R., et al., 2004. Mechanisms of DNA double strand break repair and chromosome aberration formation // *Cytogenet. Genome Res.* V. 104. № 1–4. P. 14–20.
<https://doi.org/10.1159/000077461>
- Itoh N., Shimizu N., 1998. DNA replication-dependent intranuclear relocation of double minute chromatin // *J. Cell Sci.* V. 111. № 22. P. 3275–3285.
- Ivanov A., Pawlikowski J., Manoharan I., et al., 2013. Lysosome-mediated processing of chromatin in senescence // *J. Cell Biol.* V. 202. № 1. P. 129–143.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201212110>
- Jagannathan M., Cummings R., Yamashita Y.M., 2018. A conserved function for pericentromeric satellite DNA // *Elife*. V. 7. Art. e34122.
<https://doi.org/10.7554/eLife.34122>
- Jagannathan M., Cummings R., Yamashita Y.M., 2019. The modular mechanism of chromocenter formation in *Drosophila* // *Elife*. V. 8. Art. e43938.
<https://doi.org/10.7554/eLife.43938>
- Kirsch-Volders M., Bolognesi C., Ceppi M., et al., 2020. Micronuclei, inflammation and auto-immune disease // *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* V. 786. Art. 108335.
<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2020.108335>
- Lazalde-Ramos B.P., Zamora-Perez A.L., Sosa-Macías M., et al., 2012. DNA and oxidative damages decrease after ingestion of folic acid in patients with type 2 diabetes // *Arch. Med. Res.* V. 43. № 6. P. 476–481.
<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2012.08.013>
- Leach N.T., Jackson-Cook C., 2001. The application of spectral karyotyping (SKY) and fluorescent *in situ* hybridization (FISH) technology to determine the chromosomal content(s) of micronuclei // *Mutat. Res.* V. 495. № 1–2. P. 11–19.

- [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(01\)00194-2](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(01)00194-2)
- Lee T.K., Wiley A.L., Jr, Esinhart J.D., Blackburn L.D., 1994. Radiation dose-dependent variations of micronuclei production in cytochalasin B-blocked human lymphocytes // *Teratog. Carcinog. Mutagen.* V. 14. № 1. P. 1–12.
<https://doi.org/10.1002/tcm.1770140102>
- Leimbacher P.A., Jones S.E., Shorrocks A.K., et al., 2019. MDC1 interacts with TOPBP1 to maintain chromosomal stability during mitosis // *Mol. Cell.* V. 74. № 3. P. 571–583.E8.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.02.014>
- Li T., Chen Z.J., 2018. The cGAS-cGAMP-STING pathway connects DNA damage to inflammation, senescence, and cancer // *J. Exp. Med.* V. 215. № 5. P. 1287–1299.
<https://doi.org/10.1084/jem.20180139>
- Lindberg H.K., Wang X., Järventausta H., Falck G.C., et al., 2007. Origin of nuclear buds and micronuclei in normal and folate-deprived human lymphocytes // *Mutat. Res.* V. 617. № 1–2. P. 33–45.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2006.12.002>
- Liu H., Wang F., Cao Y., et al., 2022. The multifaceted functions of cGAS // *J. Mol. Cell Biol.* V. 14. № 5. Art. mjac031.
<https://doi.org/10.1093/jmcb/mjac031>
- Liu S., Pellman D., 2020. The coordination of nuclear envelope assembly and chromosome segregation in metazoans // *Nucleus.* V. 11. № 1. P. 35–52.
<https://doi.org/10.1080/19491034.2020.1742064>
- Lu L., Ni J., Zhou T., et al., 2012. Choline and/or folic acid deficiency is associated with genomic damage and cell death in human lymphocytes in vitro // *Nutr. Cancer.* V. 64. № 3. P. 481–487.
<https://doi.org/10.1080/01635581.2012.660671>
- Mackenzie K.J., Carroll P., Martin C.A., et al., 2017. cGAS surveillance of micronuclei links genome instability to innate immunity // *Nature.* V. 548. № 7668. P. 461–465.
<https://doi.org/10.1038/nature23449>
- Maiato H., Afonso O., Matos I., 2015. A chromosome separation checkpoint: A midzone Aurora B gradient mediates a chromosome separation checkpoint that regulates the anaphase-telophase transition // *Bioessays.* V. 37. № 3. P. 257–266.
<https://doi.org/10.1002/bies.201400140>
- Malaby H.L.H., Dumas M.E., Ohi R., Stumpff J., 2019. Kinesin-binding protein ensures accurate chromosome segregation by buffering KIF18A and KIF15 // *J. Cell Biol.* V. 218. № 4. P. 1218–1234.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201806195>
- Medvedeva N.G., Panyutin I.V., Panyutin I.G., Neumann R.D., 2007. Phosphorylation of histone H2AX in radiation-induced micronuclei // *Radiat. Res.* V. 168. № 4. P. 493–498.
<https://doi.org/10.1667/RR0788.1>
- Mochizuki K., 2010. DNA rearrangements directed by non-coding RNAs in ciliates // *WIRs RNA.* V. 1. № 3. P. 376–387.
<https://doi.org/10.1002/wrna.34>
- Morgan W.F., Bair W.J., 2013. Issues in low dose radiation biology: the controversy continues. A perspective // *Radiat. Res.* V. 179. № 5. P. 501–510.
<https://doi.org/10.1667/RR3306.1>
- Morishita M., Muramatsu T., Suto Y., et al., 2016. Chromothripsis-like chromosomal rearrangements induced by ionizing radiation using proton microbeam irradiation system // *Oncotarget.* V. 7. № 9. P. 10182–10192.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.7186>
- Mukherjee A., Alejandro J., Payne S., Thomas S., 1996. Age-related aneuploidy analysis of human blood cells *in vivo* by fluorescence *in situ* hybridization (FISH) // *Mech. Ageing Dev.* V. 90. P. 145–156.
[https://doi.org/10.1016/0047-6374\(96\)01762-9](https://doi.org/10.1016/0047-6374(96)01762-9)
- Nikitina V., Nugis V., Astrelina T., et al., 2022. Pattern of chromosomal aberrations persisting over 30 years in a Chernobyl Nuclear Power Plant accident survivor: study using mFISH // *J. Radiat. Res.* V. 63. № 2. P. 202–212.
<https://doi.org/10.1093/jrr/rrab131>
- Okamoto A., Utani K., Shimizu N., 2011. DNA replication occurs in all lamina positive micronuclei, but never in lamina negative micronuclei // *Mutagenesis.* V. 27. № 3. P. 323–327.
- Oliveira Mann C.C., de, Kranzusch P.J., 2017. cGAS conducts micronuclei DNA surveillance // *Trends Cell Biol.* V. 27. № 10. P. 697–698.
<https://doi.org/10.1016/j.tcb.2017.08.007>
- Oza P., Jaspersen S.L., Miele A., et al., 2009. Mechanisms that regulate localization of a DNA double-strand break to the nuclear periphery // *Genes Dev.* V. 23. № 8. P. 912–927.
<https://doi.org/10.1101/gad.1782209>
- Pang D., Yu S., Yang X., 2022. A mini-review of the role of condensin in human nervous system diseases // *Front. Mol. Neurosci.* V. 15. Art. 89796.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.889796>
- Perondini A., Ribeiro A., 1997. Chromosome elimination in germ cells of *Sciara* embryos: involvement of the nuclear envelope // *Invertebr. Reprod. Dev.* V. 32. № 2. P. 131–141.
<https://doi.org/10.1080/07924259.1997.9672614>
- Pfeiffer P., Goedecke W., Obe G., 2000. Mechanisms of DNA double-strand break repair and their potential to induce chromosomal aberrations // *Mutagenesis.* V. 15. № 4. P. 289–302.
<https://doi.org/10.1093/mutage/15.4.289>
- Prantera G., Bongiorno S., 2012. Mealybug chromosome cycle as a paradigm of epigenetics // *Genet. Res. Int.* V. 2012. Art. 867390.
<https://doi.org/10.1155/2012/867390>
- Priore L., del, Pigozzi M.I., 2014. Histone modifications related to chromosome silencing and elimination

- during male meiosis in Bengalese finch // *Chromosoma*. V. 123. № 3. P. 293–302.
https://doi.org/10.1007/s00412-014-0451-3
- Reimann H., Stopper H., Hintzsche H., 2020. Long-term fate of etoposide-induced micronuclei and micronucleated cells in HeLa-H2B-GFP cells // *Arch. Toxicol.* V. 94. № 10. P. 3553–3561.
https://doi.org/10.1007/s00204-020-02840-0
- Reimann H., Stopper H., Hintzsche H., 2023. Fate of micronuclei and micronucleated cells after treatment of HeLa cells with different genotoxic agents // *Arch. Toxicol.* V. 97. № 3. P. 875–889.
https://doi.org/10.1007/s00204-022-03433-9
- Robijns J., Houthaave G., Braeckmans K., De Vos W.H., 2018. Loss of nuclear envelope integrity in aging and disease // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* V. 336. P. 205–222.
https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2017.07.013
- Ruban A., Schmutzer T., Wu D.D., et al., 2020. Supernumerary B chromosomes of *Aegilops speltoides* undergo precise elimination in roots early in embryo development // *Nat. Commun.* V. 11. Art. 2764.
https://doi.org/10.1038/s41467-020-16594-x
- Samwer M., Schneider M.W.G., Hoefler R., et al., 2017. DNA cross-bridging shapes a single nucleus from a set of mitotic chromosomes // *Cell*. V. 170. № 5. P. 956–972.E23.
https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.038
- Sawyer J.R., Swanson C.M., Wheeler G., Cunniff C., 1995. Chromosome instability in ICF syndrome: Formation of micronuclei from multibranched chromosomes 1 demonstrated by fluorescence in situ hybridization // *Am. J. Med. Genet.* V. 56. № 2. P. 203–209.
https://doi.org/10.1002/ajmg.1320560218
- Sgura A., Antoccia A., Ramirez M.J., et al., 1997. Micronuclei, centromere-positive micronuclei and chromosome nondisjunction in cytokinesis blocked human lymphocytes following mitomycin C or vincristine treatment // *Mutat. Res.* V. 392. № 1–2. P. 97–107.
https://doi.org/10.1016/s0165-1218(97)00048-7
- Shimizu N., Itoh N., Utiyama H., Wahl G.M., 1998. Selective entrapment of extrachromosomally amplified DNA by nuclear budding and micronucleation during S phase // *J. Cell Biol.* V. 140. № 6. P. 1307–1320.
https://doi.org/10.1083/jcb.140.6.1307
- Shimizu N., Kapoor R., Naniwa S., et al., 2019. Generation and maintenance of acentric stable double minutes from chromosome arms in inter-species hybrid cells // *BMC Mol. Cell Biol.* V. 20. Art. 2.
https://doi.org/10.1186/s12860-019-0186-3
- Soto M., García-Santisteban I., Krenning L., et al., 2018. Chromosomes trapped in micronuclei are liable to segregation errors // *J. Cell Sci.* V. 131. № 13. Art. jcs214742.
https://doi.org/10.1242/jcs.214742
- Stacey M., Bennett M., Hulten M., 1995. FISH analysis on spontaneously arising micronuclei in the ICF syndrome // *J. Med. Genetics*. V. 32. № 7. P. 502–508.
https://doi.org/10.1136/jmg.32.7.502
- Staiber W., 2006. Chromosome elimination in germ line—soma differentiation of *Acrisotopus lucidus* (Diptera, Chironomidae) // *Genome*. V. 49. № 3. P. 269–274.
https://doi.org/10.1139/g05-103
- Stopper H., Körber C., Gibis P., et al., 1995. Micronuclei induced by modulators of methylation: analogs of 5-azacytidine // *Carcinogenesis*. V. 16. № 7. P. 1647–1650.
https://doi.org/10.1093/carcin/16.7.1647
- Suzuki K., Ojima M., Kodama S., Watanabe M., 2003. Radiation-induced DNA damage and delayed induced genomic instability // *Oncogene*. V. 22. P. 6988–6993.
https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206881
- Télez M., Ortiz-Lastra E., Gonzalez A.J., et al., 2010. Assessment of the genotoxicity of atenolol in human peripheral blood lymphocytes: Correlation between chromosomal fragility and content of micronuclei // *Mutat. Res.* V. 695. № 1–2. P. 46–54.
https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2009.02.015
- Terradas M., Martín M., Tusell L., Genescà A., 2009. DNA lesions sequestered in micronuclei induce a local defective-damage response // *DNA Repair*. V. 8. № 10. P. 1225–1234.
https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2009.07.004
- Tewari S., Khan K., Husain N., et al., 2016. Peripheral blood lymphocytes as *in vitro* model to evaluate genomic instability caused by low dose radiation // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* V. 17. № 4. P. 1773–1777.
https://doi.org/10.7314/apjcp.2016.17.4.1773
- Thierens H., Vral A., Morthier R., et al., 2000. Cytogenetic monitoring of hospital workers occupationally exposed to ionizing radiation using the micronucleus centromere assay // *Mutagenesis*. V. 15. № 3. P. 245–249.
https://doi.org/10.1093/mutage/15.3.245
- Timoshevskiy V.A., Herdy J.R., Keinath M.C., Smith J.J., 2016. Cellular and molecular features of developmentally programmed genome rearrangement in a vertebrate (sea lamprey: *Petromyzon marinus*) // *PLoS Genet.* V. 12. № 6. Art. e1006103.
https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006103
- Tommerup N., 1984. Idoxuridine induction of micronuclei containing the long or short arms of human chromosome 9 // *Cytogenet. Cell Genet.* V. 38. № 2. P. 92–98.
https://doi.org/10.1159/000132038
- Tuck-Muller C.M., Narayan A., Tsien F., et al., 2000. DNA hypomethylation and unusual chromosome instability in cell lines from ICF syndrome patients // *Cytogenet. Cell Genet.* V. 89. № 1–2. P. 121–128.
https://doi.org/10.1159/000015590
- Umbreit N.T., Zhang C.Z., Lynch L.D., et al., 2020. Mechanisms generating cancer genome complexity from a single cell division error // *Science*. V. 368. № 6488. Art. eaba0712.
https://doi.org/10.1126/science.aba0712
- Utani K., Okamoto A., Shimizu N., 2011. Generation of micronuclei during interphase by coupling between

- cytoplasmic membrane blebbing and nuclear budding // *PloS One*. V. 6. № 11. Art. e27233.
- Walker J.A., Boreham D.R., Unrau P., Duncan A.M., 1996. Chromosome content and ultrastructure of radiation-induced micronuclei // *Mutagenesis*. V. 11. № 5. P. 419–424.
<https://doi.org/10.1093/mutage/11.5.419>
- Warecki B., Ling X., Bast I., Sullivan W., 2020. ESCRT-III-mediated membrane fusion drives chromosome fragments through nuclear envelope channels // *J. Cell Biol.* V. 219. № 3. Art. e201905091.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201905091>
- Zhang C.Z., Spektor A., Cornils H., et al., 2015. Chromothripsis from DNA damage in micronuclei // *Nature*. V. 522. № 7555. P. 179–184.
<https://doi.org/10.1038/nature14493>
- Zhang L., Rothman N., Wang Y., et al., 1998. Increased aneusomy and long arm deletion of chromosomes 5 and 7 in the lymphocytes of Chinese workers exposed to benzene // *Carcinogenesis*. V. 19. № 11. P. 1955–1961.
<https://doi.org/10.1093/carcin/19.11.1955>

The role of micronuclei in chromatin elimination

Yu. R. Akhmadullina^{a, b, *}, P. O. Khomenko^a

¹*Urals Research Center for Radiation Medicine, Federal Medical Biological Agency
Vorovskogo st., 68A, Chelyabinsk, 454141 Russia*

²*Chelyabinsk State University
Brothers Kashirinykh st., 129, Chelyabinsk, 454001 Russia
E-mail: akhmadullina.yul@yandex.ru

Micronuclei are the extra-nuclear chromatin compartments separated from the primary nucleus and surrounded by their own nuclear envelope. For a long time it has been thought that micronuclei is the final stage of the pathological process in a cell. They have been used as biomarkers of the influence of genotoxic factors as well as of genome instability in various diseases. Nowadays, it is demonstrated that micronuclei could be involved in the cellular activities, affect the nuclear genome and lead to the changes in cell and tissue physiology. It is known that the formation of micronuclei is one of the steps in selective chromatin elimination in the ontogenesis of plant and animal species. The regions to be marked and eliminated from cell nucleus are recognized at the level of genome. This process is often accompanied by modifications with the heterochromatin formation, changes in the chromosome condensation and in the position of chromosomes in the nucleus. The processes observed in selective and non-selective chromatin elimination are similar to a great extent. The fact that the role of micronuclei in the cell functioning is not well-known yet, and the composition of the micronuclei and the ways of chromatin elimination could influence their role in the development of the pathogenesis, emphasizes the importance of additional studies for a more profound investigation of this phenomenon.

УДК 591.582(091)

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОХРОНАКСИЧЕСКОЙ ТЕОРИИ РАУЛЯ ЮССОНА (RAOUL HUSSON) НА РАЗВИТИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ГОЛОСООБРАЗОВАНИЯ В СОВЕТСКОМ СОЮЗЕ (1950–1970-е ГОДЫ)

© 2024 г. А. А. Никольский

Институт истории естествознания и техники им. С.И. Вавилова РАН

ул. Балтийская, 14, Москва, 125315 Россия

E-mail: bobak@list.ru

Поступила в редакцию 13.11.2023 г.

После доработки 14.01.2024 г.

Принята к печати 14.08.2024 г.

Обсуждается влияние нейрохронаксической теории фонации французского физиолога Рауля Юссона (Raoul Husson, 1901–1967) на развитие исследований голосообразования в Советском Союзе, главным образом в 1950–1970-е годы. Юссон противопоставил нейрохронаксическую теорию традиционной миоэластической теории голосообразования. Миоэластическая теория рассматривает голосовые складки как автоколебательную систему. Колебания вызывает энергия потока воздуха. Согласно концепции Юссона, колебания голосовых связок не зависят от подсвязочного давления. Частота колебаний голосовых связок соответствует частоте импульсации, поступающей по возвратному нерву. Для объяснения высокой частоты колебания голосовых связок Юссон использовал “Залповый принцип” (Volley principle) Вевера. Согласно этому принципу, активность каждого последующего нервного волокна приходится на рефрактерную фазу предыдущего волокна. Отклики всех нервных волокон суммируются в общее колебание высокой частоты. В 1950–1970-е годы советские физиологии приняли активное участие в проверке новой концепции, предложенной Юссоном. Они пришли к выводу, что в работе голосового аппарата участвуют оба механизма, миоэластический и нейрохронаксический. Но по возвратному нерву осуществляется не прямое управление колебаниями голосовых связок, а косвенное. Н.И. Жинкин назвал эту систему управления “кодовый принцип”, когда на голосовые связки поступает команда об изменении их физических характеристик, меняющих свойства автоколебательной системы.

DOI: 10.31857/S0044459624040039, EDN: UTUDKD

Предлагаемая статья, по сути, представляет собой продолжение сообщения, посвященного влиянию французской научной школы на развитие биоакустики в Советском Союзе, опубликованного ранее в “Журнале общей биологии” (Никольский, 2023а). Нейрохронаксическая теория, предложенная французским физиологом и математиком Раулем Юссоном (Raoul Husson, 1901–1967), является частью одного из наиболее актуальных разделов биоакустики, голосообразования. В качестве модельного объекта Юссон исследовал вокальную речь (певческий голос). Но, как справедливо заметил Хербст (Herbst, 2016), механизмы фонации, свойственные человеку, с оговорками, учитывая разнообразие строения голосового тракта зверей, могут быть

экстраполированы и на механизмы голосообразования наземных млекопитающих.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ И КРИТИКА НЕЙРОХРОНАКСИЧЕСКОЙ ТЕОРИИ РАУЛЯ ЮССОНА

Рауль Юссон, выдвинув в своей диссертации (Husson, 1950) новаторскую теорию голосообразования, создал интригу. Он противопоставил предложенную им теорию общепризнанной миоэластической теории голосообразования (Ржевкин, 1936; Fant, 1960; Фант, 1964; Сорокин, 1985; Titze, 2006). Сознвая значимость концепции, Юссон эмоционально подчеркивал, что, начиная с его диссертации (Husson, 1950), проблема

происхождения колебаний голосовых связок должна быть пересмотрена (Husson, 1957, p. 23): “...le problème de la genèse de la vibration des cordes vocales a dû être repris *ab ovo*...”. С этого момента (*ab ovo*), по мнению Юссона, начинается эпоха новых исследований фонации.

Созданная Юссоном интрига была рано замечена советскими биологами. Один из ярких представителей Ленинградской школы физиологов Владимир Петрович Морозов (1929–2021), много сделавший для изучения *биофизических* механизмов фонации (Морозов, 1977), пишет (Морозов, 1967, с. 83): “Исследования Р. Юссона ... несомненно имеют большое *прогрессивное* значение в развитии *физиологии* фонации: они привлекают внимание ученых к этой важной проблеме, *стимулируют новые поиски* и уже сегодня объясняют то, что трудно объяснить со старых позиций” (курсив мой. — А.Н.). Правда, спустя много лет В.П. Морозов посчитал нейрохронаксическую теорию недостаточно убедительной, выступив с критикой в адрес своего коллеги по цеху Е.А. Рудакова, одного из главных проводников научного наследия Юссона в нашей стране (Морозов, 2002, с. 16): “И даже такой, безусловно, компетентный инженер-акустик, как Е.А. Рудаков, находясь в плену концепции Юссона...” Но, как нередко бывает, сам В.П. Морозов попал в плен миоэластической концепции, которая, судя по тенденциозному цитированию,

оказалась удобной для обоснования развиваемой им теории резонанса (Морозов, 2002).

Суть нейрохронаксической теории в следующем. Собственно голосовой аппарат человека (и других наземных млекопитающих), как устройство, генерирующее *основную частоту* голоса, представлен парной голосовой складкой, которую физики рассматривают в качестве автоколебательной системы. Автоколебательные системы — это системы, к которым не подводятся колебания (Горелик, 1959). И напротив, концепция Юссона утверждает, что к голосовым связкам колебание подводится. Частота этого колебания, подводимого по возвратному нерву, соответствует частоте *основного тона* голоса субъекта фонации.

Голосовая складка образована голосовой связкой, голосовой мышцей и узкой щелью голосового аппарата (Самусев, 2023). Все другие структуры голосового тракта (легкие, трахея, гортань, ротовая и носовая полость, язык, зубы, губы) влияют на интенсивность звука и его амплитудно-частотный спектр, открывая неограниченные возможности для управления характеристиками звуков, издаваемых человеком и другими наземными млекопитающими.

Главное противоречие между классической миоэластической и новаторской нейрохронаксической теорией состоит в трактовке механизма формирования голосовыми связками *основной частоты* голоса (рис. 1, F_0). На рис. 1 в качестве

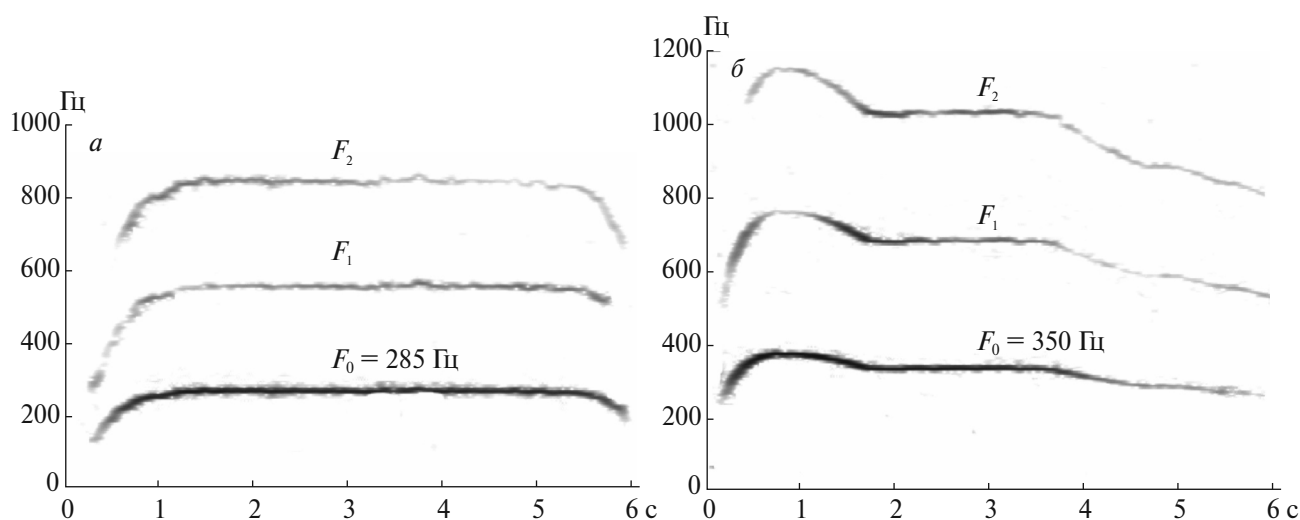


Рис. 1. Спектрограммы: *a* — человека (мужчины), протяжный крик “ууууу”, имитация вой взрослого волка; *б* — взрослого волка, одиночный вой. F_0 — основная частота; F_1 , F_2 — первая и вторая гармоники. Около F_0 указано значение основной частоты в средней части крика. Спектр гармонический, гармоники кратны основной частоте.

примера, поясняющего положение основной частоты в спектре производимого голосовым аппаратом звука, изображены спектрограммы крика взрослого мужчины (долгое, громкое “уууу”) и вой взрослого волка.

Согласно миоэластической теории, голосовые *складки* как *автоколебательная* система приводятся в состояние колебания под действием внешней силы воздушного потока (Fant, 1960; Сорокин, 1985). Согласно нейрохронаксической теории, колебания голосовых *связок* находятся под контролем центральной нервной системы, осуществляющей иннервацию голосовой мышцы ветвями возвратного нерва. *Основная частота* колебаний голосовых связок совпадает с частотой импульсации, поступающей по возвратному нерву (Husson, 1957; Юссон, 1974).

В обобщающем обзоре, посвященном акустическим и физиологическим механизмам фонации, центральную главу Юссон (Husson, 1957, р. 26) так и назвал — “Колебания голосовых связок без подсвязочного давления” (“La vibration des cordes vocales sans pression sous-glottique”).

Гортань, по мнению Юссона (Husson, 1965), аналогична сирене. В ней подсвязочное давление периодически изменяется в результате периодического, с *основной частотой*, смыкания и размыкания голосовых связок, закрывания и открывания голосовой щели.

Миоэластическая теория рассматривает аппарат голосообразования человека и других млекопитающих как акустическое устройство. Я подчеркиваю, что основные *физические* закономерности работы этого устройства никто не оспаривает, они очевидны и многократно описаны. Все согласны, физиологи в том числе, что в процессе голосообразования принимают участие подсвязочное давление, надсвязочное давление, эффект Бернулли и что эти силы взаимодействуют с упругими свойствами голосовых складок (Fant, 1960; Сорокин, 1985). Однако для физиолога голосовой аппарат — не только акустическое устройство, но и часть живого организма, который этим устройством *управляет*. Тем не менее и сегодня нейрофизиологические механизмы управления голосовым аппаратом изучены значительно хуже, чем его физические механизмы.

Юссон не отрицал акустические механизмы голосообразования. Более того, он активно исследовал эти механизмы, включая такие сложные процессы, как влияние импеданса на колебания голосовых связок (Husson, 1957; Юссон, 1974). В нашем случае импеданс — это суммарное

сопротивление различных отделов голосового тракта, влияющее на процесс голосообразования.

Критики теории Юссона прежде всего обращают внимание на наличие рефрактерной фазы, времени восстановления работоспособности ткани. Длительная рефрактерная фаза ограничивает передачу раздражений высокой частоты, до 1000–2000 Гц (Оториноларингология, 2023). Если учесть, что основные механизмы голосообразования у других видов млекопитающих те же, что и у человека, то речь может идти о 5000–10000 Гц (Никольский, 2023б).

Выход из этого противоречия подчеркивает название теории — *нейрохронаксическая*. Этот термин мы впервые встречаем у Юссона в его диссертации (Husson, 1950), в Главе IX “Les éléments fondamentaux d’une théorie neurochronaxique” (Основные элементы нейрохронаксической теории). Здесь ключевое слово — *хронаксия* (дословно — цена времени), минимальная длительность, время раздражающего тока в две реобазы, в две пороговые силы тока (Юссон, 1974; Начала физиологии, 2004).

Саму идею нейрохронаксии Юссон заимствовал (Husson, 1950, р. 56) у Эрнеста Вевера (Wever, 1949), который, в свою очередь, предложил модель “Залпового принципа” (Volley principle), позволяющую преодолеть ограничения на высокую частоту импульсации, создаваемые рефрактерным периодом.

Вевер применительно к проведению колебаний высокой частоты слуховым нервом предположил, что активность каждого последующего волокна слухового нерва приходится на рефрактерную фазу предыдущего волокна. *Суммарный* отклик всех волокон соответствует частоте звукового стимула, и именно эта частота суммарного отклика передается по слуховому нерву в слуховой отдел мозга. “Залповый принцип” Вевера поясняет рис. 2, заимствованный из его работы (Wever, 1949).

Юссон, используя модель Вевера, решает как бы обратную задачу. Если Вевер описывает *афферентацию* звукового стимула с периферии слуховой системы в центр, центростремительные процессы, то Юссон, напротив, *эфферентацию*, центробежные процессы. По мнению Юссона, высокая частота колебаний голосовых связок достигается благодаря многофазной передаче раздражения с ветвей возвратного нерва, т.е. в результате последовательного *сложения хронаксий*.

Обобщив результаты множества исследований, Вевер показал, что группа сенсорных волокон дает более высокочастотный суммарный

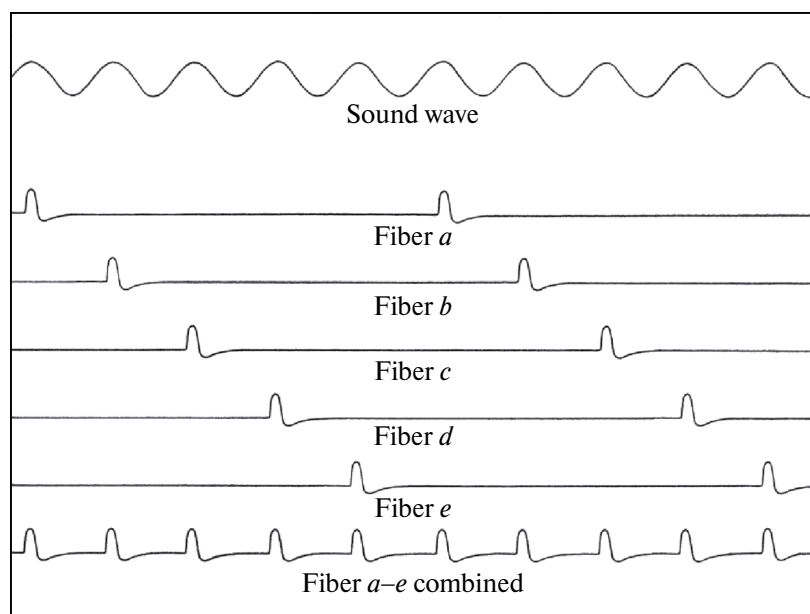


Рис. 2. Модель “Залпового принципа” (Volley principle) Вевера (по: Wever, 1949, p. 167, fig. 33): “Залповый принцип. Каждое волокно отвечает на определенные звуковые волны, а их суммарные отклики передают полную частоту волны”. Верхняя кривая (Sound wave) — звуковая волна, звуковой стимул, поступающий на вход слуховой системы. Fiber a, b, c, d, e — индивидуальные отклики волокон слухового нерва. Fiber a—e — суммарный отклик волокон слухового нерва. После каждого пика (спайка) следует рефрактерный период, за время которого восстанавливается активность соседнего волокна слухового нерва. В результате по слуховому нерву проходит импульсация, равная частоте звукового сигнала (ср. верхнюю и нижнюю кривые).

ответ, чем одиночное волокно. Абсолютный рефрактерный период “наиболее быстрого типа волокон” млекопитающих составляет от 0.6 до 0.9 мс (Wever, 1949, p. 158–163). Знание абсолютного времени рефрактерного периода конкретизирует модель Вевера “Залповый принцип”: появляется возможность определить число нервных волокон, чтобы получить суммарный отклик той или иной частоты.

Юссон в своих работах многократно в разных вариантах воспроизводил рисунок, поясняющий значимость хронаксии для оценки частоты, которую способен пропустить нерв, благодаря последовательной активности многочисленных волокон. Согласно Юссону, как и в случае со слуховым нервом, активность каждого последующего волокна возвратного нерва приходится на рефрактерную фазу предыдущего (напр., Huxson, 1952, p. 126; Юссон, 1974, с. 60). Схему, поясняющую это явление, я воспроизвожу на рис. 3. Рисунок заимствован из книги Юссона “Певческий голос”, изданной на русском языке (Юссон, 1974).

Сторонники миоэластической теории не приняли концепцию Юссона, так как не увидели прямых экспериментальных подтверждений колебания голосовых связок в отсутствие

подсвязочного давления. Более того, они считают эту концепцию избыточной для объяснения механизмов голосообразования.

Так, В.Н. Сорокин, много сделавший для развития физико-математической теории и моделирования процессов голосообразования, о концепции Юссона пишет как о литературном казусе. Посвятив критике Юссона страницу, выделенную мелким шрифтом, он называет нейрехронаксическую теорию “так называемой” (Сорокин, 1985, с. 37). Ссылаясь на Берга (Berg, 1957), В.Н. Сорокин считает, что “...Юссон мог принять следствие за причину”, имея в виду, что Юссон измерял “...вторичную электризацию, или так называемый микрофонный эффект...”, а не непосредственно электрическую активность голосовых мышц. Далее В.Н. Сорокин пишет (Сорокин, 1985, с. 37): “...для объяснения механизма колебания голосовых складок *вполне достаточно* учесть эффект Бернулли...” (курсив мой. — А.Н.). Этим “вполне достаточно” Виктор Николаевич объявляет табу на дальнейшие физиологические исследования механизмов голосообразования.

“Юссон мог принять следствие за причину” — это серьезное обвинение в адрес опытного физиолога. Берг (Berg, 1957), на которого ссылается

Виктор Николаевич, проверяя гипотезу Юссона, измерял электрическую активность голосовых складок человека. Он погружал электрод в щиточерпаловидную мышцу (*musculus thyroarytenoideus*) и сравнивал “электромиограмму” со “звуковой кривой” (sound curve) пациента. Миограмма отличалась от звуковой кривой (осциллограмма гласной “а”) отсутствием многочисленных “спайков” (spikes), низкоамплитудных пиков. В условиях конкретного эксперимента, вероятно, трудно ожидать абсолютного совпадения звуковой кривой с миограммой. Но, по мнению Берга, только такое абсолютное совпадение кривых способно поддержать нейрохронаксическую теорию. Эту свою уверенность он даже усилил французским выражением “*coup pour coup*” (ударом на удар).

В.Н. Сорокин (1985, с. 9), хотя и считает нейрохронаксическую теорию “избыточной”, тем не менее сетует на “незначительное число объективных данных о *центральных механизмах* речеобразования” (курсив мой. — А.Н.). Более того, исследуя на математической модели параметрические явления в голосовой мышце, в частности изменение жесткости мышцы от напряжения, он приходит к важному обобщению (Сорокин, 1985, с. 38): “Параметрические явления в сокращении мышц ... проявляются в процессах артикуляции и голосообразования и могут играть важную роль в восприятии речи”. Это небольшая, но все-таки уступка физиологическим механизмам управления фонацией.

Между тем уже в своих ранних публикациях Юссон активно обсуждал участие различных отделов головного мозга в организации ритма колебаний голосовых связок через возвратный нерв и обратную связь в процессе фонации через слуховой отдел головного мозга (Husson, 1951, 1952). В многочисленных публикациях Юссон настаивал, что работа голосового аппарата находится под контролем центральной нервной системы и что особая роль в этом контроле принадлежит слуховой системе.

В то время, когда Юссон активно публиковал результаты своих исследований (1950-е — начало 1960-х годов), критика нейрохронаксической теории была очень жесткой. Например, в 1960 г. в профильном медицинском журнале США “*Archives of Otolaryngology*” вышла статья Робина (Robin, 1960), в которой ключевым словом было слово “опровержение” (refutation), вынесенное в заголовок: “The neurochronaxic theory of voice production — A refutation”. Робин на больших

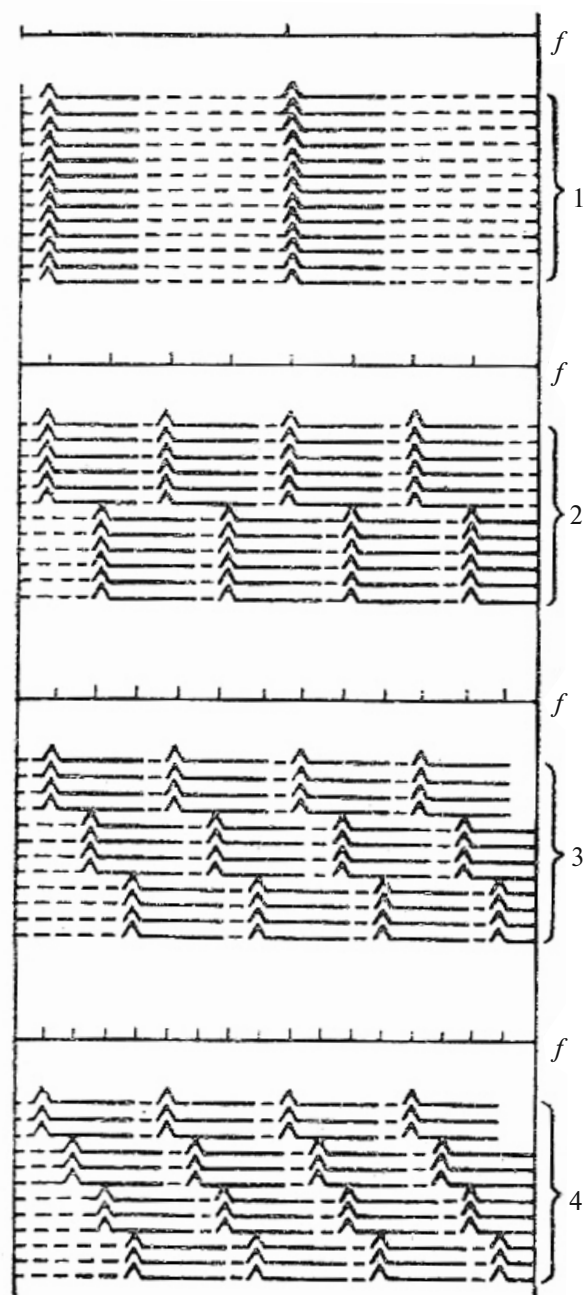


Рис. 3. Пример использования Юссоном “Залпового принципа” Вевера (Wever, 1949) для обоснования передачи голосовым связкам колебаний высокой частоты (Юссон, 1974, с. 65, рис. 19): “Схема четырех типов проводимости возвратного нерва. 1 — однофазный режим работы нерва. Частота электрических стимулов $f = 200$ Гц. Все волокна нерва возбуждаются одновременно. 2 — двухфазный режим, $f = 800$ Гц. Волокна нерва разделились на две части для поочередной передачи импульсов возбуждения. 3 и 4 — трех- и четырехфазные проводимости ($f = 1200$ и 1600 Гц). Соответственно, происходит разделение волокон нерва на три и четыре группы”.

с трахеотомией, экспериментируя со стомой трахеи, показал, что без подсвязочного давления воздуха (трахеальная стома открыта) отсутствуют боковые смещения голосовых связок (vocal cords), и, напротив, когда трахеальная стома закрыта, при попытке фонации голосовые связки смещаются. Робин приходит к выводу (Robin, 1960), что его исследования подтверждают аэродинамическую теорию (aerodynamic theory) и одновременно опровергают нейрохронаксическую теорию Юссона. По Робину, аэродинамическая теория — синоним миоэластической теории голосообразования.

В том же 1960 г. шведский инженер Гуннар Фант (Gunnar Fant, 1919–2009) в своем классическом труде “Акустическая теория речеобразования” (Fant, 1960; русский перевод — Фант, 1964) не принимает теорию Юссона, но высказывается осторожно. Он пишет (Фант, 1964, с. 232): “С акустической точки зрения работу связок нельзя трактовать по аналогии с колеблющейся мембраной; связки только *модулируют* постоянный поток воздуха при выдохе, но не генерируют звуковых колебаний сколько-нибудь заметной интенсивности путем *прямого преобразования* механических колебаний в звуковые. ... Теория Юссона дает мало вероятное объяснение механизмам образования голоса”. И дальше, рассуждая о соотношении избыточного и отрицательного давления в гортани, Фант заключает, что “...наличие эффекта Бернулли само по себе *достаточно* для объяснения работы голосовых связок...” (курсив мой. — А.Н.). Гидродинамический эффект Бернулли создает отрицательное давление, приводящее к смыканию голосовых связок, также в процессе смыкания принимают участие упругие силы голосовых связок (Фант, 1964).

В специальной современной литературе нейрохронаксическая теория обычно излагается как исторический эпизод, а не как конкурирующая идея. Так, в недавнем пространном обзоре, посвященном биофизическим механизмам фонации у млекопитающих, Хербст замечает вскользь (Herbst, 2016, p. 161): “Вопреки давним утверждениям (Husson, 1950), нет никаких доказательств производства звука на основе АМС у человека (Berg, 1958)”. Аббревиатурой “АМС” Хербст обозначает механизм колебаний голосовых связок в соответствии с теорией Юссона — “active muscular contraction” (активное мышечное сокращение). Будучи бескомпромиссным сторонником миоэластической теории, Хербст, ссылаясь на диссертацию Юссона (Husson, 1950), где

впервые была озвучена нейрохронаксическая концепция, в качестве подтверждения ее несостоятельности адресует читателя к давней работе Берга (Berg, 1958). Между тем ко времени выхода статьи Хербста (Herbst, 2016) были опубликованы многие обобщающие исследования, например, “Миоэластическая аэродинамическая теория фонации” Титца (Titze, 2006).

И в довершение критики теории Юссона — о драматическом эпизоде, рассказанном Е.А. Рудаковым по переписке с самим Юссоном. Е.А. Рудаков (1974) во вводной статье к русскому переводу книги Юссона “Певческий голос” (1974) пишет, что Берг в 1957 г. (ссылка на конкретную публикацию отсутствует) обратил внимание, что ветви возвратного нерва имеют *различную длину*. В результате импульсация с разных ветвей возвратного нерва поступает не одновременно, что приводит к несинхронному смыканию и размыканию голосовых связок, таким образом, делая бессмысленным главный принцип нейрохронаксической теории. Конец оказался счастливым. В том же году вышла работа Е. Крмпотич (E. Krmpotic, ссылка на конкретную публикацию отсутствует), в которой было показано, что двигательные аксоны возвратного нерва имеют разный диаметр, в результате чего волокна проводят импульсы с разной скоростью, компенсируя, таким образом, различия в длине.

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОХРОНАКСИЧЕСКОЙ ТЕОРИИ РАУЛЯ ЮССОНА НА ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМОВ ГОЛОСООБРАЗОВАНИЯ СОВЕТСКИМИ ФИЗИОЛОГАМИ

Советские физиологи с большим энтузиазмом восприняли нейрохронаксическую теорию Юссона. В 50–70-е годы прошлого столетия под влиянием нейрохронаксической теории они приблизились к созданию *синтетической теории* голосообразования. Под “синтетической теорией” я понимаю объединение основных положений миоэластической теории, созданной физиками (напр., Ржевкин, 1936; Fant, 1960), с нейрофизиологическими механизмами управления колебаниями голосовых связок (напр., Дмитриев, 1955; Жинкин, 1958; Рудаков, 1964; Морозов, 1967).

Эта работа, создание синтетической теории голосообразования, далеко не закончена. В современной литературе продолжают противопоставлять традиционную миоэластическую теорию нейрохронаксической теории (Юшманов,

2002; Оториноларингология, 2023). По мнению В.И. Юшманова (2002, с. 25), многие феномены вокальной речи невозможно объяснить с позиций миоэластической теории. Механизмы управления голосом должны быть более совершенны, чем это предполагает традиционная теория, которая рассматривает голосовой аппарат как простую автоколебательную систему.

Большая заслуга в пропаганде теории Юссона принадлежит Евгению Александровичу Рудакову. Работая в Лаборатории акустики Московской консерватории (Медушевский, 2019), он содействовал переводу книги Юссона (Husson, 1960) “La Voix Chantée” (“Певческий голос”) на русский язык (Юссон, 1974).

В первой части русской версии “Певческого голоса” изложены основные результаты исследования Юссоном и его предшественниками механизмов голосообразования, а большая вводная статья, написанная самим Е.А. Рудаковым (1974), содержит исчерпывающий комментарий к результатам работ французского физиолога. Многие советские специалисты открыли для себя нейрохронаксическую теорию именно благодаря переводу “La Voix Chantée” на русский язык.

На протяжении нескольких лет Е.А. Рудаков активно переписывался с Юссоном (Медушевский, 2019). Следы этой интереснейшей, содержательной переписки попали в написанный Е.А. Рудаковым очерк о жизни и творчестве Юссона (Рудаков, 1974). По мнению Е.А. Рудакова, с которым я согласен, “голособразование определяется *двумя одновременно существующими механизмами — миоэластическим и нейрохронаксическим*” (Рудаков, 1974, с. 10, курсив автора. — А.Н.).

Уникальный опыт инженера и музыканта, работающего в Московской консерватории, позволил Е.А. Рудакову изложить многие принципы акустики голосообразования языком, доступным самой широкой аудитории. Поддерживая теорию Юссона, Е.А. Рудаков подчеркивает сложный, комплексный характер формирования тембра голоса. Он обращает внимание на адаптивную целесообразность первоначального звука (колебания голосовых связок), состоящего из *множества* гармоник (Рудаков, 1974, с. 26). В результате разнообразные резонаторы в надгортанном пространстве поддерживают, усиливают или подавляют ту или иную гармонику исходного спектра, образуемого колебаниями голосовых связок, что позволяет в очень широких пределах управлять амплитудно-частотным спектром голоса.

Продолжая мысль Е.А. Рудакова, добавлю от себя, что млекопитающие используют специальный прием, амплитудную модуляцию, для расширения числа и диапазона спектральных составляющих: в результате амплитудной модуляции выше и ниже несущего колебания (основной частоты) образуются боковые частоты, кратные частоте модулирующего колебания (Никольский, 2012). Такая манипуляция голосом особенно полезна видам животных, имеющих относительно высокую основную частоту. Напомню, гармоники кратны основной частоте. Чем она выше, тем менее насыщен частотный спектр голоса гармониками.

Десятью годами раньше Е.А. Рудаков (1964) связал механизм формирования тембра с представлениями Юссона (Husson, 1960) о влиянии ротоглоточного рупора на структуру спектра голоса.

Одними из первых на теорию Юссона откликнулись сотрудники Института эволюционной физиологии им. И.М. Сеченова АН СССР В.И. Медведев, Л.Н. Савина и Н.В. Суханова (Медведев и др., 1959), опубликовав статью, с характерным названием: “Физиологический анализ колебания голосовых связок (к вопросу о теории Юссона)”.

Не углубляясь в физику колебаний, авторы во введении образно изложили суть миоэластической теории (Медведев и др., 1959, с. 209): “...колебания связок ... рассматривались как обусловленные автоколебательным процессом, подобно тому, как колеблется полотнище флага, развевающегося на ветру”. Образом пассивно колеблющегося флага опытные физиологи подчеркивали недостаток знания о физиологических механизмах управления фонацией.

Основополагающим положением нейрохронаксической теории является высокая частота колебаний (выше 100 Гц) голосовых связок при раздражении голосовой мышцы (musculus vocalis) импульсами такой же высокой частоты. В.И. Медведев с соавт. (1959) обратили внимание, что это противоречит фундаментальным свойствам мышечной ткани: при частоте раздражения в несколько десятков герц мышца впадает в гладкий тетанус, длительное сокращение.

В эксперименте на гортани собак и кошек они раздражали концевую ветвь возвратного нерва, нижнегортанный нерв (nervus laryngeus inferior), с частотой от 16 до 500 Гц. Оказалось, что уже на частоте около 50 Гц мышца из зубчатого тетануса (сокращение, прерываемое периодами неполного расслабления) переходит в гладкий

тетанус, длительное сокращение. По мнению авторов, эти результаты не подтверждают концепцию Юссона о *вызванном* колебании голосовых связок.

В другой серии экспериментов голосовая мышца раздражалась импульсами частотой 100 Гц, но менялась скорость продуваемого через гортань потока воздуха. В этом случае частота производимого гортанью звука прямо зависела от скорости потока воздуха, что, казалось бы, поддерживает миоэластическую теорию и противоречит нейрорелаксической теории Юссона.

Но продолжение эксперимента позволило автором выдвинуть компромиссную гипотезу, объединяющую обе доминирующие концепции — нейрорелаксическую и миоэластическую. Оказалось, что при перерезке нерва, соединяющего мышцу с ЦНС, эффект зависимости частоты излучаемого гортанью звука от скорости потока продуваемого воздуха выражен крайне слабо. То есть голосовые связки — это все-таки не флаг, развевающийся на ветру. По мнению В.И. Медведева и соавт. (1959, с. 213), “...давление, создаваемое в подсвязочном пространстве, является раздражителем, *рефлекторным путем* регулирующим степень *натяжения* голосовых связок. Импульсы, возникающие в чувствительных нервах гортани, поступают в центральную нервную систему и затем по центробежным нервам подходят к мышцам голосовых связок. Таким образом, обеспечивается *саморегуляция* голосовых связок” (курсив мой. — А.Н.). Это очень важное замечание подсказывает направление дальнейшего поиска нейрофизиологических механизмов управления фонацией.

Но в заключении авторы (Медведев и др., 1959, с. 215), хотя и с оговоркой, приходят к обобщению, поддерживающему миоэластическую теорию голосообразования. Они признают, что непосредственным механизмом колебания связок при фонации является автоколебательный процесс, но параметры связок как колеблющейся системы находятся под нейрофизиологическим контролем. Импульсы, приходящие в мышцу по двигательным нервам, регулируют рефлексы с барорецепторов связок и гортани и с проприорецепторов мышц, ответственных за натяжение связок.

Позднее В.И. Медведев совместно с В.П. Морозовым (1966) показали, что увеличение давления в ротовой полости приводит к понижению частоты основного тона голосовых связок. Эти и аналогичные им эксперименты советских

физиологов (Речь..., 1965; Арутюнян, 1966; Венцов, 1966), по мнению В.П. Морозова (1977, с. 100), “...свидетельствуют о том, что голосовые связки реагируют на градиент воздушного давления” и что “*абсолютное отрицание Юссоном действительности этой силы неправомерно*”.

Исследуя биофизические механизмы вокальной речи, В.П. Морозов (1965, 1977) на основе анализа собственных экспериментов и экспериментов других авторов приходит к важному обобщению, что нервная регуляция частоты колебаний голосовых связок существует, но это не непосредственное ритмическое сокращение мускульных волокон, как считает Юссон, а *опосредованное*. Сокращение мускульных волокон опосредовано “...путем создания таких акустических и механических условий для вибратора, при которых он порождает звук определенной частоты. При этом огромную роль имеет система *биологических обратных связей* на основе функции слухового, вибрационного и проприорецептивного анализаторов, сигнализирующих в центральную нервную систему как о состоянии органов звукопроизношения, так и о результатах их деятельности (В.П. Морозов, 1965)” (Ермолаев и др., 1970).

Наиболее полно концепция В.П. Морозова изложена в его монографии “Биофизические основы вокальной речи” (Морозов, 1977), где он неоднократно возвращается к работам Юссона. Прежде всего, это относится к Главе 6, посвященной физиологическим механизмам регуляции частоты колебаний голосовых связок.

Детально обсудив все аргументы в пользу нейрорелаксической теории, В.П. Морозов приходит к однозначному выводу, что “синхронизм раздражающей частоты с сокращением голосовых связок сохраняется лишь до 100 Гц”. И далее замечает, “что увеличение подсвязочного давления является необходимым условием генерирования высокой частоты колебаний голосовых связок” (Морозов, 1977, с. 95–96).

Далее он повторяет мысль, изложенную ранее в коллективной монографии (Ермолаев и др., 1970), что нервная регуляция частоты колебаний голосовых связок осуществляется не прямым, а опосредованным путем, изменяя механические свойства голосовых связок, создавая оптимальные акустические условия для их колебаний с определенной частотой.

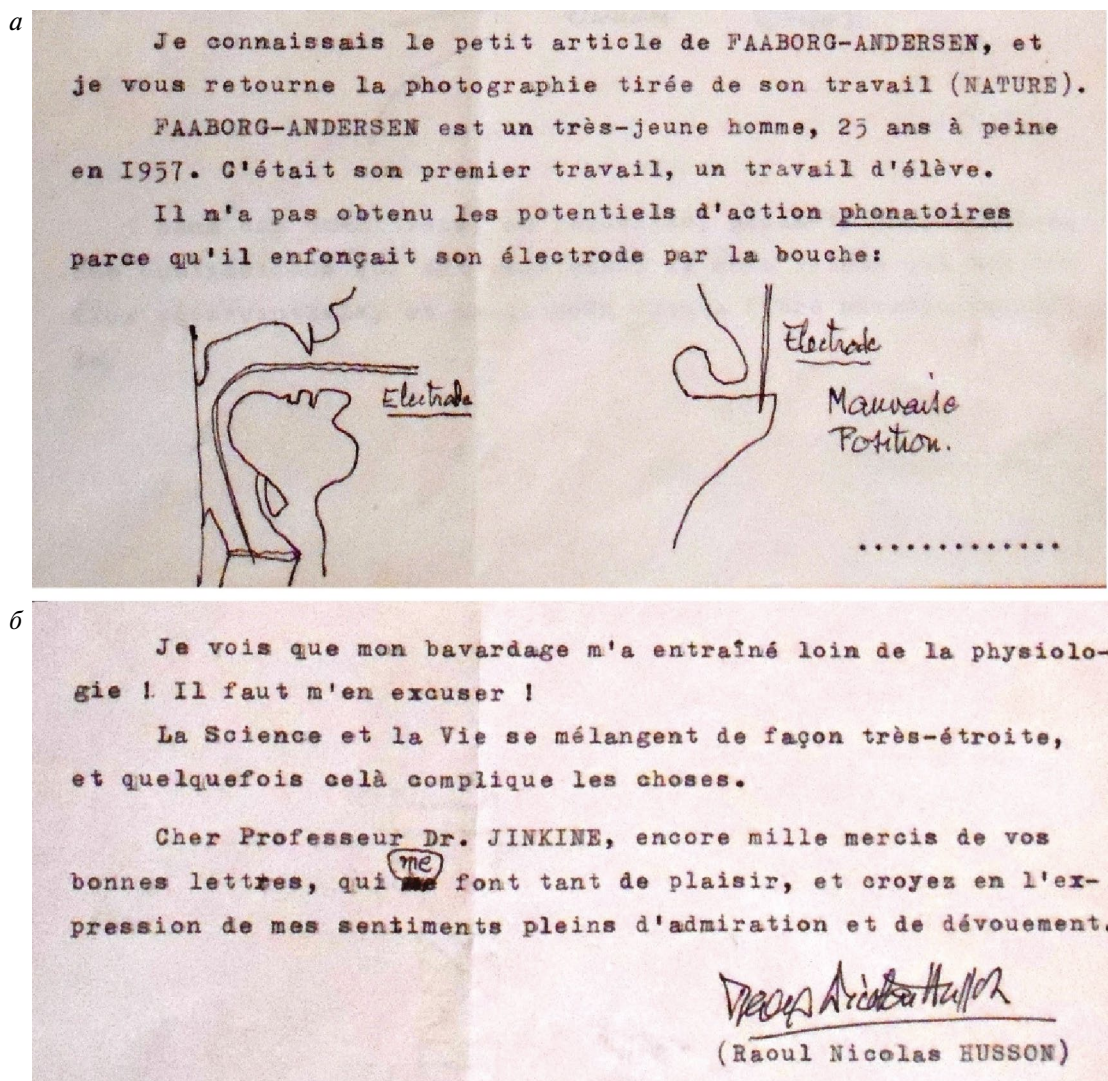


Рис. 4. Фрагмент письма Р. Юссона Н.И. Жинкину от 15 марта 1960 г.: *a* — фрагмент первой страницы письма, в котором Юссон комментирует содержание статьи Андерсена, сопровождая собственным рисунком деталей эксперимента — положение электрода в гортани испытуемого; *б* — письмо заканчивается (на 5-й странице) автографом и заверением в дружеских чувствах к коллеге из Советского Союза.

КODOBЫЙ ПРИНЦИП Н.И. ЖИНКИНА УПРАВЛЕНИЯ ГОЛОСОВЫМИ СВЯЗКАМИ

Среди советских ученых наибольший интерес нейрохронаксическая теория Юссона вызвала у известного психолога Николая Ивановича Жинкина (1893–1979). Н.И. Жинкин внес значительный вклад в изучение морфофизиологических механизмов речи и алгоритма организации речевого потока (Жинкин, 1958, 1960, 1963, 1965; Žinkin, 1963, 1968). Годы его творчества приходятся на время, когда нейрохронаксическая теория голосообразования активно обсуждалась в научном сообществе. Николай Иванович регулярно переписывался с Раулем

Юссоном. 70 листов переписки московского психолога с парижским физиологом хранятся в Центральном государственном архиве города Москвы (ЦГА Москвы, Фонд НЛ. 52, Опись 1, Дело 249). Переписка носила как деловой, так и дружеский характер. В качестве примера привожу фрагменты большого (5 страниц) письма Р. Юссона Н.И. Жинкину (рис. 4).

Письмо написано накануне многодневного, с 23 марта по 3 апреля 1960 г., визита Председателя Совета Министров СССР Н.С. Хрущева в Париж по приглашению Президента Французской Республики генерала де Голля (Совместное..., 1960). Визит, который должен был начаться

15 марта, перенесли на неделю из-за простудного заболевания Н.С. Хрущева.

В письме Н.И. Жинкину Юссон эмоционально описывает нетерпение французов в ожидание приезда советского лидера и делится чувствами по отношению к русским. Я воспроизвожу фрагмент письма Юссона (ЦГА Москвы, Фонд НЛ. 52, Опись 1, Дело 249, Лист 9) в переводе Н.И. Жинкина (ЦГА Москвы, Фонд НЛ. 52, Опись 1, Дело 249, Листы 69, 70): “Мы сегодня ждем приезда господина Президента Хрущева в Париж. Вся страна охвачена необыкновенным энтузиазмом. Надо знать, что все французы без различия социальных классов испытывают к России самые глубокие и сильные чувства. Всякий раз как перед нами вставала угроза со стороны Германии, нас всегда спасала Россия: 1871, 1914, 1941, три или четыре раза за одно столетие. Для того, чтобы показать на примере любовь французского народа к народу русскому, я Вам скажу следующее: еще в тот момент, когда я появился на свет (28 января 1901) моя мать и мой отец воспылали столь большой любовью к России, что дали мне два имени — Рауль, а потом — Николай (в связи с визитом царя в Париж)”.

В своем основном труде “Механизмы речи” (Жинкин, 1958), который был издан во Франции на английском языке (Žinkin, 1968), Н.И. Жинкин (1958, с. 276) совместил обе теории голосообразования — миоэластическую и нейроронаксическую, предложив “*кодовый принцип*” управления свойствами голосовых связок как *автоколебательной* системы.

Обсуждению фактов, поддерживающих теорию Юссона, Н.И. Жинкин посвятил пространный очерк (Жинкин, 1958, с. 273–278), где обращает внимание на необходимость пересмотра сложившихся представлений о механизме колебания голосовых связок (Жинкин, 1958, с. 273): “В недавнее время Рауль Юссон *убедительными фактами опроверг* миоэластическую гипотезу, в связи с чем вопрос об автоколебаниях голосовых связок встал по-новому”. Но далее, сославшись на многочисленные наблюдения и эксперименты, опубликованные Юссоном, Н.И. Жинкин заключает, что “голособразование *в полной мере* согласуется с принципом *автоколебаний*” (Жинкин, 1958, с. 276; курсив мой. — А.Н.).

Как следует из дальнейших рассуждений Н.И. Жинкина, голосообразование все-таки *не в полной мере* согласуется с принципом

автоколебаний. Классическая миоэластическая теория рассматривает голосовые складки как автоколебательную систему с заданными параметрами.

Н.И. Жинкин предложил “кодовый принцип” управления колебаниями голосовых связок, опираясь на эксперименты и наблюдения, поддерживающие нейроронаксическую теорию Юссона. Суть принципа состоит в том, что из ЦНС по возвратному нерву в гортань не поступает импульсация со звуковой частотой, а передается сигнал на задание *автоколебательной* системе *параметров*. Он так об этом пишет (Жинкин, 1958, с. 276): “Физически частота колебаний определяется в самой колеблющейся системе, так как она зависит только от длины и натяжения волокон голосовых связок. Однако длина волокон задается центральным нервным импульсом. При этом совершенно очевидно, что смена этих импульсов или их частота ни в коей мере не совпадают со звуковой частотой”. То есть по возвратному нерву на голосовые связки поступает команда, в которой закодирована информация о параметрах этой автоколебательной системы, а не колебания звуковой частоты. Поступившая команда создает физические условия, облегчающие колебания связок с заданной основной частотой.

“Кодовый принцип” Жинкина звучит убедительно, но, к сожалению, мы и сегодня не знаем, как, какими электрическими характеристиками кодируются команды, посылаемые из соответствующего отдела головного мозга через возвратный нерв на голосовую мышцу, чтобы изменить физические свойства голосовых связок как автоколебательной системы.

“Кодовый принцип” как концепция оставляет в силе основные положения миоэластической теории, одновременно снимая главные противоречия нейроронаксической теории, и открывает перспективы для поиска центральных механизмов управления речью и звуковыми сигналами млекопитающих, широчайший диапазон изменения которых (Никольский, 2023б) невозможно объяснить только физическими характеристиками голосового тракта. Причем речь идет не только об относительном изменении амплитудно-частотного спектра, но и об изменении в процессе вокализации *основной частоты* (рис. 1), зависящей от массы и упругости автоколебательной системы — голосовых связок (или складок, по более привычной терминологии сторонников миоэластической теории).

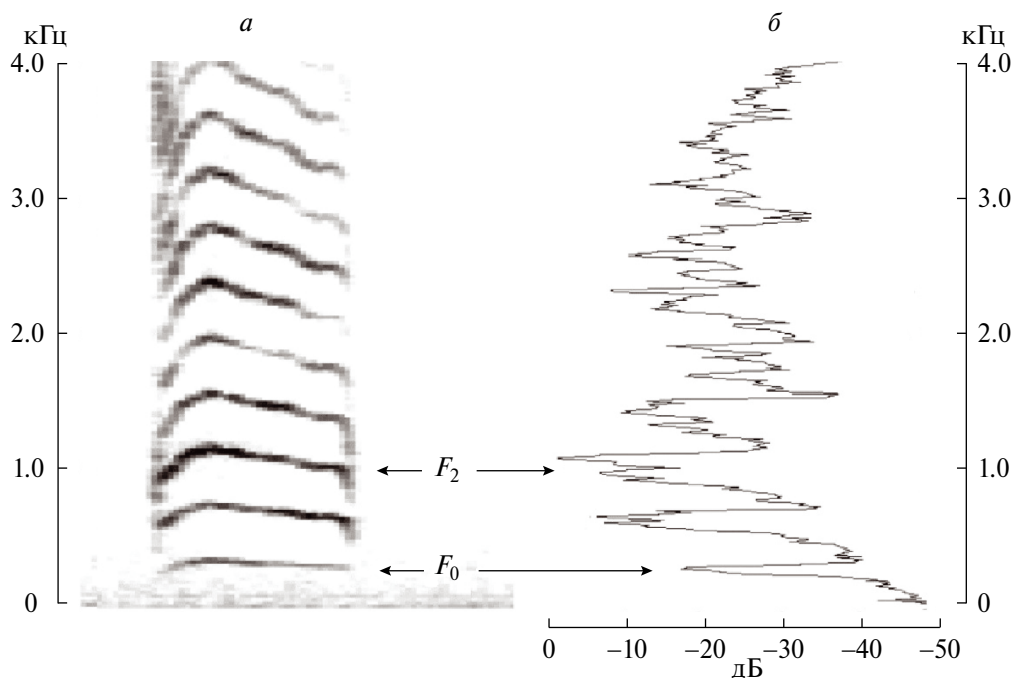


Рис. 5. Крик ягненка, отставшего от матери в стаде: *а* — сонограмма, *б* — интегральный (по всей длительности крика) амплитудно-частотный спектр. F_0 — основная частота, F_2 — вторая гармоника. Амплитуда второй гармоники на 20 дБ превышает амплитуду основной частоты.

Н.И. Жинкин никак не комментирует механизм множественности фаз проводимости возвратного нерва, на котором настаивал Юссон (рис. 2, 3). Он лишь напоминает, что по нерву не могут быть переданы импульсы слишком большой частоты, ограничивая частоту основного тона. По мнению Н.И. Жинкина (1958, с. 277), “...в резонаторной системе, т.е. в трубке, надставленной над гортанью, могут усиливаться гармонические колебания значительно большей частоты, как кратные от основного тона”. Сегодня мы знаем, что этот механизм управления спектром голоса широко распространен среди наземных млекопитающих (Никольский, 2023б).

Рис. 5 поясняет, что происходит на выходе обсуждаемой Н.И. Жинкиным системы надгортанных фильтров. В качестве примера показана спектрограмма крика ягненка, который беспокойно бегаёт в стаде, с тревожным криком разыскивая мать. Характерная ситуация. По мере возрастания беспокойства ягнят их голоса воспринимаются на слух более высокими. Но, как показывает спектральный анализ, *положение основной частоты* в спектре крика *не меняется*, увеличивается амплитуда одной из гармоник, в данном случае — второй (F_2). Доминирование

амплитуды второй гармоники над амплитудой основной частоты существенно, около 20 дБ, а ее частота в 3 раза превышает частоту основного тона (рис. 5б).

Можно привести множество аналогичных примеров, косвенно подтверждающих влияние надгортанных фильтров на характеристику амплитудно-частотного спектра звуковых сигналов различных видов млекопитающих (Никольский, 2023б).

Итак, Н.И. Жинкин, не отрицая миоэластическую теорию голосообразования, настаивает на том, что параметры автоколебательной системы, такие как натяжение и длина голосовых связок, регулируются из центра. Механизм регулирования системы голосообразования он удачно называет “кодовым принципом”, к сожалению, не поясняя, как осуществляется кодирование, а тем более декодирование информации, поступающей по возвратному нерву в гортань.

В итоге, несмотря на некоторую неопределенность рассуждений, Н.И. Жинкин не принимает нейрорхонаксическую теорию Юссона и не отрицает миоэластическую теорию, утверждая, что процесс голосообразования управляется из центра по “кодовому принципу”.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение я отмечаю, что нейроронаксическая теория Юссона до настоящего времени не получила *прямого* экспериментального подтверждения, но тем не менее в литературе к ней регулярно возвращаются.

Примечательно, что именно советские ученые восприняли теорию Юссона с наибольшим интересом. Воспитанные в традициях отечественной физиологической школы, они интуитивно понимали, что Юссон мог ошибаться в деталях, но что главное направление его научного поиска, центральные механизмы управления голосом, не вызывает сомнений.

Выше я уже обращал внимание на многолетнюю переписку Юссона с Н. И. Жинкиным. Не менее активно Юссон переписывался с Е. А. Рудаковым. Я не смог найти архивные материалы этой переписки, но вводная статья Е. А. Рудакова (1974) к русскому изданию книги Юссона “Певческий голос” и сам факт появления этого замечательного труда на русском языке не оставляют сомнений в существовании большого эпистолярного наследия двух выдающихся знатоков механизмов фонации. Не сомневаюсь, что их переписка содержит множество интересных вопросов и гипотез, проливающих свет на физиологические механизмы фонации.

В Центральном государственном архиве города Москвы (ЦГА Москвы, Фонд НЛ. 52, Опись 1, Дело 249) хранится в том числе программа цикла коллоквиумов “Фонация и язык”, проходивших с 25 по 29 июля 1961 г. в Сорбонне. Среди участников значатся имена Н. И. Жинкина и Е. А. Рудакова. Оба не только выступали с докладами, но и были заявлены в качестве руководителей секций (коллоквиумов).

В заключение, давая оценку участия советских ученых в дискуссии вокруг нейроронаксической теории голосообразования французского физиолога и математика Рауля Юссона, можно констатировать, что результаты дискуссии были конструктивны. Советские ученые приблизились к созданию теории, которую можно назвать “синтетической”. Не отрицая, более того, поддерживая классическую миоэластическую теорию, они аргументированно обосновали центральные механизмы управления голосообразованием на уровне всех компонентов голосового тракта. Наиболее перспективным, на мой взгляд, представляется “кодовый принцип” Н. И. Жинкина. Сегодня мы далеки

от реализации этого принципа в содержательную концепцию, но главное направление поиска понятно. “Кодовый принцип” предполагает не прямое воздействие ритмической импульсации на голосовые связки, как на этом настаивал Рауль Юссон, а *кодирование* информации, поступающей из центра в периферию голосового тракта, *приведение физических свойств* его отделов в соответствие акустическим характеристикам звуков на выходе системы, ответственной за передачу информации по акустическому каналу связи. Это относится как к речи, так и к звуковым сигналам наземных млекопитающих, изменчивость которых практически бесконечна (Никольский, 2023б).

Современная фониатрическая наука признает, что исследования советских ученых сформировали “третью теорию механизма голосообразования”, которая “складывается из представлений обеих теорий”, миоэластической и нейроронаксической теории (Шипицына, Вартамян, 2014, с. 221). По сути, признается вклад советской науки в создание *синтетической* теории голосообразования. Наиболее значимая роль в ее создании отводится Л. Б. Дмитриеву, Н. И. Жинкину, Е. А. Рудакову и В. П. Морозову (Шипицына, Вартамян, 2014, с. 221).

Рауль Юссон скончался в возрасте 66 лет, попав в автомобильную катастрофу. Судя по переписке с Е. А. Рудаковым, у него были большие планы развития теории голосообразования с использованием новых фактов, накопленных в литературе (Рудаков, 1974). К сожалению, без Рауля Юссона полемика вокруг его теории быстро сошла на нет, и сегодня абсолютно доминирует миоэластическая концепция, что, на мой взгляд, объясняется непреодолимыми на сегодняшний день методическими трудностями проведения прямых наблюдений и экспериментов, необходимых для исследования нейрофизиологических механизмов фонации.

БЛАГОДАРНОСТИ

За помощь в работе с библиографическими материалами благодарю Л. Л. Данилкину и В. П. Никольского. За консультации по вопросам механизмов голосообразования благодарю О. С. Корсуновскую и В. Н. Сорокину. Благодарю Е. А. Ванисову за помощь в работе с источниками на французском языке. Благодарю анонимного Рецензента, чей высокопрофессиональный комментарий помог улучшить текст статьи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (РНФ) в рамках научного проекта № 22-18-00564.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Конфликт интересов отсутствует.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арутюнян Э.А., 1966. О физиологических механизмах реализации логических ударений // Механизмы речеобразования и восприятия сложных звуков. М.; Л.: Наука. С. 18–30.
- Венцов А.В., 1966. О работе голосовых связок при глухих смычковых интервокальных согласных // Механизмы речеобразования и восприятия сложных звуков. М.; Л.: Наука. С. 62–72.
- Горелик Г.С., 1959. Колебания и волны. Введение в акустику, радиофизику и оптику. Изд. 2-е. М.: Изд-во физ.-мат. литературы. 572 с.
- Дмитриев Л.Б., 1955. Об акустической природе некоторых физиологических приспособлений голосового аппарата при пении // Проблемы физиологической акустики. Т. 3. М.; Л.: АН СССР. С. 34–44.
- Ермолаев В.Г., Лебедева Н.Ф., Морозов В.П., 1970. Руководство по фониатрии. Л.: Медицина. 271 с.
- Жинкин Н.И., 1958. Механизмы речи. М.: Изд-во Акад. пед. наук РСФСР. 312 с.
- Жинкин Н.И., 1960. Звуковая коммуникативная система обезьян // Изв. Акад. пед. наук РСФСР. Вып. 113: Мышление и речь. С. 183–226.
- Жинкин Н.И., 1963. О теориях голосообразования // Мышление и речь / Ред. Жинкин Н.И., Шемякин Ф.Н. М.: Изд-во Акад. пед. наук РСФСР. С. 219–271.
- Жинкин Н.И., 1965. Четыре коммуникативные системы и четыре языка // Теоретические проблемы прикладной лингвистики. Сб. статей. М.: Изд-во МГУ. С. 7–37.
- Медведев В.И., Морозов В.П., 1966. О зависимости частоты колебаний голосовых связок человека от воздушного давления // Тр. Лен. науч.-иссл. ин-та по болезням уха, горла, носа и речи. Т. 14. С. 406–414.
- Медведев В.И., Савина Л.Н., Суханова Н.В., 1959. Физиологический анализ колебаний голосовых связок (к вопросу о теории Юссона) // Проблемы физиологической акустики. Т. 4. М.; Л.: АН СССР. С. 208–215.
- Медушевский В.В., 2019. Акустическая лаборатория МГК в 1960-е годы // Музыкальная академия. № 1 (765). С. 248–258.
- Морозов В.П., 1965. Вокальный слух и голос. М.; Л.: Музыка. 86 с.
- Морозов В.П., 1967. Тайны вокальной речи. Л.: Наука, Лен. отд. 204 с.
- Морозов В.П., 1977. Биофизические основы вокальной речи. Л.: Наука, Лен. отд. 231 с.
- Морозов В.П., 2002. Искусство резонансного пения. Основы резонансной теории и техники. М.: Искусство и наука. 496 с.
- Начала физиологии: Учебник для вузов, 2004 / Ред. акад. Ноздрачев А.Д. 3-е изд., стер. СПб.: Лань. 1088 с.
- Никольский А.А., 2012. Амплитудная модуляция звуковых сигналов млекопитающих // Журн. общ. биологии. Т. 73. № 3. С. 225–240.
- Никольский А.А., 2023а. Влияние французской научной школы на развитие биоакустики в Советском Союзе (60–70-е годы прошлого столетия) // Журн. общ. биологии. Т. 84. № 1. С. 15–28.
- Никольский А.А., 2023б. Акустическая коммуникация млекопитающих: опыт полевых исследований. М.: URSS. 208 с.
- Оториноларингология. Учебник, 2023 / Под ред. Карпищенко С.А. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР–Медиа. 480 с.
- Речь. Артикуляция и восприятие, 1965 / Ред. Кожевников В.А., Чистович Л.А. М.; Л.: Наука. 241 с.
- Ржевкин С.Н., 1936. Слух и речь в свете современных физических исследований. М.; Л.: Объединенное науч.-тех. изд-во НКТП СССР. 311 с.
- Рудаков Е., 1964. Новая теория образования верхней певческой форманты // Применение акустических методов исследования в языкознании. Сб. статей / Ред. Скребков С.С. М.: Музыка. С. 18–37.
- Рудаков Е., 1974. Рауль Юссон и его исследования // Певческий голос. Исследование основных физиологических и акустических явлений певческого голоса. М.: Музыка. С. 3–38.
- Самусев Р.П., 2023. Универсальный атлас анатомии человека: Учеб. пособие для мед. учеб. заведений. М.: АСТ; Мир и образование. 320 с.
- Совместное Советско-Французское коммюнике, 1960 // Правда. № 94 (15218). 3 апреля 1960 г. С. 1.
- Сорокин В.Н., 1985. Теория речеобразования М.: Радио и связь. 312 с.
- Фант Г., 1964. Акустическая теория речеобразования. М.: Наука. 284 с.
- Шипицына Л.М., Вартанян И.А., 2014. Анатомия, физиология и патология органов слуха, речи

- и зрения: Учебник для студ. учреждений высш. образования. 3-е изд., стер. М.: Академия. 432 с.
- Юссон Р., 1974. Певческий голос. Исследование основных физиологических и акустических явлений певческого голоса. М.: Музыка. 262 с.
- Юшманов В.И., 2002. Вокальная техника и ее парадоксы. Изд. 2-е. СПб.: Изд-во ДЕАН. 128 с.
- Berg J., van den, 1957. Microphonic effect of the larynx // *Nature*. V. 179. P. 625–626.
- Berg J., van den, 1958. Myoelastic-aerodynamic theory of voice production // *J. Speech Hearing Res.* V. 3. № 1. P. 227–244.
- Fant G., 1960. *Acoustic Theory of Speech Production*. Hague: Mouton. 323 p.
- Herbst C.T., 2016. Biophysics of vocal production in mammals // *Vertebrate Sound Production and Acoustic Communication* / Eds Suthers R.A., Fitch W.T., Fay R.R., Popper A.N. Cham et al.: Springer. P. 159–190.
- Husson R., 1950. Étude des phénomènes physiologiques et acoustiques fondamentaux de la voix chantée. Thesis: Diss. Doct. Fac. des Sciences. Paris: Revue Scientifique. 88 p.
- Husson R., 1951. Relations neuro-psychologiques entre la phonation et l'audition // *Ann. Télécommun.* V. 6. № 10. P. 273–277.
- Husson R., 1952. Sur la physiologie vocale // *Ann. Otolaryngol.* V. 69. № 1. P. 124–137.
- Husson R., 1957. Acoustique et physiologie phonatoire // *J. Phys. Phys. Appl.* V. 18. № S3. P. 23–35.
- Husson R., 1960. *La Voix Chantée*. Paris: Gauthier-Villars. 205 p.
- Husson R., 1962. *Physiologie de la Phonation*. Paris: Masson. 590 p.
- Husson R., 1965. Théorie aérodynamique de la sirène laryngée // *Ann. Télécommun.* V. 20. P. 81–90.
- Robin H.J., 1960. The neurochronaxic theory of voice production – A refutation // *Arch. Otolaryngol.* V. 71. № 6. P. 913–920.
- Titze I.R., 2006. *The Myoelastic Aerodynamic Theory of Phonation*. Denver: National Center for Voice and Speech. 424 p.
- Wever E.G., 1949. *Theory of Hearing*. N.-Y.: John Wiley. 484 p.
- Žinkin N.I., 1963. An application of the theory of algorithms to the study of animal speech: Methods of vocal intercommunication between monkeys // *Acoustic Behaviour of Animals*. Amsterdam etc.: Elsevier. P. 132–182.
- Žinkin N.I., 1968. *Mechanisms of Speech*. Hague, Paris, Mouton: Mouton De Gruyter. 462 p.

Influence of Raoul Husson's neurochronaxic theory for the development of research on the physiological mechanisms of voice production in the Soviet Union (1950–1970s)

A. A. Nikol'skii

*Vavilov Institute for the History of Science and Technology, RAS
Baltiyskaya, 14, Moscow, 125315 Russia
e-mail: bobak@list.ru*

The influence of the neurochronaxic theory of phonation of the French physiologist Raoul Husson (1901–1967) on the development of research on voice formation in the Soviet Union, mainly in the 1950–1970s, is discussed. Husson contrasted the neurochronaxic theory with the traditional myoelastic theory of voice formation. The myoelastic theory considers the vocal folds as a self-oscillatory system. Vibrations are caused by the energy of the air flow. According to Husson's concept, vibrations of the vocal cords do not depend on subglottic pressure. The frequency of vibration of the vocal cords corresponds to the frequency of impulses arriving along the recurrent nerve. To explain the high frequency of vibration of the vocal cords, Husson used Wever's "Volley Principle". According to this principle, the activity of each subsequent nerve fiber occurs during the refractory phase of the previous fiber. The responses of all nerve fibers are summed up into a common high-frequency oscillation. In 1950–1970s, Soviet physiologists took an active part in testing the new concept proposed by Husson. They came to the conclusion that both mechanisms, myoelastic and neurochronaxic, are involved in the functioning of the vocal apparatus. But the recurrent nerve does not directly control the vibrations of the vocal cords, but indirectly. Žinkin called this control system the "code principle," when a command is sent to the vocal cords to change their physical characteristics, changing the properties of the self-oscillating system.

УДК 574.9:57.045:632.78

МОДЕЛИРОВАНИЕ СОВРЕМЕННОГО КЛИМАТИЧЕСКОГО АРЕАЛА *CYDALIMA PERSPECTALIS* (LEPIDOPTERA, CRAMBIDAE) В ЕВРАЗИИ

© 2024 г. И. О. Попов^{1, 2, *}, Е. Н. Попова^{2, **}

¹Институт глобального климата и экологии имени академика Ю.А. Израэля
ул. Глебовская, 20Б, Москва, 107258 Россия

²Институт географии РАН
Старомонетный пер., 29/4, Москва, 119017 Россия

*E-mail: igor_o_popov@mail.ru

**E-mail: en_popova@mail.ru

Поступила в редакцию 30.11.2023 г.

После доработки 08.01.2024 г.

Принята в печать 04.08.2024 г.

Проведено моделирование современного климатического ареала опасного вредителя растений рода самшит (*Buxus* L.) самшитовой огневки (*Cydalima perspectalis* Walker, 1859) в Евразии с целью определения возможных территорий его дальнейшей экспансии. Из разных источников (базы данных о распространении видов и публикации) собраны сведения о локусах фактического обитания самшитовой огневки как в нативной (Восточная и Южная Азия), так и в инвазионной (Европа и Западная Азия) частях ареала. В качестве предикторов распространения использовали шесть биоклиматических параметров: три температурных и три влажностных. Разработаны и применены оригинальные методики определения числа точек псевдо-отсутствия и их селективной генерации. Окончательная классификация и разбиение пространства биоклиматических факторов осуществлялись с помощью градиентного бустинга. Рассчитан и картографирован современный евразийский климатический ареал самшитовой огневки. Показано, что инвазия еще не достигла своих пределов и имеется ряд территорий в Евразии, где климатические условия благоприятны для появления популяций этого вида как в нативной части ареала (отдельные южные и восточные регионы Китая, КНДР и южные предгорья Гималаев), так и в инвазионной его части (в Северной и Восточной Европе, на Кавказе, в Турции). Дана сравнительная оценка важности разных климатических факторов в определении территории распространения данного вида. Установлено, что наибольшей важностью для построения модели климатического ареала *C. perspectalis* обладает сумма осадков самого сухого месяца (47.6%). Выявлено различие в климатических условиях между нативной и инвазионной частями ареала и сделаны предположения о возможных причинах его возникновения.

DOI: 10.31857/S0044459624040044, EDN: UTNJYP

Самшитовая огневка (*Cydalima perspectalis* Walker, 1859) — опасный облигатный вредитель растений рода самшит (*Buxus* L.) из семейства огневок-травянок (Crambidae, Lepidoptera), способный приводить к полной дефолиации самшитовых деревьев, их угнетению и усыханию (Гниненко и др., 2014). Ранее вид был также отнесен к родам: *Phakellura*, *Glyphodes*, *Diaphania* и *Neoglyphodes* (Mally, Nuss, 2010). Гусеницы *C. perspectalis* питаются в основном зелеными частями растений, однако при недостатке пищи могут объедать и кору деревьев (Шуров, 2014; Нестеренкова и др., 2017). После завершения питания они окукливаются в паутиных коконах

в комках высохших листьев кормового растения, лишая его эстетической привлекательности (Гниненко и др., 2014). За год может развиваться от двух до пяти поколений этого вредителя (Гниненко и др., 2018). Нативный ареал самшитовой огневки включает Китай, Японию, Корейский полуостров, Приморский край Российской Федерации (Inoue et al., 1982; Определитель насекомых..., 2005). Имеются сведения о находках *C. perspectalis* на территории современного Пакистана — бывшей Британской Индии (Hampson, 1896).

В начале XXI в. этот вид был случайно завезен в Западную Европу, где стал стремительно

распространяться. Инвазия началась в 2006 г., когда самшитовая огневка была обнаружена в Германии, в г. Вайль-на-Рейне (Weil am Rhein), куда она, по-видимому, была завезена из Китая вместе с саженцами самшита (Krüger, 2008). В 2007 г. вредитель уже был обнаружен в Британии, Нидерландах (Muus et al., 2009) и Швейцарии (Billen, 2007), в 2008 г. зафиксированы первые случаи обнаружения самшитовой огневки во Франции (Feldtrauer et al., 2009), в 2009 г. — в Австрии и Лихтенштейне (Slamka, 2022). К настоящему времени документировано распространение *C. perspectalis* также в следующих странах: Ирландия, южные регионы Швеции, Испания, Португалия, Польша, Чехия, Словакия, Венгрия, Хорватия, Сербия, Македония, Греция, Болгария, Италия, Мальта, Турция (Bras et al., 2019; Slamka, 2022). Из Турции *C. perspectalis* проникла в Грузию, где в 2012 г. была впервые обнаружена в окрестностях г. Батуми (Гниненко и др., 2016). Результаты исследований геномов самшитовой огневки из разных европейских популяций позволяют говорить о нескольких независимых случаях интродукции этого вида из нативной части ареала, преимущественно из Восточного Китая (Bras et al., 2019).

В России самшитовая огневка впервые была обнаружена в Краснодарском крае в г. Сочи в 2012 г., куда она была завезена из Италии вместе с зараженными саженцами самшита, поставляемыми в связи с подготовкой к Олимпиаде (Ескин, Бибин, 2014). Самшитовая огневка быстро распространилась по Северному Кавказу и южным регионам России, где нанесла серьезный ущерб зарослям реликтового колхидского самшита (*Buxus colchica*) (Гниненко и др., 2014, 2016; Matsiakh et al., 2018). В 2013 г. *C. perspectalis* обнаружена в Чеченской республике в г. Грозном (Проклов, Караева, 2013). В 2014 г. она проникла в Абхазию (Лукмазова, 2014; Щуров, 2014). В 2015 г. вредитель распространился по территории Крыма (в Симферополе, Никитском Ботаническом саду и Карадагском природном заповеднике), хотя имеются сведения о первых единичных находках еще в 2014 г. (Будашкин, 2016; Стрюкова, 2016; Трикоз, Халилова, 2016). Также в 2015 г. самшитовая огневка впервые обнаружена в Республике Северная Осетия — Алания (Доброносоев, 2017), в Адыгее и Ставропольском крае (Нестеренкова и др., 2017).

Таким образом, современный ареал самшитовой огневки делится на две четко обособленные части: нативную (Восточная и Южная Азия) и инвазионную (Европа и Западная Азия).

Самшитовая огневка способна развиваться на большинстве евразийских видов р. *Buxus* L. Всего род насчитывает 102 вида (WFO Plant List: <https://wfoplantlist.org/plant-list/taxon/wfo-4000005846-2023-06?page=1>). Наиболее часто отмечено питание вредителя на таких видах, как самшит китайский (*Buxus sinica*), самшит мелколистный (*B. microphylla*) и самшит вечно-зеленый (*B. sempervirens*) (Будашкин, 2016; Гниненко и др., 2018). Ряд авторов отмечают также возможность питания *C. perspectalis* и на других растениях: пахизандре верхушечной (*Pachysandra terminalis*), падубе пурпурном (*Ilex purpurea*), бересклетах японском (*Euonymus japonicus*) и крылатом (*E. alatus*) и некоторых других (Щуров, 2014; Будашкин, 2016; Гниненко и др., 2018). Однако, по-видимому, гусеницы самшитовой огневки при питании не на самшите, а на растениях других родов, не могут успешно завершать свое развитие (Гниненко и др., 2018). В лабораторных исследованиях гусеницы *C. perspectalis* отказывались употреблять в пищу листья растений не р. *Buxus*, проявляя себя как типичный олигофаг (Нестеренкова и др., 2017; Гниненко и др., 2018). Все эти данные свидетельствуют о том, что вне самшитовых насаждений данный вредитель существовать не может.

В настоящее время ареал самшита, включая регионы его искусственного разведения, гораздо обширнее ареала его вредителя *C. perspectalis* (Di Domenico et al., 2012; Kenis et al., 2013; PictureThis, 2023). Евразийский ареал р. *Buxus* простирается от Британских островов до Суматры и занимает Южную, значительную часть Западной Европы, Закавказье, Переднюю Азию, Китай и Японию. В Азии произрастает всего около 20 видов самшита. В КНР, которая является, как показали генетические исследования, основным источником инвазии самшитовой огневки в Европе (Bras et al., 2019), в природе известно 17 видов р. *Buxus* (Min, Brückner, 2008; Atlas of Woody Plants..., 2011). Как минимум 10 азиатских видов могут быть растениями-хозяевами для самшитовой огневки (Wan et al., 2014). В Западной и Южной Европе с древних времен распространены два вида — *B. sempervirens* и *B. balearica* (Di Domenico et al., 2012; Mitchell et al., 2018), которые являются хорошей кормовой базой для гусениц самшитовой огневки (Matsuyama, Shinkaji, 1991; Wan et al., 2014). В России на территории Краснодарского края и Кавказа находятся реликтовые насаждения самшита колхидского (*B. colchica*), который внесен в Красную Книгу РФ (Гниненко и др., 2014).

Также на территории прикаспийского региона, в том числе на территории Азербайджана, произрастает *B. hyrcana* (Esmailnezhad et al., 2020). Согласно современным представлениям, *B. colchica* и *B. hyrcana* являются, скорее всего, синонимами или подвидами *B. sempervirens* (Di Domenico et al., 2011). Кроме того, на протяжении длительного времени самшит широко используется как декоративное растение практически на всей территории Евразии, за исключением отдельных северных регионов. Получены морозо- и засухоустойчивые сорта растений этого рода, что позволяет при должном уходе выращивать их даже на Урале, в Сибири и на Дальнем Востоке, поэтому распространение растений-хозяев не является фактором, ограничивающим расширение ареала самшитовой огневки на значительной части Евразии. Кроме того, к настоящему времени нет сведений о патогенах или хищниках, способных существенно влиять на популяции самшитовой огневки (Wan et al., 2014; Гниненко и др., 2018). Рельеф, расстояния, городская среда также не могут быть непреодолимыми препятствиями для распространения этого вредителя, поскольку основным способом его расселения является перенос вместе с посадочным материалом. Таким образом, основным фактором, определяющим пределы инвазии *C. perspectalis*, является климат. В связи с этим представляется актуальной проблема прогнозирования возможностей для ее дальнейшей экспансии.

Моделирование распространения видов (Species distribution modeling – SDM) является бурно развивающейся областью науки на стыке разных дисциплин (Peterson et al., 2011; Peterson, 2014; Araújo et al., 2019; Srivastava et al., 2019; Zurell et al., 2020; Sillero et al., 2021). Моделирование потенциальной территории распространения вида основывается на моделировании его экологической ниши – области пространства экологических признаков, в пределах которой исследуемый вид может существовать и образовывать устойчивые популяции (Soberón, 2007). В моделировании в качестве предикторов могут использоваться разные экологические факторы, но наиболее часто применяются климатические, в первую очередь температурные и влажностные, как определяющие общий экологический фон существования живых организмов (Franklin, 2009; Попова, Попов, 2013, 2019).

Существует несколько подходов к моделированию экологической ниши. Одним из них является создание механистической модели существования вида, реализованной, например,

в пакете CLIMEX. Данный подход использует знания о влиянии различных экологических факторов (в первую очередь климатических) на жизненный цикл вида для построения модели экологической ниши и моделирования возможного ареала. Этот метод был использован в работе Накамбо с соавт. (Nacambo et al., 2014) для моделирования потенциального ареала *C. perspectalis* в Евразии.

Другим широко применяемым подходом является корреляционное моделирование, использующее сведения о фактическом распространении вида и эколого-климатической ситуации в местах его обнаружения с дальнейшим построением модели зависимости возможного распространения от значений экологических факторов. Для построения такой модели в настоящее время используется ряд алгоритмов, в том числе основанных на методах машинного обучения, поскольку в целом моделирование экологической ниши при корреляционном подходе сводится к двухклассовой классификации – стандартной задаче машинного обучения.

Важной проблемой, возникающей при использовании методов машинного обучения для моделирования ареала, является дефицит данных о точно установленных местах отсутствия вида (Franklin, 2009; Wisz, Guisan, 2009; Peterson et al., 2011; Barbet-Massin et al., 2012; Srivastava et al., 2019). Обычные источники сведений о распространении видов (коллекции, литературные сведения, базы данных) почти всегда содержат информацию о присутствии вида. В то же время построение модели, как правило, требует наличия сведений об обоих классах: положительном и отрицательном. Данная проблема имеет несколько способов решения.

Алгоритмы первого типа не требуют наличия сведений о территории за пределами географического ареала вида или области виртуального пространства признаков вне области экологической ниши. К этому типу относились первые методы, специально разработанные для моделирования ареалов (например, BIOCLIM, DOMAIN и др.), которые разделяли пространство признаков на области, принадлежащие экологической нише или находящиеся вне ее, с помощью “окружения” областей точек распространения видов простыми геометрическими фигурами, например, гиперкубом в случае BIOCLIM (Booth et al., 2014) или более сложными фигурами, как в случае алгоритма DOMAIN (Carpenter et al., 1993). При простоте такие методы страдают очевидной

высокой неточностью и тенденцией к слишком большим ложноположительным ошибкам классификации. Однако, несмотря на эти недостатки, они все еще используются в моделировании распространения видов (Xie et al., 2023; Zhang et al., 2023).

Более совершенными являются одноклассовые методы классификации: например, одноклассовый метод опорных векторов (oneclass support vector machine – OCSVM), изолирующий лес (isolation forest), нейронные сети автодекодеры и другие алгоритмы, используемые также в задачах выявления выбросов в данных (Guo et al., 2005; Liu et al., 2008; Noumir et al., 2012). Однако основная проблема таких методов – трудность подбора гиперпараметров применяемых алгоритмов машинного обучения.

Альтернативным подходом является рандомная генерация точек псевдо-отсутствия (pseudo-absence points), с определенной степенью достоверности аппроксимирующих область вне ареала (при их создании в географическом пространстве) или вне экологической ниши, с дальнейшим применением стандартных методов классификации (Peterson et al., 2011; Hanberry et al., 2012). Простейшим вариантом такого подхода служит не-селективная генерация точек псевдо-отсутствия на всем исследуемом географическом пространстве, их проекция в пространство экологических признаков и классификация на полученном наборе образцов. Очевидно, такой подход чреват высокой вероятностью ложноотрицательной классификации (Wisz, Guisan, 2009). При селективной генерации точки псевдо-отсутствия отсеиваются из области пространства признаков (или иногда из географического пространства), с большой долей вероятности относящейся к положительному классу (Barbet-Massin et al., 2012; Senay et al., 2013; Wang et al., 2023b). Для этого производится предварительная классификация с использованием одноклассовых или простых двухклассовых методов. Рекомендации по использованию того или иного подхода, например, об оптимальном числе точек псевдо-отсутствия, о параметрах предварительной их селекции и т.д., обычно имеют общий характер и даются на основе сравнительных экспериментов на искусственных наборах данных (Mateo et al., 2010). Стоит заметить, что обычно подбор гиперпараметров одноклассовых методов также включает генерацию точек псевдо-отсутствия (Mack et al., 2014; Wang et al., 2018).

Широко применяющийся в моделировании ареалов метод MAXENT представляет еще один

подход, не требующий генерации точек псевдо-отсутствия. Однако этот алгоритм включает генерацию так называемых фоновых точек для оценки функции распределения параметров окружающей среды. Их рекомендуемое число также имеет обобщенный характер, притом что его изменение может сильно повлиять на конечный результат (Phillips et al., 2004, 2006). MAXENT был применен для моделирования потенциальной территории распространения *C. perspectalis* в Евразии в статье Канеллеса и соавт. (Canelles et al., 2021).

Целью настоящей работы стало создание корреляционной модели современного климатического ареала самшитовой огневки в Евразии и идентификация областей ее дальнейшей возможной инвазии на этом материке. Под климатическим ареалом понимается область географического пространства, в каждой точке которой климатические условия допускают устойчивое существование популяций исследуемого вида (Hughes et al., 1996; Gaston, 2003; Попова, Попов, 2019; Богданович и др., 2023). При создании этой модели нами была применена оригинальная методика генерирования точек псевдо-отсутствия, принадлежащих к области вне экологической ниши в виртуальном пространстве признаков, с использованием современных методов нивелирования дисбаланса численности образцов разных классов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Данные о распространении C. perspectalis

Сведения о распространении самшитовой огневки в Евразии были взяты из трех источников.

1. База данных Global Biodiversity Information Facility (GBIF.org, 2020). Из данного источника были взяты сведения о распространении *C. perspectalis* на всей территории Евразии с 1905 по 2020 г., всего 18247 записей. При этом отбирались только данные, содержащие информацию о дате находки и точности локализации.

2. Nation Biodiversity Network Atlas (NBN Atlas, <https://nbnatlas.org/>). Эта база данных содержит информацию о распространении видов, в частности самшитовой огневки, на территории Великобритании. Взято 4646 записей, доступных на 28 августа 2020 г.

3. Поскольку первые два источника содержали крайне мало данных по распространению самшитовой огневки на территории Восточной Европы (включая Россию) и Южной и Восточной

Азии, особенно Китая, была собрана и проанализирована литература, содержащая сведения о местах обнаружения *C. perspectalis*. Всего было проанализировано 78 статей, давших информацию о 320 локализациях вида, значительно дополнивших данные из предыдущих двух источников. Значительная часть данных в этих источниках имела геолокационную привязку с точностью вплоть до секунд. В ряде статей давались только названия населенных пунктов. В таких случаях в качестве координат находок брались координаты центра данного поселения. Поскольку все они имели небольшие размеры, ошибка геопозиционирования может считаться незначительной.

В результате были получены сведения о 23213 локализациях *C. perspectalis* на территории Евразии. Особенностью полученного набора данных является их большая пространственная неравномерность: для Западной Европы, особенно Великобритании, плотность локализаций чрезвычайно велика, для других областей Евразии (особенно Восточной Европы и Китая) напротив — очень низка. Подобная неравномерность может привести к эффектам смещения при генерации точек псевдо-отсутствия и в результате к ошибкам моделирования экологической ниши. Для нивелирования этих нежелательных последствий, а также для элиминации случаев дублирования данных, сначала было осуществлено прореживание локализаций, расположенных друг к другу ближе, чем на 10 км, согласно рекомендации (Radosavljevic, Anderson, 2014).

Эти и другие расчеты проводились с помощью скриптов, написанных на языке программирования Python 3. После выполнения данного алгоритма над изначальным набором данных о распространении *C. perspectalis* было получено 1575 локализаций на территории Евразии, которые и использовались в дальнейшем анализе (Попова, Попов, 2023).

Точки локализации в Евразии были отнесены к трем регионам: нативному ареалу (Восточная и Южная Азия, точки, расположенные восточнее 60° в.д.) и инвазионному ареалу, разделенному на две части — западную (Западная Европа, точки западнее 35° в.д.) и восточную (включает Восточную Европу и Западную Азию, расположен между 35 и 60° в.д.), которые будем условно называть западно-инвазионным и восточно-инвазионным ареалами (или частями ареала). В нативном ареале насчитывается 98 фактических локализаций,

в восточно-инвазионном — 216, в западно-инвазионном — 1261. На рис. 1а представлена карта пространственного распределения этих обнаружений, использованных в дальнейшем построении модели климатического ареала самшитовой огневки. Построение карт осуществлялось в ГИС QGIS.

Климатические данные

В качестве источника данных по климату использовалась база метеоданных CRU TS4.03 Университета Восточной Англии (Harris et al., 2020). Эта база содержит результаты метеонаблюдений месячного разрешения, интерполированные на регулярную пространственную сетку с шагом 0.5°.

На основе этих данных для применения в качестве предикторов распространения *C. perspectalis* были рассчитаны значения 19 стандартных биоклиматических параметров (BIO1–BIO19), отобранных в рамках проекта WorldClim2 для эколого-климатических исследований (Fick, Hijmans, 2017) и широко применяемых в моделировании ареалов (Drake, Bossenbroek, 2004; Bellard et al., 2013; Stoica, 2018; Petrosyan et al., 2023; Wang et al., 2023a) (табл. 1). Использовались средние значения этих параметров для периода 1999–2018 гг., соответствующего временному интервалу большинства обнаружений *C. perspectalis*.

Корреляционный анализ выявил сильные взаимные корреляции многих из этих параметров. Для редукции числа потенциальных предикторов были выявлены шесть групп, характеризующихся наибольшими значениями линейного коэффициента корреляции Пирсона, из которых выбрали по одному параметру, отличающемуся наименьшей средней корреляцией с биоклиматическими параметрами из других групп. В результате были отобраны шесть параметров, использовавшихся в дальнейшем исследовании: BIO2, BIO3, BIO11, BIO14, BIO15, BIO18 (табл. 1). Первые три характеризуют температурные условия внешней среды, остальные — влажностные.

Значения этих параметров, распределенные на регулярной пространственной сетке, были интерполированы на координаты локусов обнаружения самшитовой огневки с помощью кубической интерполяции.

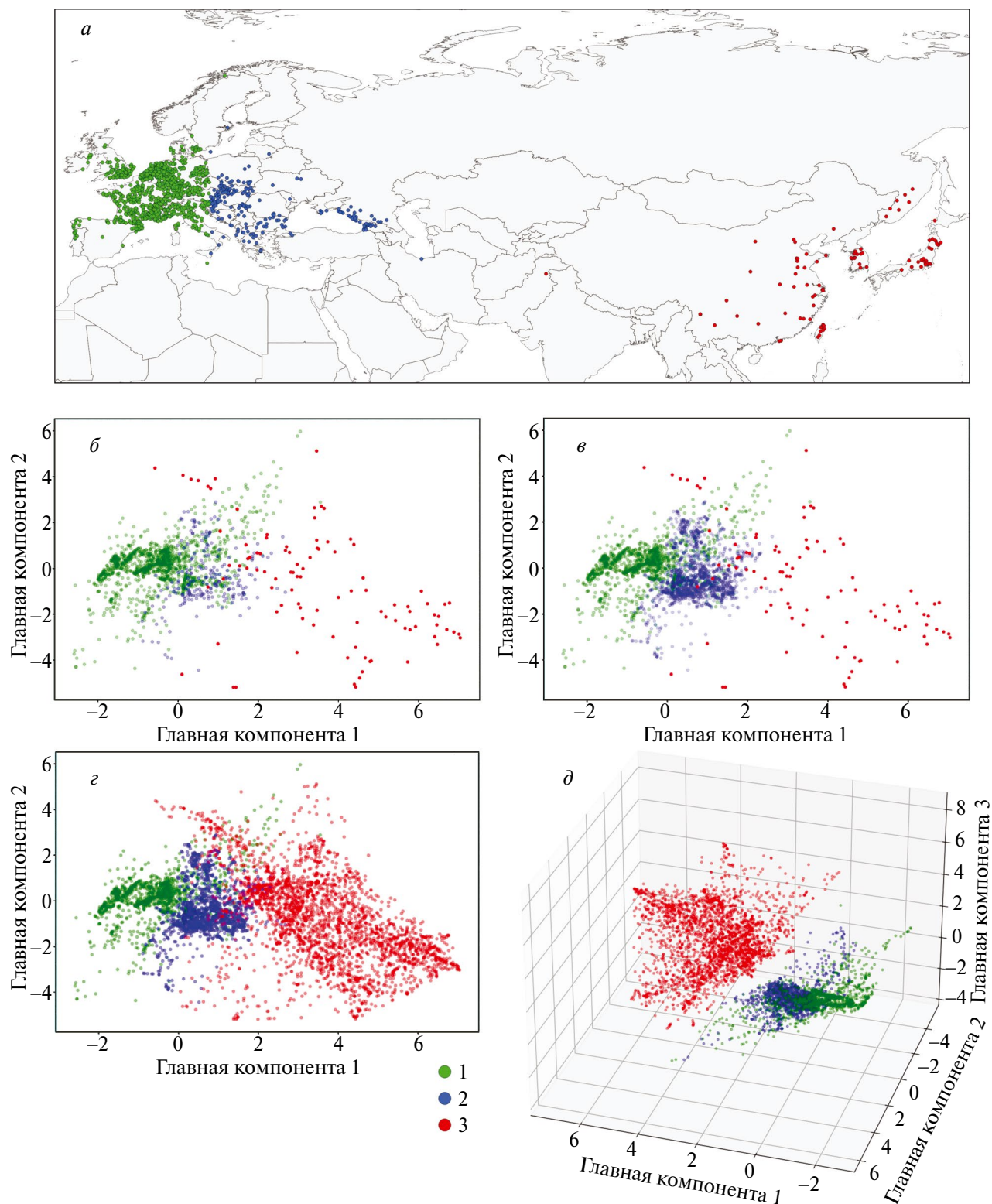


Рис. 1. Точки обнаружения *C. perspectalis*, использованные в данном исследовании: а – пространственное распределение точек обнаружения *C. perspectalis*, б–д – распределение точек обнаружения *C. perspectalis* в пространстве главных компонент шести биоклиматических параметров на разных стадиях их улучшения (б – изначальный набор данных, в – данные после воздействия алгоритмом SMOTE на локусы из восточно-инвазионной части ареала, г и д – данные после воздействия алгоритмом SMOTE на локусы из нативной части ареала в пространстве двух и трех главных компонент соответственно). Условные обозначения: 1 – западно-инвазионная часть ареала, 2 – восточно-инвазионная часть ареала, 3 – нативная часть ареала.

Таблица 1. Биоклиматические параметры, использованные в данном исследовании

BIO1	средняя годовая температура
BIO2	средний месячный разброс температур ($t_{\max} - t_{\min}$)
BIO3	изотермальность ($BIO2/BIO7 \times 100$)
BIO4	температурная сезонность (стандартное отклонение средних месячных значений $\times 100$)
BIO5	максимальная температура самого теплого месяца
BIO6	минимальная температура самого холодного месяца
BIO7	годовой разброс температур ($BIO5 - BIO6$)
BIO8	средняя температура самого влажного квартала
BIO9	средняя температура самого сухого квартала
BIO10	средняя температура самого теплого квартала
BIO11	средняя температура самого холодного квартала
BIO12	годовая сумма осадков
BIO13	сумма осадков самого влажного месяца
BIO14	сумма осадков самого сухого месяца
BIO15	сезонность осадков (коэффициент вариации месячных сумм осадков)
BIO16	сумма осадков самого влажного квартала
BIO17	сумма осадков самого сухого квартала
BIO18	сумма осадков самого теплого квартала
BIO19	сумма осадков самого холодного квартала

Примечание. Жирным шрифтом отмечены параметры, отобранные в качестве предикторов для моделирования климатического ареала *C. perspectalis*.

*Улучшение данных о распространении
C. perspectalis и генерация точек
псевдо-отсутствия*

На рис. 1б представлен график распределения векторов биоклиматических условий в идентифицированных локусах распространения самшитовой огневки в виртуальном пространстве двух главных компонент шести отобранных биоклиматических параметров, объясняющих примерно 60% их дисперсии (в табл. 2 приведены вклады биоклиматических параметров в главные компоненты и значения долей объясненной дисперсии каждой компоненты). На этом рисунке можно увидеть, что локусы в разных регионах

заметно отличаются по климатическим условиям, занимая разные области пространства признаков. При этом визуально выявляется различие в числе обнаружений в разных частях ареала и в их плотности в пространстве признаков. Эта особенность исходных данных — различие в плотности точек в разных областях виртуального пространства признаков — может привести к ошибкам при генерации точек псевдо-отсутствия и при классификации. Для решения этой проблемы производилась генерация искусственных точек обнаружения вида в областях с их низкой плотностью. Целью этой процедуры была, с одной стороны, ликвидация дисбаланса

Таблица 2. Вклад биоклиматических параметров в главные компоненты и значения долей объясненной дисперсии главных компонент

Номер главной компоненты	BIO2	BIO3	BIO11	BIO14	BIO15	BIO18	Доля объясненной дисперсии
1	0.0281	−0.5733	−0.4539	−0.0105	0.4600	0.5028	0.336
2	−0.4585	−0.1111	−0.1319	0.7015	−0.4674	0.2221	0.262
3	−0.3530	0.2160	0.6530	0.0488	0.4119	0.4798	0.177
4	−0.7420	−0.3665	0.0212	−0.4326	−0.0100	−0.3571	0.152
5	−0.3143	0.6751	−0.5695	−0.2548	0.0372	0.2339	0.052
6	0.1229	−0.1489	0.1591	−0.5033	−0.6315	0.534	0.021

в числе обнаружений между разными частями ареала, с другой — повышение плотности образцов в области пространства признаков, аппроксимирующей фундаментальную экологическую нишу вида.

Для генерации был применен алгоритм повышающей балансировки численности образцов SMOTE (Synthetic Minority Over-sampling TEchnique) (Chawla et al., 2002; Barandela et al., 2003; Хейдт, Груздев, 2019), позволяющий эффективно оценить область их распределения в пространстве признаков и случайным образом генерирующий в ней искусственные образцы минорного класса для достижения паритета в численности с мажорным классом. Использовалась реализация этого алгоритма (и других алгоритмов балансировки классов) в пакете Imbalanced-learn для языка программирования Python 3 (<https://imbalanced-learn.org/stable/>; Lemaître et al., 2017).

Генерация искусственных образцов производилась в несколько этапов. Сначала был ликвидирован дисбаланс между данными из западно-инвазионной и восточно-инвазионной частей ареала самшитовой огневки (рис. 1а). Далее был устранен дисбаланс между нативной и инвазионной частями (рис. 1б–д). В результате было получено 3653 искусственных образца, которые вместе с выявленными действительными локусами дают 5232 точки в пространстве биоклиматических признаков. Назовем их искусственными положительными образцами или точками.

Генерация точек псевдо-отсутствия производилась в несколько этапов. Предварительно случайным образом равномерно генерировались точки в географическом пространстве в прямоугольнике с координатами от 30° з.д. до 180° в.д. и от 0 до 70° с.ш., включающем весь наблюдаемый ареал самшитовой огневки и захватывающем значительные территории вокруг него в Евразии и северной части Африки. Точки над океаном и морями отсеивались. Значения биоклиматических параметров для каждой сгенерированной точки псевдо-отсутствия рассчитывались с помощью кубической интерполяции.

На данном этапе встает вопрос о количестве генерируемых точек. Было предложено определить такое число точек, чтобы их плотность в пространстве стандартизированных значений биоклиматических признаков примерно равнялась плотности сгенерированных точек из оцененной климатической ниши вида, но была немного ее меньше, для возможности элиминировать точки

псевдо-отсутствия из предположительной области экологической ниши. Для оценки плотности точек над ними в виртуальном пространстве признаков производилась триангуляция Делоне (Скворцов, 2002). При этом значения биоклиматических признаков предварительно стандартизировались относительно значений их средних и стандартных отклонений множества сгенерированных положительных точек. Триангуляция осуществлялась при помощи функции Delaunay из пакета `scipy.spatial` для Python 3. За оценку плотности точек принималась средняя длина ребер полученных треугольников.

Был генерирован ряд наборов точек псевдо-отсутствия числом от 5 тыс. до 50 тыс. с шагом 5 тыс. точек. Было определено, что значение плотности точек в пространстве признаков, соответствующее указанному критерию, получалось при генерации 30 тыс. точек псевдо-отсутствия.

Очевидно, что сгенерированные таким методом точки будут находиться и в области пространства признаков, принадлежащей экологической нише вида. Таким образом, второй этап подготовки точек псевдо-отсутствия заключался в их элиминации из этой области на основе имеющегося набора положительных точек. Для достижения этой цели применялся другой известный алгоритм снижения дисбаланса между классами образцов — AllKNN, также реализованный в пакете Imbalanced-learn (Zhang, Mani, 2003; Liu et al., 2009). Этот алгоритм относится к типу понижающих (undersampling) алгоритмов, ликвидирующих дисбаланс за счет отбрасывания образцов мажоритарного класса на основе некоторых правил. Главный принцип работы данного алгоритма основывается на известном алгоритме “К ближайших соседей” (K Near Neighbors — KNN) и в общих чертах может быть описан следующим образом: для каждого образца класса, подлежащего фильтрации, определяется К ближайших соседей и, если среди них число образцов иного класса превышает половину, образец элиминируется.

Основным гиперпараметром этого алгоритма является число К ближайших соседей (KNN). Его определение представляет некоторую проблему и одновременно важность: при слишком низком числе KNN есть риск пропустить образцы, подлежащие элиминации, а при слишком большом, наоборот, отбросить те образцы, которые нужно сохранить. Для решения этой задачи был применен следующий подход. После действия алгоритмом AllKNN с некоторым

значением гиперпараметра KNN на набор образцов над полученным множеством проводилась триангуляция. Поскольку триангуляция в пространстве шести признаков занимает много времени и требует значительных вычислительных ресурсов, она производилась в пространстве первых четырех главных компонент, объясняющих примерно 93% дисперсии. Назовем стороны полученных треугольников связями. Средняя длина разнородных связей (сторон треугольников, соединяющих точки разных классов) служит показателем разделенности областей классов в пространстве признаков, а отношение их числа к общему числу связей наоборот — показатель смешанности, зашумленности данных. Трудность заключается в том, что при увеличении KNN оба эти значения изменяются в разных направлениях: доля разнородных связей уменьшается, а их средняя длина увеличивается. Требуется найти такое значение KNN, при котором будет достигнут некоторый баланс этих значений. Слишком большая средняя длина может быть признаком слишком большого расстояния между классами, что может привести к высокому уровню неопределенности при последующем классифицировании пространства признаков.

Анализ показал, что доля разнородных связей монотонно уменьшается при увеличении KNN. Однако их средняя длина изменяется по более сложной траектории. При KNN меньше 8 происходит резкое увеличение среднего расстояния. Далее следует спад с минимумом при значении KNN, равном 14, после чего средние значения длин разнородных связей растут. При KNN, равном 38, средняя длина опять немного уменьшается и выходит практически на плато с небольшим ростом при значениях KNN больше 62.

На основании этих результатов было предложено в качестве оптимального использовать значение KNN, равное 14, поскольку при нем наблюдается существенное уменьшение доли разнородных связей (т.е. уменьшение перемешанности точек разных классов или, иными словами, зашумленности данных) при минимальном значении их средних длин (т.е. минимальном зазоре между областями пространства признаков, относящихся к разным классам). Набор точек псевдо-отсутствия, прошедших воздействие алгоритма AllKNN при KNN, равном 14, был использован на дальнейших этапах исследования. Он включал 26741 точку псевдо-отсутствия.

Для ликвидации возникшего дисбаланса классов множество положительных образцов

было подвергнуто действию уже ранее использованного алгоритма SMOTE для достижения равенства числа точек обоих классов.

Окончательное моделирование экологической ниши

Для построения окончательной модели экологической ниши *C. perspectalis* в качестве алгоритма классификации был использован градиентный бустинг, отличающийся высокой эффективностью и широко применяющийся в настоящее время в самых разных областях (Mason et al., 1999). Суть этого метода заключается в создании последовательного ансамбля решающих регрессионных деревьев, каждое из которых уменьшает ошибку предыдущего ансамбля. Помимо высокой эффективности и относительной низкой требовательности к вычислительным ресурсам, такая структура алгоритма позволяет легко и понятным способом давать вероятностную оценку принадлежности оцениваемого образца к тому или иному классу, а также оценивать важность предикторов для классификации, основываясь на доле их использования для расщепления в узлах решающих деревьев (Рашка, Мирджалили, 2020).

Имеется несколько реализаций данного алгоритма, отличающихся в том числе разными подходами к решению проблемы переобучения. В данной работе использовался алгоритм, реализованный в библиотеке XGBoost (Chen, Guestrin, 2016), демонстрирующей одни из лучших показателей среди классических методов машинного обучения.

В качестве предикторов были взяты все шесть отобранных биоклиматических параметров. Для подбора гиперпараметров использовалась трехчастная кросс-валидация. Качество классификации оценивалось с помощью меры F1, сочетающей в себе возможность сбалансированной оценки точности и полноты классификации (Флах, 2016; Хейдт, Груздев, 2019). Набор данных, включающий положительные и отрицательные точки, был разбит случайным образом на обучающую и тестовую выборки, содержащие 70 и 30% образцов соответственно. Классификация на этапе обучения осуществлялась в дискретном режиме. Подбирались значения числа деревьев и их максимальной глубины. После подбора оптимальных значений этих гиперпараметров классификатора значение меры F1 на тестовом наборе составило 0.998. Далее классификатор с этими значениями гиперпараметров был

обучен на всем наборе образцов и сохранен для дальнейшего моделирования.

Для расчета евразийского климатического ареала самшитовой огневки на вход этого обученного классификатора в режиме предсказания подавался ранее вычисленный массив данных со значениями использованных шести биоклиматических параметров в центрах регулярной географической сетки с разрешением $0.5 \times 0.5^\circ$, которые отражают климатическую ситуацию для 1999–2018 гг. Расчет производился в режиме как дискретного, так и вероятностного предсказания, позволяющего оценивать вероятность принадлежности географической точки к климатическому ареалу. Полученные результаты моделирования наносились на географическую карту.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 2 приведены карты дискретной и вероятностной моделей современного евразийского климатического ареала самшитовой огневки с обозначенными локусами фактических находок. Как видно на этом рисунке, в Евразии имеется ряд областей, относительно которых нами не обнаружено опубликованных данных о распространении *C. perspectalis*, но которые могут стать или, возможно, уже стали частью ее ареала.

В нативной части климатического ареала самшитовой огневки (рис. 2б) таких областей меньше, чем в инвазионной, но все-таки они присутствуют. Это некоторые области в южной и восточной частях Китая и территория КНДР, где, согласно используемым сведениям, отсутствуют находки самшитовой огневки, однако вероятность их принадлежности к климатическому ареалу там очень велика. Впрочем, нельзя исключать возможность отсутствия или недоступности данных о распространении *C. perspectalis* на этих территориях. Интересные результаты получены для южных предгорий Гималаев. Как видно, область, пригодная для распространения самшитовой огневки, протянулась узким поясом от восточных районов Афганистана через Пакистан, Непал, Бутан, север и северо-восток Индии до границы с Китаем (рис. 2б). В этом регионе известно только два свидетельства о находках самшитовой огневки, которые, однако, сделаны в разных, противоположных, частях данной области: на западе — на территории современного Пакистана (Hampson, 1896), и на самом ее востоке — в Южном Китае (GBIF.org, 2020). Результаты моделирования говорят об отсутствии новых потенциальных

территорий для распространения *C. perspectalis* на Дальнем Востоке России, помимо уже идентифицированных, что может свидетельствовать о достижении здесь самшитовой огневкой пределов возможностей своего распространения (рис. 2б).

Как видно на рис. 2в, результаты моделирования инвазионной части климатического ареала самшитовой огневки свидетельствуют о заселении к настоящему моменту практически всей территории Западной Европы, относительно которой имеется основной массив сведений о распространении вредителя. При этом, как можно заметить, отсутствуют данные об его обнаружении в центральной и западной частях Ирландии и в значительной части Шотландии, хотя, по полученным модельным данным, эта территория обладает благоприятными для распространения самшитовой огневки климатическими условиями (рис. 2в). Полученная модель также показывает возможность распространения *C. perspectalis* на юге Скандинавского полуострова, и, несмотря на единичные данные об обнаружении вредителя в этом регионе, потенциальный ареал самшитовой огневки здесь гораздо обширнее. Также есть вероятность распространения *C. perspectalis* на севере Норвегии, хотя и с некоторой степенью неопределенности. Для этого региона имеется лишь одно сведение об обнаружении самшитовой огневки, но площадь ее климатического ареала здесь также намного больше. Очевидно, возможность распространения самшитовой огневки на этой территории обусловлена смягчающим действием теплого течения Гольфстрим. Также отмечена возможность распространения *C. perspectalis* в ряде регионов Южной Европы, где пока не было находок этого вида: на островах Сардиния, Пальма и Крит, а также в отдельных областях полуострова Пелопоннес в Греции (рис. 2в).

Стоит отметить, что локусы находок как минимум в двух местах на границе инвазионной части климатического ареала: на юго-западе (Мадрид, центр Испании) и на востоке (Вильнюс, восточная часть Литвы) — не вошли в модельный климатический ареал (рис. 2в), что может свидетельствовать либо о случайных заносах особей данного вида в эти районы, либо о наличии там небольших территорий с подходящим микроклиматом, поскольку микроклимат больших городов, как правило, отличается от климата окружающих областей (Lokoshchenko, 2014; Бардин, Платова, 2020; Марченко, 2022).

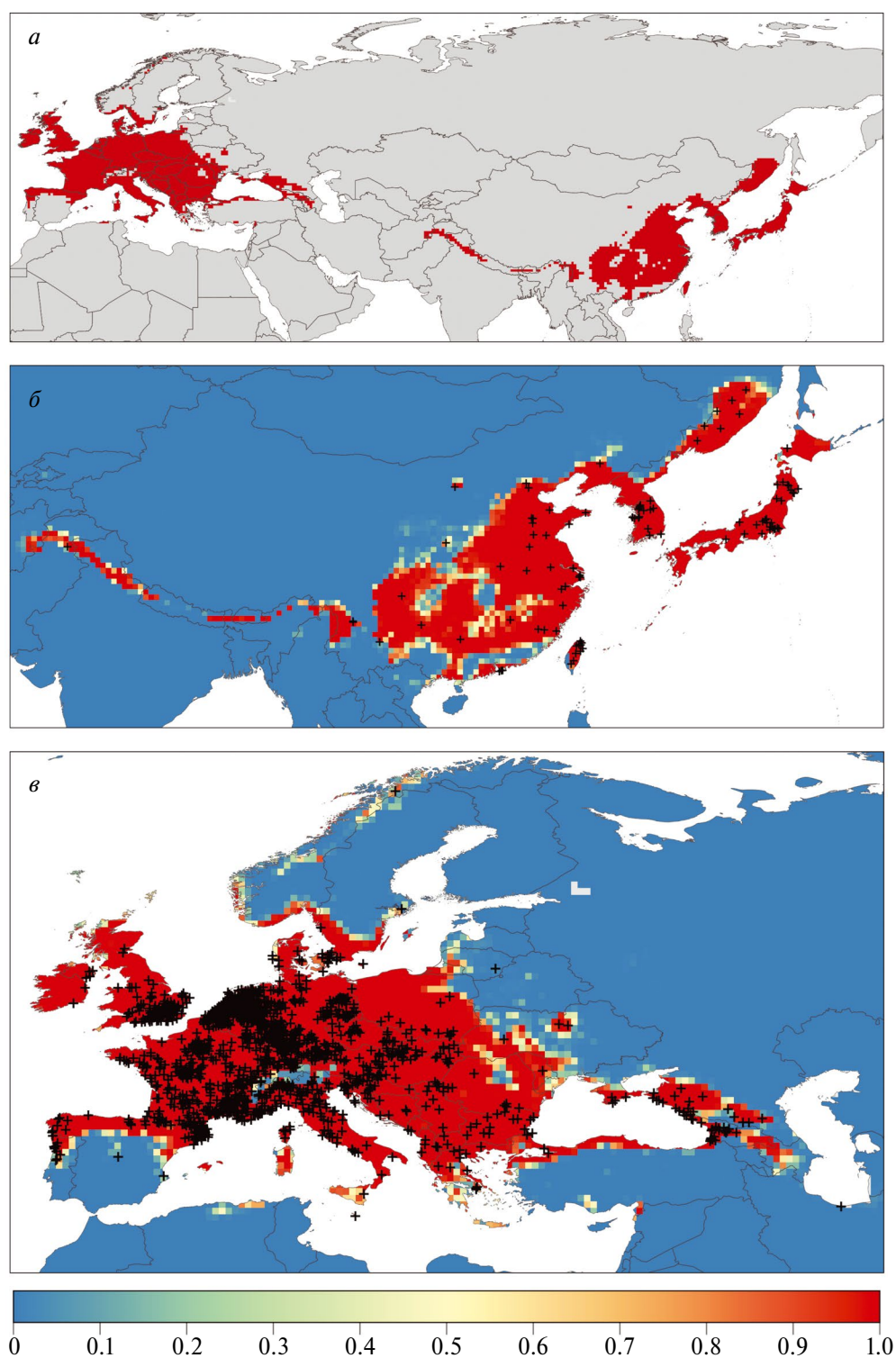


Рис. 2. Карты модельного евразийского климатического ареала *C. perspectalis*: *a* — карта дискретной модели климатического ареала (ареал отрисован красным цветом), *б* и *в* — карты вероятностной модели нативной и инвазионной частей климатического ареала соответственно. Внизу — шкала вероятности принадлежности территории к модельному климатическому ареалу. Символом “+” обозначены фактические точки обнаружения *C. perspectalis* в Евразии.

В Восточной Европе, согласно рис. 2в, климатические условия благоприятствуют распространению *C. perspectalis* практически на всей территории Польши. В статье Береса и соавт. (Bereś et al., 2022) дан обзор регионов и путей распространения самшитовой огневки в этой стране к 2020 г. Представленные в ней данные подтверждают результаты нашего моделирования, согласно которому климатический ареал *C. perspectalis* занимает почти всю территорию Польши. К этой части климатического ареала примыкает территория потенциального распространения самшитовой огневки в Калининградской области Российской Федерации и в восточных регионах Литвы. Обнаружение *C. perspectalis* в Польше на границе с этими областями Европы говорит о ее возможной инвазии в этом направлении, что согласуется с нашей моделью.

Большие территории возможного распространения самшитовой огневки находятся в Румынии, хотя данных об обнаружении здесь вредителя мало и все они относятся к приграничным областям страны. Также возможно распространение *C. perspectalis* в западных регионах Украины, на западном побережье Черного моря и на севере, в районе Киева, хотя в последнем случае мы наблюдаем локальный, очень “островной” характер модельного климатического ареала, что может свидетельствовать об очевидно краевом положении этой территории относительно остального ареала (рис. 2в). Информация о появлении в 2015 г. самшитовой огневки на черноморском побережье, в районе Одессы (Карпун и др., 2019), подтверждает правдоподобность полученных нами модельных результатов.

В европейской части Российской Федерации в область возможного распространения самшитовой огневки, помимо Калининградской области, где климатические условия благоприятны для ее инвазии, входит и ряд южных регионов. В Крыму распространение вредителя, согласно результатам проведенного моделирования, возможно по всей территории, хотя опубликованные данные говорят об обнаружении этого вида только в южных частях полуострова. Дальнейшее распространение *C. perspectalis* в Краснодарском крае и в кавказских регионах России, помимо уже заселенных вредителем областей, согласно полученной в данной работе модели, маловероятно. Инвазии самшитовой огневки могут также происходить и на северо-западном побережье Черного моря (рис. 2в).

Для Закавказья полученная модель свидетельствует о возможном распространении *C. perspectalis* в восточной части Азербайджана (рис. 2в), хотя к настоящему моменту данные об ее находках в этой стране неизвестны. Также возможно распространение самшитовой огневки в восточных областях Грузии, хотя имеющиеся сведения об обнаружении здесь самшитовой огневки касаются только западных областей страны.

Очень интересная ситуация наблюдается с возможной территорией распространения самшитовой огневки в Турции (рис. 2в). К настоящему моменту имеются в основном данные об обнаружении *C. perspectalis* только в северо-западной ее части — в Стамбуле и прилегающих к нему областях на азиатской стороне Босфора. Однако, согласно полученной модели, потенциальный ареал вредителя охватывает практически все черноморское побережье Турции, а также северную часть побережья Эгейского моря. Другая возможная область распространения — провинция Хатай на юго-востоке страны на границе с Сирией, являющаяся важным сельскохозяйственным регионом Турции. Недавно опубликованные данные по обнаружению самшитовой огневки в этом регионе соответствуют результатам нашего моделирования (Laz et al., 2022).

Анализ важности биоклиматических параметров для построения модели климатического ареала *C. perspectalis* показывает, что наибольшей важностью (47.6%) обладает сумма осадков самого сухого месяца (параметр BIO14). Далее по важности, хотя и значительно в меньшей степени (22.1%), следует средняя температура самого холодного квартала (BIO11), а на третьем месте, с небольшим отрывом от предыдущего параметра (18.6%), стоит сумма осадков самого теплого квартала (BIO18). Остальные три параметра (BIO2, BIO3, BIO15, см. табл. 1) в сумме имели важность 11.7%.

Также в ходе визуального анализа распределения точек обнаружения *C. perspectalis* в пространстве первых трех главных компонент отобранных биоклиматических факторов (рис. 1д) было обнаружено сильное различие эколого-климатических характеристик мест обитания самшитовой огневки в нативной и инвазионной частях ареала.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как было отмечено во введении, на настоящий момент существует несколько методов одноклассовой классификации, которые

используются в моделировании распространения видов. В данной работе представлен метод, основанный на отсеивании точек псевдоотсутствия в области пространства признаков, где плотность положительных образцов превышает их плотность, с последующим классификационным разделением этого пространства с помощью обычного двухклассового метода классификации (в нашем случае — градиентного бустинга). В целом можно отметить удовлетворительное соответствие полученной модели и фактических данных о распространении *C. perspectalis*. Лишь для небольшого количества пространственных ячеек вероятность их принадлежности к ареалу ниже 90%, что говорит о малой степени неопределенности в полученной модели. В то же время общая картина полученного модельного ареала свидетельствует о низком уровне переобученности модели. Тем не менее имеет смысл дальнейшее исследование этого подхода, в том числе с использованием искусственно сгенерированных ареалов, с целью совершенствования разработанных методик.

Можно сравнить смоделированный в данной работе климатический ареал с результатами, представленными в статье Накамбо с соавт. (Nacambo et al., 2014). Часть потенциального модельного ареала, полученная этими авторами, совпадает с нашим модельным ареалом. Это в первую очередь прогнозируемая ими высокая вероятность появления самшитовой огневки в пока еще не заселенных ею районах своего нативного ареала — в Южной и Восточной Азии. Этими авторами также приводятся неопубликованные ранее сведения о находках *C. perspectalis* на территории южных островов Японии, что согласуется с результатами проведенного нами моделирования и выявлением здесь областей высокой вероятности распространения самшитовой огневки, хотя данные об обнаружении здесь вредителя не использовались в наших расчетах. Однако полученный авторами (Nacambo et al., 2014) модельный ареал также покрывает значительные территории в европейской и западно-сибирской частях России, а также территории стран Юго-Восточной Азии, где *C. perspectalis* не была обнаружена и которые отсутствуют в смоделированном в нашей работе климатическом ареале. При этом в модель Накамбо и соавт. (Nacambo et al., 2014) не вошла часть уже известного к настоящему времени европейского ареала — в Ирландии, Великобритании и Скандинавии. Можно сделать вывод о значительной смещенности

этой модели и ее способности к переоценке. Ограниченность доступных к моменту создания вышеуказанной публикации данных о фактическом распространении *C. perspectalis*, по-видимому, не позволила авторам (Nacambo et al., 2014) провести верификацию их модели и оценить эти ее недостатки.

Другая, более современная модель климатического ареала самшитовой огневки в Евразии представлена в публикации Канеллеса с соавт. (Canelles et al., 2021). Авторы применили для ее построения алгоритм MAXENT и опирались на более обширную базу данных о находках. Однако среди них практически отсутствуют данные об обнаружении *C. perspectalis* в России и в целом мало сведений о распространении в Восточной и Южной Европе. Также мало точек в нативной части ареала, в частности нет данных о находках на Дальнем Востоке России. Несмотря на эти недостатки, авторы (Canelles et al., 2021) создали намного более реалистичную модель, чем в работе Накамбо с соавт. (Nacambo et al., 2014). Сравнивая результаты этого исследования с построенной нами моделью, можно отметить большое сходство в смоделированном нативном ареале. Территории возможного распространения в Западной и Северной Европе в этих двух моделях также во многом совпадают. Однако, что касается климатического ареала в Южной и Восточной Европе, авторы (Canelles et al., 2021) явно недооценили возможность распространения там самшитовой огневки. Большие области юга Италии и Балканского полуострова представлены как имеющие низкую пригодность для распространения *C. perspectalis*. Также практически вся Восточная Европа в модельном ареале оказалась непригодной для обитания этого вредителя, за исключением причерноморских областей, в том числе Крыма, а также западных областей Кавказа. И это при том, что даже среди использованных авторами данных имеются сведения о находках *C. perspectalis* в этих регионах. Это говорит о значительной ошибке модели Канеллеса и соавт. (Canelles et al., 2021) и, к сожалению, является ее большим недостатком.

В проведенном нами исследовании было выявлено, что наибольшей значимостью для моделирования климатического ареала самшитовой огневки обладала сумма осадков самого сухого месяца (BIO14), в несколько меньшей степени — средняя температура самого холодного квартала (BIO11) и сумма осадков самого теплого квартала (BIO18), которые вместе обладали

важностью 88.3%, что может свидетельствовать о влиянии этих климатических факторов на жизнедеятельность и распространение *C. perspectalis*. Эти данные частично согласуются с выводами, сделанными в работе Канеллеса и др. (Canelles et al., 2021), где авторы при проведении эвристической оценки также отмечали наибольший вклад в построение климатической модели ареала *C. perspectalis* таких факторов, как количество осадков самого сухого квартала (BIO17) и минимальную температуру самого холодного месяца (BIO6), которые существенно коррелировали с отобранными нами параметрами (коэффициент линейной корреляции параметров BIO14 и BIO17 равен 0.975, BIO11 и BIO6 – 0.99). Однако эти же авторы (Canelles et al., 2021) далее по значимости ставят такие климатические факторы, как сезонность осадков (BIO15) и средний месячный разброс температур (BIO2), которые в наших оценках имели довольно низкую важность (в сумме с параметром BIO3 (изотермальность) – 11.7%). Это свидетельствует как об общности принципиальных выводов (сходство двух основных климатических факторов, имеющих наибольшую важность), так и о некоторых деталях различиях, обусловленных выбранными методиками и алгоритмами построения модели ареала. В дальнейшем эти результаты могут быть уточнены с помощью других инструментов, в том числе при натурных исследованиях.

Вопрос о возможности смещения или неизменности (консерватизма) экологических ниш в ходе инвазий давно обсуждается в науке (Peterson, 1999, 2011; Graham, 2005; Feng et al., 2023). Имеется огромный объем литературы, посвященной изучению этой проблемы на примере разных видов. В частности, разработаны методы статистической оценки степени и достоверности различия экологических ниш (Warren et al., 2008; Brown, Carnaval, 2019; Eckert et al., 2020).

Как уже было отмечено, области распространения *C. perspectalis* в нативной и инвазионной частях ареала резко отличаются по анализируемым биоклиматическим факторам. На рис. 1d можно видеть, как в пространстве признаков соответствующие точки легко разделяются даже с помощью линейных методов классификации. Встает вопрос: в чем причина этого различия? Произошла ли реализация фундаментальной экологической ниши вида в тех условиях, которые отсутствовали в нативной части ареала, или же в ходе инвазии произошел сдвиг экологической ниши, обусловленный, например,

микроэволюционными процессами? Ответ на этот вопрос также требует дополнительных исследований, но на основании имеющихся сведений о характере инвазии самшитовой огневки в Европе, описанном во введении, можно предположить, что, скорее всего, имеет место реализация фундаментальной экологической ниши, иными словами, скрытых экологических возможностей вида. В пользу этого предположения говорит, например, стремительность распространения самшитовой огневки на новой территории, в совершенно новых климатических условиях, не встречающихся в пределах ее нативного ареала. Однако эти наблюдения и предположения требуют дополнительных экспериментальных и полевых исследований.

Полученные нами результаты свидетельствуют о достаточно высокой прогностической значимости созданной нами модели и могут быть использованы при разработке и проведении мероприятий, связанных с предотвращением появления вредителя на территориях, находящихся в группе риска по своим климатическим условиям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе данной работы с использованием оригинального метода была построена модель эколого-климатической ниши самшитовой огневки *C. perspectalis* и отрисованы карты-схемы современного климатического ареала этого вида в Евразии. Показано, что достаточно обширные регионы Евразии подвержены риску дальнейшей инвазии самшитовой огневки. Дана оценка важности использованных эколого-климатических факторов для определения территории распространения самшитовой огневки и показано, что для моделирования климатического ареала наибольшую значимость имеет влажностный фактор (сумма осадков самого сухого месяца). Обнаружено существенное различие эколого-климатических ниш в инвазионной и нативной частях ареала.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность анонимным рецензентам за труд по прочтению рукописи данной статьи и за ряд ценных замечаний, несомненно, улучшивших ее качество.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование потенциально возможного расширения ареала самшитовой огневки на территории Евразии

выполнено в рамках Государственного задания Института географии РАН “Биотические, географо-гидрологические и ландшафтные оценки окружающей среды для создания основ рационального природопользования” FMWS-2024-0007, № 1021051703468-8. Анализ климатических факторов, влияющих на ее распространение, выполнен за счет средств темы “3.2. Мониторинг глобального климата и климата Российской Федерации и ее регионов, включая Арктику. Развитие и модернизация технологий мониторинга” плана НИТР Росгидромета на 2020–2024 гг., утвержденного приказом № 745 от 31.12.2019.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бардин М.Ю., Платова Т.В., 2020. Изменения сезонных показателей экстремумов температуры воздуха в Москве и центральных областях европейской части России // Метеорология и гидрология. № 7. С. 20–35.
- Богданович А.Ю., Добролюбов Н.Ю., Крыленко С.В., Баранчиков Ю.Н., Липка О.Н., Семенов С.М., 2023. Климатический ареал непарного шелкопряда на территории России, соответствующий климатам конца XX века и XXI века // Фунд. и прикл. климатология. Т. 9. № 1. С. 65–88.
<https://doi.org/10.21513/2410-8758-2023-1-65-106>
- Будашкин Ю.И., 2016. Самшитовая огневка – *Cydalima perspectalis* (Lepidoptera, Rhyacioniidae) – новый для фауны Украины и Крыма вид опасного вредителя лесного и паркового хозяйства // Экосистемы. Вып. 5. С. 36–39.
- Гниненко Ю.И., Пономарев В.Л., Нестеренкова А.Э., Сергеева Ю.А., Ширяева Н.В., Лянгузов М.Е., 2018. Самшитовая огневка *Neoglyphodes perspectalis* Walker – новый опасный вредитель самшита на юге европейской части России. Пушкино: ВНИИЛМ. 36 с.
- Гниненко Ю.И., Сергеева Ю.А., Ширяева Н.В., Лянгузов М.Е., 2016. Самшитовая огневка – опасный инвазивный вредитель самшита // Лесохоз. информ.: электрон. сетевой журн. № 3. С. 25–35.
- Гниненко Ю.И., Ширяева Н.В., Щуров В.И., 2014. Самшитовая огневка – новый инвазивный организм в лесах российского Кавказа // Карантин растений. № 1 (7). С. 32–36.
- Добронос В.В., 2017. Новые данные о самшитовой огневке *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859) на Центральном Кавказе. <https://aeconomy.ru/news/agro/novye-dannye-o-samshitovoy-ognevke.html>
- Ескин Н.Б., Бибин А.Р., 2014. Очаг самшитовой огневки в тисо-самшитовой роще // Кавказ заповедный. № 8 (124). С. 7.
- Карпун Н.Н., Пономарев В.Л., Нестеренкова А.Э., Захарченко В.Е., 2019. Инвазия и биология самшитовой огневки *Cydalima perspectalis* Walker (Lepidoptera, Crambidae) на Черноморском побережье России // Фитосанитария. Карантин растений. Т. 29. № 3. С. 50–59.
- Лукмазова Е.А., 2014. Распространение опасных вредителей для самшитовых насаждений на территории Республики Абхазия // VIII Чтения памяти О.А. Катаева. Вредители и болезни древесных растений России: Мат-лы междунар. конф., Санкт-Петербург, 18–20 ноября 2014 г. / Под ред. Мусолина Д.Л., Селиховкина А.В. СПб.: СПбГЛТУ. С. 45.
- Марченко А.Б., 2022. Екологічні аспекти прояву інвазійного виду *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859) в урбанізованих екосистемах // Агробіологія. № 2. С. 153–160.
<https://doi.org/10.33245/2310-9270-2022-174-2-153-160>
- Нестеренкова А.Э., Пономарев В.Л., Карпун Н.Н., 2017. Особенности развития самшитовой огневки в лабораторной культуре // Лесной вестник. Т. 21. № 3. С. 61–69.
<https://doi.org/10.18698/2542-1468-2017-3-61-69>
- Определитель насекомых Дальнего Востока России, 2005. Т. V. Ручейники и чешуекрылые. Ч. 5 / Под ред. Лера П.А. Владивосток: Дальнаука. 575 с.
- Попова Е.Н., Попов И.О., 2013. Климатические факторы, определяющие границы ареалов вредителей и возбудителей болезней сельскохозяйственных растений, и расчетные методы оценки изменения ареалов при изменении климата // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. Т. XXV. М.: ИГКЭ. С. 177–206.
- Попова Е.Н., Попов И.О., 2019. Моделирование потенциальных климатических ареалов биологических видов и их климатогенных изменений // Фунд. и прикл. климатология. Т. 1. С. 58–75.
<https://doi.org/10.21513/2410-8758-2019-1-58-75>
- Попова Е.Н., Попов И.О., 2023. Локусы обнаружения самшитовой огневки *Cydalima perspectalis* в мире в 1986–2020 гг. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2023620218 Российская Федерация. Заявка № 2023620033; заявл. 10.01.2023; опублик. 16.01.2023 / Заявитель: ФГБУН Институт географии РАН.
<https://elibrary.ru/item.asp?id=50131740>
- Проклов В.В., Кареева С.З., 2013. Новые и интересные находки чешуекрылых (Lepidoptera) в Чеченской Республике (Россия) // Кавказский энтомол. бюлл. Т. 9. № 2. С. 281–282.

- Рашка С., Мирджалили В., 2020. Python и машинное обучение. Машинное и глубокое обучение с использованием Python, scikit-learn и TensorFlow 2. М.: СПб.: Диалектика. 846 с.
- Скворцов А.В., 2002. Триангуляция Делоне и ее применение. Томск: Изд-во Томского ун-та. 128 с.
- Стрюкова Н.М., 2016. Аборигенные и инвазивные членистоногие и их естественные враги в парках Республики Крым // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. Т. 142. Ялта: ГНБС. С. 186–193.
- Трикоз Н.Н., Халилова З.Э., 2016. Самшитовая огневка в Никитском Ботаническом саду // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. Т. 142. Ялта: ГНБС. С. 69–75.
- Флах П., 2016. Машинное обучение. Наука и искусство построения алгоритмов, которые извлекают знания из данных. М.: Изд-во ДМК. 399 с.
- Хейдт М., Груздев А., 2019. Изучаем Pandas. М.: Изд-во ДМК. 679 с.
- Щуров В.И., 2014. Самшитовая огневка *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859) на российском Кавказе — хроника трех лет инвазии // VIII Чтения памяти О.А. Катаева. Вредители и болезни древесных растений России: Мат-лы междунар. конф., Санкт-Петербург, 18–20 ноября 2014 г. / Под ред. Мусолина Д.Л., Селиховкина А.В. СПб.: СПбГЛТУ. С. 99–100.
- Araújo M.B., Anderson R.P., Barbosa M.A., Beale C.M., Dormann C.F., et al., 2019. Standards for distribution models in biodiversity assessments // Sci. Adv. V. 5. Art. eaat4858. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aat4858>
- Atlas of Woody Plants in China. Distribution and Climate, 2011 / Eds Fang J., Wang Z., Tang Z. Berlin, Heidelberg: Springer. 2000 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-15017-3>
- Barandela R., Sánchez J.S., Garca V., Rangel E., 2003. Strategies for learning in class imbalance problems // Pattern Recognit. V. 36. № 3. P. 849–851. [https://doi.org/10.1016/S0031-3203\(02\)00257-1](https://doi.org/10.1016/S0031-3203(02)00257-1)
- Barbet-Massin M., Jiguet F., Albert C.H., Thuiller W., 2012. Selecting pseudo-absences for species distribution models: How, where and how many? // Methods Ecol. Evol. V. 2. № 3. P. 327–338. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2011.00172.x>
- Bellard C., Thuiller W., Leroy B., Genovesi P., Bakkenes M., Courchamp F., 2013. Will climate change promote future invasions? // Global Change Biol. V. 12. № 19. P. 3740–3748. <https://doi.org/10.1111/gcb.12344>
- Bereś P.K., Ziętara P., Nakonieczny M., Kontowski Ł., Grzbiela M., Augustyniak M., 2022. *Cydalima perspectalis* in Poland — 8 years of invasion against the background of three other invasive species // Diversity. V. 22. № 14. P. 1–20. <https://doi.org/10.3390/d14010022>
- Billen W., 2007. *Diaphania perspectalis* (Lepidoptera: Pyralidae) — a new moth in Europe // Mitt. Entomol. Ges. Basel. V. 57. P. 135–137.
- Booth T.H., Nix H.A., Busby J.R., Hutchinson M.F., 2014. BIOCLIM: The first species distribution modelling package, its early applications and relevance to most current MAXENT studies // Divers. Distrib. V. 20. № 1. P. 1–9. <https://doi.org/10.1111/ddi.12144>
- Bras A., Avtzis D.N., Kenis M., Li H., Véték G., et al., 2019. A complex invasion story underlies the fast spread of the invasive box tree moth (*Cydalima perspectalis*) across Europe // J. Pest Sci. № 92. P. 1187–1202. <https://doi.org/10.1007/s10340-019-01111-x>
- Brown J.L., Carnaval A.C., 2019. A tale of two niches: Methods, concepts, and evolution // Front. Biogeogr. V. 11. № 4. Art. e44158. <https://doi.org/10.21425/F5FBG44158>
- Canelles Q., Bassols E., Vayreda J., Brotons L., 2021. Predicting the potential distribution and forest impact of the invasive species *Cydalima perspectalis* in Europe // Ecol. Evol. V. 10. № 11. P. 5713–5727. <https://doi.org/10.1002/ece3.7476>
- Carpenter G., Gillison A.N., Winter J., 1993. DOMAIN: A flexible modelling procedure for mapping potential distributions of plants and animals // Biodivers. Conserv. V. 2. P. 667–680. <https://doi.org/10.1007/BF00051966>
- Chawla N.V., Bowyer K.W., Hall L.O., Kegelmeyer P.W., 2002. SMOTE: Synthetic minority over-sampling technique // J. Artif. Intell. Res. V. 16. P. 321–357. <https://doi.org/10.1613/jair.953>
- Chen T., Guestrin C., 2016. XGBoost: a scalable tree boosting system // Proc. 22nd ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining. N.-Y.: Association for Computing Machinery. P. 785–794. <https://doi.org/10.1145/2939672.2939785>
- Di Domenico F., Lucchese F., Magri D., 2011. Late glacial and Holocene history of *Buxus sempervirens* L. in Italy // Annali di Botanica. V. 1. P. 45–58.
- Di Domenico F., Lucchese F., Magri D., 2012. *Buxus* in Europe: Late Quaternary dynamics and modern vulnerability // Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. V. 14. P. 354–362. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2012.07.001>
- Drake J.M., Bossenbroek J.M., 2004. The potential distribution of zebra mussels in the United States // Bioscience. V. 10. № 54. P. 931–941. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054\[0931:TPDOZM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054[0931:TPDOZM]2.0.CO;2)
- Eckert S., Hamad A., Kilawe C.J., Linders T.E.W., et al., 2020. Niche change analysis as a tool to inform management of two invasive species in Eastern Africa // Ecosphere. V. 11. № 2. Art. e02987. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2987>

- Esmailnezhad K., Mehrjerdi M., Ghorbanzadeh M.*, 2020. Genetic diversity and structure of *Buxus hyrcana* (Po-jark) populations in the Caspian forests of northern Iran revealed by ISSR markers // *Biologia*. V. 75. № 2. P. 917–926.
<https://doi.org/10.2478/s11756-020-00445-7>
- Feldtrauer J.F., Feldtrauer J.J., Brua C.*, 2009. Premiers signalements en France de la Pyrale du Buis *Diaphania perspectalis* (Walker, 1859), espèce exotique envahissante s'attaquant aux Buis (Lepidoptera, Crambidae) // *Bull. Soc. Entomol. Mulhouse*. V. 65. P. 55–58.
- Feng L., Zhou L., Zhang T., Wang X.*, 2023. Niche dynamics below the species level: Evidence from evaluating niche shifts within *Quercus aquifolioides* // *Forests*. V. 690. № 14. P. 1–14.
<https://doi.org/10.3390/f14040690>
- Fick S., Hijmans R.*, 2017. WorldClim 2: New 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas // *Int. J. Climatol.* V. 37. № 12. P. 4302–4315.
<https://doi.org/10.1002/joc.5086>
- Franklin J.*, 2009. Mapping Species Distributions. Spatial Inference and Prediction. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 320 p.
- Gaston K.J.*, 2003. The Structure and Dynamics of Geographic Ranges. Oxford: Oxford Univ. Press. 266 p.
- GBIF.org, 2020. (4 August 2020) GBIF Occurrence Download.
<https://doi.org/10.15468/dl.prq93v>
- Graham C.*, 2005. Niche conservatism: Integrating evolution, ecology, and conservation biology // *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* V. 36. P. 519–539.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.102803.095431>
- Guo Q., Kelly M., Graham C.H.*, 2005. Support vector machines for predicting distribution of Sudden Oak Death in California // *Ecol. Model.* V. 182. № 1. P. 75–90.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2004.07.012>
- Hampson G.F.*, 1896. The Fauna of British India, Including Ceylon and Burma. Moths. V. III. L.: Taylor & Francis. 546 p.
- Hanberry B., He H., Palik B.*, 2012. Pseudoabsence generation strategies for species distribution models // *PloS One*. V. 7. № 8. Art. e44486.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044486>
- Harris I., Osborn T.J., Jones P., Lister D.*, 2020. Version 4 of the CRU TS monthly high-resolution gridded multivariate climate dataset // *Sci. Data*. V. 7. Art. 109.
<https://doi.org/10.1038/s41597-020-0453-3>
- Hughes L., Cawsey E.M., Westoby M.*, 1996. Geographic and climatic range sizes of Australian eucalypts and a test of Rapoport's rule // *Global Ecol. Biogeogr. Lett.* V. 5. № 3. P. 128–142.
<https://doi.org/10.2307/2997395>
- Inoue H., Sugi S., Kuroko H., Moriuti S., Kawabe A., Owada M.*, 1982. Pyralidae. Moths of Japan. Tokyo: Kodansha. 1519 p.
- Kenis M., Nacambo S., Leuthardt F.L.G., Di Domenico F., Haye T.*, 2013. The box tree moth, *Cydalima perspectalis*, in Europe: Horticultural pest or environmental disaster? // *Aliens*. V. 33. P. 38–41.
- Krüger E.O.*, 2008. *Glyphodes perspectalis* (Walker, 1859) – neu für die Fauna Europas (Lepidoptera: Crambidae) // *Entomol. Zeitschrift*. V. 118. № 2. P. 81–83.
- Laz B., Ok T., Kocaçınar F.*, 2022. İstilacı Şimşir Güvesi (*Cydalima perspectalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae, Spilomelinae)'Nin Türkiye'nin Doğu Akdeniz Bölgesinde Uzun Yapraklı Şimşir (*Buxus balearica*) Türü Üzerindeki Zararına İlişkin İlk Tespitler // *ArtGRID*. V. 4. № 2. P. 151–159.
<https://doi.org/10.57165/artgrid.1178575>
- Lemaître G., Nogueira F., Aridas C.K.*, 2017. Imbalanced-learn: A Python toolbox to tackle the curse of imbalanced datasets in machine learning // *J. Mach. Learn. Res.* V. 18. № 17. P. 1–5.
- Liu F.T., Ting K.M., Zhou Z.-H.*, 2008. Isolation forest // 2008 Eighth IEEE International Conference on Data Mining, Pisa, Italy. Los Alamitos: IEEE. P. 413–422.
<https://doi.org/10.1109/ICDM.2008.17>
- Liu X.-Y., Wu J., Zhou Z.-H.*, 2009. Exploratory under-sampling for class-imbalance learning // *IEEE Trans. Syst. Man. Cybern. B. Cybern.* V. 39. № 2. P. 539–550.
<https://doi.org/10.1109/TSMCB.2008.2007853>
- Lokoshchenko M.A.*, 2014. Urban 'heat island' in Moscow // *Urban Climate*. V. 10. Pt 3. P. 550–562.
<https://doi.org/10.1016/j.uclim.2014.01.008>
- Mack B., Roscher R., Waske B.*, 2014. Can I trust my one-class classification? // *Remote Sensing*. V. 6. № 9. P. 8779–8802.
<https://doi.org/10.3390/rs6098779>
- Mally R., Nuss M.*, 2010. Phylogeny and nomenclature of the box tree moth, *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859) comb. n., which was recently introduced into Europe (Lepidoptera: Pyraloidea: Crambidae: Spilomelinae) // *Eur. J. Entomol.* V. 107. № 3. P. 393–400.
<https://doi.org/10.14411/eje.2010.048>
- Maruyama T., Shinkaji N.*, 1991. The life cycle of the box-tree pyralid, *Glyphodes perspectalis* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) // *Japanese J. Appl. Entomol. Zool.* V. 35. № 3. P. 221–230.
<https://doi.org/10.1303/jjaez.35.221>
- Mason L., Baxter J., Bartlett P.L., Fream M.*, 1999. Boosting algorithms as gradient descent // *Advances in Neural Information Processing Systems*. V. 12 / Eds Solla S., Leen T., Müller K. Cambridge: MIT Press. P. 512–518.
- Mateo R., Croat T., Felicísimo A., Muñoz J.*, 2010. Profile or group discriminative techniques? Generating reliable species distribution models using pseudo-absences and target-group absences from natural history collections // *Divers. Distrib.* V. 16. № 1. P. 84–94.
<https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2009.00617.x>

- Matsiakh I., Kramarets V., Mamadashvili G., 2018. Box tree moth *Cydalima perspectalis* as a threat to the native populations of *Buxus colchica* in Republic of Georgia // J. Entomol. Res. Soc. V. 20. № 2. P. 29–42.
- Min T., Brückner P., 2008. Buxaceae // Flora of China. V. 11. Beijing: Science Press & St. Louis: Missouri Botanical Garden Press. P. 321–332.
- Mitchell R., Chitanava S., Dbar R., Kramarets V., Lehtijärvi A., et al., 2018. Identifying the ecological and societal consequences of a decline in *Buxus* forests in Europe and the Caucasus // Biol. Invasions. V. 20. P. 3605–3620.
<https://doi.org/10.1007/s10530-018-1799-8>
- Muus T.S.T., Haaften E.-J., van, Deventer L.J., van, 2009. De buxusmot *Palpita perspectalis* (Walker) in Nederland (Lepidoptera: Crambidae) // Entomol. Berichten. V. 69. P. 66–67.
- Nacambo S., Leuthardt F.L., Wan H., Li H., Haye T., et al., 2014. Development characteristics of the box tree moth *Cydalima perspectalis* and its potential distribution in Europe // J. Appl. Entomol. V. 138. № 1–2. P. 14–26.
<https://doi.org/10.1111/jen.12078>
- Noumir Z., Honeine P., Richard C., 2012. On simple one-class classification methods // IEEE International Symposium on Information Theory Proceedings. Cambridge: IEEE. P. 2022–2026.
<https://doi.org/10.1109/ISIT.2012.6283685>
- Peterson A., 1999. Conservatism of ecological niches in evolutionary time // Science. V. 285. № 5431. P. 1265–1267.
<https://doi.org/10.1126/science.285.5431.1265>
- Peterson A., 2011. Ecological niche conservatism: A time-structured review of evidence // J. Biogeogr. V. 38. № 5. P. 817–827.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02456.x>
- Peterson A.T., 2014. Mapping Disease Transmission Risk. Enriching Models Using Biogeography and Ecology. Baltimore: John Hopkins Univ. Press. 210 p.
<https://doi.org/10.3201/eid2108.150665>
- Peterson A.T., Soberón J., Pearson R.G., Anderson R.P., Martínez-Meyer E., et al., 2011. Ecological Niches and Geographic Distributions. Princeton; Oxford: Princeton Univ. Press. 314 p.
<https://doi.org/10.1515/9781400840670>
- Petrosyan V., Osipov F., Feniova I., Dergunova N., Warshavsky A., et al., 2023. The TOP-100 most dangerous invasive alien species in Northern Eurasia: Invasion trends and species distribution modelling // NeoBiota. V. 82. P. 23–56.
<https://doi.org/10.3897/neobiota.82.96282>
- Phillips S.J., Anderson R.P., Schapire R.E., 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions // Ecol. Model. V. 190. № 3–4. P. 231–259.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026>
- Phillips S., Dudík M., Schapire R.E., 2004. A maximum entropy approach to species distribution modeling // ICML '04: Proceedings of the Twenty-First International Conference on Machine Learning. N.-Y.: Association for Computing Machinery. P. 83.
<https://doi.org/10.1145/1015330.1015412>
- PictureThis, 2023. Online Plant Encyclopedia and Common Popular Plants. <https://www.picturethisai.com/wiki>
- Radosavljevic A., Anderson R.P., 2014. Making better Max-ent models of species distributions: complexity, overfitting and evaluation // J. Biogeogr. V. 41. P. 629–643.
<https://doi.org/10.1111/jbi.12227>
- Senay S.D., Worner S.P., Ikeda T., 2013. Novel three-step pseudo-absence selection technique for improved species distribution modelling // PloS One. V. 8. № 8. Art. e71218.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071218>
- Sillero N., Arenas-Castro S., Enriquez-Urzelai U., Vale C.G., Sousa-Guedes D., et al., 2021. Want to model a species niche? A step-by-step guideline on correlative ecological niche modelling // Ecol. Model. V. 456. № 15. Art. 109671.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2021.109671>
- Slamka F., 2022. Pyraloidea (Lepidoptera) of Central Europe: Identification, Distribution, Habitat, Biology. Iver: Pemberley Natural History Books BA, ABA. 176 p.
- Soberón J., 2007. Grinnellian and Eltonian niches and geographic distributions of species // Ecol. Lett. V. 10. № 12. P. 1115–1123.
<https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01107.x>
- Srivastava V., Lafond V., Griess V.C., 2019. Species distribution models (SDM): Applications, benefits and challenges in invasive species management // CABI Rev. V. 14. № 20. P. 1–13.
<https://doi.org/10.1079/PAVSNNR201914020>
- Stoica A., 2018. An interpretation of multi-model future climate predictions for BIOCLIM variables in Romania // Contribuții Botanice. V. 53. P. 89–109.
- Wan H., Haye T., Kenis M., Nacambo S., Xu H., et al., 2014. Biology and natural enemies of *Cydalima perspectalis* in Asia: Is there biological control potential in Europe? // J. Appl. Entomol. V. 138. № 10. P. 715–722.
<https://doi.org/10.1111/jen.12132>
- Wang S., Liu Q., Zhu E., Porikli F., Yin J., 2018. Hyperparameter selection of one-class support vector machine by self-adaptive data shifting // Pattern Recognit. V. 74. P. 198–211.
<https://doi.org/10.1016/j.patcog.2017.09.012>
- Wang X., Jiang Y., Wu W., He X., Wang Z. et al., 2023a. Cryptosporidiosis threat under climate change in China: Prediction and validation of habitat suitability and outbreak risk for human-derived *Cryptosporidium* based on ecological niche models // Infect. Dis. Poverty. V. 12. № 35. P. 1–15.
<https://doi.org/10.1186/s40249-023-01085-0>
- Wang X., Xu Q., Liu J., 2023b. Determining representative pseudo-absences for invasive plant distribution modeling based on geographic similarity // Front. Ecol. Evol. V. 11. Art. 1193602.
<https://doi.org/10.3389/fevo.2023.1193602>

- Warren D.L., Glor R.E., Turelli M., 2008. Environmental niche equivalency versus conservatism: Quantitative approaches to niche evolution // *Evolution*. V. 62. № 11. P. 2868–2883.
https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00482.x
- Wisz M.S., Guisan A., 2009. Do pseudo-absence selection strategies influence species distribution models and their predictions? An information-theoretic approach based on simulated data // *BMC Ecol.* V. 9. Art. 8.
https://doi.org/10.1186/1472-6785-9-8
- Xie C., Chen L., Li M., Liu D., Jim C.Y., 2023. Spatial–temporal distribution pattern of *Ormosia hosiei* in Sichuan under different climate scenarios // *Forests*. V. 14. № 6. Art. 1261.
https://doi.org/10.3390/f14061261
- Zhang H., Zheng S., Huang T., Liu J., Yue J., 2023. Estimation of potential suitable habitats for the relict plant *Euptelea pleiosperma* in China via comparison of three niche models // *Sustainability*. V. 15. № 14. Art. 11035.
https://doi.org/10.3390/su151411035
- Zhang J.P., Mani I., 2003. KNN approach to unbalanced data distributions: A case study involving information extraction // *Proc. Int. Conf. on Machine Learning (ICML 2003)*. Workshop on Learning from Imbalanced Data Sets. Washington: ICML. P. 1–7.
- Zurell D., Franklin J., König C., Bouchet P.J., Dormann C.F., et al., 2020. A standard protocol for reporting species distribution models // *Ecography*. V. 43. № 9. P. 1261–1277.
https://doi.org/10.1111/ecog.04960

Modeling of the modern climatic range of *Cydalima perspectalis* (Lepidoptera, Crambidae) in Eurasia

I. O. Popov^{a, b, *}, E. N. Popova^{b, **}

^a*Izrael Institute of Global Climate and Ecology
Glebovskaya str., 20B, Moscow, 107258 Russia*

^b*Institute of Geography, RAS
Staromonetny Lane, 29/4, Moscow, 119017 Russia*

^{*}*E-mail: igor_o_popov@mail.ru*

^{**}*E-mail: en_popova@mail.ru*

Modeling of the modern climatic range of a dangerous plant pest of the genus *Buxus* L. box tree moth *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859) is carried out in order to determine possible territories of its further expansion in Eurasia. Information on the loci of actual *C. perspectalis* detection both in native (East and South Asia) and invasive (Europe and West Asia) parts of the range was collected from various sources (species distribution databases and publications). Six bioclimatic (three temperature and three humidity) parameters are used as distribution predictors. Original methods for determining the number of pseudo-absence points and their selective generation are developed and applied. The final classification and partitioning of the space of bioclimatic factors is carried out using gradient boosting. The modern Eurasian climatic range of the box tree moth is calculated and mapped. It is shown that the invasion has not yet reached its limits and there are a number of territories in Eurasia where climatic conditions are favorable for the emergence of *C. perspectalis* populations both in the native part of the range (certain southern and eastern regions of China, the DPRK, the southern foothills of the Himalayas) and in its invasive part (Northern and Eastern Europe, Caucasus, and Turkey). A comparative assessment of the importance of different climatic factors in determining the box tree moth distribution area is given. It has been found out that the sum of the driest month precipitation is of greatest importance for constructing a model of the *C. perspectalis* climatic range (47.6%). A significant difference in climatic conditions between the native and invasive parts of the range is revealed and assumptions about the possible causes of its occurrence are made.

УДК 575.858

УСПЕШНОСТЬ РАЗМНОЖЕНИЯ МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ: ПОНИЖЕННАЯ ПЛОДОВИТОСТЬ В ГИБРИДОГЕННОЙ ПОПУЛЯЦИИ СОРОК (*PICA PICA* × *PICA SERICA*, AVES)

© 2024 г. А. П. Крюков^{1, *}, О. А. Горошко^{2, 3, **}

¹ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН
пр. 100 лет Владивостоку, 159, Владивосток, 690022 Россия

²Государственный природный биосферный заповедник “Даурский”
ул. Комсомольская, 76, с. Нижний Цасучей, Забайкальский край, 674480 Россия

³Институт природных ресурсов, экологии и криологии СО РАН
ул. Недорезова, 16А, Чита, Забайкальский край, 672014 Россия

*E-mail: alex.p.kryukov@gmail.com

**E-mail: oleggoroshko@mail.ru

Поступила в редакцию 26.12.2023 г.

После доработки 11.04.2024 г.

Принята в печать 08.08.2024 г.

Данные об успешности размножения гибридов, получаемые путем прямых наблюдений в природе, принципиально важны для понимания причин нарушения видовых репродуктивных барьеров и прогнозирования судьбы гибридогенных популяций. В формирующейся на наших глазах зоне вторичного контакта между евразийской сорокой *Pica pica* и восточной сорокой *Pica serica* происходит ограниченная гибридизация, обнаруженная нами ранее по анализу однонуклеотидного полиморфизма ядерной ДНК. В данной работе представлен сравнительный анализ состава 119 гнездящихся пар и содержимого 89 гнезд в гибридогенной популяции *P. p. leucoptera* × *P. s. jankowskii* Северо-Восточной Монголии, в молодой зоне контакта в Восточном Забайкалье и относительно чистых популяциях *P. p. leucoptera* Центрального Забайкалья и *P. s. jankowskii* Северо-Восточного Китая. В гибридогенной популяции Монголии обнаружены достоверно повышенные доли полностью нежизнеспособных кладок, а также кладок с отдельными нежизнеспособными яйцами по сравнению с показателями относительно чистых популяций *P. p. leucoptera* и *P. s. jankowskii*. В Восточном Забайкалье идет менее интенсивная гибридизация, доля полностью нежизнеспособных кладок и кладок с частью мертвых яиц значительно ниже, чем в Монголии. Рассмотрены возможные механизмы генетической несовместимости и нарушения постзиготической изоляции. Обсуждены перспективы дальнейшей судьбы зоны контакта ареалов сорок с учетом отбора против гибридизации, в том числе вероятность усиления различий по видоспецифической звуковой коммуникации. Возможно формирование здесь мозаичной гибридной зоны с признаками “зоны напряжения”. Уникальная ситуация формирующейся зоны контакта и гибридизации двух молодых видов сорок нуждается в мониторинге, как дополнение и продолжение геномных исследований.

DOI: 10.31857/S0044459624040054, EDN: UTNGSH

При вторичном контакте популяций или близких видов после достаточно длительного периода их географической изоляции часто происходит гибридизация, исход которой неоднозначен. Он зависит от успешности видовых “изолирующих механизмов” (Майр, 1968), в последнее время называемых более нейтрально “репродуктивными барьерами” (Mallet, 2005). Биологическая

концепция вида — один из базисов синтетической теории эволюции — различает презиготические и постзиготические репродуктивные барьеры. И те и другие барьеры зависят от уровня генетической дивергенции пришедших в контакт форм. В случае нарушения или несовершенства презиготических барьеров успех гибридизации варьирует от полного отсутствия потомства из-за

несовместимости геномов до той или иной степени успешности скрещивания с интрогрессией и/или слиянием популяций, иногда приводящей к гибридогенному видообразованию. Эти процессы напрямую связаны с проблемами видообразования и поддержания целостности видов.

О непосредственных результатах вторичного контакта обычно судят по фенотипическому или генотипическому составу популяций и другим косвенным показателям. Прямые оценки успешности размножения в гибридогенных популяциях редки по причине затрудненности таких наблюдений у большинства животных. Исключение представляют, видимо, только насекомые, амфибии и птицы (особенно открыто гнездящиеся виды). Удачную возможность такого анализа предоставляет евразийская (обыкновенная) сорока *Pica pica* (Linnaeus, 1758). Недавний вторичный контакт ее близких, но генетически и морфологически дивергировавших видов был нами выявлен путем интеграционного анализа (Kryukov et al., 2022).

Сорока *P. pica sensu lato* широко распространена в Палеарктике от Пиренеев до Камчатки. Ранее в составе вида насчитывали до 13 подвидов, включая два в Неарктике (Madge, Burn, 1999). Современная таксономическая схема выделяет пять видов в Палеарктике: *P. pica*, *P. mauritanica*, *P. asirensis*, *P. bottanensis* и *P. serica* (Madge et al., 2020; Gill et al., 2021). Их ареалы разделены разрывами, за исключением контактирующих двух последних. Особенно интересны взаимоотношения между *P. pica leucoptera* и *P. serica jankowskii* в Юго-Восточном Забайкалье и Северо-Восточной Монголии с разрывом ареалов, который постепенно заполняется и сопровождается гибридизацией (Kryukov et al., 2017, 2022; Горошко и др., 2018). О существовании обширного разрыва ареала сороки в районе Восточного Забайкалья и запада Амурской области известно достаточно давно (Штегман, 1932; Рустамов, 1954, и др.). Тем не менее на картах ряда работ в основном обзорного характера безосновательно сообщается о непрерывном ареале в этом регионе (Goodwin, 1986; Zhang et al., 2012). Никаких специальных исследований на этот счет здесь не проводилось. Довольно быстрое распространение с востока *P. s. jankowskii* вдоль Транссибирской магистрали, автодорог и речных долин в бассейне Верхнего Амура было выявлено лишь в ходе наших работ (Горошко, 2018; Горошко и др., 2018). С запада навстречу ей продвигается *P. p. leucoptera*, но с меньшей

скоростью. Оба вида отличаются окраской и размерами, хотя не всегда в полевых условиях они легко диагностируются. Гораздо лучше они различаются по звуковой коммуникации. Сигнал тревоги сорок представляет собой стрекотание, со слитыми, быстро повторяющимися элементами у западного вида и отдельными, медленными — у восточного.

Нашими полевыми наблюдениями выявлено два участка контакта расширяющихся ареалов *P. p. leucoptera* и *P. s. jankowskii*: в бассейне р. Керулен в Монголии около границы с Китаем и в бассейне р. Аргунь в России также вдоль границы с Китаем. Их взаимоотношения усугубляются на наших глазах. На обоих участках популяции сильно разрежены, а гнездовые ареалы хотя и сближены, но фактически не соединяются (ширина полосы разрыва составляет 50–100 км). При этом в обоих местах имеют место практически ежегодные и нередко массовые послегнездовые инвазии *P. s. jankowskii* вглубь гнездового ареала *P. p. leucoptera*, часто сопровождающиеся длительным обитанием там *P. s. jankowskii* как минимум в зимний период. При этом *P. p. leucoptera* и *P. s. jankowskii* держатся смешанными стаями без каких-либо признаков взаимной неприязни. Часть мигрантов остается там и на лето. Это создает благоприятные условия для формирования смешанных пар и потока генов при условии успешных межвидовых скрещиваний. Мы не располагаем достаточной информацией об аналогичных инвазиях *P. p. leucoptera* вглубь ареала *P. s. jankowskii*, но, по имеющимся данным, они имеют гораздо меньшие масштабы. По нашим наблюдениям и генетическому анализу ядерных сипов (однонуклеотидного полиморфизма, SNP) установлено, что в обоих местах происходит ограниченная гибридизация этих видов, гораздо более массовая на р. Керулен, с локальным скоплением там гибридов (Kryukov et al., 2022). В бассейне р. Аргунь отмечены отдельные гибриды, однако без непосредственного соседства гнездовых территорий обоих видов. К северу от Керулена в Забайкалье обитает относительно генетически чистая популяция *P. p. leucoptera* с отдельными встречами гибридов по данным генетического анализа, хотя в ходе полевых наблюдений гибриды не выявлены. На прилежащих участках китайской территории отмечено гнездование чистых *P. s. jankowskii*.

Одним из оснований для недавнего поднятия статуса до видового для западной *Pica*

pica и восточной *Pica serica* групп подвидов, включающих соответственно *P. p. leucoptera* и *P. s. jankowskii*, было обнаружение их глубокой генетической дивергенции по контрольному региону (CR) митохондриальной ДНК (мтДНК) (Kryukov et al., 2004, 2017) и полному митохондриальному геному (Kryukov et al., 2020) на уровне генетической дистанции около 4%. В связи с этим при скрещивании столь удаленных форм, дивергировавших по молекулярным данным порядка 2 млн лет назад (0.94–2.7 млн лет назад — Kryukov et al., 2004; 2.27 млн лет — Song et al., 2018; или 1.68 млн лет — Kryukov et al., 2022), можно было ожидать несовместимости геномов, стерильности и/или нежизнеспособности гибридного потомства. Однако нам удалось обнаружить успешно размножающиеся смешанные пары и пары, включающие гибридных особей с жизнеспособным потомством. Цель настоящей работы — сравнительный анализ успешности гнездования сорок в гибридогенной и сопредельных чистых популяциях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для удобства анализа мы выделяем четыре условные популяции сороки: 1) относительно чистую популяцию *P. p. leucoptera* в Забайкалье севернее Монголии в бассейне р. Онон и на сопредельных территориях (для краткости эта территория условно названа в статье Центральным Забайкальем); 2) чистую популяцию *P. s. jankowskii* в Северо-Восточном Китае; 3) отчетливо сформировавшуюся гибридогенную популяцию в Северо-Восточной Монголии в долине р. Керулен вблизи границы с Китаем; 4) также отдельно рассматриваем территорию Восточного Забайкалья в бассейне р. Аргунь вдоль границы с Китаем, где, возможно, началось формирование молодой гибридогенной популяции. Всего в ходе полевых маршрутных наблюдений в 2015–2021 гг. мы проанализировали фенотипический состав 119 гнездовых пар. Для видовой идентификации в полевых условиях использовали 8× бинокли и 25–75× трубу, а также фотосъемку на камеру Nikon с 150–500× объективом. Тревожные позывки анализировались на слух и записывались на рекордеры ZOOM H5 и Sound Devices 702 с микрофонами SGH-6 (ZOOM) и Telinga Stereo MK2 соответственно, с последующим спектральным анализом.

Для сравнительного анализа состава пар и успешности гнездования обнаружено

и проанализировано 89 обитаемых гнезд сороки: 23 в Центральном Забайкалье, 4 в Северном Китае, 33 в Северо-Восточной Монголии и 29 в бассейне Аргуни. Видовая принадлежность установлена для 168 взрослых гнездовых особей сорок. В гнездах с кладками жизнеспособность и степень насиженности яиц проверялись просвечиванием в темной коробке, затем, при необходимости, — опусканием яиц в теплую воду. В комплексе эти два метода в подавляющем большинстве случаев позволяют безошибочно определять исследуемые показатели. Невозможно лишь гарантированно распознать нежизнеспособные яйца в очень свежих, ненасыженных кладках. Поэтому такие кладки мы через некоторое время проверяли повторно. Для яиц, определенных как нежизнеспособные, делали их контрольное вскрытие, которое во всех случаях подтвердило их нежизнеспособность. При наличии возможности гнезда проверяли также на стадии птенцов, однако в связи с маршрутным характером работ, это удалось сделать лишь для части гнезд.

Пару считали плодовитой (фертильной) при наличии хотя бы одного птенца или оплодотворенного яйца на поздней стадии насиживания, и неплодовитой (стерильной) — при наличии только нежизнеспособных яиц. Нежизнеспособность яиц может быть вызвана рядом причин: неоплодотворенностью; гибелью зародыша из-за генетических проблем, вызывающих нарушение эмбриогенеза и развития; гибелью зародыша из-за неблагоприятных условий (например, переохлаждения) и др. Показательно, что в полностью нежизнеспособных кладках нам ни разу не удалось обнаружить каких-либо признаков развития зародыша, что означает, что такие яйца были неоплодотворенными или зародыши в них погибли на самых ранних стадиях развития. В частности жизнеспособных кладках нежизнеспособные яйца в большинстве случаев были также без признаков развития зародыша, реже встречались с зародышами, погибшими на начальных стадиях развития, крайне редко — с зародышами, погибшими на средних стадиях. Для расчета достоверности различий параметров плодовитости по критерию χ^2 применен пакет Statistica v. 12 (StatSoft Inc.).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В Восточной Монголии из 33 гнездовых пар по крайней мере 11 были смешанными: один партнер гибрид по окраске и/или позывке, или

P. s. jankowskii, а другой *P. p. leucoptera*. Из них 8 смешанных пар обитали в долине р. Керулен в крайней восточной части Монголии не далее 30 км от границы с Китаем, и еще три – севернее, на р. Ульдза. Остальные пары принадлежали *P. p. leucoptera* и обитали на более удаленной от Китая западной части долины Керулена, а также сопредельных с Забайкальем северных территориях Монголии. На Китайской территории у оз. Улан-Нур (бассейн р. Оршун-Гол, южнее оз. Далайнор) встречены только чистые *P. s. jankowskii*. На северо-восток от Керулена в Забайкалье, в долине Аргуни, протекающей по границе России и Китая, видовой состав обоих партнеров удалось определить в 34 парах, из которых 21 *P. p. leucoptera*, 11 *P. s. jankowskii* и две смешанные пары. Ближайшие чистые пары *P. p. leucoptera* и *P. s. jankowskii* встречены на дистанции 70 км друг от друга, что говорит

о пространственном разобщении видов в целом. В то же время пара чистых *P. p. leucoptera* гнездилась всего в 4 км от смешанной пары. В ней самка принадлежала к *P. s. jankowskii*, судя по мтДНК ее птенцов, но самец имел признаки *P. p. leucoptera* в фенотипе и голосе. В гнезде другой пары – самец гибрид и самка *P. p. leucoptera* – все 8 яиц были нежизнеспособны.

По опросам местных жителей и нашим многолетним наблюдениям, контакт *P. s. jankowskii* и *P. p. leucoptera* возник в долине Аргуни лишь 20–30 лет назад. В то же время проведенный нами анализ литературных и иных данных позволяет предположить, что контакт в бассейне р. Керулен сформировался намного раньше (Горошко и др., 2018). Таким образом, различия в плотности контакта и масштабах гибридизации на этих двух участках, вероятно, связаны с разной длительностью их существования.

Таблица 1. Состав гнездящихся пар и жизнеспособность кладок в разных популяциях сороки

Популяции	Число и состав пар с обследованными гнездами					Плодовитость пар			
	Число гнездящихся пар	Число пар чистых <i>P. p. leucoptera</i>	Число смешанных пар или с гибридом	Число пар чистых <i>P. s. jankowskii</i>	Вид одного из партнеров не определен	Число жизнеспособных кладок плодovitых пар	Число нежизнеспособных кладок со всеми мертвыми яйцами	Число жизнеспособных кладок с некоторыми мертвыми яйцами	Общее число кладок с некоторыми или всеми мертвыми яйцами
<i>P. p. leucoptera</i> , Центральное Забайкалье	23	17	0	0	6	23	0	5	5
<i>P. p. leucoptera</i> + <i>P. s. jankowskii</i> , бассейн р. Аргунь	29	9	2	10	8	28	1	3	4
<i>P. p. leucoptera</i> × <i>P. s. jankowskii</i> , Восточная Монголия	33	7	11	0	15	19*	14*	9*	23*
<i>P. s. jankowskii</i> , Северо-Восточный Китай	4	0	0	4	0	4	0	0	0
Итого	89	33	13	14	29	74	15	17	32

Примечание. * Означает достоверность различий по критерию χ^2 и при уровне значимости $p < 0.05$ при сравнении показателей гибридогенной популяции Монголии с контрольной популяцией Забайкалья.

В ходе обследования гнезд сорок установлено, что во всех популяциях в гнездах некоторых плодовитых пар наряду с жизнеспособными яйцами или птенцами присутствовали также нежизнеспособные яйца. Так, в популяции Забайкалья обнаружили 22% гнезд (5 гнезд из 23) с одним или несколькими такими яйцами, на Аргуни — 11% (3 из 28), а в Монголии — 47% (9 из 19) (табл. 1, различия не достоверны). Однако более важно, что некоторые гнезда содержали только нежизнеспособные яйца, без видимых признаков развития зародыша, что означает стерильность таких пар. Из 33 гнезд в Восточной Монголии 14 (42%) принадлежали стерильным парам, остальные — фертильным парам, поскольку содержали птенцов или хотя бы часть жизнеспособных яиц. В популяции Аргуни найдено лишь одно гнездо с нежизнеспособной кладкой, что составило 3% от 29 гнезд, а в Центральном Забайкалье не было ни одного гнезда с мертвыми кладками. Различия достоверны при сравнении показателей гибридной популяции Монголии с “чистой” контрольной популяцией Центрального Забайкалья (табл. 1). Содержимое всех таких яиц было обследовано и ни в одном не найдено признаков развития эмбрионов, что означает неоплодотворение или раннюю гибель эмбриона. Практически во всех случаях птицы насиживали такие нежизнеспособные яйца значительно дольше положенного срока, вплоть до высыхания их содержимого. Отсутствие в яйцах мертвых эмбрионов не позволило провести их генетический анализ, в отличие от предпринятого анализа мтДНК и ядерных снипов у птенцов всех гнезд. Результаты этого анализа и карты с точками находок гнезд приведены в упомянутой статье (Kryukov et al., 2022). В частности, по ядерным снипам мы показали, что по крайней мере часть гибридов F1 жизнеспособны и плодовиты, поскольку в разных гнездах их потомков обнаружены птенцы с неодинаковыми долями ядерных аллелей, специфичных к обоим видам, что говорит о наличии ряда поколений возвратных скрещиваний.

Важно отметить, что в Монголии 12 из 14 гнезд с мертвыми кладками были обнаружены в восточной части долины Керулена — именно там, где встречено большинство смешанных пар. Среди этих 14 пар как минимум 6 имели в своем составе гибрида. На Аргуни у двух упомянутых выше смешанных пар в одном гнезде были только погибшие яйца и у второй пять живых

птенцов, а остальные 19 чистых пар *P. p. leucoptera* и *P. s. jankowskii* были плодовиты. Также плодовиты были 23 чистые пары *P. p. leucoptera* в Центральном Забайкалье и 4 пары *P. s. jankowskii* в Северо-Восточном Китае.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные, несомненно, указывают на пониженную успешность гнездования (по крайней мере, его начальной стадии) в гибридогенной популяции Восточной Монголии по сравнению с относительно чистыми близлежащими популяциями Центрального Забайкалья, бассейна р. Аргуни и Северо-Восточного Китая, находящимися в сходных экологических и климатических условиях. Эта неуспешность проявляется в нарушениях оплодотворения и/или ранней эмбриональной гибели зародышей. С учетом специфики маршрутного характера нашей работы разграничение этих событий не вошло в наши задачи и должно послужить предметом дальнейших исследований.

Гибридизация часто сопровождается стерильностью и/или пониженной жизнеспособностью первого или последующих поколений гибридов. Гибридологический анализ применяется для определения видового статуса животных, например, грызунов (Соколов, Васильева, 1993; Osipova, Sokin, 2006), хотя часто его не достаточно для принятия таких решений. Однако опыты по скрещиванию в неволе дают искаженную картину природных ситуаций, поскольку не учитывают поведенческие аспекты изоляции (различия в брачном поведении и избирательность спариваний) и экологические предпочтения. В природных гибридных зонах пониженная плодовитость или приспособленность гибридов служит признаком “зоны напряжения” (tension zone; Barton, Hewitt, 1985), поддерживаемой балансом между отбором против гибридов и притоком генов в зону. И наоборот, наличие узкой гибридной зоны позволило предположить наличие отбора против гибридов иволг *Icterus bullockii* и *I. galbula* (Walsh et al., 2020). Аналогично, пониженный размер кладок обнаружен в узкой гибридной зоне дубоносов *Pheucticus ludovicianus* и *P. melanocephalus* (Anderson, Daugherty, 1974). Особенно интересны случаи неполной стерильности при незавершенном видообразовании. У птиц постзиготическая межвидовая изоляция выражена слабее, чем у большинства других высших животных, и скрещивания в пределах рода часто успешны и в природе, а не только в неволе,

понижая приспособленность F1 незначительно. Однако естественная гибридизация у птиц происходит реже, чем можно было ожидать, поскольку у них основную роль в поддержании видовой целостности играет презиготическая изоляция (Grant P., Grant B., 1992; Edwards et al., 2005). Поскольку постзиготическая изоляция развивается дольше, чем обычно происходит видообразование, то на ранних его стадиях особенно важна презиготическая изоляция (Price, Bouvier, 2002). Тем не менее она достаточно легко нарушается, особенно при содержании животных в неволе, на границах симпатрических ареалов и на фронтах инвазии, где выбор конспецифичных брачных партнеров ограничен.

В природе гибридизирует от 10 до 20% видов птиц, и это число варьирует в зависимости от часто спорных таксономических рангов скрещивающихся форм: вид—подвид (Ottensburghs, 2023). Описаны результаты 407 вариантов гибридизации (в основном в неволе) 367 видов птиц, представляющих таксономические ранги от подвидов до семейств, от нормальной плодовитости до полной нежизнеспособности обоих полов (Price, Bouvier, 2002). В этих опытах более половины скрещиваний в пределах рода дали плодовитых гибридов. Данные подтвердили, что в процессе видообразования презиготическая изоляция развивается раньше, чем постзиготическая, и стерильность возникает раньше не приспособленности. Стерильность гибридов F1 обычно наблюдалась у обоих полов, но самцы в 98% случаев имели повышенную жизнеспособность по сравнению с самками. Обнаружена положительная регрессия генетической дивергенции по митохондриальному гену *cytB* с индексом жизнеспособности гибридов, от нормальной плодовитости до полной нежизнеспособности обоих полов (Price, Bouvier, 2002). Интересно, что часто близкие виды сосуществуют в симпатрии, даже если внутренняя генетическая несовместимость, обеспечивающая стерильность или не приспособленность F1, не эффективна.

Анализ результатов межвидовых скрещиваний в неволе 21 вида голубиных Columbidae показал, что с увеличением дивергенции (судя по генетической дистанции по гену цитохрома *b* мтДНК) доля нежизнеспособных яиц от числа отложенных растёт (Lijtmaer et al., 2003). Этот показатель постзиготической изоляции близок для первого поколения гибридизации и возвратных скрещиваний, но повышен во втором гибридном поколении. У южно-американских вьюрков

Sporophila при межвидовых скрещиваниях в неволе вылуплялось 71% птенцов, а в конспецифичных — только 44%, вероятно, ввиду инбридинга из-за клеточного размножения, а по числу слетков они не отличались (Campagna et al., 2018).

Во многих работах по природной гибридизации птиц плодовитость гибридов не исследована или ее снижения не обнаружено, но есть и другие примеры. При гибридизации подвидов птицы-носорога красноклювого тока *Tockus erythrorhynchus* успех вылупления в гибридных или гетероспецифичных парах понижен на 10% по сравнению с гомоспецифичными парами, при одинаковом размере кладок (Delpont et al., 2004). Показано, что успех размножения гаичек *Parus atricapillus* и *P. carolinensis* положительно коррелирует с индексом генетической совместимости гнездящихся партнеров, и чистые самцы более продуктивны, чем гибридные (Bronson et al., 2005). В гибридной зоне мухоловок *Ficedula hypoleuca* и *F. albicollis* гибридные самки частично плодовиты, и в кладках пар с такими самками было больше нежизнеспособных яиц, чем в кладках с гибридными самцами (Sætre et al., 1999). При этом успех вылупления у пар с гибридами был или полным, или нулевым. Успешность размножения овсянковых кардиналов *Passerina amoena* и *P. cyanea* в гибридной зоне понижена, причем доля вылупившихся птенцов, и в особенности доля вылетевших слетков, понижена сильнее в парах с гибридными самками, чем в парах с гибридными самцами (Baker, Boylan, 1999). Эти и многие другие примеры подтверждают правило Холдейна (Haldane, 1922), декларирующее позитивную связь пониженной жизнеспособности и плодовитости гибридов с гетерогаметным полом (самки у птиц). В нашей работе специфика материала и трудности в полевом распознавании полов, особенно у негнездящихся птиц, не позволили проверить возможное различие в соотношении полов между популяциями. Однако показанная ранее асимметричная интрогрессия ядерных генов от *P. s. jankowskii* к *P. p. leucoptera* и отсутствие какой-либо интрогрессии мтДНК (Kryukov et al., 2022) могут быть частично объяснены предполагаемой стерильностью гибридных самок F1, в соответствии с правилом Холдейна.

Описанная в приведенных примерах постзиготическая изоляция отражает степень несовместимости геномов и проявляется в нарушениях плодовитости и/или жизнеспособности гибридов F1, их пониженной экологической приспособленности, затрудненном поиске

брачных партнеров, а также в генетической несовместимости у F2 и у бэккроссов. Кроме того, постзиготическая изоляция включает возможную генетически обусловленную непригодность гибридов в определенных условиях, их трудности в образовании пар и размножении, а также генетические эффекты в последующих гибридных поколениях. Так, в центре обширной симпатрической зоны гибридизации овсянок *Emberiza citrinella* и *E. leucosephalos*, где доля гибридов максимальна, успех размножения всех пар близок, но гибриды обладают пониженной продолжительностью жизни (Рубцов, 2021). Появление нежизнеспособных яиц может означать отсутствие спаривания, либо оплодотворения, либо неразвитие эмбриона. При этом откладка неоплодотворенных яиц, наблюдаемая у птиц при отсутствии самцов, в нашем случае с сороками исключена, поскольку все гнезда имели двух родителей. Помимо нарушения оплодотворения, отмеченное нашими полевыми наблюдениями отсутствие развития отложенных яиц может означать гибель на разных стадиях эмбриогенеза, а также разнообразные аномалии гибридного потомства. Ответственная за все эти эндогенные барьеры гибридная несовместимость объясняется такими причинами, как модель Бэтсона–Добжанского–Мёллера, сводящаяся к эпистатическому взаимодействию локусов (Огг, 1996), а также хромосомными перестройками, реструктуризацией геномов, дивергенцией белок-кодирующих генов и некодирующей ДНК, появлением инделей и транспозонов и другими процессами (Maheshwari, Barbash, 2011; Abbott et al., 2013).

Цитогенетические механизмы стерильности гибридов изучены достаточно хорошо. Разнообразные нарушения мейоза приводят к частичной или полной стерильности из-за гибели или несбалансированности гамет. Причинами являются разнообразные хромосомные перестройки и генные различия. Так, у гибридов полевых *Microtus arvalis* и *M. levis* стерильность возникает в результате нарушения синапсиса и механизма репарации разрывов двойных цепей ДНК (Torgasheva, Borodin, 2016). Типичный пример для птиц: гибриды между мускусной уткой *Cairina moschata* и белой пекинской уткой стерильны из-за различий в 1-й и 4-й парах хромосом, что препятствует их синапсису и останавливает 1-ю фазу мейоза (Mott et al., 2004).

Молекулярные основы несовместимости исследованы хуже. Продолжаются поиски “генов видообразования” (speciation genes). Кандидатами на них предлагаются или отдельные локусы, распределенные по геному, или островки повышенной дивергенции (speciation islands), которые не интрогрессируют через гибридные зоны (Turner et al., 2005; Ellegren et al., 2012; Ottenburghs et al., 2017). В европейской гибридной зоне подвидов домового мыши *Mus musculus musculus* и *M. m. domesticus* за стерильность гибридных самцов F1 отвечают пять аутосомных локусов, полиморфных между популяциями (Larson et al., 2018). При гибридизации двух видов соловьев *Luscinia megarhynchos* и *L. luscinia* самки стерильны, что связывают с геномными островками высокой дивергенции (Mořkovský et al., 2018). Эти островки у соловьев содержат гены мейоза самок и метаболизма и отличаются высоким уровнем неравновесия по сцеплению и низким уровнем рекомбинации.

При успешных возвратных скрещиваниях обычно происходит интрогрессия, в том числе адаптивная (Currat et al., 2008; Hedrick, 2013). Ограниченная асимметричная интрогрессия по ядерным снипам при ее отсутствии по митохондриальным генам зарегистрирована нами в зоне контакта сорок (Kryukov et al., 2022). В случае отбора против гибридизации возможно развитие избирательности скрещиваний и усиление (reinforcement; Dobzhansky, 1940; Servedio, Noor, 2003) не только презиготической изоляции (Sætre et al., 1997), но вслед за ней и постзиготической (Irwin, 2020) и, таким образом, нарастание дивергенции исходных видов и их изоляции. В частности, в зоне контакта видов сорок, в условиях пониженного успеха размножения смешанных пар и гибридов, можно ожидать формирования положительной ассортативности скрещиваний и дивергенции видов по поведению. Эти виды различаются по звуковой коммуникации (Kryukov et al., 2017, 2022), и она может усилиться в результате отбора против гибридизации. Однако показано, что только достаточно интенсивный отбор может сформировать презиготическую изоляцию (Liou, Price, 1994), что не очевидно в нашем случае. При склонности обоих видов сорок к взаимному расширению ареалов, возможно постепенное расширение зоны контакта и гибридизации, но не рост численности гибридогенных популяций, учитывая обнаруженные нами свидетельства отбора против гибридизации и ограниченные ресурсы

в зоне контакта. Со временем можно ожидать формирование “зоны напряжения”, но не единой, а состоящей из нескольких участков и, таким образом, соответствующей понятию “мозаичной гибридной зоны” (Harrison, 1986). Биотопы сороки в области рассматриваемого контакта ареалов представляют собой лоскуты из приемлемых для гнездования сорок долин рек и озер, частично поросших кустами и низкорослыми деревьями и разделенных обширными, непригодными для гнездования степными пространствами. Вследствие разных сроков начала контакта в разных участках зоны, численного соотношения исходных видов и неодинаковых экологических условий, характер гибридизации в ее частях может отличаться, а усиление может иметь разнообразные косвенные последствия (Abbott et al., 2013). На вторичный контакт близких видов влияет так много разнообразных экзогенных и эндогенных факторов, что предсказать его исход затруднительно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом недавний контакт двух близких, но генетически дивергировавших видов сорок с их неполной репродуктивной изоляцией, обнаруженной нами, предоставляет уникальные возможности для мониторинга начальных стадий процесса интрогрессии, возможного отбора против гибридизации и усиления дивергенции, что в совокупности определит дальнейшую судьбу этого вторичного контакта и целостности обоих видов.

В предисловии к выпуску по геномике гибридизации в журнале “Molecular Ecology” сказано: “Очень немного исследований сочетают геномные анализы с измерением приспособленности гибридных особей в условиях эксперимента или природы. В особенности при исследованиях гибридных зон это должно предприниматься, насколько возможно, ... чтобы получить более полное понимание факторов, которые могут позволить видам происходить и сохраняться при наличии потока генов” (Abbott et al., 2016, p. 2330). Наша работа частично восполняет этот пробел.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарны И.Н. Шереметьевой и А.С. Ёлгину за помощь в сборе полевого материала.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121031500274-4), и государственного задания ИПрЭК СО РАН (рег. № 121032200126-6).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследования проведены без изъятия жизнеспособных яиц или птенцов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Горошко О.А., 2018. Экспансия сороки *Pica pica* (Linnaeus, 1758) в Забайкалье и Амурской области // Современные проблемы орнитологии Сибири и Центральной Азии: Мат-лы 6-й Междунар. орнитол. конф. Иркутск: ИНЦХТ. С. 62–64.
- Горошко О.А., Крюков А.П., Лю Сонтао, Доу Хуашань, Базыр-оол Б.К., 2018. О распространении, подвидовой принадлежности и таксономическом статусе сорок (*Pica pica*) в бассейне реки Хайлар-Аргунь (северо-восточный Китай и Забайкалье, Россия) // Байкальский зоол. журн. № 2 (23). С. 38–45.
- Майр Э., 1968. Зоологический вид и эволюция. М.: Мир. 597 с.
- Рубцов А.С., 2021. Состав пар, биотопические предпочтения и относительная продолжительность жизни птиц в гибридной популяции обыкновенной (*Emberiza citrinella*) и белошапочной (*Emberiza leucocephalos*) овсянок (Passeriformes, Emberizidae) на Алтае // Зоол. журн. Т. 100. № 11. С. 1276–1287. <https://doi.org/10.31857/S0044513421090075>
- Рустамов А.К., 1954. Семейство вороновые // Птицы Советского Союза. Т. 5 / Под ред. Дементьева Г.П., Гладкова Н.А. М.: Советская наука. С. 13–105.
- Соколов В.Е., Васильева Н.Ю., 1993. Гибридологический анализ подтверждает видовую самостоятельность *Phodopus sungorus* (Pallas, 1773) и *Phodopus campbelli* (Thomas, 1905) // ДАН. Т. 332. № 1. С. 120–123.
- Штегман Б.К., 1932. Вороновые птицы. Птицы СССР. Определители по фауне СССР, издаваемые Зоол. ин-том АН. Т. 6. Л.: Изд-во АН СССР. 32 с.
- Abbott R., Albach D., Ansell S., Arntzen J.W., Baird S.J.E., et al., 2013. Hybridization and speciation // J. Evol. Biol. V. 26. № 2. P. 229–246. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2012.02599.x>

- Abbott R.J., Barton N.H., Good J.M., 2016. Genomics of hybridization and its evolutionary consequences // *Mol. Ecol.* V. 25. № 11. P. 2325–2332. <https://doi.org/10.1111/mec.13685>
- Anderson B.W., Daugherty R.J., 1974. Characteristics and reproductive biology of grosbeaks (*Pheucticus*) in the hybrid zone in South Dakota // *Wilson Bull.* V. 86. № 1. P. 1–11.
- Baker M.C., Boylan J.T., 1999. Singing behavior, mating associations and reproductive success in a population of hybridizing Lazuli and Indigo Buntings // *Condor*. V. 101. № 3. P. 493–504.
- Barton N.H., Hewitt G.M., 1985. Analysis of hybrid zones // *Ann. Rev. Ecol. Syst.* V. 16. P. 113–148.
- Bronson C.L., Grubb T.C., Jr, Sattler G.D., Braun M.J., 2005. Reproductive success across the Black-capped Chickadee (*Parus atricapillus*) and Carolina Chickadee (*P. carolinensis*) hybrid zone in Ohio // *Auk*. V. 122. № 3. P. 759–772.
- Campagna L., Rodriguez P., Mazzulla J.C., 2018. Transgressive phenotypes and evidence of weak postzygotic isolation in F1 hybrids between closely related capuchino seedeaters // *PLoS One*. V. 13. № 6. Art. e0199113. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199113>
- Curat M., Ruedi M., Petit R.J., Excoffier L., 2008. The hidden side of invasions: Massive introgression by local genes // *Evolution*. V. 62. № 8. P. 1908–1920. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00413.x>
- Delpont W., Kemp A.C., Ferguson J.W.H., 2004. Structure of an African red-billed hornbill (*Tockus erythrorhynchus rufirostris* and *T. e. damarensis*) hybrid zone as revealed by morphology, behavior, and breeding biology // *Auk*. V. 121. № 2. P. 565–586.
- Dobzhansky T., 1940. Speciation as a stage in evolutionary divergence // *Am. Nat.* V. 74. № 753. P. 312–321.
- Edwards S.V., Kingan S.B., Calkins J.D., Balakrishnan C.N., Jennings W.B., et al., 2005. Speciation in birds: genes, geography, and sexual selection // *Proc. Natl Acad. Sci.* V. 102. № 1. P. 6550–6557. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501846102>
- Ellegren H., Smeds L., Burri R., Olason P.I., Backstrom N., et al., 2012. The genomic landscape of species divergence in *Ficedula* flycatchers // *Nature*. V. 491. P. 756–760. <https://doi.org/10.1038/nature11584>
- Gill F., Donsker D., Rasmussen P. (eds.), 2021. IOC World Bird List (v. 11.2). <https://doi.org/10.14344/IOC.ML.11.2>
- Goodwin D., 1986. Crows of the World. Seattle: Univ. Washington Press. 299 p.
- Grant P.R., Grant B.R., 1992. Hybridization of bird species // *Science*. V. 256. P. 193–197.
- Haldane J.B.S., 1922. Sex ratio and unisexual sterility in hybrid animals // *J. Genetics*. V. 12. P. 101–109.
- Harrison R.G., 1986. Pattern and process in a narrow hybrid zone // *Heredity*. V. 56. P. 337–349.
- Hedrick P.W., 2013. Adaptive introgression in animals: Examples and comparison to new mutation and standing variation as sources of adaptive variation // *Mol. Ecol.* V. 22. № 18. P. 4606–4618. <https://doi.org/10.1111/mec.12415>
- Irwin D., 2020. Assortative mating in hybrid zones is remarkably ineffective in promoting speciation // *Am. Nat.* V. 195. № 6. P. E150–E167. <https://doi.org/10.1086/708529>
- Kryukov A.P., Goroshko O.A., Arkhipov V.Y., Red'kin Y.A., Lee S.I., et al., 2022. Introgression at the emerging secondary contact zone of magpie *Pica pica* subspecies (Aves: Corvidae): Integrating data on nuclear and mitochondrial markers, vocalizations and field observations // *Org. Divers. Evol.* V. 22. P. 1037–1064. <https://doi.org/10.1007/s13127-022-00568-6>
- Kryukov A., Iwasa M.A., Kakizawa R., Suzuki H., Pinsker W., Haring E., 2004. Synchronic east-west divergence in azure-winged magpies (*Cyanopica cyanus*) and magpies (*Pica pica*) // *J. Zool. Syst. Evol. Res.* V. 42. № 4. P. 342–351. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2004.00287.x>
- Kryukov A.P., Spiridonova L.N., Mori S., Arkhipov V. Yu., Red'kin Y.A., et al., 2017. Deep phylogeographic breaks in magpie *Pica pica* across the Holarctic: Concordance with bioacoustics and phenotypes // *Zool. Sci.* V. 34. № 3. P. 185–200. <https://doi.org/10.2108/zs160119>
- Kryukov A.P., Spiridonova L.N., Tyunin A.P., Kryukov K.A., Dorda B.A., 2020. Complete mitochondrial genomes of five subspecies of the Eurasian magpie *Pica pica*, obtained with Oxford Nanopore MinION, and their interpretation regarding intraspecific taxonomy // *Mitochondrial DNA B.* V. 5. № 3. P. 3792–3793. <https://doi.org/10.1080/23802359.2020.1838354>
- Larson E.L., Vanderpool D., Sarver B.A., Callahan C., Keeble S., et al., 2018. The evolution of polymorphic hybrid incompatibilities in house mice // *Genetics*. V. 209. № 3. P. 845–859. <https://doi.org/10.1534/genetics.118.300840>
- Lijtmaer D.A., Mahler B., Tubaro P.L., 2003. Hybridization and postzygotic isolation patterns in pigeons and doves // *Evolution*. V. 57. № 6. P. 1411–1418.
- Liou L.W., Price T.D., 1994. Speciation by reinforcement of premating isolation // *Evolution*. V. 48. P. 1451–1459.
- Madge S., Burn H., 1999. Crows and Jays: A Guide to the Crows, Jays and Magpies of the World. L.: C. Helm. 192 p.
- Madge S., Christie D.A., Kirwan G.M., 2020. Oriental Magpie (*Pica serica*), version 1.0 // *Birds of the World* / Eds Billerman S.M., Keeney B.K., Rodewald P.G., Schulenberg T.S. Ithaca: Cornell Lab of Ornithology. <https://doi.org/10.2173/bow.orimag1.01>
- Maheshwari S., Barbash D.A., 2011. The genetics of hybrid incompatibilities // *Annu. Rev. Genet.* V. 45. P. 331–355. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110410-132514>

- Mallet J.*, 2005. Hybridization as an invasion of the genome // *Trends Ecol. Evol.* V. 20. № 5. P. 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.02.010>
- Mořkovský L., Janoušek V., Reif J., Rídl J., Pačes J., et al.*, 2018. Genomic islands of differentiation in two songbird species reveal candidate genes for hybrid female sterility // *Mol. Ecol. V.* 27. № 4. P. 949–958. <https://doi.org/10.1111/mec.14479>
- Mott C.L., Lockhart L.H., Rigdon R.H.*, 2004. Chromosomes of the sterile hybrid duck // *Cytogen. Genome Res.* V. 7. № 5. P. 403–412.
- Orr H.A.*, 1996. Dobzhansky, Bateson, and the genetics of speciation // *Genetics.* V. 144. № 4. P. 1331–1335.
- Osipova O.V., Sokin A.A.*, 2006. Bank and red vole hybridization under experimental conditions // *Dokl. Biol. Sci.* V. 410. P. 381–383. <https://doi.org/10.1134/S0012496606050103>
- Ottenburghs J.*, 2023. How common is hybridization in birds? // *J. Ornithol.* V. 164. P. 913–920. <https://doi.org/10.1007/s10336-023-02080-w>
- Ottenburghs J., Kraus R.H., Hooft P., van, Wieren S.E., van, Ydenberg R.C., Prins H.H.*, 2017. Avian introgression in the genomic era // *Avian Res.* V. 8. № 1. P. 1–11. <https://doi.org/10.1186/s40657-017-0088-z>
- Price T.D., Bouvier M.M.*, 2002. The evolution of F1 postzygotic incompatibilities in birds // *Evolution.* V. 56. № 10. P. 2083–2089.
- Sætre G.P., Král K., Bures S., Ims R.A.*, 1999. Dynamics of a clinal hybrid zone and a comparison with island hybrid zones of flycatchers (*Ficedula hypoleuca* and *F. albicollis*) // *J. Zool.* V. 247. № 1. P. 53–64.
- Sætre G.P., Moum T., Bureš S., Krá M., Adamjan M., Moreno J.*, 1997. A sexually selected character displacement in flycatchers reinforces premating isolation // *Nature.* V. 387. № 6633. P. 589–592.
- Servedio M.R., Noor M.A.*, 2003. The role of reinforcement in speciation: theory and data // *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* V. 34. № 1. P. 339–364. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132412>
- Song G., Zhang R., Alström P., Irestedt M., Cai T., et al.*, 2018. Complete taxon sampling of the avian genus *Pica* (magpies) reveals ancient relictual populations and synchronous Late-Pleistocene demographic expansion across the Northern Hemisphere // *J. Avian Biol.* V. 49. № 2. Art. e01612. <https://doi.org/10.1111/jav.01612>
- Torgasheva A.A., Borodin P.M.*, 2016. Cytological basis of sterility in male and female hybrids between sibling species of grey voles *Microtus arvalis* and *M. levis* // *Sci. Rep.* V. 6. Art. 36564. <https://doi.org/10.1038/srep36564>
- Turner T.L., Hahn M.W., Nuzhdin S.V.*, 2005. Genomic islands of speciation in *Anopheles gambiae* // *PLOS Biol.* V. 3. № 9. Art. e285. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030285>
- Walsh J., Billerman S.M., Rohwer V.G., Butcher B.G., Lovette I.J.*, 2020. Genomic and plumage variation across the controversial Baltimore and Bullock's oriole hybrid zone // *Auk.* V. 137. № 4. Art. ukaa044.
- Zhang R., Song G., Qu Y., Alstrom P., Ramos R., et al.*, 2012. Comparative phylogeography of two widespread magpies: Importance of habitat preference and breeding behavior on genetic structure in China // *Mol. Phylogenet. Evol.* V. 65. P. 562–572. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.07.011>

Breeding success of the interspecies hybrids: Reduced fertility in the hybridogeneous magpie population (*Pica pica* × *Pica serica*, Aves)

A. P. Kryukov^{a, *}, O. A. Goroshko^{b, c, **}

^aFederal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, RAS
Stoletiya Ave., 159, Vladivostok, 690022 Russia

^bDaursky State Nature Biosphere Reserve

Komsomol'skaya St., 76, Nizhny Tsasuchey Settl., Zabaikalsky Krai, 674480 Russia

^cChita Institute of Nature Resources, Ecology and Cryology, Siberian Branch of RAS

Nedorezov St., 16A, Chita, 672014 Russia

*E-mail: alex.p.kryukov@gmail.com

**E-mail: oleggoroshko@mail.ru

Data on the breeding success of hybrids, collected during direct field observations, are principally important for understanding nature of the species isolating factors and future fate of the hybridogeneous populations. In the zone of secondary contact between Eurasian magpie *Pica pica* and Oriental magpie *Pica serica*, emerging right now, limited hybridization occurs, what has been shown in our reported data on nuclear single nucleotide polymorphisms (SNP). In the present work, we have analyzed composition of 119 nesting pairs and content of 89 nests in the hybridogeneous population of *P. pica leucoptera* × *P. serica jankowskii* in Eastern Mongolia, then in the recent contact zone in Eastern Transbaikalia (South Siberia) and the relatively pure populations of *P. p. leucoptera* in Central Transbaikalia and *P. s. jankowskii* in Northeast China. In the hybridogeneous population of Mongolia, significantly increased portion of nonviable clutches with all dead eggs was recorded, as well as a portion of partly dead clutches, compared with the data on the pure population of Central Transbaikalia. The egg mortality was found to be much less dramatic in the population of the Eastern Transbaikalia, where hybridization is less pronounced than in Mongolia. Several possible mechanisms of genetic incompatibilities breaking the reproductive barriers are discussed. The future fate of this magpie contact zone is considered, taking in account selection against hybridization which was revealed in this study. Among possible scenarios, reinforcement of prezygotic isolation may occur, i.e., in the species-specific calls. It is possible that a kind of mosaic hybrid zone with some features of tension zone will appear. Monitoring of the unique situation with the emerging zone of contact and hybridization of two young magpie species is needed, as a necessary addition to genomic studies.