

УДК 579.843.95–036.21:576.12

ВНУТРИВИДОВОЕ ТИПИРОВАНИЕ И ФИЛОГЕНЕЗ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ – МИКРОБА *YERSINIA PESTIS*: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

© 2023 г. В. В. Сунцов*

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

*E-mail: vvsuntsov@rambler.ru

Поступила в редакцию 26.07.2022 г.

После доработки 02.12.2022 г.

Принята к публикации 16.01.2023 г.

Рассмотрены два подхода к типированию (анализу внутривидового разнообразия) и реконструкции филогенеза (эволюционной истории) возбудителя чумы – микроба *Yersinia pestis* – молекулярно-генетический (МГ) и экологический (адаптационистский, по признаку гостальности). Показано, что каждый из подходов имеет свои преимущества и недостатки. МГ-типирование штаммов возбудителя в изученных очагах мира позволило охарактеризовать до 30 подвидов/геновариантов чумного микроба, но выстроенные на основе этого разнообразия филогении противоречат некоторым очевидным экологическим фактам. Экологический сценарий происхождения и эволюции возбудителя чумы не имеет очевидных противоречий и как эволюционно обоснованную гипотезу его следует учитывать при МГ-реконструкциях филогенеза чумного микроба. Перспектива исследований в этом направлении видится в интеграции молекулярно-генетического и экологического подходов.

DOI: 10.31857/S0044459623010086, EDN: ANSOBQ

Знание биоразнообразия, истории и эволюции микробных патогенов высоко востребованы в теории и практике инфектологии. Без этих знаний невозможно построение рациональных систем диагностики, лечения и профилактики инфекционных болезней и прогнозирование возможных будущих эпидемий и пандемий, приносящих колоссальный ущерб человеческому обществу. Это относится и к чуме – известной с древних времен апокалиптической болезни, особо драматично проявившей себя в трех известных пандемиях. Имеются исторические сведения о “Чуме Юстиниана” в VI–VIII вв. в Средиземноморье и Северной Африке. “Черная смерть” на продолжительное время, с XIV по XVIII век, охватила Европу и Северную Африку. Последняя, третья пандемия началась в китайской провинции Юньнань в середине XIX в., к 1894 г. проникла в морской порт Гонконг, откуда с корабельными крысами распространилась по всем континентам, кроме Антарктиды. На новых, ранее свободных от инфекции территориях Азии (Индокитай), Африканского континента, в Новом Свете и на крупных океанических островах: Яве, Мадагаскаре и Гавайях – чума надолго закрепились в виде синантропических (крысиных) и вторичных природных очагов. Причина возникновения третьей пандемии имеет глубокие биологические и исторические корни на Индостане – родине черной крысы *Rattus rattus*

и блохи песчанок *Xenopsylla astia* – и в Африке – на родине “крысиной” блохи *X. cheopis*. Фактически эта блоха не является крысиной. Черная крыса не имеет своих специфических блох. В природе эта блоха является специфическим паразитом травяной мыши *Arvicanthis niloticus*, обитающей в Сахели и долине Нила. Из долины Нила она была разнесена по всему миру в последние два столетия синантропной черной крысой и стала основным переносчиком чумы в антропогенных крысиных очагах. В 1894 г. в Гонконге в начале третьей пандемии французский врач швейцарского происхождения Александр Йерсен открыл возбудителя чумы – микроба, который позднее в его честь был назван *Yersinia pestis*.

Представление о возбудителе как облигатном паразите норových грызунов составляет основу теории природной очаговости чумы (или sylvatic plague), вполне оформившейся к 1960–1970 гг. Большой вклад в ее создание был внесен работами советских и зарубежных ученых: Д.К. Заболотного, И.Г. Иоффа, Ю.М. Ралля, Н.П. Наумова, В.В. Кучерука, И.И. Рогозина, И.С. Тинкера, В.Н. Федорова, Б.К. Фенюка, Ву Лиен-Те, Х. Молляре, Р. Поллитцера, Л. Картмана, М. Бальгазара и многих других. Сейчас чуму считают одной из наиболее изученных особо опасных инфекций. Однако, несмотря на огромный научный и практический интерес к этой болезни большого числа ученых и

практиков, занимавшихся и занимающихся проблемой чумы, на вопросы, где, когда, каким образом и при каких обстоятельствах возник ее возбудитель, окончательных ответов пока не получено.

В последние 20–25 лет в инфектологию чумы и большинства других актуальных инфекций внедрены и стали доминирующими молекулярно-генетические (МГ) методы исследований. Было показано, что прямым предком чумного микроба является возбудитель кишечной псевдотуберкулезной инфекции, а точнее дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки (ДСЛ) — *Y. pseudotuberculosis* 0:1b (Skurnik et al., 2000; Eppinger et al., 2007). При этом возбудитель чумы — единственный патогенный вид кишечных микробов сем. *Enterobacteriaceae*, передающийся между хозяевами не типичным алиментарным путем, а трансмиссивным, через укусы блох. То есть процесс его видообразования был уникальным и составляет азартную экологическую и эволюционную интригу. Его изучение требует неординарного подхода. Показано также, что отделение *Y. pestis* от предкового вида произошло в недалеком прошлом, не ранее 30 тыс. лет назад (Achtman et al., 1999, 2004; Morelli et al., 2010). Чаше называют сроки от 2 до 8 тыс. лет назад (Cui et al., 2013; Demeure et al., 2019; Pisharenko et al., 2021). Имеются оценки более раннего возникновения чумного микроба, до 80 тыс. лет назад (Rasmussen et al., 2015). То есть вид *Y. pestis* в эволюционном отношении является очень молодым инфекционным агентом, возникшим в биогеоценотической среде, близкой современной. И все же появление *Y. pestis* с большей вероятностью следует связывать с изменениями в природе.

После открытия молекулярными генетиками предковой формы чумного микроба и установления его эволюционной молодости были сделаны попытки расшифровать популяционно-генетические механизмы эволюционного процесса. Важным достижением, открывшим перспективы дальнейшего изучения истории возникновения чумы в мире, стало выявление вероятного исходного хозяина возбудителя чумы — им оказался монгольский сурок-тарбаган (*Marmota sibirica*) (Сунцов, Сунцова, 2000, 2006; Сунцов, 2022a). Фокус исследований переместился в Центральную Азию, и эстафету в решении проблемы происхождения и эволюции возбудителя чумы подхватила популяционная экология. Бесценными стали накопленные ранее научные данные о структуре и исторической динамике центрально-азиатских биогеоценозов, популяционно-генетических характеристиках эпизоотической триады “монгольский сурок–блохи–возбудитель чумы”. К сожалению, слабо изученным остается возбудитель ДСЛ, циркулирующий в популяциях монгольского сурка. Было высказано получившее аргументированную поддержку предположение, что аридизация центрально-азиатских ландшаф-

тов, происходившая с середины кайнозоя, привела к формированию у монгольского сурка специфического защитного поведения — использованию для изготовления защитной пробки зимовочной норы своей метаболической воды (мочи, экскрементов). При этом экскременты в облигатном порядке попадают в ротовую полость готовящихся к зимовке сурков. Следствием этого стало накопление в ротовой полости спящих в холодный период года сурков возбудителя ДСЛ без наступления инфекционного процесса. Сурки во время спячки не питаются, поэтому возбудитель ДСЛ не попадает в тонкий кишечник и не взаимодействует с М-клетками Пейеровых бляшек, т.е. не осуществляется специфическая колонизация и инвазия возбудителем слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта хозяина. Но инфекционный процесс ДСЛ в зимние месяцы в популяциях спящих монгольских сурков сделался возможным при уникальных обстоятельствах. Изменение климата в Центральной Азии на рубеже плейстоцена и голоцена, а точнее максимальное сарганское похолодание в Северной и Центральной Азии 22–15 тыс. лет назад, стало причиной изменения поведения специфической блохи сурков *Oropsylla silantiewi*, которое можно наблюдать и в настоящее время. В холодный период года в связи с глубоким промерзанием грунта личинки сурочьей блохи перемещаются на более теплые тела спящих зверьков, со стохастической закономерностью проникают в ротовую полость и меняют способ питания — переходят от сапрофагии в выстилке гнезда к факультативной гематофагии на слизистых ротовой полости (Сунцов, 2018б). Через скарификации, созданные личинками блох в ротовой полости гибернирующих гетеротермных (5–37°C) сурков, возбудитель ДСЛ напрямую, минуя М-клетки тонкого кишечника, проникает в “холодную” кровь животных. Это привело к массовому аберрантному травматическому (не традиционному алиментарному!) “заражению крови” сурков ДСЛ. Факультативной гематофагией блошиних личинок, по-видимому, и было положено начало популяционно-генетическому переходу возбудителя ДСЛ в новую экологическую нишу — из пищеварительного тракта в лимфо-миелоидный комплекс, т.е. процессу становления нового вида *Y. pestis*.

Согласно экологическим представлениям, процесс видообразования возбудителя чумы был запущен изменением среды обитания определенной популяции (клона) его микробного предка на рубеже плейстоцена и голоцена, когда на фоне глобальных климатических изменений на Земле — наступления последнего максимального похолодания — проходило интенсивное вымирание старых и формирование новых видов. Похолодание значительно понизило уровень мирового океана, между Азиатским и Американским континентами возник сухопутный Берингийский мост, по кото-

рому человек из Азии заселил Америку. В этот период максимального похолодания прямой предок чумного микроба, психрофильный возбудитель ДСЛ, прекрасно сохранился и, не исключено, значительно расширил свой ареал (Сунцов, Сунцова, 2006). Предполагается, что изначально он инфицировал только популяции арктических животных-копрофагов, таких как лемминги, зайцы, которые ввиду солевого дефицита в арктических растениях грызут кости и рога останков животных, поедают скорлупу птичьих яиц, вылизывают солонцы и, что наиболее важное, выгрызают снег и лед, пропитанный мочой и экскрементами, и поедают свои экскременты. Такое поведение арктических животных должно было интенсифицировать инфекционный процесс ДСЛ. Можно предположить, что с максимальным похолоданием возбудитель ДСЛ вышел из арктической зоны и расширил круг хозяев и ареал, в конце концов проникнув в популяции монгольского сурка. В настоящее время возбудитель ДСЛ обычен в холодных районах Северной и Центральной Азии, на Дальнем Востоке, не редок в Канаде, проник в Японию. Среды обитания одновременно существующих предкового псевдотуберкулезного и производного чумного микробов могут полноценно характеризовать адаптивные фенотипические (экологические, этиологические, клинические, биохимические и другие) свойства и признаки этих возбудителей. И их сравнительный анализ дает возможность реконструировать многие моменты процесса видообразования. В таком случае понятно, что при изучении происхождения и эволюции возбудителя чумы, помимо МГ-методологии, теоретической базой которой является теория нейтральной молекулярной эволюции, должны быть полезными или даже необходимыми экологические (в широком понимании) методы изучения сред обитания и адаптаций возбудителей чумы и ДСЛ.

Современная МГ-методология, применяемая для изучения разнообразия внутривидовых форм чумного микроба и его филогении, представляется хорошо разработанной, так как является принципиально универсальной, создавалась на моделях самых разных живых организмов и технологически в различных вариантах применима к изучению любых микроорганизмов, растений и животных. Вместе с тем молекулярная методология исторической реконструкции микроба чумы в связи с его эволюционной молодостью, очень быстрым формированием видовых свойств, сосуществованием с прямым предком и уникальным положением в семье возбудителей кишечной болезни сем. *Enterobacteriaceae* в определенной мере должна быть *ad hoc* методологией, адекватной уникальности объекта исследования (Achtman, 2008; Сунцов, 2021a). Иными словами, молекулярная и экологическая методологии изучения разно-

образия *Y. pestis* и истории формирования этого разнообразия должны быть конгруэнтными, совместимыми, взаимопроникающими. В предлагаемой статье подчеркивается, что при изучении внутривидового разнообразия микроба чумы (типировании) и истории формирования этого разнообразия (филогении) должен быть применен и экологический (адапционистский) подход, раскрывающий эволюционно важные особенности взаимоотношений предкового и производного микробов между собой и со средами обитания, и модифицированный МГ-подход, эволюционная модель которого учитывала бы систематическую и эволюционную уникальность возбудителя чумы.

ВНУТРИВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ *Y. PESTIS*

В связи с недавним происхождением и коротким сроком эволюции внутривидовое разнообразие возбудителя чумы в сравнении со многими другими патогенными бактериями невелико, поэтому вид *Y. pestis* принято считать мономорфным (Achtman, 2008, 2012). Тем не менее его внутривидовая радиация привела к современной политипической структуре. За короткий эволюционный промежуток времени зародившийся новый вид *Y. pestis* в процессе территориальной экспансии дивергировал на гостальные (host, хозяин) формы, характерные для популяций одного или нескольких симпатричных видов норových теплокровных хозяев. На основе этих популяций образовались моно-, ди- и полигостальные природные очаги. Охарактеризованы различные внутривидовые формы: систематически и таксономически значимые подвиды/геноварианты и формы, не представляющие таксоны, но операционально удобные для характеристики отдельных свойств микроба: экотипы, биовары, протеиновары, плазмидовары, риботипы и др. (Zhou et al., 2004a, b; Vogler et al., 2016).

Молекулярное типирование

Для типирования (описания и диагностики) и прояснения родственных связей (филогенетического анализа) внутривидовых форм чумного микроба используют биохимические, генетические и молекулярные признаки. При этом методы анализа нуклеотидных последовательностей – генетических маркеров, описывающие и характеризующие внутривидовое разнообразие *Y. pestis* и разнообразие видов в р. *Yersinia*, в настоящее время занимают ведущее положение в изучении филогении и системы рода. Однако, несмотря на продвинутость методологии генетической и молекулярной идентификации возбудителя чумы и несомненные достижения в его диагностике, МГ-типирование и МГ-филогенетические по-

строения вызывают сомнения в связи тем, что МГ-выводы подчас обнаруживают очевидные противоречия с данными экологии, биогеографии, палеонтологии (Achtman, 2008, 2012; Сунцов, 2021а). Собственно, это касается не только возбудителя чумы. Филогенетические построения на основе МГ-анализа довольно часто вызывают сомнения в правильности отражения истории формирования таксонов (Абрамсон, 2007, 2013).

Описание внутривидового разнообразия и современную систематизацию чумного микроба проводят по геному составу и генетическим маркерам IS, DFR, VNTR, SNP, CRISPR и другим с учетом биохимических особенностей (Платонов и др., 2013; Vogler et al., 2016; Вагайская и др., 2019; Кисличкина и др., 2019). В современных публикациях выделяют до 30 подвидов/геновариантов *Y. pestis* (Achtman et al., 2004; Cui et al., 2013; Kutyrev et al., 2018). Подвиды могут состоять из нескольких более мелких субъединиц. В МГ-типировании применяют буквенно-цифровые наименования описываемых форм (0.PE2, 0.ANT1, 1.ORI3, 1.IN2, 2.MED0, 3.ANT2, 4.ANT1 и т.п.) (рис. 1а). Например, подвид, который молекулярные генетики относят к наиболее древнему из современных, описанный из популяций сибирского тушканчика (*Allactaga sibirica*) на Тибете, именуют 0.PE7. Другой подвид, претендующий называться наиболее древним (Pisarenko et al., 2021), циркулирующий в популяциях обыкновенной полевки на Кавказе, по биохимическим и генетическим свойствам известный как *Y. pestis caucasica*, в МГ-классификации именуют 0.PE2. Первые цифры (0–4) обозначают главные филогенетические ветви, исходящие от абстрактной статистически обоснованной предковой формы чумного микроба MRCA (most recent common ancestor) (Achtman et al., 1999, 2004). Ветвь 0 является базальной, исходит непосредственно от MRCA и считается самой древней; ее представители по выбранным молекулярным маркерам наиболее близки к анцестральному псевдотуберкулезному микробу (Achtman et al., 2004). Буквенными аббревиатурами обозначают биовары Antiqua (ANT), Mediaevalis (MED), Orientalis (ORI), Pestoides (PE) и Intermedia (IN), обладающие специфическими биохимическими свойствами. Аббревиатуры идентифицируют субветви первого и второго порядка. При этом биохимические свойства не всегда проявляют стабильность, а также могут быть следствием разных мутаций. В таких случаях описываемые формы могут быть полифилетическими и должны относиться к разным филогенетическим линиям (Achtman et al., 2004). Названия биоваров предложены Девинья (Devignat, 1951) еще в середине прошлого века, якобы в соответствии с вызванными ими пандемиями – древней (Antiqua), средневековой (Mediaevalis) и современной, начавшейся на востоке (Orientalis). Сейчас уже по-

нятно, что эти названия, с одной стороны, не соответствуют описываемым историческим событиям, с другой стороны, лишь отчасти могут характеризовать родственные отношения геновариантов/подвидов. Их использование связано в большой мере с устоявшейся традицией. Последние цифры, в некоторых случаях с дополнительной буквой, характеризуют подвиды (= географические популяции) или популяции микроба различного масштаба и иерархического положения в конкретных географически очерченных очагах. Таким образом, популяции разного ранга, подпавшие под МГ-типирование, имеют троичное цифровое и буквенное обозначение: цифра – аббревиатура – цифра (+ буква). Именно такое обозначение должна иметь исходная популяция чумного микроба – абстрактный так называемый наиболее современный общий предок MRCA (ниже описанный экологический подход обосновывает одновременное перипатрическое формирование трех равнозначных исходных популяций чумного микроба – 2.ANT3, 3.ANT2 и 4.ANT1, что можно видеть на рис. 1б). В целом наименование подвидов/популяций, предложенное молекулярными генетиками, видится операционально удобным, но в связи с генетической неопределенностью биоваров и в некоторых случаях отсутствием напрямую родственных отношений между представителями одного и того же биовара от аббревиатуры биоваров в обозначении подвидов все-таки следует отказаться.

В МГ-номенклатуре и, соответственно, в молекулярном типировании внутривидовых форм *Y. pestis* имеются неопределенности, несоответствия, экологические казусы и в некоторых случаях заметно отсутствие эволюционной логики. Приведем два примера.

Корневые подвиды 0.PE7 и 0.PE3 представлены только одним или несколькими штаммами, которые по статистическим показателям никак не могут представлять популяции (подвиды). Более того, природный хозяин подвида 0.PE3 (*Y. pestis angolica*) остается неизвестным, а считающийся наиболее древним подвид 0.PE7 (*Y. pestis tibetica*) выделен от двоих инфицированных людей и двух сибирских тушканчиков на Восточном Тибете (Cui et al., 2013), но очагов чумы с этим видом грызуна как основным хозяином возбудителя в природе не существует (места выделения культур 0.PE7, согласно публикации Цуй и соавт. (Cui et al., 2013), расположены в границах природного очага с основным хозяином микроба – гималайским сурком *Marmota himalayana*). Природный источник заражения людей не ясен (логично полагать, что это гималайский сурок, а не сибирский тушканчик, у которого в силу биологических особенностей вида контакт с человеком крайне маловероятен). В таком случае молекулярное типирование относится лишь к отдельным генотипам

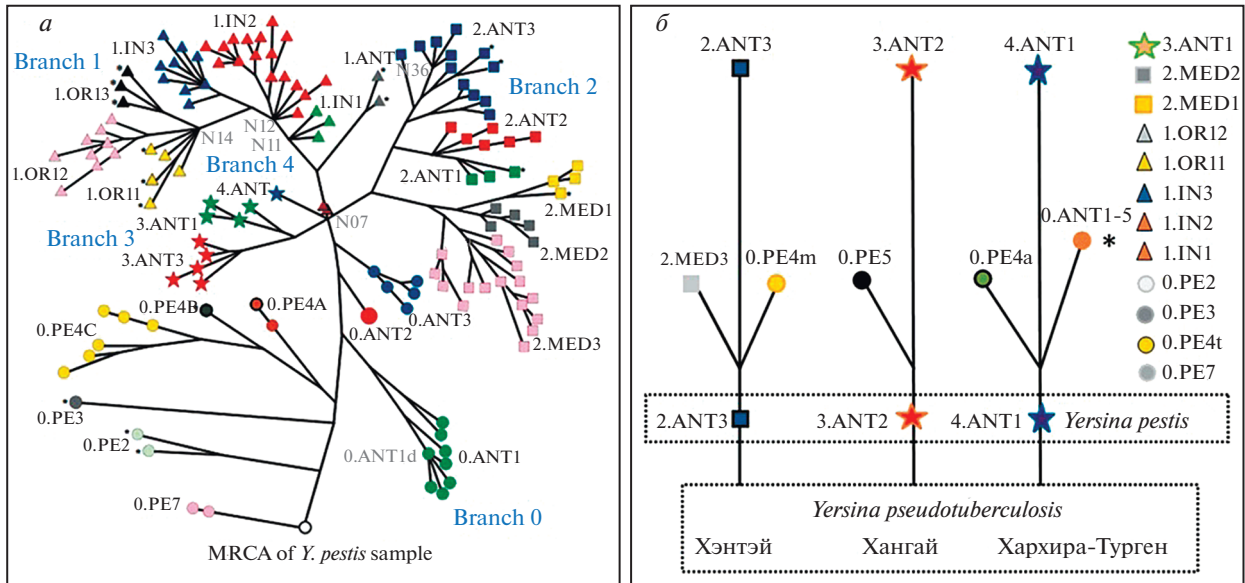


Рис. 1. Топология филогенетических деревьев *Yersinia pestis*. *a* – одна из наиболее популярных филогенетических дендрограмм *Y. pestis*, построенная на основе анализа SNP-маркеров (Cui et al., 2013). Набор цветовых меток показывает внутривидовое генотипическое разнообразие микроба чумы. Буквами и цифрами обозначены подвиды/геноварианты/географические популяции. Базальная ветвь 0 (Branch 0) объединяет подвиды, циркулирующие в популяциях полевок и пищев (кластер 0.PE) и подвиды, свойственные популяциям алтайского и красного сурков (кластер 0.ANT); “сурочки” подвиды 0.ANT по некоторым признакам могут считаться наиболее древними (Анисимов и др., 2016). *б* – трехкорневое “экологическое” филогенетическое древо *Y. pestis* (Сунцов, 2022б). Три исходных подвида/геноварианта 2.ANT3, 3.ANT2 и 4.ANT1 дивергировали от трех самостоятельных популяций (клонов) возбудителя ДСЛ (почти) одновременно в трех географических популяциях монгольского сурка: Хэнтэйской, Хангайской и Хархира-Тургенской. * – диверсификация и азиатская экспансия подвидов/геновариантов.

(штаммам), возможно, aberrantным и не имеющим отношения к предковым таксонам, в популяциях которых происходили генетические модификации, приведшие к формированию возбудителя чумы.

Другой пример. Во внутривидовой структуре чумного микроба недавно описан подвид *Y. pestis central-asiatica* (0.PE4) (Ерошенко и др., 2015; Kutuyev et al., 2018). Этот подвид объединяет четыре местные популяции, имеющие высокую степень сходства молекулярных маркеров (SNPs): *Y. pestis hissarica*, *Y. pestis talassica*, *Y. pestis altaica* и *Y. pestis microtus* (= *Y. pestis xilingolensis*). Но совершенно очевидно, что сходство МГ-маркеров в данном случае не может характеризовать единство подвида. По определению подвид – это голофилетическая группа непосредственно родственных форм, имеющих единый ареал и обладающая единством экологических свойств. МГ-типирование, вопреки общепринятому представлению о подвиде, объединяет в один подвид *Y. pestis central-asiatica* четыре различные внутривидовые формы, образующие радикально разорванный ареал, включающий Гиссар, Талас, Горный Алтай и Северо-Восточный Китай (Xilin Gol Grassland), и циркулирующие в популяциях далеко не родственных хозяев: арчевой полевки (*Microtus car-*

ruthersi), серебристой полевки (*Alticola argentatus*), узкочерепной полевки (*Lasiopodomys gregalis*), монгольской пищухи (*Ochotona pallasi pricei*) и полевки Брандта (*L. brandti*). Утверждение непосредственного родства гиссарских, таласских, алтайских и китайских штаммов чумного микроба и включение их в один подвидовой таксон только на основании сходства нуклеотидной структуры выбранных молекулярных маркеров не находит экологической и биогеографической поддержки.

С другой стороны, молекулярное типирование позволило конкретизировать структуру так называемого “основного” подвида *Y. pestis pestis*, учрежденного в 1980-х годах на основании фенотипического признака, по медицинским показателям – по степени вирулентности в отношении к человеку. Понятие основной/неосновные подвиды продолжают широко использовать в современной научной литературе. В один основной подвид по биохимическим свойствам и медицинским показателям объединены все высоковирулентные формы, циркулирующие в природе в популяциях сурков, сусликов, песчанок и крыс во многих природных и антропогенных очагах мира. Это множество форм подразделено на вышеупомянутые биофармы, имеющие по большому счету самостоятельные ареалы и вполне различающиеся

ся свойства. Например, возбудители, отнесенные к биоварам *Antiqua* и *Orientalis*, имеют стабильные биохимические различия по способности ферментировать глицерин, обладают самостоятельными ареалами, формируют очаги с различной биоценотической структурой, циркулируют в популяциях различных основных хозяев. Биовар *Antiqua* характерен для азиатских природных очагов сурочьего типа, т.е. основным хозяином в них являются сурки (*Marmota*). Во время первой и/или второй пандемий “сурочья” чума с синантропными крысами была занесена человеком на Африканский континент, где до настоящего времени циркулирует в популяциях местных диких норковых грызунов в Конго, Уганде, Кении, Замбии, Танзании и представляет вновь возникший самостоятельный подвид/геновариант 1.ANT1.

Первичные природные очаги с биоваром *Orientalis* и “крысиным” подвидом/геновариантом 1.ORI1 размещены на Индостане. Основным хозяином в них является индийская песчанка (*Tatera indica*). Эти очаги стали источником третьей пандемии через посредство синантропических крысиных очагов. В процессе хозяйственного освоения Индостана формировались популяции синантропной черной крысы, которые через песчанковых блох *Xenopsylla astia* пришли в паразитарный контакт с популяциями индийской песчанки – основного хозяина инфекции в природных очагах с геновариантом 1.ORI1. Таким путем возникли синантропические очаги, поддерживаемые сначала паразитарной системой *R. rattus*–*X. astia*, к которой позднее добавилась *R. rattus*–*X. cheopis* (Сунцов, Сунцова, 2006). Впоследствии с черной крысой чума проникла в китайскую провинцию Юньнань и далее в Гонконг, откуда в конце XIX в. распространилась по всему миру. При этом к настоящему времени возбудитель не изменил своих свойств на территории США (1.ORI1), но несколько изменился в Юго-Восточном Китае (Юньнань) и Мьянме (1.ORI2), на Мадагаскаре (1.ORI3), в Перу, Боливии, Зимбабве (1.ORI4) (Pisarenko et al., 2021). Таким образом, биовары *Antiqua* и *Orientalis*, помимо биохимических различий, имеют много различий по экологическим особенностям, структуре ареала и истории распространения, и их вряд ли следует относить к одному сборному так называемому основному подвиду *Y. pestis pestis*. То же следует сказать о биоварах *Mediaevalis* и *Intermedia*. К тому же, названия подвидов – основной, главный (main) и неосновные, неглавные (non-main) – следует признать неудачными, они не отражают сущность таксонов и представляют классификацию чумного микроба в крайне асимметричном виде – “разношерстный” и “раздутый” основной подвид доминирует над всеми остальными вместе взятыми. Молекулярное типирование логично отвергает существование единого, в действительности квазиосновного

подвида и подразделяет его на многие самостоятельные подвиды/геноварианты, характерные для популяций хозяев определенного вида или совокупности популяций двух или нескольких видов в ди- и полигостальных очагах, представляющие различные филогенетические ветви, субветви и линии и имеющие своеобразные “жизненные” истории: 0.ANT1–5, 1.ORI1–4, 1.IN1–4, 2.ANT1–3, 3.ANT1–2, 4.ANT1–2 (Morelli et al., 2010; Cui et al., 2013; Kuttyrev et al., 2018).

В целом молекулярное типирование, несмотря на существующие ограничения подхода, при поддержке экологическими фактами может дать вполне правдоподобное объяснение известному на сегодня внутривидовому разнообразию чумного микроба.

Экологическое типирование. Принцип гостальности

Молекулярные технологии типирования *Y. pestis* базируются на анализе преимущественно нейтральных нуклеотидных последовательностей с привлечением генетических и отчасти биохимических признаков, и эта методология в целом дала позитивные результаты. Но имеются и негативные стороны, подобные упомянутым выше. Эти негативы могут быть преодолены применением экологического подхода к типированию по гостальному признаку, т.е. по признаку адаптации к определенному хозяину, к двум или нескольким хозяевам.

Гостальная специализация – неотъемлемое свойство возбудителя чумы. Микроб циркулирует в паразитарной системе “грызун/пищуха–блоха”, т.е. адаптирован к обитанию в двух средах – организме хозяина и переносчика. В организме блохи-переносчика микроб пребывает только в содержимом пищеварительного тракта, т.е. в субстрате, производном от хозяина, и не взаимодействует с тканями блохи, не имеет специфических адгезинов и инвазинов. Блохи в большой мере играют роль “живого шприца”. Адаптация микроба к организму блохи была направлена на длительное пребывание в передних отделах ее пищеварительного тракта и интенсивное размножение с образованием механического “блока” преджелудка (“кость в горле”) как специфического механизма трансмиссивной передачи. Отсюда понятно, что адаптация микроба к организму блохи не является глубокой и была направлена лишь на оптимизацию процесса передачи новому хозяину, наиболее ярко выразившемся в выработке ключевой инновации – синтезе гена *ymt* на плазмиде вирулентности pFra (Sun et al., 2014; Hinnebusch et al., 2016). Этот ген кодирует свойство микроба формировать биопленку и механический “блок” преджелудка блохи и тем самым интенсифицирует процесс трансмиссии в организм нового хозяина, которая исходно обес-

печивалась контаминацией ротового аппарата блохи с возбудителем при укусе хозяина (Hinnebusch et al., 2017). Хотя виды блох условно подразделяют на высокоэффективных, эффективных, слабо эффективных и неэффективных переносчиков, на биохимическом, генетическом и молекулярном уровнях специализацию микроба к определенным видам блох проследить не удается. По этой причине типирование по способности к трансмиссии и виду переносчика не проводят. При этом имеются существенные основания полагать, что формирование “блоковой” передачи прошло в холодной среде в популяциях холодолюбивой блохи *O. silantiewi* (Сунцов, 2018а, б). Блохи р. *Oropsylla* размножаются круглогодично, в любой сезон года на хозяевах и в их гнездах можно обнаружить большое количество имаго этих блох, они активно формируют “блок” при низких температурах среды и являются высокоэффективными переносчиками чумы (Williams et al., 2013; Lemon et al., 2020).

Что касается теплокровных хозяев, то они обладают активным иммунитетом по отношению к возбудителям инфекций. Возбудитель адаптируется к организму хозяина, вырабатывая специфические защитные механизмы. У возбудителя чумы эти механизмы достаточно хорошо изучены (*Yersinia pestis*: Retrospective..., 2016; *Yersinia pestis* Protocols, 2018).

В.М. Туманский (1957) первым предложил разделить внутривидовые “разновидности” микроба чумы по гостальному признаку. Причину возникновения разновидностей он видел в физиологических и иммунологических особенностях организма грызунов — основных хозяев чумного микроба в природе. Он выделил три разновидности по родам грызунов, из которых они регулярно изолировались: *Y. pestis ratti* впервые выделена Йерсенем и Китагато в 1894 г. в Гонконге от крыс и людей; *Y. pestis marmotae* — от монгольского сурка в 1911 г. Д.К. Заболотным в Забайкалье; *Y. pestis citelli* — от малого суслика в 1912 г. в Поволжье И.А. Деминским. Позднее были предложены песчанковая разновидность *Y. pestis gerbilli* и полевковый подвид *Y. pestis microti*. Ввиду того, что разные виды крыс, сурков, сусликов, песчанок и полевок образуют автономные очаги, чаще со специфическими свойствами циркулирующего возбудителя, эта довольно грубая типология в научной литературе не прижилась. Из трех подвидов, предложенных В.М. Туманским, один по современным представлениям оказался реально существующим — крысиный, это подвид/геновариант 1.ORI1, в природе свойственный популяциям индийской песчанки и перешедший на Индостане в симпатричные популяции синантропной черной крысы (Сунцов, 2020а).

Нами была предпринята попытка провести типирование возбудителя чумы по основному хозяину в известных природных и антропогенных очагах (Сунцов, Сунцова, 2006, 2008). Предполагалось, что адаптация возбудителя к виду хозяина в моногостальных очагах должна проявляться с очевидностью, и “хорошие” подвиды возбудителя можно именовать по виду основного хозяина в каждом конкретном очаге. Например, подвид, циркулирующий в популяциях монгольского сурка-тарбагана, предлагалось именовать *Y. pestis tarbagani*, подвид в очагах большой песчанки — *Y. pestis rhombomys-opimus*, подвид из популяций индийской песчанки — *Y. pestis tatera-indica* и т.п. Такая несколько громоздкая номенклатура чумного микроба, несмотря на ее положительные стороны, не прижилась, как нам представляется, по трем причинам. Во-первых, она не предусмотрена правилами бинарной/тринарной номенклатуры бактериальных видов, так как включает четвертый номен. Во-вторых, название подвида *Y. pestis tarbagani* как исходного оказалось не вполне корректным, в действительности этот “подвид” включает три реальных исходных подвида 2.ANT3, 3.ANT2 и 4.ANT1, сформировавшихся автономно в трех географических популяциях монгольского сурка (Сунцов, 2020а); подобная ситуация может иметь место с другими подвидами. В-третьих, имеются многочисленные примеры, когда один и тот же подвид/геновариант циркулирует устойчиво в популяциях (очагах) с разными основными хозяевами микроба. Несколько наиболее ярких примеров:

- Подвид/геновариант 1.ORI1 характерен для природных очагов Индостана, где он циркулирует в популяциях индийской песчанки. После возникновения синантропных популяций черной крысы в процессе хозяйственной деятельности человека между популяциями индийской песчанки и черной крысы через местных песчаночьих блох *X. astia* и африканских “крысиных” блох *X. cheopis* возник тесный паразитарный контакт, благодаря которому микроб от индийской песчанки перешел к черной крысе. В популяциях черной крысы сформировались антропогенные синантропические очаги чумы с тем же 1.ORI1 геновариантом чумного микроба, что и в популяциях индийской песчанки. Дальнейшая экспансия с Индостана привела к формированию близких подвидов 1.ORI2, 1.ORI3, 1.ORI4 в разных районах мира, но в Северной Америке в популяциях местных норových диких грызунов завезенный более 100 лет назад подвид 1.ORI1 не изменил своих молекулярных свойств. Так что в настоящее время на Индостане в популяциях индийской песчанки и черной крысы и в Северной Америке в популяциях диких грызунов разных видов и синантропных крыс циркулирует единый под-

вид/геновариант возбудителя – 1.ORI1 (Cui et al., 2013).

- Как указано выше, в соответствии с экологическим сценарием происхождения возбудителя чумы исходными подвидами/геновариантами являются 2.ANT3, 3.ANT2 и 4.ANT1, циркулирующие в трех географических популяциях монгольского сурка: Хэнтэйской, Хангайской и Хархира-Тургенской соответственно. В Северо-Восточном Китае (Song Liao Plain), Восточной Монголии и Забайкалье в очагах чумы в популяциях даурского суслика (*Spermophilus dauricus*) циркулирует тот же сурочий подвид/геновариант 2.ANT3, что и в сурочьих очагах Хэнтэя, Забайкалья и Внутренней Монголии (Hulun Buir Plateau). Этот подвид, возникнув в популяциях монгольского сурка, при внедрении в симпатрические популяции даурского суслика не изменил своих генетических и биохимических признаков, надо полагать, ввиду систематической близости и физиолого-биохимического сходства хозяев – сурков и сусликов, которых систематически относят к одной трибе – Marmotini. После истребления сурков в Забайкалье очаг чумы сохранился в популяциях даурского суслика. То же самое можно сказать о сурочьих очагах на Хангае и Хархира-Турген-Монгун-Тайгинском горном массиве, где подвиды/геноварианты 3.ANT2 и 4.ANT1 из популяций монгольского сурка перешли без изменений в симпатрические популяции длиннохвостого суслика (*S. undulatus*). В то же время переход возбудителя из этих очагов в симпатрические популяции полевки Брандта и монгольской пищухи привел к смене циркулирующих в них подвидов, возникли 0.PE4a, 0.PE4m, 0.PE5. Понятно, что физиологические и иммунологические характеристики незимоспящих полевок и пищух не схожи с характеристиками представителей трибы Marmotini, впадающих в спячку.

- Многие синантропические очаги имеют несколько основных хозяев или основного и дополнительных хозяев и именуется ди- или полигостальными. Например, синантропический очаг чумы во Вьетнаме до его ликвидации в 2002 г. поддерживали популяции малой (*R. exulans*), черной (*R. rattus*), желтобрюхой (*R. flavipectus*), гималайской (*R. nitidus*) и серой (*R. norvegicus*) крыс. При этом наибольшее эпидемиологическое значение имели малая и желтобрюхая крысы. В популяциях всех видов крыс циркулировал один подвид/геновариант 1.ORI2, завезенный из Гонконга в конце XIX в.

Внутривидовое генетическое разнообразие *Y. pestis* может определяться не только выработавшейся в процессе эволюции адаптацией подвидов к конкретным видам и популяциям основного(ых) хозяина(ев), но и процессами перехода к новым хозяевам при различных экологических

обстоятельствах. Поэтому, как и у многих других видов, реальную политипическую внутривидовую структуру молодого чумного микроба составляют не только более или менее четко выраженные дискретные, так называемые “хорошие” подвиды, но и переходные полиморфные, “размытые” формы. На основании МГ-признаков выявлены песчанково-сусликовая (Центральный Кавказ) и полевково-сурочья (Гиссар, Талас) формы (варианты) чумного микроба (Горшков и др., 2000; Савостина и др., 2009), но такие формы пока не получили тринomialного названия или молекулярного наименования, которое, например, во втором случае должно каким-то образом сочетать аббревиатуры PE (“полевковые” признаки) и ANT (“сурковые” признаки). Эти “переходные” формы возникают, когда эпизоотические системы “грызун–блоха–возбудитель” и паразитарные системы “грызун–блоха” по естественным или антропогенным причинам совмещаются, между ними усиливается обмен компонентами и, как следствие, происходит переход возбудителя в системе “грызун–блоха” на дополнительных хозяев, которые со временем могут стать основными. В таких случаях на основе двучленной паразитарной системы “грызун–блоха” может сформироваться новая эпизоотическая триада с моногостально специализированным подвидом возбудителя (Zhou et al., 2004b; Сунцов, Сунцова, 2006, 2008).

Изложенное выше показывает, что рассмотрение вопроса типирования *Y. pestis* с позиций двух подходов – молекулярного и экологического – может прояснить многие непонятные и спорные вопросы. Поэтому на современном этапе при создании непротиворечивых филогенетических реконструкций следует учитывать результаты обоих подходов.

ФИЛОГЕНЕЗ *Y. PESTIS*

МГ-подход реконструирует сначала возникновение из клона ДСЛ абстрактного общего предка *Y. pestis* – MRCA, при этом его гостальная среда обитания и популяционные характеристики не обсуждаются. Безликий MRCA охарактеризован только статистически признаками-маркерами, не детерминированными функционально (экологическими функциями). Остается непонятным, можно ли относить MRCA к уже состоявшемуся виду *Y. pestis* или это пока еще переходная форма *Y. pseudotuberculosis/pestis*. Таким образом, МГ-подход на филогенетическом дереве *Y. pestis* четко фиксирует анцестральный вид (к сожалению, не конкретную его популяцию/подвид), но уникальные особенности популяционно-генетического видообразовательного процесса не раскрывает и исходного хозяина чумного микроба не называет. Отсюда возникают разные толкования молекулярных данных: подавляющее число ис-

следователей без какой-либо экологической обоснованности считают исходным хозяином какой-либо вид мелких норových млекопитающих (полевок, тушканчиков, африканских травяных мышей) (Achtman et al., 1999; Cui et al., 2013; Pisarenko et al., 2021), другие также без обращения к экологии предполагают происхождение чумы в популяциях сурков (Tong et al., 2005; Wang et al., 2006; Анисимов и др., 2016). Такие разночтения у молекулярных генетиков понятны: молекулярные методы не достаточны в раскрытии подлинной истории таксонов; здесь на помощь приходят накопленные знания из области экологии, палеонтологии, биогеографии и других классических научных направлений.

Важнейшим недостатком МГ-подхода на современном этапе является ограниченная возможность чисто статистическими методами выявить исходного хозяина возбудителя чумы. Остается неясным, в популяциях какого вида грызунов произошло преобразование популяции (клона) возбудителя ДСЛ в популяцию возбудителя чумы. Однако, зная характеристики популяции исходного хозяина, в которой могло произойти преобразование кишечного возбудителя ДСЛ в “кровяного” паразита, и принимая во внимание факты эволюционной молодости чумного микроба, его сосуществование с непосредственным предком (ДСЛ), эволюционная история возбудителя чумы может быть полноценно реконструирована экологическими (в широком понимании) методами (Сунцов, 2020а, 2021а). Согласно вышеизложенному экологическому сценарию, формирование чумного микроба прошло параллельно в трех географических популяциях монгольского сурка — на Хэнтэе, Хангае и на Хархира-Турген-Монгун-Тайгинском горном комплексе (рис. 1б). Три исходные географические популяции (= три исходных подвида) обозначены как 2.ANT3 (Хэнтэй), 3.ANT2 (Хангай) и 4.ANT1 (Хархира-Турген-Монгун-Тайга). Дальнейшая гостальная специализация была связана с территориальной экспансией трех исходных популяций/геновариантов чумного микроба самостоятельными маршрутами и образованием трех самостоятельных (почти) не перекрывающихся зон первичных природных очагов в Азии и отчасти на юго-востоке Европы (Восточное Предкавказье) (Сунцов, 2020а).

С экологических позиций имеются немалые возражения в отношении существующих МГ-филогенетических построений. Предложенный экологический сценарий происхождения и экспансии микроба чумы требует существенных поправок в реконструкции филогении *Y. pestis* МГ-методами, прежде всего исправления базовой эволюционной модели, указывает на необходимость корректировки топологии филогенетического дерева, построенного на основе молекулярных признаков.

- МГ-подход базируется на теории постепенной нейтральной эволюции и в то же время связывает видообразование микроба чумы с недавним сальтационным горизонтальным переносом генов из внешней среды или от других микроорганизмов в клетки возбудителя ДСЛ. При этом заимствованные извне плазмиды pFra и pPst называют видоспецифическими для чумного микроба. Но видоспецифические для *Y. pestis* генные структуры должны синтезироваться в процессе формирования вида *Y. pestis*. Плазмиды pFra и pPst — это сложные полифункциональные генетические структуры, несущие гены, кодирующие разные специфические именно для возбудителя чумы функции вирулентности, трансмиссии и коммуникации. Формирование этих плазмид в геноме чумного микроба проходило, надо полагать, постепенно, и видообразование *Y. pestis* протекало по принципу мозаичной эволюции (Сунцов, 2020б, 2021б), что следует учитывать при конструировании или выборе филогенетической эволюционной модели.

- МГ-подход прокламирует наибольшую древность “полевковых” подвидов, составляющих ветвь/кластер 0.PE. Из них подвид 0.PE5 (*Y. pestis ulegeica*), циркулирующий в популяциях монгольской пищи в Монголии, по МГ-признакам наиболее близкий к высоковирулентным подвидам (Riehm et al., 2012; Demeure et al., 2019), как полагают, накануне первой пандемии проник в популяцию алтайского сурка на Тянь-Шане, где преобразовался в высоковирулентный подвид 0.ANT1. Вероятность такого протяженного географического транзита монгольского подвида 0.PE5 в недавнем прошлом не поддается экологическому, биогеографическому и историческому осмыслению.

- Подвиды/геноварианты 2.MED1 и 2.MED3, обладающие общим биохимическим свойством нитрификации/денитрификации, по сходству выбранных МГ-маркеров отнесены к единой филогенетической ветви 2.MED. Однако это свойство у подвидов вызвано разными мутациями, и эти подвиды/геноварианты нельзя считать непосредственными (Zhou et al., 2004а, б; Павлова и др., 2012). Экологический анализ предполагает, что эти подвиды дивергировали от разных исходных подвидов чумного микроба — 4.ANT1 и 2.ANT3 соответственно (рис. 2). Поэтому в принципе они должны быть помещены в разные филогенетические ветви (Сунцов, 2020а), т.е. единой филогенетической ветви 2.MED не существует.

- Вызывают вопрос МГ-датировки возникновения подвидов/геновариантов 2.MED1 и 2.MED3. Наиболее древним по МГ-версии геновариантом ветви 2.MED считают 2.MED0, циркулирующий в популяциях горного суслика на Кавказе (Носов и др., 2016; Kutuyev et al., 2018; Pisarenko et al.,

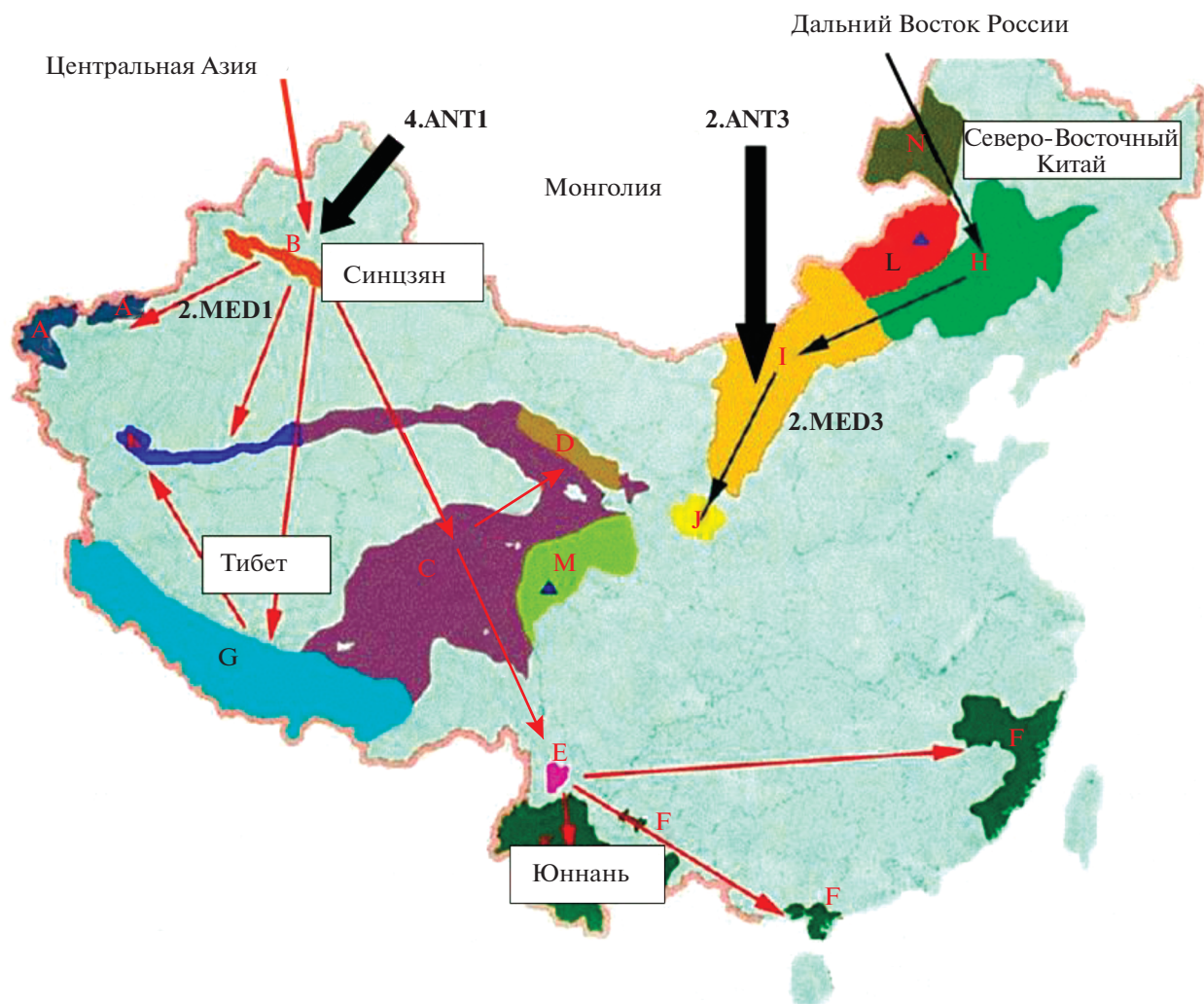


Рис. 2. Экспансия *Yersinia pestis* в Китае. В работе китайских авторов (Zhou et al., 2004a, b) предполагается, что биовар Antiqua проник в Китай из разных северных районов (тонкие стрелки). Согласно экологическому сценарию (Сунцов, 2020a), маршруты экспансии биовара Antiqua в Китай (толстые черные стрелки) начинались в западной (4.ANT1) и восточной (2.ANT3) Монголии. В любом случае производные геноварианты 2.MED1 и 2.MED3 возникли в разных филогенетических линиях. А–N – природные очаги чумы.

2021). По выбранным молекулярным маркерам он наиболее близок к подвидам, соответствующим биовару Antiqua. В Центральной Азии отмечены два других геноварианта – 2.MED1 и 2.MED3, как принято считать в МГ-подходе, это более молодые подвиды/геноварианты. Поэтому полагают, что территориальная экспансия ветви 2.MED0 проходила по направлению с Кавказа на восток, в Центральную Азию. Но логика распространения чумы в этом направлении противоречит широко принятой идее происхождения чумы в Центральной Азии и дальнейшей ее азиатской и мировой экспансии из центра видообразования микроба *Y. pestis* с формированием современной зоны природной очаговости чумы. Таким образом, в природе в популяциях норových грызунов чума, скорее всего, распространилась из Цен-

тральной Азии на Кавказ, а не наоборот, и кавказский подвид 2.MED0 должен быть более молодым.

- Как правило, работы по филогенетике чумного микроба завершаются демонстрацией филогенетических дендрограмм, показывающих молекулярно-статистические взаимоотношения геновариантов (подвидов, географических популяций), и эти отношения не привязаны к природным и/или историческим событиям. Так, все молекулярные филогенетические дендрограммы фиксируют наличие политомии (“Big Bang”, узел N07 на рис. 1a), которая имела место на Тянь-Шане в соответствии с датировкой по “молекулярным часам” накануне второй пандемии (“Черной смерти”, 1346 г.). За несколько последующих столетий из Тянь-Шанского региона вирулентный возбу-

тель якобы распространился естественным путем в популяциях сурков, сусликов, песчанок и крыс на обширных пространствах Азии. Но причин возникновения этого совершенно нетривиального природного события — недавнего в эволюционном масштабе времени почти одновременного, взрывного возникновения на Тянь-Шане основных генеалогических ветвей *Y. pestis* накануне “Черной смерти” — МГ-подход не называет и даже не предполагает. В то же время экологические данные уверенно свидетельствуют о возникновении указанной политомии в процессе видообразования *Y. pestis*, инициированного последним максимальным (сартанским) похолоданием климата Северной Азии (Сунцов, 2020a, 2021a).

- Молекулярные филогении прокламируют двухэтапное формирование природных очагов в Евразии (Li et al., 2009; Cui et al., 2013; Demeure et al., 2019). На первом этапе якобы был сформирован ареал, образованный “полевковыми” подвидами кластера 0.PE, включающий обширные пространства от Северо-Восточного Китая и Восточного Тибета на востоке до Кавказа и Ближнего Востока на западе и от Забайкалья, Северного Казахстана и Северного Прикаспия на севере до юга Индостана. Основными хозяевами в первичных наиболее древних очагах предполагают тушканчиков (Восточный Тибет), полевков (Кавказ, Гиссар, Талас, северо-восток Китая) и монгольскую пищуху (Горный Алтай и Западная Монголия). Возбудители в этих очагах имеют слабую вирулентность в отношении сурков, сусликов и песчанок и по выбранным молекулярным маркерам близки к возбудителю ДСЛ. На втором этапе из “пищухового” подвида 0.PE5c, проникшего из Монголии на Тянь-Шань при неизвестных обстоятельствах, в тянь-шаньских популяциях алтайского сурка сформировался высоковирулентный подвид 0.ANT1, впоследствии дивергировавший на множество таких же вирулентных подвидов, распространившихся в границах “полевковых” очагов, а также проникший на Индостан. Предложенные МГ-филогенетические схемы двухэтапного формирования первичных природных очагов чумы в Евразии не согласуются с данными классических научных направлений: в природе чума распространяется в популяциях норковых грызунов по принципу расползания по бумаге масляного пятна, и двухэтапное формирование обширного евро-азиатского ареала природных очагов с эпизоотологических позиций представляется логическим нонсенсом (Сунцов, 2021a). Экологический подход ставит под сомнение наибольшую древность “полевковых” подвидов чумного микроба, представляющих кластер 0.PE, и, соответственно, все позиции в рамках МГ-методологии, приводящие к таким выводам.

- В современных МГ-филогениях для оценки степени родства исследуемых штаммов и групп

используют в качестве референтного (эталонного) штамма CO92, изолированный в США от больного человека, заразившегося от домашней кошки, в свою очередь заразившейся от диких грызунов в природе. Очаги чумы в популяциях диких грызунов в Северной Америке имеют вторичное происхождение — возникли после завоза чумы с корабельными крысами в Сан-Франциско во время третьей пандемии. Корабельные крысы получили инфекцию от синантропных крыс из Юньнани (Китай) (или, возможно, из Индии). В Юньнань чума распространилась из синантропных популяций черной крысы, в свое время образовавших синантропические очаги на Индостане. Синантропические очаги на Индостане своим происхождением обязаны природным очагам в популяциях индийской песчанки. Так что американский штамм CO92 имеет долгую антропогенную историю, был перенесен человеком из Восточного полушария в Западное и не может быть эталоном естественных штаммов. Способ выстраивать филогенетические линии методом сравнения нуклеотидных последовательностей избранных маркеров в изучаемых генотипах чумного микроба с генотипом CO92, находившимся на протяжении своей истории под длительным воздействием антропогенных факторов, вызывает сомнения. Широкое использование этого штамма как референтного связано с приоритетом полной расшифровки его генома в США и внесением в базу данных NCBI GenBank, доступную для исследователей. В качестве референтного значительно надежнее было бы выбрать геном штамма, циркулирующего в природных популяциях монгольского сурка на безлюдных просторах Центральной Азии, относящийся к подвидам 2.ANT3, 3.ANT2 или 4.ANT1.

- В МГ-подходе в качестве внешней группы чаще используют выделенный от больного человека во Франции штамм *Y. pseudotuberculosis* 0:1b IP32953, секвенированный и помещенный в GenBank одним из первых. В связи с высоко вероятным происхождением чумы в Центральной Азии в географических популяциях монгольского сурка и широкой географической изменчивостью *Y. pseudotuberculosis*, выбранный штамм не может с высокой надежностью характеризовать корень филогенетического древа микроба чумы. Представителем внешней группы надежнее выбрать штамм псевдотуберкулезного микроба, также изолированный от монгольского сурка в Центральной Азии.

- Кладистическая методология построения филогенетических дендрограмм в МГ-подходе использует концепцию сестринских групп, применение которой неизбежно во всех случаях, когда прямой предок остается неизвестным, а таких случаев абсолютное большинство. В силу этого обстоятельства кладистика может предоставить

только редуцированный взгляд на историю изучаемого таксона (Павлинов, 2005). В уникальном случае микроба чумы его прямой предок известен доподлинно. Поэтому в филогенетических реконструкциях *Y. pestis* нет необходимости ограничиваться кладистической методологией, и становится вполне обоснованным использование “некладистической” концепции “предок—потомок”. В этом случае особую ценность приобретает экологический, т.е. адапционистский подход, который позволяет создать более полноценный, насыщенный биологической информацией нарратив истории чумного микроба.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как видим, типологии и филогении *Y. pestis*, построенные методами двух различных подходов — МГ и экологического — имеют свои преимущества и недостатки. Ни один из них нельзя считать совершенным. Пока еще мало штаммов возбудителей чумы и ДСЛ секвенировано и проанализировано из Монголии и прилежащих к ней регионов, что не позволяет судить об истинном разнообразии и степени родства внутри- и межвидовых форм, циркулирующих на наиболее вероятной родине чумы — в Центральной Азии. Не изучены должным образом взаимоотношения монгольского сурка, сурочьей блохи и возбудителей чумы и ДСЛ. Мало имеется сведений о функционировании чумного и псевдотуберкулезного микробов в гетеротермной и гетероиммунной среде — популяциях сурков во время зимней спячки. Тем не менее оба подхода не только полезны, но необходимы для реконструкции происхождения и эволюции возбудителя чумы. Оба эти подхода следует воспринимать как дополняющие друг друга. При этом экологический сценарий происхождения и эволюции возбудителя чумы не имеет очевидных противоречий и его важно учитывать как эволюционно обоснованную гипотезу при МГ-реконструкциях филогенеза чумного микроба.

Природные очаги чумы Российской Федерации, расположенные в Южной Сибири, относятся к группе центрально-азиатских очагов, в которых скрыты секреты происхождения чумы. Эти очаги интенсивно изучаются сотрудниками Иркутского противочумного института Сибири и Дальнего Востока и специалистами Горно-Алтайской, Тувинской и Читинской противочумных станций, и можно надеяться, что приоритет в решении проблемы происхождения и территориальной экспансии возбудителя чумы усилиями специалистов этих организаций закрепится за российскими исследователями.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абрамсон Н.И., 2007. Филогеография: итоги, проблемы, перспективы // Вестн. ВОГиС. Т. 11. № 2. С. 307–331.
- Абрамсон Н.И., 2013. Молекулярная и традиционная филогенетика. На пути к взаимопониманию // Тр. Зоол. ин-та РАН. Приложение 2. С. 219–229.
- Анисимов Н.В., Кисличкина А.А., Платонов М.Е., Евсеева В.В., Кадникова Л.А. и др., 2016. О происхождении гипервирулентности возбудителя чумы // Мед. паразитол. и паразит. болезни. № 1. С. 36–42.
- Вагайская А.С., Трунякова А.С., Дентовская С.В., 2019. Внутривидовая дифференциация *Yersinia pestis*: от фенотипа к полногеномному секвенированию // Бактериология. Т. 4. № 2. С. 42–54.
- Горшков О.В., Савостина Е.П., Попов Ю.А., Плотников О.П., Виноградова Н.А., Солодовников Н.С., 2000. Генотипирование штаммов *Yersinia pestis* из различных природных очагов // Мол. генетика, микробиол., вирусол. № 3. С. 12–17.
- Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Носов Н.Ю., Куклева Л.М., Никифоров К.А. и др., 2015. Совершенствование подвидовой классификации *Yersinia pestis* на основе данных полногеномного секвенирования штаммов из России и сопредельных государств // Пробл. особо опасн. инф. № 4. С. 58–64.
- Кисличкина А.А., Платонов М.Е., Вагайская А.С., Богун А.Г., Дентовская С.В., Анисимов А.П., 2019. Рациональная таксономия *Yersinia pestis* // Мол. генетика, микробиол., вирусол. Т. 37. № 2. С. 76–82.
- Носов Н.Ю., Оглодин Е.Г., Краснов Я.М., Куклева Л.М., Шапина Н.Ю. и др., 2016. Филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis* средневекового биовара из природных очагов чумы Российской Федерации и сопредельных стран // Пробл. особо опасн. инф. № 2. С. 75–78.
- Павлинов И.Я., 2005. Введение в современную филогенетику. М.: Т-во науч. изд. КМК. 391 с.
- Павлова А.И., Ерошенко Г.А., Одинокоев Г.Н., Куклева Л.М., Шапина Н.Ю. и др., 2012. Анализ генетической изменчивости штаммов *Yersinia pestis* средневекового биовара из природных очагов чумы России и Монголии // Пробл. особо опасн. инф. № 114. С. 49–53.
- Платонов М.Е., Евсеева В.В., Дентовская С.В., Анисимов А.П., 2013. Молекулярное типирование *Yersinia pestis* // Мол. генетика, микробиол., вирусол. № 2. С. 3–13.
- Савостина Е.П., Попов Ю.А., Каптанова Т.Н., Виноградова Н.А., Плотников О.П., Балахонов С.В., 2009. Геномный полиморфизм штаммов основно-

- го подвида возбудителя чумы // Мол. генетика, микробиол., вирусол. № 4. С. 23–27.
- Сунцов В.В., 2018а. Генезис трансмиссивной передачи микроба чумы *Yersinia pestis*: два подхода – молекулярно-генетический и экологический // Пробл. особо опасн. инф. № 2. С. 37–44.
- Сунцов В.В., 2018б. Исключительная роль специфической блохи сурков *Oropsylla silantiewi* (Ceratophyllidae: Siphonaptera) в видообразовании возбудителя чумы – микроба *Yersinia pestis* // Паразитология. Т. 52. № 1. С. 3–18.
- Сунцов В.В., 2020а. Гостальный аспект территориальной экспансии микроба чумы *Yersinia pestis* из популяций монгольского сурка-тарбагана (*Marmota sibirica*) // Зоол. журн. Т. 99. № 11. С. 1307–1320.
- Сунцов В.В., 2020б. Перспективы синтеза молекулярно-генетического и экологического подходов к проблеме видообразования микроба чумы *Yersinia pestis* // Успехи соврем. биологии. Т. 140. № 1. С. 43–57.
- Сунцов В.В., 2021а. Политопное видообразование микроба чумы *Yersinia pestis* как причина филогенетической трихотомии в географических популяциях монгольского сурка-тарбагана (*Marmota sibirica*) // Журн. общ. биологии. Т. 82. № 6. С. 431–444.
- Сунцов В.В., 2021б. Геномогенез микроба чумы *Yersinia pestis* как процесс мозаичной эволюции // Генетика. Т. 57. № 2. С. 140–154.
- Сунцов В.В., 2022а. Изменения климата в Центральной Азии как предпосылки и триггер видообразования микроба чумы *Yersinia pestis* // Сиб. экол. журн. № 4. С. 451–463.
- Сунцов В.В., 2022б. Филогенез микроба чумы *Yersinia pestis*: уникальность эволюционной модели // Вестн. РАН. Т. 92. № 9. С. 36–44.
- Сунцов В.В., Сунцова Н.И., 2000. Экологические аспекты эволюции микроба чумы *Yersinia pestis* и генезис природных очагов // Изв. РАН. Сер. биол. № 6. С. 645–657.
- Сунцов В.В., Сунцова Н.И., 2006. Чума. Происхождение и эволюция эпизоотической системы (экологические, географические и социальные аспекты). М.: КМК. 247 с.
- Сунцов В.В., Сунцова Н.И., 2008. Макро- и микроэволюция в проблеме происхождения и мировой экспансии возбудителя чумы *Yersinia pestis* // Изв. РАН. Сер. биол. № 4. С. 389–395.
- Туманский В.М., 1957. О классификации разновидностей чумного микроба // Журн. микробиол., эпидемиол., иммунол. № 6. С. 3–7.
- Achtman M., 2008. Evolution, population structure and phylogeography of genetically monomorphic bacterial pathogens // Annu. Rev. Microbiol. V. 62. P. 53–70.
- Achtman M., 2012. Insights from genomic comparisons of genetically monomorphic bacterial pathogens // Phil. Trans. R. Soc. B. V. 367. P. 860–867.
- Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guiry A., et al., 1999. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis* // PNAS. V. 96. № 24. P. 14043–14048.
- Achtman M., Morelli G., Zhu P., Wirth T., Diehl I., et al., 2004. Microevolution and history of the plague bacillus, *Yersinia pestis* // PNAS. V. 101. № 51. P. 17837–17842.
- Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., et al., 2013. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis* // PNAS. V. 110. № 2. P. 577–582.
- Demeure C.E., Dussurget O., Fiol G.M., Le Guern A.-S., Savin C., Pizarro-Cerda J., 2019. *Yersinia pestis* and plague: An updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination, and diagnostics // Genes Immun. V. 20. № 5. P. 357–370.
- Devignat R., 1951. Varieties of the species *Pasteurella pestis*. Nouvelle hypothese // Bull. WHO. V. 4. № 2. P. 242–263.
- Eppinger M., Rosovitz M.J., Fricke W.F., Rasko D.A., Kokořina G., et al., 2007. The complete genome sequence of *Yersinia pseudotuberculosis* IP31758, the causative agent of Far East scarlet-like fever // PLoS Genet. V. 3. № 8. P. 1508–1523.
- Hinnebusch B.J., Chouikha I., Sun Y.-C., 2016. Ecological opportunity, evolution, and the emergence of flea-borne plague // Infect. Immun. V. 84. № 7. P. 1932–1940.
- Hinnebusch B.J., Jarrett C.O., Bland D.M., 2017. “Fleaing” the plague: Adaptations of *Yersinia pestis* to its insect vector that lead to transmission // Annu. Rev. Microbiol. V. 71. P. 215–232.
- Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M. et al., 2018. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States // Front. Microbiol. V. 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01106>
- Lemon A., Cherzan N., Vadyvaloo V., 2020. Influence of temperature on development of *Yersinia pestis* foregut blockage in *Xenopsylla cheopis* (Siphonaptera: Pulicidae) and *Oropsylla montana* (Siphonaptera: Ceratophyllidae) // J. Med. Entomol. V. 57. № 6. P. 1997–2007.
- Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov V.E., Dai E., Song Y., et al., 2009. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: Insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci // PLoS One. V. 4. № 6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006000>
- Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P. et al., 2010. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity // Nat. Genet. V. 42. № 12. P. 1140–1143.
- Pisarenko S.V., Evchenko A.Yu., Kovalev D.A., Evchenko Y.M., Bobrysheva O.V. et al., 2021. *Yersinia pestis* strains isolated in natural plague foci of Caucasus and Transcaucasia in the context of the global evolution of species // Genomics. V. 113. № 4. P. 1952–1961.
- Rasmussen S., Allentoft M.E., Nielsen K., Orlando L., Sikora M., et al., 2015. Early divergent strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 years ago // Cell. V. 163. P. 571–582.
- Riehm J.M., Vergnaud G., Kiefer D., Damdindorj T., Dashdavaa D., et al., 2012. *Yersinia pestis* lineages in Mongolia // PLoS One. V. 7. № 2. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030624>
- Skurnik M., Peippo A., Ervela E., 2000. Characterization of the O-antigen gene cluster of *Yersinia pseudotuberculosis* and the cryptic O-antigen gene cluster of *Yersinia pestis* shows that the plague bacillus is most closely related to and has evolved from *Y. pseudotuberculosis* serotype O:1b // Mol. Microbiol. V. 37. № 2. P. 316–330.

- Sun Y.-C., Jarrett C.O., Bosio C.F., Hinnebusch B.J., 2014. Retracing the evolutionary path that led to flea-borne transmission of *Yersinia pestis* // Cell Host Microbe. V. 15. P. 578–586.
- Tong Z., Zhou D., Song Y., Zhang L., Pei D. et al., 2005. Pseudogene accumulation might promote the adaptive microevolution of *Yersinia pestis* // J. Med. Microbiol. V. 54. P. 259–268.
- Vogler A.J., Keim P., Wagner D.M., 2016. A review of methods for subtyping *Yersinia pestis*: From phenotypes to whole genome sequencing // Infect. Genet. Evol. V. 37. P. 21–36.
- Wang X., Zhou D., Qin L., Dai E., Zhang J. et al., 2006. Genomic comparison of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* by combination of suppression subtractive hybridization and DNA microarray // Arch. Microbiol. V. 186. P. 151–159.
- Williams S.K., Schotthoeffer A.M., Monteneri J.A., Holmes J.L., Vetter S.M., et al., 2013. Effects of low-temperature flea maintenance on the transmission of *Yersinia pestis* by *Oropsylla montana* // Vector Borne Zoonotic Dis. V. 13. № 10. P. 468–478.
- Yersinia pestis*: Retrospective and Perspective, 2016 / Eds Yang R., Anisimov A.A. Heidelberg: Springer. 391 p. <https://doi.org/10.1007/978-94-024-0890-4>
- Yersinia pestis* Protocols, 2018 / Ed. Yang R. Singapore: Springer. 290 p. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-7947-4>
- Zhou D., Han Y., Song Y., Huang P., Yang R., 2004a. Comparative and evolutionary genomics of *Yersinia pestis* // Microbes Infect. V. 6. P. 1226–1234.
- Zhou D., Han Y., Song Y., Tong Z., Wang J., et al., 2004b. DNA microarray analysis of genome dynamics in *Yersinia pestis*: Insights into bacterial genome microevolution and niche adaptation // J. Bacteriol. V. 186. № 15. P. 5138–5146.

Intraspecific typing and phylogeny of the causative agent of the plague – the microbe *Yersinia pestis*: Problems and perspectives

V. V. Suntsov*

*Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS
Leninsky Pr., 33, Moscow, 119071 Russia*

*e-mail: vvsuntsov@rambler.ru

Two approaches to typing (analysis of intraspecific diversity) and reconstruction of the phylogeny (evolutionary history) of the causative agent of the plague – the microbe *Yersinia pestis* – molecular genetic (MG) and ecological (adaptationist, on the basis of host adaptation) are considered. It is shown that each of the approaches has its advantages and disadvantages. MG-typing of pathogen strains in the studied foci of the world made it possible to characterize up to 30 subspecies/genovariants of the plague microbe, but the phylogeny of the microbe built on the basis of this diversity contradicts some obvious environmental facts. The ecological scenario of the origin and evolution of the causative agent of the plague has no obvious contradictions and, as an evolutionarily based hypothesis, it should be taken into account in MG reconstructions of the phylogeny of the plague microbe. The prospect of research in this direction is seen in integrating molecular-genetic (statistical) and ecological (adaptationist) approaches.