

Номер 2

ISSN 1026-3470

Март – Апрель 2024

ИЗВЕСТИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ



Журнал публикует статьи теоретических и экспериментальных исследований по различным аспектам биологии



НАУКА

— 1727 —

СОДЕРЖАНИЕ

Номер 2, 2024

БИОХИМИЯ

Влияние липидного экстракта из морской зеленой водоросли *Codium fragile* (Suringar) Hariot 1889 на метаболические реакции при остром стрессе

С. Е. Фоменко, Н. Ф. Кушнерова, В. Г. Спрыгин, Е. С. Другова, Л. Н. Лесникова, В. Ю. Мерзляков 161

БОТАНИКА

Использование сети гаплотипов пластидной днк для реконструкции филогении рода *Rosa* L. (*Rosaceae*)

И. А. Шанцер, А. В. Федорова, И. Г. Мещерский 172

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Динамика активности антиоксидантных ферментов и экспрессии кодирующих их генов у пшеницы после действия ультразвука

С. С. Тарасов, Е. К. Крутова 194

ЗООЛОГИЯ

Микроморфологические изменения паренхиматозных органов ондатры, зараженной *Quinqueserialis quinqueserialis* (Trematoda: Notocotilidae)

О. Е. Мазур, А. С. Фомина 207

ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

Влияние даларгина на уровень кортикостерона у крыс с различными индивидуально-типологическими особенностями поведения в модели ПТСР

О. Г. Семенова, А. В. Вьюшина, А. В. Притворова, С. Г. Пивина, Н. Э. Ордян 216

ЭКОЛОГИЯ

Пространственная и сезонная изменчивость концентрации хлорофилла *A* в Баренцевом море

В. В. Водопьянова, В. Г. Дворецкий, А. С. Булавина 223

Роль грибов и бактерий в минерализации соединений азота в почвах южной тайги европейской России

С. М. Разгулин, Л. В. Воронин 234

Роль биоразнообразия в обеспечении функционирования экосистем. Сообщение 1. Общие принципы мониторинга экосистем

Н. А. Щипанов, А. А. Калинин 245

Роль биоразнообразия в обеспечении функционирования экосистем.

Сообщение 2. Мелкие млекопитающие в системе экологического мониторинга: получение данных, оценка разнообразия, состояния и динамики экосистем

Н. А. Щипанов, А. А. Калинин

255

Депрессия численности светлого хоря (*Mustela eversmanii*) на Южном Урале

Н. В. Киселева

276

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Природные популяции редкого лекарственного вида *Alangium platanifolium* (*Alangiaceae*) в России

Л. А. Федина, М. В. Маслов, С. К. Малышева, О. В. Наконечная, Т. О. Маркова

286

CONTENTS

Number 2, 2024

BIOCHEMISTRY

The Effect of a Lipid Extract from the Marine Green Algae *Codium fragile* (Suringar) Hariot 1889 on Metabolic Reactions under Acute Stress

S. E. Fomenko, N. F. Kushnerova, V. G. Sprygin, E. S. Drugova, L. N. Lesnikova, and V. Yu. Merzlyakov 161

BOTANY

A Haplotype Network Approach to Reconstruct the Phylogeny of *Rosa* L. (Rosaceae)

I. A. Schanzer, A. V. Fedorova, and I. G. Meschersky 172

PLANT PHYSIOLOGY

Dynamics of the Activity of Antioxidant Enzymes and the Expression of the Genes Encoding Them in Wheat after Exposure to Ultrasound

S. S. Tarasov and E. K. Krutova 194

ZOOLOGY

Micromorphological Changes in the Parenchymatous Organs of Muskrats Infected with *Quinqueserialis quinqueserialis* (Trematoda: Notocotilidae)

O. E. Mazur and A. S. Fomina 207

ANIMAL AND HUMAN PHYSIOLOGY

The Effect of Dalargin on the Level of Corticosterone in Rats with Different Individual Typological Features of Behavior in the PTSD Model

O. G. Semenova, A. V. Vyushina, A. V. Pritvorova, S. G. Pivina, and N. E. Ordyan 216

ECOLOGY

Spatial and Seasonal Variability of the Chlorophyll *A* Concentration in the Barents Sea

V. V. Vodopyanova, V. G. Dvoretzky, and A. S. Bulavina 223

The Role of Fungi and Bacteria in the Mineralization of Nitrogen Compounds in the Ecosystems of the Southern Taiga of European Russia

S. M. Razgulin and L. V. Voronin 234

The Role of Biodiversity in the Functioning of Ecosystems: Paper 1. General Principles of Monitoring Ecosystems

N. A. Shchipanov and A. A. Kalinin 245

The Role of Biodiversity in Ensuring the Functioning of Ecosystems: Paper 2. Small Mammals in the Ecological Monitoring System: Obtaining Data and Assessment of the Diversity, State and Dynamics of Ecosystems

N. A. Shchipanov and A. A. Kalinin

255

Depression of the Population of the Steppe Polecat (*Mustela eversmanii*) in the Southern Urals

N. V. Kiseleva

276

BRIEF MESSAGES

Natural Populations of the Rare Medicinal Species *Alangium platanifolium* (*Alangiaceae*) in Russia

L. A. Fedina, M. V. Maslov, S. K. Malysheva, O. V. Nakonechnaya, and T. O. Markova

286

ВЛИЯНИЕ ЛИПИДНОГО ЭКСТРАКТА ИЗ МОРСКОЙ ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ *CODIUM FRAGILE* (SURINGAR) HARIOT 1889 НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ПРИ ОСТРОМ СТРЕССЕ

© 2024 г. С. Е. Фоменко*, Н. Ф. Кушнерова, В. Г. Спрыгин, Е. С. Другова,
Л. Н. Лесникова, В. Ю. Мерзляков

ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В. И. Ильичева ДВО РАН,
ул. Балтийская, 43, Владивосток, 690041 Россия

*e-mail: sfomenko@poi.dvo.ru

Поступила в редакцию 30.03.2023 г.

После доработки 12.05.2023 г.

Принята к публикации 12.05.2023 г.

Исследовано действие липидного экстракта, выделенного из морской зеленой водоросли *Codium fragile* (Suringar) Hariot (кодиум ломкий) на биохимические показатели печени и крови мышей при остром стрессе (фиксация за дорсальную шейную складку). Фармакологический эффект липидного экстракта *C. fragile* проявлялся в восстановлении показателей липидного и углеводного обмена, а также нормализации параметров антиоксидантной защиты организма в условиях стресса. Биологическая активность липидного экстракта *C. fragile*, вероятно, обусловлена действием входящих в его состав полиненасыщенных жирных кислот семейства ω -3 и ω -6. Липидный экстракт *C. fragile* не уступал эталонному препарату Омега-3 в восстановлении метаболических реакций организма, вызванных стресс-воздействием, однако проявлял более высокую антиоксидантную активность.

Ключевые слова: липидный экстракт, *Codium fragile*, Омега-3, стресс, липиды, антиоксидантная защита, мыши

DOI: 10.31857/S1026347024020015, **EDN:** WDLPPY

Морские водоросли являются источником разнообразных соединений с высокой биологической активностью, что создает предпосылки для потенциального применения их в пищевой, косметической, фармацевтической и других отраслях промышленности. И хотя водоросли не являются основным источником энергии, известно, что они имеют питательную и фармакологическую ценность благодаря содержанию белков, углеводов, липидов, минералов, витаминов и др. соединений (Ortiz *et al.*, 2009). Было установлено, что суточная потребность человека в витаминах А, В₂, В₁₂ и две трети потребности в витамине С, может быть удовлетворена потреблением 100 г морских водорослей (Charman, Charman, 1980). Важную группу соединений среди вторичных метаболитов, входящих в состав морских водорослей, составляет класс липидов, участвующих в протекании большинства жизненно важных для организма биохимических процессах (Кушнерова и др., 2020). При этом морские водоросли считаются природным источником длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) семейства ω -3 и ω -6, таких как эйкозапентаеновая, докозагексаеновая, арахидоновая и др. (Khotimchenko *et al.* 2002), которые

могут снизить риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. Многочисленные научные исследования показывают, что употребление продуктов морского происхождения, содержащих ПНЖК, могут предотвратить риск развития тромбозов, атеросклеротических бляшек в кровеносных сосудах, снизить содержание триглицеридов, холестерина в крови и уровень артериального давления (Jamr *et al.*, 2015; Khan, Makki, 2017).

Однако в повседневной жизни дефицит этих ингредиентов в продуктах питания, а также нарушения метаболических процессов липидно-углеводного обмена, вызванные воздействием различных стрессовых факторов (физические, биологические, токсические, механические, эмоциональные), могут способствовать развитию различных заболеваний. По мнению Дж. Хрусоса (Chrousos, 2009), одной из основных причин развития болезней, включая заболевания гепатобилиарной, кровеносной, нейроэндокринной, иммунной систем, считается действие стресса на организм, в особенности хронического.

В ранее проведенных исследованиях при моделировании острого стресса у крыс было показано, что экстракт из морской зеленой водоросли *Ulva*

lactuca, обогащенный липидной фракцией, обладает гепатопротекторным действием, нормализует липидный обмен печени и снижает продукты перекисного окисления липидов (Фоменко и др., 2016). В исследованиях Н. Ф. Кушнеровой и соавт. (Кушнерова и др., 2020) показано, что липидный комплекс, выделенный из красной водоросли *Ahnfeltia tobuchiensis*, не уступал фосфолипидному препарату “Эссенциале®” по способности нормализовать липидный профиль крови и соотношение фосфолипидных фракций в мембранах эритроцитов в условиях экспериментального стресс-воздействия.

Среди морских водорослей в качестве сырьевого источника липидных комплексов большой интерес вызывают зеленые водоросли семейства *Codiaceae*, широко распространенным представителем которых, является *Codium fragile* (Suringar) Hariot 1889 — кодиум ломкий. Растет кодиум в нижней литорали и в верхней сублиторали на илистом, каменистом, галечном и илисто-песчаном грунте, у открытых и полузащищенных побережий. Распространен в умеренных и субтропических водах Мирового океана, у берегов стран Азиатско-Тихоокеанского региона (Китай, Тайвань, Япония, Корея, Россия, Индонезия) (Титлянов, Титлянова, 2012). Однако, в последнее время *C. fragile* считается признанным вселенцем в морских экосистемах по всему миру (Ortiz *et al.*, 2009). Его относят к категории инвазивных (чужеродных) видов, завезенным в другие регионы, где данные водоросли раньше не встречались (Pereira *et al.*, 2021). Из-за высокой репродуктивной способности и неприхотливости, *C. fragile* является более конкурентноспособным, чем местные виды, что способствует его распространению и увеличению биомассы. *C. fragile* используется с древних времен в Японии и Корее, как съедобное растение, в восточных медицинских руководствах он зарегистрирован как средство для лечения энтеробиоза, водянки, дизурии и др. (Ahn *et al.*, 2021).

В составе таллома *C. fragile* входит относительно небольшой процент веществ липидной природы (4.4–5.3 мг/г сырого веса) (Хотимченко, 2003). Однако высокое содержание ПНЖК семейства ω -3 и ω -6, которые являются важными составляющими гликолипидной и фосфолипидной фракций, обуславливает высокую фармакологическую активность липидного комплекса (Ortiz *et al.*, 2009). Благодаря способности морских водорослей продуцировать ПНЖК C_{18} и C_{20} , они привлекают к себе внимание исследователей со всего мира. Липидные экстракты, полученные из нескольких видов рода *Codium sp.*, проявляют антибактериальную, противовирусную, противогрибковую и цитотоксическую активность (Goeske *et al.*, 2010). В липидной фракции *C. fragile* было выделено соединение клеростерин (производное холестерина), проявляющее антиоксидантные свойства, поскольку

способствует снижению окислительного повреждение в кератиноцитах HaCaT клеток человека, вызванное УФ-излучением (Lee *et al.*, 2013). В недавних экспериментальных исследованиях (Seo *et al.*, 2022) показано, что экстракт *C. fragile* эффективен против тучности и ожирения. Он эффективно индуцировал потерю веса, снижал общий уровень триглицеридов, холестерина в печени и подавлял дифференцировку адипоцитов в белой жировой ткани мышей, получавших диету с высоким содержанием жиров. Введение экстракта *C. fragile* значительно изменяло микробиоту кишечника у мышей с ожирением, увеличивая долю полезных бактерий (Kim *et al.*, 2020). Все вышеизложенное указывает на высокий фармакологический эффект липидного экстракта, выделенного из *C. fragile*. Однако, кодиум, как источник сырья для получения пищевых ингредиентов, лечебных препаратов и биологически активных добавок в отечественной пищевой и фармацевтической промышленности не используется.

На сегодняшний день проблема стресса сохраняет высокую медико-социальную значимость. В современных неблагоприятных условиях, вызванных всевозможными стрессовыми ситуациями, использование липидного экстракта из *C. fragile*, как возможного стресс-протектора, представляется весьма актуальным.

В качестве модели стресса в лабораторных исследованиях на мелких грызунах (мыши, крысы) применяют вертикальную фиксацию за дорсальную шейную складку (Кушнерова и др., 2005). В зависимости от природы стресс-индуцирующего воздействия организм реагирует неизменным набором биохимических и физиологических реакций, таких как гиперемия и гипертрофия коры надпочечников, дегградация тимико-лимфатической системы, появление изъязвлений в желудочно-кишечном тракте. Помимо этого, интенсивный стресс приводит к увеличению образования реактивных оксигенных радикалов, что сопровождается пероксидацией липидов клеточных мембран (Sahin, Gümüşlü, 2007). В результате происходит образование полярных гидроперекисей липидов и разбалансировка в соотношении фосфолипидных фракций мембран, что приводит к изменению их проницаемости и возможным повреждениям (Фоменко и др., 2013). Таким образом, стресс оказывает неблагоприятное воздействие на все обменные процессы в крови, печени и других органах, что делает актуальным разработку лекарственных средств на основе липидных комплексов и ПНЖК.

В связи с этим использование липидного экстракта *C. fragile*, содержащего в своем составе фосфо- и гликолипиды морского происхождения в сочетании с ПНЖК, будет способствовать восстановлению липидного матрикса клеточных мембран и нормализации обменных процессов, тем самым позволит улучшить общее состояние

организма при патологических процессах при стрессе. При этом сочетание высокой биологической активности, большой репродуктивной способности, а также быстрое самовозобновление биомассы определяет морскую зеленую водоросль *C. fragile*, как источник сырья для создания эффективных фармакологических средств и пищевых добавок.

Цель работы — оценка состава липидного экстракта, выделенного из таллома морской зеленой водоросли *C. fragile*, и его воздействия на обменные процессы печени и крови мышей в условиях острого стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все экземпляры водорослей *C. fragile* собирали вручную в летние месяцы на мелководье (< 2 м) острова Попова в заливе Петра Великого Японского моря. Предварительная обработка собранного материала проводилась на базе научно-исследовательской станции, где водоросли промывали в морской воде, затем в пресной воде, чтобы максимально удалить песок, эпифиты, зообентос и разные загрязнения. Далее сырье транспортировали в свежем виде в рефрижераторе в лабораторию института, где выполнялись все последующие аналитические процедуры. Для ингибирования активности ферментов очищенные экземпляры макрофитов погружали в кипящую воду не более чем на 2 мин. После чего отжимали и высушивали в естественных условиях до остаточной влажности ~ 30–40%. Высушенное сырье измельчали с помощью блендера и хранили при температуре – 20 °С для дальнейшего использования и обработки. Выделение липидной фракции проводили по методу Блайя и Даера (Bligh, Dyer, 1959). Для этого один килограмм измельченного порошка водорослей экстрагировали 1.5 л смеси хлороформ: метанол (1:2 по объему) и оставляли на ночь. Для разделения фаз к смеси приливали 500 мл хлороформа и дистиллированной воды, затем смесь аккуратно перемешивали. Верхний водно-метанольный слой отделяли и удаляли, нижний хлороформенный слой, содержащий липидную фракцию, концентрировали на вакуумном испарителе (Туре 349/2, Unipan, Poland) при температуре не выше 37 °С. Содержание общих липидов в экстрактах определяли взвешиванием высушенных до постоянного веса аликвот экстракта.

Хроматографическое распределение липидов проводили методом микротонкослойной хроматографии (ТСХ) на стеклянных пластинках с нанесенным слоем силикагеля марки “КСК” (ООО “Лабхимос”, Россия). Для разделения растительных гликолипидов использовали систему растворителей ацетон: бензол: вода в соотношении 91:30:8 (по объему) (Vaskovsky, Khotimchenko, 1982).

Гликолипиды выявляли на хроматограммах, используя антроновый реактив (Van Gent *et al.*, 1973). Определение количества общих фосфолипидов в водорослевом экстракте проводили по методу В. Васьковского и др. (Vaskovsky *et al.* 1975). Для разделения фосфолипидов по фракциям использовали методом двумерной ТСХ (Svetachev, Vaskovsky, 1972) в системе растворителей: в первом направлении — смесь хлороформа: метанола: 28% аммиака в соотношении 65:35:5 (по объему), во втором — смесь хлороформа: ацетона: метанола: ледяной уксусной кислоты: воды в соотношении 50:20:10:10:5 (по объему). Разделенные на хроматограммах фракции фосфолипидов обнаруживали 10% раствором серной кислоты в метаноле с последующим нагреванием пластинок на закрытой электрической плите. Содержание индивидуальных фракций фосфолипидов рассчитывали в процентах от их общей суммы.

Хроматографическое распределение нейтральных липидов проводили методом одномерной ТСХ (Amenta, 1964) в системе растворителей гексан: серный эфир: ледяная уксусная кислота в соотношении 80:20:1 об/об или 90: 10: 1 об/об. Пробы после хроматографирования обнаруживали парами йода.

Содержание отдельных фракций выражали в процентах от общей суммы нейтральных липидов.

Состав жирных кислот в липидном экстракте водорослей анализировали методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ). Для этого получали метиловые эфиры жирных кислот (МЭЖК) путем переэтерификации липидов по методу Карреу и Дюбак (Carreau, Dubacq, 1978). Полученные МЭЖК очищали с помощью ТСХ, используя в системе бензол, затем элюировали с силикагеля гексаном и выделенный элюат упаривали. МЭЖК перерастворяли в определенном объеме гексана и анализировали методом ГЖХ на хроматографе “ЛХМ-2000” (ОАО “Хроматограф”, Россия) с пламенно-ионизационным детектором. Жирные кислоты идентифицировали сравнением времени удерживания (Rt) со стандартами и значениям “углеродных чисел” (Christie, 1988). Результаты рассчитывали в процентах от общей суммы жирных кислот.

Эксперимент по моделированию стрессового воздействия проводили на беспородных белых мышках-самцах 8-ми недельного возраста массой 25–30 г. В период акклиматизации в течение одной недели животные содержались в условиях вивария при комнатной температуре 22 ± 2 °С (в клетках по 5 особей) на базовом рационе питания, без ограничения воды. Затем мышей разделили случайным образом на контрольных и опытных по 10 особей в каждой группе. Животные опытных групп подвергались стресс-вертикальной фиксации за дорсальную шейную складку на 24 ч. Непосредственно перед проведением эксперимента

мышам двух опытных групп перорально вводили препараты, спустя 6 часов после первого введения препараты вводились повторно. Липидный экстракт кодиума (ЛЭК) и липидный комплекс Омега-3 вводили в дозе 1 г/кг веса животного. Выбор использованной дозы основан на данных литературы (Новгородцева и др., 2010), а также собственных исследований. Животным контрольной группы и группы “стресс” вводили эквивалентное количество 0.9% раствора NaCl по аналогичной схеме. Введение физиологического раствора не оказывает влияние на результаты эксперимента, но при этом исключает погрешности исследования, так как любое внешнее раздражение является стрессом для организма. Стандартизацию липидного экстракта кодиума проводили по сумме общих липидов. Аптечный препарат Омега-3, использовали в качестве эталонного препарата сравнения. Действующими компонентами препарата Омега-3 являются ПНЖК, такие как докозогексаеновая (120 мг) и эйкозапентаеновая (180 мг), входящие в состав концентрата натурального рыбьего жира, полученного из анчоусов.

В эксперименте мышей распределили в следующие группы: 1 группа – контроль; 2 группа – стресс (вертикальная фиксация); 3 группа – стресс + ЛЭК; 4-я группа стресс + Омега-3. У всех животных определяли вес в начале и конце исследования. Также по окончании эксперимента произвели взвешивание внутренних органов у всех испытуемых мышей для расчета индекса массы (ИМ - мг массы органа на 100 г массы тела) печени, селезенки и тимуса. Забор крови производили с использованием техники кровотоечения из орбитальных венозных сплетений головы и шеи. Животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом с соблюдением принципов и международных рекомендаций, изложенных в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (European Convention, 1986).

Для оценки действия вводимых препаратов в условиях стресса использовали следующие параметры: весовые коэффициенты (вес мышей, ИМ печени и селезенки) и биохимические показатели, характеризующие состояние липидно-углеводного обмена и состояния антиоксидантной системы печени и крови животных. Содержание общего холестерина (ХС), триацилглицеринов (ТАГ) и глюкозы крови определяли ферментативно с использованием наборов реактивов компании “Ольвекс Диагностикум” (Россия). Для определения содержания нейтральных липидов в ткани печени готовили липидный экстракт, используя традиционный метод Дж. Фольча (Folch *et al.*, 1957). Количество общих липидов в экстракте печени определяли весовым способом. Разделение неполярных липидов по фракциям осуществляли методом одномерной

ТСХ (Amenta, 1964). Содержание отдельных фракций нейтральных липидов рассчитывали в процентах от их общей суммы.

Для оценки потенциала антиоксидантной защиты организма животных использовали следующие показатели: величину общей антирадикальной активности (АРА) по отношению к катион-радикалу ABTS⁺ (Re *et al.*, 1999), активность глутатионпероксидазы (ГП) в плазме крови (Burk *et al.*, 1980) и уровень восстановленного глутатиона (Г-SH) в ткани печени (Карпищенко и др., 2013).

Полученные количественные данные выражали как среднеарифметическое значение $\pm$ стандартная ошибка. Обработку проводили с использованием статистического пакета Instat 3.0 (GraphPad Software Inc. USA, 2005). Статистическую значимость различий средних величин определяли по t-критерий Стьюдента после проверки нормальности распределения изучаемых величин. Различия считали статистически достоверными при значении $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Химический состав липидной фракции таллома зеленой водоросли *C. fragile* представлен в табл. 1.

Общее содержание выделенных липидов составляло 13.92 ± 0.22 мг/г сухой ткани, из которых наибольшее количество приходилось на гликолипиды (44%) и нейтральные липиды (40%), доля фосфолипидов составляла 16%. Основными фракциями среди нейтральных липидов являлись ТАГ ($41.55 \pm 2.15\%$) и стерина ($15.16 \pm 0.74\%$). Остальные фракции имели примерно одинаковое содержание: моноацилглицерины + диацилглицерины ($8.94 \pm 0.31\%$), эфиры стерина ($9.47 \pm 1.90\%$), свободные жирные кислоты ($11.21 \pm 0.41\%$). Анализ содержания полярных липидов в ЛЭК показал присутствие следующих представителей класса фосфолипидов: фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилглицерин (ФГ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилинозит (ФИ), фосфатидилсерин (ФС), что подтверждается данными, полученные С. Хотимченко (Хотимченко, 2003). Причем, ФХ, ФГ и ФЭ являются одними из основных компонентов фосфолипидной фракции, их содержание было в пределах 21–31% от общей суммы фосфолипидов. Как известно эти фосфолипиды являются структурообразующими и функциональными компонентами всех биологических мембран. Жирные кислоты морских водорослей имеют большее разнообразие, чем у наземных растений. При относительно низком содержании липидов в морских макрофитах, количество ПНЖК в них существенно преобладает по сравнению с растениями (Sanchez-Machado *et al.*, 2004). Исследование состава и соотношения жирных кислот в ЛЭК показало (табл. 1), что ПНЖК являлись преобладающими

в процентном отношении (более 50%) от общей суммы жирных кислот. При этом доля насыщенных жирных кислот (НЖК) в липидном экстракте составляло 34% и моновенасыщенных жирных кислот (МНЖК) – 12%. По количественному составу в липидной фракции кодиума преобладала пальмитиновая кислота (16:0) (28.38%), которая является наиболее распространенной, за ней следуют α -линоленовая (18:3 ω -3) (19.7%), гексадекатриеновая (16:3 ω -3) (12.2%), олеиновая (18:1 ω -9) (10.72%) и др. Важно отметить, что водоросли отдела Chlorophyta, в их числе *C. fragile*, отличаются присутствием значительных количеств C_{16} и C_{18} ПНЖК. Для водорослей сем Codiaceae рода *Codium sp.* характерно высокое содержание ПНЖК 16:3, что является таксономическим признаком

этого рода (Goescke *et al.*, 2010). В свою очередь C_{18} ПНЖК (α -линоленовая и линолевая), относящиеся к категории незаменимых, очень важны для питания, так как они не образуются в организме людей и животных, и могут быть получены только из продуктов их содержащих (речная и морская рыба, овощи, морские водоросли). При этом водоросли рода *Codium sp.* способны синтезировать также длинноцепочечные C_{20} ПНЖК (арахидоновая и эйкозапентаеновая кислоты) и C_{22} ПНЖК. Полученные результаты по содержанию жирных кислот в липидной фракции *C. fragile* согласуются с материалами исследований, приведенными в отечественных и зарубежных литературных источниках (Хотимченко, 2003; Ortiz *et al.*, 2009; Goescke *et al.*, 2010).

Таблица 1. Химический состав липидной фракции таллома *Codium fragile* Suringar (Hariot) 1889

Биохимические параметры	Показатели
Общие липиды (мг на 1 г сухой ткани)	13.92 $\pm$ 0.22
Общие гликолипиды (мг на 1 г сухой ткани)	6.12 (44%)
Общие фосфолипиды (мг на 1 г сухой ткани)	2.23 (16%)
Общие нейтральные липиды (мг на 1 г сухой ткани)	5.57 (40%)
Фракции нейтральных липидов (в % от суммы всех фракций)	
Диацилглицерины + моноацилглицерины	8.94 $\pm$ 0.31
Свободные стеринны	15.16 $\pm$ 0.74
Свободные жирные кислоты	11.21 $\pm$ 0.41
Триацилглицерины	41.55 $\pm$ 2.15
Эфиры жирных кислот	4.15 $\pm$ 0.41
Эфиры стериннов	9.47 $\pm$ 1.90
Остаточная фракция	9.52 $\pm$ 0.76
Фракции фосфолипидов (в % от суммы всех фракций)	
Фосфатидилхолин	31.80 $\pm$ 0.76
Фосфатидилглицерин	29.28 $\pm$ 0.52
Фосфатидилэтаноламин	21.14 $\pm$ 0.48
Фосфатидилинозит	7.40 $\pm$ 0.17
Фосфатидилсерин	10.38 $\pm$ 0.33
Жирные кислоты (в % от суммы всех фракций)	
14:0 (миристиновая кислота)	1.7 $\pm$ 0.02
16:0 (пальмитиновая кислота)	28.38 $\pm$ 1.45
16:1 n-7 (пальмитолеиновая кислота)	1.6 $\pm$ 0.01
16:2 n-6	2.6 $\pm$ 0.12
16:3 n-3 (гексадекатриеновая кислота)	12.2 $\pm$ 0.56
18:0 (стеариновая кислота)	0.9 $\pm$ 0.03
18:1 n-9 (олеиновая кислота)	10.72 $\pm$ 0.46
18:2 n-6 (линолевая кислота)	9.0 $\pm$ 0.36
18:3 n-3 (α -линоленовая кислота)	19.7 $\pm$ 0.64
20:4 n-6 (арахидоновая кислота)	6.2 $\pm$ 0.23
20:5 n-3 (эйкозапентаеновая кислота)	4.3 $\pm$ 0.32
22:0 (бегеновая кислота)	2.7 $\pm$ 0.04

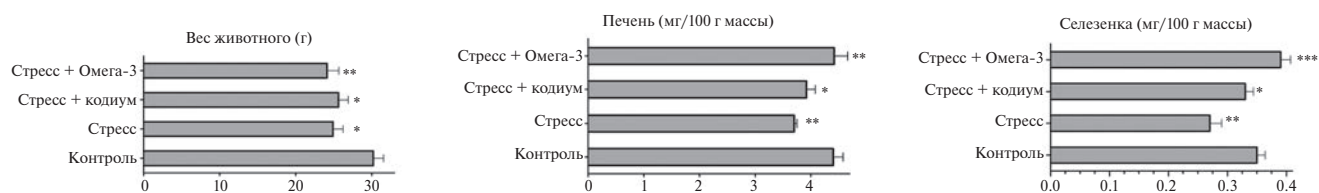


Рис. 1. Влияние липидного экстракта кодиума и Омега-3 на весовые показатели мышей при стрессе. Изменения статистически достоверны: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ – при сравнении с контролем; + – $p < 0.05$, ++ – $p < 0.01$, +++ – $p < 0.001$ – при сравнении со 2-й группой (стресс) для рис. 1–3.

Следующий этап экспериментального исследования состоял в изучении воздействия ЛЭК и препарата сравнения Омега-3 на физиологические и биохимические показатели животных в условиях стресс-вертикальной фиксации. При определении удельного веса внутренних органов мышей, подвергнутых стрессовому воздействию, отмечалось снижение ИМ печени на 16% ($p < 0.01$) и селезенки на 23% ($p < 0.01$) (рис. 1).

При этом вес животных снизился на 18% ($p < 0.05$), отмечалось появление язвенных поражений слизистой желудка (2.4 ± 0.1 шт/животное, в контроле – 0). Полученные изменения весовых коэффициентов и появление изъязвлений слизистой оболочек желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) считаются показательными признаками стрессированности животных.

Воздействие стресса сопровождалось изменением показателей жирового и углеводного обмена (рис. 2), которые характеризовались уменьшением количества ТАГ в 3,5 ($p < 0.001$) раза и увеличением уровня глюкозы крови в 1.3 раза ($p < 0.001$). Известно, что при остром стрессе по сравнению с хроническим стрессом происходит частичное истощение содержания ТАГ в кровяном русле на фоне мобилизации углеводных запасов клеток, что усиливает выход глюкозы в кровь (Гурская и др., 2017). В экстренных ситуациях центральная нервная система для обеспечения клеток энергией использует именно глюкозу, как наиболее быстро мобилизуемый и предпочтительный энергетический источник. Содержание общего холестерина (ХС) при этом повысилось на 38% ($p < 0.01$) по сравнению с контролем, что, вероятно, является признаком проатерогенного действия стресса.

Исследование липидного профиля печени мышей в условиях стресса (табл. 2) выявило статистически достоверное снижение количества СЖК на 12%, повышение уровня ТАГ на 15% и ХС на 13% по сравнению с контролем. Полученные изменения липидных показателей связаны со стимулирующим влиянием глюкокортикоидных гормонов на адипоциты, что сопровождается мобилизацией ТАГ и этерификацией СЖК (Солин и др., 2013). В условиях стресса усиливается выброс катехоламинов из надпочечников, под действием которых активизируется периферический липолиз,

освобождая из жировой клетчатки неэтерифицированные жирные кислоты. В результате избыток СЖК поступает по кровяному руслу в печень, где совместно с глицерином используется для синтеза вновь образуемых ТАГ, что впоследствии приводит к жировому перерождению печени.

Кроме того, жирные кислоты из-за угнетения их митохондриального окисления, активно используются в виде ацетил-КоА для синтеза ХС, с чем может быть связано повышение его уровня в печени. Также увеличение количества ХС может быть обусловлено торможением его распада в печени из-за накопления перекисей липидов, которые ингибируют фермент 7- α -гидроксилазу, участвующий в катаболизме холестерина и превращении его в желчные кислоты (Hulbert *et al*, 2005).

Анализ показателей, характеризующих состояние эндогенной антиоксидантной системы, свидетельствует о накоплении в крови и печени животных активных форм кислорода под действием стресса. В плазме крови отмечалось существенное падение уровня АРА (в 1,4 раза; $p < 0.001$) и снижение активности ключевого фермента антиоксидантной защиты – ГП (на 26%; $p < 0.001$) по сравнению с контролем (рис. 3). Содержание Г-SH в печени при стрессе также снизилось на 36% ($p < 0.001$).

Снижение активности ГП может свидетельствовать об увеличении в организме количества гидроперекисей жирных кислот и пероксида водорода (H_2O_2), которые в свою очередь реагируют с супероксидными радикалами, приводя к неконтролируемому усилению процессов пероксидации липидов и развитию оксидативного стресса. Истощение пула Г-SH в печени, участвующего во многих ферментативных и неферментативных путях антиоксидантной защиты, также указывает на рассогласование и дисбаланс в системе прооксиданты – антиоксиданты.

При введении ЛЭК (3 группа) и Омега-3 (4 группа) на фоне стресса отмечалась выраженная тенденция к нормализации как весовых характеристик, так и биохимических показателей печени и крови животных. Об этом свидетельствует отсутствие достоверных отличий от контроля в показателях ИМ печени и селезенки у животных 3-й и 4-й групп, получавших препараты (рис. 1). Однако вес

Таблица 2. Влияние липидного экстракта кодиума и Омега-3 на содержание нейтральных липидов в печени мышей при стрессе ($M \pm m$)

Нейтральные липиды	1 группа Контроль	2 группа Стресс	3 группа Стресс+ Кодиум	4 группа Стресс + Омега-3
Холестерин	15.44 $\pm$ 0.67	17.48 $\pm$ 0.50*	15.04 $\pm$ 0.273	15.74 $\pm$ 0.151
Свободные жирные кислоты	15.86 $\pm$ 0.26	13.95 $\pm$ 0.36***	15.70 $\pm$ 0.183	14.82 $\pm$ 0.08
Триацилглицерины	20.85 $\pm$ 0.47	24.02 $\pm$ 0.64***	21.08 $\pm$ 0.162	20.76 $\pm$ 0.362
Эфиры жирных кислот	15.89 $\pm$ 0.51	14.05 $\pm$ 0.65	14.16 $\pm$ 0.33	14.47 $\pm$ 0.19
Эфиры холестерина	16.04 $\pm$ 0.55	16.84 $\pm$ 0.78	17.39 $\pm$ 0.33*	17.74 $\pm$ 0.38*
Остаточная фракция	15.92 $\pm$ 0.26	13.66 $\pm$ 0.79	16.63 $\pm$ 0.21	16.47 $\pm$ 0.23

Примечание. Изменения статистически достоверны: * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$ – при сравнении с контролем. ¹– $p < 0.05$; ²– $p < 0.01$; ³– $p < 0.001$ – при сравнении со 2-й группой (стресс).

этих животных оставался все еще достоверно ниже контрольных показателей, в среднем на 15% в 3-й группе (кодиум) и на 20% в 4-й группе (Омега-3). В то же время у мышей, получавших препараты, не было зафиксировано изъязвлений слизистых оболочек по ходу ЖКТ.

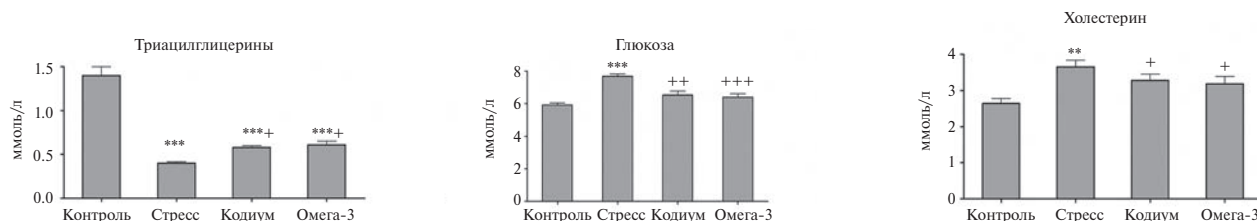
При сравнении показателей липидного обмена в плазме крови мышей 3-й (кодиум) и 4-й (Омега) групп с таковыми во 2-й группе (стресс) отмечались существенные различия (рис. 2).

У животных, получавших ЛЭК (3-я группа), содержание циркулирующих ТАГ в плазме крови повысилось на 45% ($p < 0.001$), а у получавших Омега-3 (4-я группа) – на 53% ($p < 0.001$), количество ХС при этом снизилось на 16% ($p < 0.001$) и 13% ($p < 0.001$), соответственно. Под действием вводимых препаратов содержание глюкозы крови понизилось на 15% ($p < 0.001$) в 3 группе (кодиум) и на 17% ($p < 0.05$) в 4 группе (Омега-3). Согласно литературным данным (Komal *et al.*, 2020), введение ПНЖК ω -3 в составе рыбьего жира способствует снижению уровня глюкозы в крови крыс за счет повышения чувствительности инсулинового сигнала. Отмечено, что ПНЖК ω -3 повышают уровень гормона адипонектина, который отвечает за снижение уровня глюкозы натошак и приводит к повышению периферической чувствительности к инсулину (Ravussin, 2002). Снижение уровня ХС в плазме крови под действием вводимых липидных

препаратов возможно связано с падением активности ГМГ-КоА редуктазы – ключевого фермента в биосинтезе ХС. В работах авторов (Khan, Makki, 2017) отмечено, что применение Омега-3 при экспериментальной гиперхолестеринемии снижает содержание ХС в сыворотке крови крыс, что может быть связано с ингибированием процесса превращением гидрометилглутарата в мевалонат (промежуточная субстанция в образовании холестерина).

Отмеченные изменения показателей липидного обмена печени мышей 3-й и 4-й групп характеризовались выраженной тенденцией к восстановлению исследуемых показателей на фоне стресса и практически не имели достоверных отличий между группами. Так, введение ЛЭК животным привело к снижению содержания ТАГ на 12% ($p < 0.01$) и ХС на 14% ($p < 0.001$) по сравнению со 2-й группой (стресс). В то же время под действием Омега-3 уровень ТАГ снизился на 14% ($p < 0.001$), а количество ХС – на 10% ($p < 0.05$). Среди других липидных фракций печени мышей 3-й и 4-й групп отмечалось достоверное повышение концентрации эфиров холестерина (ЭХС) в среднем на 8–10% по отношению ко 2-й группе (стресс).

Таким образом, под действием вводимых липидных комплексов в крови и печени животных прослеживается характерная тенденция к снятию состояния дислипидемии и подавлению жировой

**Рис. 2.** Влияние липидного экстракта кодиума и Омега-3 на биохимические показатели плазмы крови мышей при стрессе.

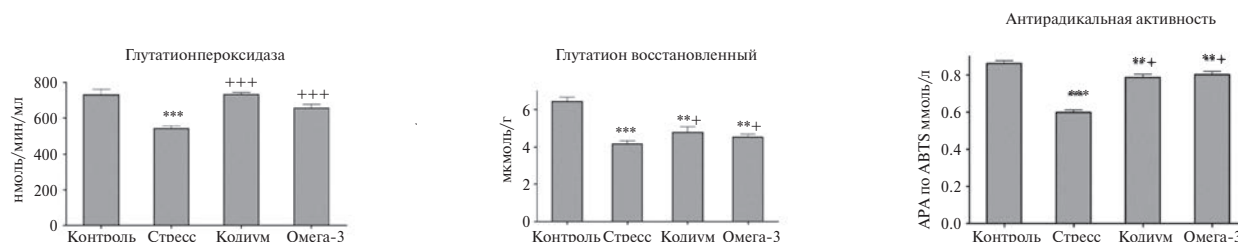


Рис. 3. Влияние липидного экстракта кодиума и Омега-3 на показатели антиоксидантной системы плазмы крови и печени мышей при стрессе.

инфильтрации. Данный эффект обусловлен способностью ПНЖК ω -3, входящих в состав липидных комплексов морского происхождения, снижать синтез ТАГ в печени путем ингибирования фермента ацил-КоА:1,2-диацилглицерол ацилтрансферазы (Harris *et al.*, 2008). При этом возрастает пероксисомальное и/или митохондриальное β -окисление жирных кислот и тем самым снижается активное поступление СЖК в печень. Уменьшение уровня ХС при одновременном повышении его эфиров в печени животных, получавших ЛЭК и Омега-3 на фоне стресса, обусловлено, как уже отмечалось, гипохолестеринемическим действием ПНЖК ω -3, а также восстановлением этерифицирующей функции печени. При этом в образовании ЭХС участвуют главным образом ненасыщенные жирные кислоты, этерификацию ХС катализирует фермент печени Ацил-КоА: холестерин-ацилтрансфераза (АХАТ). На основании вышеизложенного следует, что введение ЛЭК и Омега-3 в условиях стресса способствует восстановлению баланса, определяющего функционирование углеводно-липидного обмена печени и крови.

ЛЭК и препарат Омега-3 проявляли выраженное антиоксидантное действие на фоне стресса. Известно, что ПНЖК семейства ω -3, являются эффективными антиоксидантами направленного действия, способными “гасить” свободные радикалы (Richard *et al.*, 2008). Данный факт подтверждается отмеченным ростом величины АРА в плазме крови в среднем на 32–34% ($p < 0.001$). При этом показано, что ПНЖК ω -3 восстанавливают активность ГП (Refaat *et al.*, 2022) и некоторых низкомолекулярных антиоксидантов, в их числе Г-SH (Patten *et al.*, 2013), что было отмечено при анализе полученных результатов.

И хотя под действием вводимых препаратов в условиях стресса показатели глутатионовой системы у животных 3-й и 4-й групп характеризовались положительной динамикой, однако по степени выраженности нормализующего эффекта имелись достоверные отличия. Так, при введении ЛЭК уровень Г-SH печени повысился на 15% ($p < 0.05$) в сравнении со 2-й группой, а при введении Омега-3 только на 9% ($p < 0.05$).

Показатели активности ГП в плазме крови животных 3-й группы (кодиум) не имели достоверных отличий от контрольных значений, что может свидетельствовать о подавлении процессов липидной пероксидации. В то же время у животных 4-й группы (Омега-3) активность ГП оставалась все еще достоверно ниже контроля на 10%. При сравнении со 2-й группой (стресс) активность ГП у мышей 3-й группы повысилась на 35% ($p < 0.001$), а в 4-й группе – на 21% ($p < 0.001$). Полученные данные свидетельствуют, что воздействие ЛЭК на состояние окислительно-восстановительной системы глутатиона показало большую эффективность по сравнению с препаратом Омега-3. Данный эффект ЛЭК, возможно, обусловлен совместным действием ПНЖК ω -3 и ω -6, которые способны активировать ферменты антиоксидантной защиты (Nieto *et al.*, 1998), в том числе ферменты глутатионового звена, тем самым предохраняя клетки и ткани органов от повреждений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование состава липидного экстракта *C. fragile* показало его многокомпонентность, в частности присутствие неполярных и полярных липидов с высоким содержанием ПНЖК семейства ω -3 и ω -6. Из полученных данных по исследованию метаболических реакций в организме мышей в условиях стрессового воздействия следует, что липидный экстракт *C. fragile* обладает гиполипидемическим и антиоксидантным действием. Данный эффект ЛЭК проявляется в восстановлении весовых коэффициентов (ИМ печени и селезенки), содержания липидов и углеводов в печени и крови (ХС, ТАГ, СЖК, глюкоза), а также параметров антиоксидантной защиты организма животных (АРА, Г-SH, ГП).

Липидный экстракт зеленой водоросли *C. fragile* не уступал коммерческому препарату сравнения Омега-3 в восстановлении метаболических реакций организма, вызванных воздействием острого стресса, но при этом проявлял более высокую антиоксидантную активность. Биологическое действие ЛЭК, вероятно, объясняется его разнообразным

составом, в котором присутствуют класс нейтральных липидов, являющихся метаболитами для биохимических реакций, класс фосфолипидов, отвечающих за функционирование всех биомембран, и главным образом, наличием ПНЖК семейства ω -3 и ω -6. На основании проведенного исследования можно заключить, что профилактическое применение липидных экстрактов, выделенных из морских макрофитов, в частности из *C. fragile*, имеет большие перспективы для создания препаратов со стресс-протекторными и липидкорректирующими свойствами.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках госзадания ФГБУН ТООИ ДВО РАН по теме “Эколого-биогеохимические процессы в морских экосистемах: роль природных и антропогенных факторов” (0211-2021-0014). Регистрационный номер: 121-21500052-9.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты на животных проводились в соответствии с Руководством NIH по уходу и использованию лабораторных животных (<http://oas.od.nih.gov/regs/index.htm>). Протоколы экспериментов одобрены Этическим комитетом Тихоокеанского океанологического института им. Ильичева (протокол № 21 от 10 ноября 2022 г.)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гурская А. И., Отвалко Е. А., Яцковская Н. М., Чиркин А. А. Биохимические критерии острого и хронического стресса при иммобилизации крыс // Вестник ВДУ. 2017. Т. 98, № 1. С. 61–65.
- Карпищенко А. И., Алипов А. Н., Алексеев В. В. Медицинские лабораторные технологии. Руководство по клинической лабораторной диагностике. 2013. Т. 2. Изд-во ГЭОТАР-Медиа. 792 с.
- Кушнерова Н. Ф., Спрыгин В. Г., Фоменко С. Е., Рахманин Ю. А. Влияние стресса на состояние липидного и углеводного обмена печени, профилактика // Гигиена и санитария. 2005. № 5. С. 17–21.
- Кушнерова Н. Ф., Фоменко С. Е., Спрыгин В. Г., Момот Т. В. Влияние липидного комплекса экстракта из морской красной водоросли *Ahnfeltia tobuchiensis* (Kanno et Matsubara) Makienko на биохимические показатели плазмы крови и мембран эритроцитов при экспериментальном стрессе // Биология моря. 2020. Т. 46, № 4, С. 269–276. <https://doi.org/10.31857/S0134347520040051>
- Новгородцева Т. П., Караман Ю. К., Бивалькевич Н. В., Жукова Н. В. Использование биологически активной добавки к пище на основе липидов морских гидробионтов в эксперименте на крысах // Вопросы питания. 2010. Т. 79, № 2. С. 24–27.
- Солин А. В., Корозин В. И., Ляшев Ю. Д. Влияние регуляторных пептидов на стресс-индуцированные изменения липидного обмена у экспериментальных животных // Бюл. exper. биол. 2013. Т. 155, № 3. С. 299–301.
- Титлянов Э. А., Титлянова Т. В. Морские растения стран Азиатско-Тихоокеанского региона, их использование и культивирование. Владивосток: Дальнаука, 2012. 377 с.
- Фоменко С. Е., Кушнерова Н. Ф., Спрыгин В. Г., Момот Т. В. Нарушение обменных процессов в печени крыс под действием стресса // Тихоокеанский медицинский журнал. 2013. № 2. С. 67–70.
- Фоменко С. Е., Кушнерова Н. Ф., Спрыгин В. Г., Момот Т. В. Антиоксидантные и стресс-протекторные свойства экстракта из морской зеленой водоросли *Ulva lactuca* Linnaeus, 1753 // Биология моря. 2016. Т. 42, № 6. С. 465–470. <https://doi.org/10.1134/S1063074016060031>
- Хотимченко С. В. Липиды морских водорослей-макрофитов и трав. Структура, распределение, анализ. Владивосток: Дальнаука, 2003. 230 с.
- Ahn J., Kim M. J., Yoo A., Ahn J., Ha T., Jung C. H., Seo H. D., Jang Y. J. Identifying *Codium fragile* extract components and their effects on muscle weight and exercise endurance // Food Chemistry. 2021. V. 353. P. 129–463. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129463>
- Amenta J. S. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography // J. Lipid Res. 1964. V. 5. P. 270–272. [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)40251-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)40251-2)
- Bligh E. G., Dyer W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physiol. 1959. V. 37. № 8. P. 911–917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- Burk R. F., Lawrence R. A., Lane J. M. Liver necrosis and lipid peroxidation in the rat as the result of paraquat and diquat administration. Effect of selenium deficiency // J. Clin. Invest. 1980. V. 65, № 5. P. 1024–1031. <https://doi.org/10.1172/JCI109754>
- Carreau J. P., Dubacq J. P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts // J. Chromatogr. 1978. V. 151, № 3. P. 384–390. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)88356-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)88356-9)
- Chapman V. J., Chapman D. J. Seaweeds and Their Uses. 3Edn. Chapman & Hall, New York, NY (USA) 1980. P. 25–42. <http://dx.doi.org/10.1007/978-94-009-5806-7>
- Christie W. W. Equivalent chain-lengths of methyl ester derivatives of fatty acids on gas chromatography A reappraisal // J. Chromatogr. 1988. V. 447. P. 305–314. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(88\)90040-4](https://doi.org/10.1016/0021-9673(88)90040-4)
- Chrousos G. P. Stress and disorders of the stress system // Nat. Rev. Endocrinol. 2009. № 5. P. 374–381. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2009.106>

- European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123). Strasbourg. 1986.
<http://conventions.coe.int>
- Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. V. 226, № 1. P. 497–509.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
- Goecke F., Hernandez V., Bittner M., Gonzalez M., Becerra J., Silva M. Fatty acid composition of three species of *Codium* (Bryopsidales, Chlorophyta) in Chile // Revista de Biología Marina y Oceanografía. 2010. V. 45, № 2. P. 325–330.
<https://doi.org/10.4067/S0718-19572010000200014>
- Harris W.S., Miller M., Tighe A.P., Davidson M.H., Schaefer E.J. Omega-3 fatty acids and coronary heart disease risk: clinical and mechanistic perspectives // Atherosclerosis. 2008. V. 197. P. 12–24.
<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2007.11.008>
- Hulbert A.I., Turner N., Storlien L.H., Else P.L. Dietary fats and membrane function: implications for metabolism and disease // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 2005. V. 80, Is. 1. P. 155–169.
<https://doi.org/10.1017/s1464793104006578>
- Jump D.B., Depner C.M., Tripathy S., Lytle K.A. Potential for Dietary omega-3 Fatty Acids to Prevent Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Reduce the Risk of Primary Liver Cancer // Adv. Nutr. 2015. V. 6, № 6. P. 694–702.
<https://doi.org/10.3945/an.115.009423>
- Khan S.A., Makki A. Dietary Changes with Omega-3 Fatty Acids Improves the Blood Lipid Profile of Wistar Albino Rats with Hypercholesterolaemia // International Journal of Medical Research & Health Sciences. 2017. V. 6, № 3. P. 34–40.
- Khotimchenko S., Vaskovsky V., Titlyanova T. Fatty acids of marine algae from the Pacific coast of North California // Botanica Marina. 2002. V. 45. P. 17–22.
<https://doi.org/10.1515/BOT.2002.003>
- Kim J., Choi J.H., Oh T., Ahn B., Unno T. *Codium fragile* Ameliorates High-Fat Diet-Induced Metabolism by Modulating the Gut Microbiota in Mice // Nutrient. 2020. V. 12. P. 1848.
<https://doi.org/10.3390/nu12061848>
- Komal F., Khan M.K., Imran M., Ahmad M.H., Anwar H., Ashfaq U.A., Ahmad N., Masroor A., Ahmad R.S., Nadeem M., Nisa M.U. Impact of different omega-3 fatty acid sources on lipid, hormonal, blood glucose, weight gain and histopathological damages profile in PCOS rat model // J. Transl. Med. 2020. V. 18. P. 349–360.
<https://doi.org/10.1186/s12967-020-02519-1>
- Lee C., Park G.H., Ahn E.M., Kim B.A., Park C.I., Jang J.H. Protective effect of *Codium fragile* against UVB-induced pro-inflammatory and oxidative damages in HaCaT cells and BALB/c mice // Fitoterapia. 2013. V. 86. P. 54–63.
<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.01.020>
- Nieto N., Fernandez M.I., Torres M.I., Ríos A., Suarez M.D. Dietary monounsaturated n-3 and n-6 long-chain polyunsaturated fatty acids affect cellular antioxidant defense system in rats with experimental ulcerative colitis induced by trinitrobenzene sulfonic acid // Gil. Dig. Dis. Sci. 1998. V. 43, № 12. P. 2678–2687.
<https://doi.org/10.1023/a:1026655311878>
- Ortiz J., Uquiche E., Robert P., Romero N., Quitral V., Llan-tén C. Functional and nutritional value of the Chilean seaweeds *Codium fragile*, *Gracilaria chilensis* and *Macrocystis pyrifera* // European Journal of Lipid Science and Technology 2009. V. 111, № 4. P. 320–327.
<https://doi.org/10.1002/ejlt.200800140>
- Patten A.R., Brocardo P.S., Christie B.R. Omega-3 supplementation can restore glutathione levels and prevent oxidative damage caused by prenatal ethanol exposure // J. Nutr. Biochem. 2013. V. 24, № 5. P. 760–769.
<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.04.003>
- Pereira A.G., Fraga-Corral M., Garcia-Oliveira P., Lourenco Lopes C., Carpena M., Prieto M.A., Simal-Gandara J. The Use of Invasive Algae Species as a Source of Secondary Metabolites and Biological Activities: Spain as Case-Study // Mar. Drugs. 2021. V. 19. P. 178–198.
<https://doi.org/10.3390/md19040178>
- Ravussin E. Adiponectin enhances insulin action by decreasing ectopic fat deposition // J. Pharmacogenomics. 2002. V. 2, № 1. P. 4–7
<https://doi.org/10.1038/sj.tpj.6500068>
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay // Free Radical Biology and Medicine. 1999. V. 26, № 9–10. P. 1231–1237.
[https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- Refaat B., Abdelghany A.H., Ahmad J., Abdalla O.M., Elshopakey G.E., Idris S., El-Boshy M. Vitamin D(3) enhances the effects of omega-3 oils against metabolic dysfunction-associated fatty liver disease in rat // Biofactors. 2022. V. 48. № 2. P. 498–513.
<https://doi.org/10.1002/biof.1804>
- Richard D., Kefi K., Barbe U., Bausero P., Visioli F. Polyunsaturated fatty acids as antioxidants // Pharmacol. Res. 2008. V. 57. № 6. P. 451–455.
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.002>
- Sahin E., Gumuëşlu S. Stress-dependent induction of protein oxidation, lipid peroxidation and anti-oxidants in peripheral tissues of rats: comparison of three stress models (immobilization, cold and immobilization-cold) // Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. 2007. V. 34, № 5–6, P. 425–431.
<https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2007.04584.x>
- Sanchez-Machado D., Lopez-Cervantes J., Lopez-Hernandez J., Paseiro-Losada P. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. Food Chem. 2004. V. 85. P. 439–444.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.001>

- Seo H-D, Lee E., Ahn J., Hahm J-H, HaT-Y., LeeD-H, Jung C.H. *Codium fragile* reduces adipose tissue expansion and fatty liver incidence by downregulating adipo- and lipogenesis // J. Food Biochem. 2022. 00: e 14395. P. 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfbc.14395>
- Svetachev V.I., Vaskovsky V.E. A simplified technique for thin-layer microchromatography of lipids // J. Chromatography. 1972. V. 6. P. 376–378. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)91245-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)91245-2)
- Van Gent C. M., Roseleur O. J., Van Der Bijl P. The detection of cerebrosides on thin-layer chromatograms with an anthrone spray reagent // J. Chromatogr. 1973. V. 85, № 1. P. 174–176. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)91884-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)91884-9)
- Vasovsky V.E., Kostetsky E. Y., Vasendin I. M. Universal Reagent for Phospholipid Analysis // J. Chromatography. 1975. V. 114. P. 129–141. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)85249-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)85249-8)
- Vasovsky V.E., Khotimchenko S. V. HPTLC of Polar Lipids of Algae and Other Plants // J. Chromatography. 1982. V. 5. P. 635–636. <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240051113>

Effect of the lipid extract from the marine green algae *Codium fragile* (Suringar) Hariot 1889 on metabolic reactions under acute stress

© 2024 S. E. Fomenko[#], N. F. Kushnerova, V. G. Sprygin, E. S. Drugova, L. N. Lesnikova, V. Yu. Merzlyakov

V. I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute. FEB RAS, Vladivostok, 690041 Russia

[#]e-mail: sfomenko@poi.dvo.ru

It was studied the effect of a lipid extract isolated from the marine green algae *Codium fragile* (Suringar) Hariot on the liver and blood biochemical indicators in mice under impact of acute stress (vertical fixation by the dorsal neck fold). The pharmacological effect of the *C. fragile* lipid extract was manifested in the restoration of lipid and carbohydrate metabolism, as well as in the normalization of the indicators of the endogenous antioxidant defense system under stress effect. The biological activity of the lipid extract of *C. fragile*, probably, is due to the action of its constituent polyunsaturated fatty acids of the ω -3 and ω -6 families. The lipid extract of *C. fragile* was not inferior to the reference Omega-3 preparation in restoring the body's metabolic reactions caused by the impact of the stress, however, it showed higher antioxidant activity.

Key words: lipid extract, *Codium fragile*, Omega-3, stress, lipids, antioxidant defense, mice

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЕТИ ГАПЛОТИПОВ ПЛАСТИДНОЙ ДНК ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ ФИЛОГЕНИИ РОДА *ROSA* L. (ROSACEAE)

© 2024 г. И. А. Шанцер*[@], А. В. Федорова*, И. Г. Мещерский**

*Главный ботанический сад им. Н. В. Цицина РАН, Ботаническая ул., д. 4, Москва, 127276 Россия

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

@ E-mail: ischanzer@gmail.com

Поступила в редакцию 26.05.2023 г.

После доработки 25.08.2023 г.

Принята к публикации 29.08.2023 г.

Мы реконструировали генеалогию гаплотипов пластидного межгенного спейсера *ndhC-trnV* и филогенетические отношения крупных таксономических групп в роде *Rosa* с использованием методов статистической парсимонии, максимального правдоподобия и NeighborNet. Согласно полученным нами результатам, большинство видов шиповника может быть объединено в три большие группы, приблизительно соответствующие таксономическим секциям: Pimpinellifoliae, Rosa (бывшая Cinnamomeae) и Synstylae + Chinenses + Gallicanae + Caninae. Их отношения мы оцениваем, как широко парафилетические, так как первая группа оказывается предковой для второй и третьей. Четвертую группу, отделенную от первых трех большим числом мутационных шагов, образовали последовательности *R. persica* (подрод *Hulthemia*). Мы полагаем, что *R. persica* вместе с североамериканскими *R. minutifolia* и *R. stellata* (секция Minutifoliae) представляют собой единственные сохранившиеся реликты древней группы шиповников, некогда широко распространенной в северном полушарии. Две филогенетические линии, представленные в рамках гибридной секции Caninae возникли независимо друг от друга от разных материнских предков, относящихся к секции Synstylae.

Ключевые слова: генеалогия гаплотипов, статистическая парсимония, межгенный спейсер *ndhC-trnV*, метод максимального правдоподобия, алгоритм NeighborNet, систематика, биогеография

DOI: 10.31857/S1026347024020023, **EDN:** WDFIHP

К роду *Rosa* разные авторы относят от 150 до 500 видов (Бузунова, 2001; Ku, Robertson, 2003; Wisseman, 2003), распространенных в умеренных областях северного полушария. Точное число дикорастущих видов до сих пор остается предметом дискуссии систематиков. Необычайную сложность рода *Rosa* в отношении классификации и разграничения видов первым отметил еще Карл Линней, снабдивший только этот род специальным комментарием в первом издании “Species Plantarum” (Linnaeus, 1753): “*Species Rosarum difficile distinguntur, difficilius determinantur; mihi videtur naturam miscuisse plures vel lusu ex uno plures formasse; hinc qui paucas vidit species facilius eas distinguit, quam qui plures examinavit*”. (Виды рода *Rosa* трудны для различения и определения; я видел, как природа, играя, может смешивать многие из них, чтобы получить один новый из множества других; тот, кто видел их мало, различает их легче, чем тот, кто изучил множество).

История таксономического изучения и современное состояние представлений о систематике рода *Rosa* были достаточно подробно описаны в двух обзорных статьях (Wisseman, 2006; Tomljenović,

Pejić, 2018). В них же были рассмотрены ряд молекулярно-филогенетических работ и то влияние, которое они оказали на систематику рода. Кратко резюмируя современное состояние проблемы, можно сказать, что интернет-ресурс the World Checklist of Vascular Plants (The World Checklist, 2022) приводит 367 названий видов и гибридов шиповников, как принятые, и 663 названия, как синонимы. В другой базе данных, Plants Of the World Online (2022), приводятся 271 принятое название видов и гибридов дикорастущих видов шиповников.

Современная классификация рода *Rosa* до сих пор основывается на работах XIX и XX веков, несмотря на довольно большое число молекулярно-филогенетических исследований, выполненных в последние годы. Последняя по времени классификация рода (Wisseman, 2003) мало чем отличается от классификации Редера (Rehder, 1949), которая, в свою очередь, базируется на таксономических концепциях, созданных еще Крепеном (Crépin, 1869; 1891).

Согласно Виземану (Wisseman, 2003), род *Rosa* делится на четыре подрода, наиболее крупный из которых, подрод *Rosa*, в свою очередь,

представлен десятью секциями. В современных таксономических обработках (Ku, Robertson, 2003; Lewis *et al.*, 2022), учитывающих результаты недавних молекулярно-филогенетических исследований, род *Rosa* включает от 2 до 4 подродов и от 10 до 12 секций в пределах подрода *Rosa*. Однако фактически, обычно признаются два подрода: *Hulthemia* с единственным видом *R. persica* и *Rosa*, к которому относят все остальные виды. После консервации родового названия *Rosa* с лектотипом *R. cinnamomea* (International Code, 2006; International Code, 2018) изменилось применение автонима *Rosa* в ранге секции: бывшая секция *Rosa* стала называться *Galliana*, а бывшая секция *Cinnamomeae* поменяла свое название на *Rosa*.

Молекулярно-филогенетические исследования XXI века привели к появлению противоречивых филогенетических реконструкций, детальное сравнение которых было проведено в работах Коопмана с соавт. (Koorman *et al.*, 2008) и Фужере-Данезан с соавт. (Fougère-Danezan *et al.*, 2015). Все построенные филогенетические деревья оказались обладающими либо недостаточным разрешением, либо низкими значениями поддержки внутренних узлов дерева. Только в самых недавних работах с использованием тегов однокопийных ядерных генов (Debray *et al.*, 2019) или полных пластидных геномов (Cui *et al.*, 2022) удалось получить деревья с высокой поддержкой базальных и внутренних узлов. К сожалению, эти работы ставили основной целью не реконструкцию филогении рода, как таковую, а оценку пригодности маркеров для реконструкции сетчатой эволюции в роде *Rosa* в первом случае, и происхождение ряда гибридогенных культиваров во втором. Поэтому обе работы характеризуются недостаточными и несбалансированными выборками таксонов (Приложение, табл. 1). Несмотря на то, что филогенетические деревья разных авторов основаны на разных таксономических выборках и анализе разных маркеров (Приложение, табл. 1), в них наблюдается ряд общих особенностей топологии, таксономическая интерпретация которых в настоящее время стала общепринятой. Так североамериканские виды, ранее традиционно выделявшиеся в отдельную секцию *Carolinae*, во всех исследованиях оказались принадлежащими к кладе, объединяющей виды секции *Rosa* (бывшая *Cinnamomeae*).

Еще одним фактом, подтвержденным большинством молекулярно-филогенетических исследований, стало то, что род *Rosa* подразделяется на две большие клады. Одна из них объединяет преимущественно виды секций *Rosa* и *Pimpinellifoliae*, а другая — преимущественно членов секций *Synstylae* и *Caninae* (Wissemann, Ritz, 2005; Bruneau *et al.*, 2007; Fougère-Danezan *et al.*, 2015; Zhu *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2015; Debray *et al.*, 2019; Cui *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022). Виды, относимые к секциям *Chinenses*, *Bracteatae*, *Laevigatae* и *Microphyllae* также обычно ассоциированы с этой второй кладой.

В тех случаях, когда в анализ включались множественные образцы видов секции *Caninae*, они либо формировали отдельную кладу, либо разделялись на две или три сестринские клады вместе с западно-евразийскими видами секции *Synstylae* (Wissemann, Ritz, 2005; Fougère-Danezan *et al.*, 2015). Во многих филогенетических работах было выявлено изолированное базальное положение *R. persica* (подрод *Hulthemia*), а также *R. minutifolia* и *R. stellata* (секция *Minutifoliae*), которые в ряде случаев кластеризовались вместе на длинной ветви (Wissemann, Ritz, 2005; Fougère-Danezan *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2022). *Rosa roxburghii* (секция *Microphyllae*), *R. laevigata* (секция *Laevigatae*), *R. banksiae* и *R. cymosa* (секция *Banksianae*) образуют одну или несколько отдельных клад, сестринских по отношению к кладе, образованной видами секции *Synstylae* (Fougère-Danezan *et al.*, 2015; Zhu *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2022), подтверждая таким образом свой секционный таксономический ранг, ранее предполагавшийся на основании морфологических признаков.

Точное положение и родство отдельных видов часто бывает трудно оценить из-за того, что в разных исследованиях были использованы разные наборы таксонов. На самом деле, проблема еще сложнее, так как многие виды, особенно относящиеся к секциям *Caninae* и *Rosa*, сложно надежно определить по морфологическим признакам, вследствие чего разные авторы могли использовать генетически различные образцы под одними и теми же названиями. Многие виды рода *Rosa* могут гибридизировать при совместном произрастании в природе, а также в ботанических садах и питомниках. Это дополнительно осложняет проблему сравнимости разных филогенетических деревьев в связи с возможным гибридным происхождением отдельных образцов.

Другой общей чертой деревьев, полученных разными авторами, представляется то, что многие концевые и внутренние промежуточные ветви оказываются очень короткими или даже имеющими нулевую длину, в то время как некоторые рано дивергирующие ветви оказываются длинными. Это указывает на недавнее происхождение большинства видов и клад, в то время как немногие из них являются древними и отдаленно родственными остальным. Этот результат был в последнее время подтвержден в работе Жанга с соавт. (Zhang *et al.*, 2022), которые проанализировали полные пластидные геномы 37 видов рода *Rosa*. Данные авторы пришли к выводу, что таксоны подрода *Rosa* прошли быструю одновременную диверсификацию, что и является причиной короткой длины и низкой поддержки ветвей филогенетических деревьев. Они также идентифицировали виды секции *Minutifoliae*, *R. stellata* и *R. minutifolia*, как наиболее рано дивергировавшую кладу, а подрод *Hulthemia* (*R. persica*, под названием *R. berberifolia*) и секцию *Pimpinellifoliae* (представленную

в их работе видами *R. xanthina* и *R. omeiensis*) как следующие последовательныеклады.

Все перечисленные выше проблемы с интерпретацией филогенетических деревьев приводят к тому, что обсуждение эволюции шиповников продолжается в рамках устаревших классификаций в попытке привязать выявляемыеклады к традиционному секционному делению рода, основанному на морфологии.

Алгоритмы филогенетического анализа могут давать проблематичные результаты, когда сама структура данных не является древовидной (Jacob, Blattner, 2006). В цитированном исследовании авторы анализировали филогению рода *Hordeum* и показали, что глубокая коалесценция (Hudson, 1990) может приводить к неконгруэнтности деревьев, построенных по ядерным и пластидным данным, как в молодых, подверженных быстрому видообразованию группах, так и в старых филогенетических линиях, уходящих в глубину истории рода. Для преодоления этих проблем они реконструировали генеалогические отношения пластидных гаплотипов применив метод статистической парсимонии ко всему роду. Этот же подход был успешно использован для реконструкции филогении и биогеографии подрода *Melanocrommium* рода *Allium* (Gurushidze *et al.*, 2010), а также китайских представителей рода *Gagea* (Peterson *et al.*, 2019). Вероятно, такой подход мог бы быть успешным и в случае рода *Rosa*, в котором экстенсивная гибридизация между разными видами сочетается с такими факторами, как недавнее происхождение многих видов и присутствие нескольких старых филогенетически изолированных линий. Это создает сетчатый характер эволюции, который не может быть адекватно отображен в виде дихотомически ветвящихся филогенетических деревьев. В этой ситуации мы предлагаем проведение анализа генеалогических связей пластидных гаплотипов методом статистической парсимонии вместо очередных попыток реконструкции филогенетических деревьев видов. Генеалогия пластидных гаплотипов отражает, главным образом, материнскую линию рода, в меньшей степени подверженную влиянию сетчатого характера эволюции. Насколько это известно в настоящее время, пластиды в роде *Rosa* наследуются строго по материнской линии (Bruneau *et al.*, 2007), хотя в последнее время и появились данные о гетероплазмии у гибридов шиповников (Schanzer *et al.*, 2020). Тем не менее, мы считаем, что прослеживание генеалогий пластидных гаплотипов может оказаться более успешным для оценки границ и эволюционных отношений крупных филогенетических групп шиповников, чем филогенетические реконструкции, основанные на алгоритмах построения деревьев. Данный подход был обоснован Джейкобом и Блаттнером (Jacob, Blattner, 2006) для филогенетического анализа недавно дивергировавших групп, а его использование для анализа рода *Rosa* было предложено Шанцером

(2011). Для того чтобы проследить материнскую линию эволюции у шиповников, минимизировав эффекты сетчатой эволюции на филогенетическую реконструкцию, и выявить границы и эволюционные отношения основных крупных групп в пределах рода мы использовали пластидный межгенный спейсер *ndhC-trnV*. Высокая вариабельность этого региона ДНК была продемонстрирована для разных групп цветковых растений (Shaw *et al.*, 2007), в том числе и непосредственно для рода *Rosa* (Fedorova *et al.*, 2010; Meng *et al.*, 2011; Шанцер и др., 2011; Zhu *et al.*, 2015; Schanzer *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2022). Использование единственного маркера нередко подвергается критике, как недостаточное для филогенетической реконструкции. Однако в нашем случае уже были опубликованы несколько филогенетических реконструкций, построенных по результатам анализа множественных пластидных и ядерных маркеров, что, тем не менее, не позволило добиться лучшего разрешения или более высокой поддержки базальных и внутренних узлов деревьев. В нашем исследовании мы оцениваем потенциал метода сетей гаплотипов для реконструкции эволюции рода *Rosa*. Следует подчеркнуть, что наш подход был нацелен на реконструкцию генеалогии пластидных гаплотипов, а не филогении видов рода *Rosa* как таковой. Мы считаем, что гаплотипы или группы близкородственных гаплотипов (гаплогруппы) могут указывать на тесное родство обладающих ими видов или групп видов. Для проверки состоятельности результатов, полученных по единственному пластидному маркеру, мы также проанализировали небольшую выборку последовательностей полных пластидных геномов, доступных в GenBank, используя метод максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, ML) и алгоритм NeighborNet и сравнили полученные деревья и сплитграфы с нашей сетью гаплотипов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал

Материал для настоящего исследования был по большей части собран нами из естественных популяций шиповников с территории Западной Европы (Германия, Чехия, Венгрия, Хорватия, Италия), Украины, европейской части России, Сибири, Российского Дальнего Востока, Кавказа и Узбекистана. Так как мы ожидали выявления неполной сортировки филогенетических линий для близкородственных недавно дивергировавших групп видов, во всех случаях, где это было возможно, мы включали в анализ несколько индивидуальных растений каждого вида, только 37 видов были представлены единичными последовательностями (Приложение, табл. 2). Ваучерные гербарные образцы мы определяли до уровня вида с использованием определительных

ключей в нескольких “Флорах” (Klásterský, 1968; Бузунова, 2001; Henker, 2003; Ku, Robertson, 2003) и при возможности сравнивали наши образцы с типовыми материалами, хранящимися в Гербариях Санкт-Петербурга (LE), Киева (KW), Львова (LW), Вены (W) и Берлина (B). Так как участок *ndhC-trnV* ранее использовался в молекулярно-филогенетическом исследовании шиповников секций *Synstylae* и *Chinenses* (Zhu *et al.*, 2015), которые были недостаточно представлены в нашей коллекции, мы использовали для нашего исследования ряд последовательностей из базы данных GenBank (Zhu *et al.*, 2015) для дополнения нашей матрицы данных (Приложение, табл. 2). Отбирались только последовательности с образцов, собранных в природе, хотя в нескольких случаях мы включили также и последовательности, полученные из растений местных видов, культивировавшихся в ботанических садах. Мы также использовали несколько последовательностей межгенного спейсера *ndhC-trnV* от образцов таксонов с полными пластидными геномами, опубликованными в GenBank (Jian *et al.*, 2018a; 2018b; Wang Q. *et al.*, 2018; Chen X. *et al.*, 2019; Chen M. *et al.*, 2019; Jeon *et al.*, 2019; Meng *et al.*, 2019; Wang M. *et al.*, 2019; Zhang C. *et al.*, 2019; Zhang S. D. *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2019; Cui *et al.*, 2020; Yin *et al.*, 2020). Полное выравнивание *ndhC-trnV* содержало 363 последовательности, полученные из образцов нашей коллекции и 140 последовательностей, полученных из базы GenBank, представлявших 101 вид из всех секций рода, кроме североамериканской секции *Minutifoliae* (бывший подрод *Hesperhodos*) представленной двумя видами, *R. minutifolia* и *R. stellata*.

Выделение ДНК, ПЦР и секвенирование

Тотальную геномную ДНК извлекали из высушенных в силикагеле листьев или из листьев гербарных образцов с использованием коммерческого набора NucleoSpin Plant II DNA extraction kit (Macherey-Nagel, Germany) в соответствии с инструкциями производителя. Участок *ndhC-trnV* амплифицировали с праймерами *ndhC* (ATTAGAAATGYCCARAAAATATCAT) и *trnV* (UAC)x2 (GTCTACGGTTCGARTCCGTA) (Shaw *et al.*, 2007). Праймеры были синтезированы и очищены в ПААГ компанией ООО Синтол (Москва, Россия). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в объеме 20 мкл, содержащем 4 мкл реакционной смеси Ready-to-Use PCR MasterMIX на основе “hot-start” SmarTaq ДНК полимеразы (ООО Диалат, Москва, Россия), 13 мкл деионизированной воды, 3.2 пмоль каждого праймера, и около 1.5–2 нг исследуемой ДНК в амплификаторе MJ Research PTC-220 DNA Engine Dyad Thermal Cycler (БиоРад, США) при следующих условиях: 95 °C–180 с; 95 °C–60 с, 57 °C–40 с, 60 °C–80 с (35 циклов); 57 °C–40 с, 60 °C–80 с (2 цикла). Продукты амплификации проверяли в 1% агарозном геле в 0.5×TBE буфере с окрашиванием

бромидом этидия. Очистку продуктов ПЦР проводили переосаждением в 0.125 моль/л растворе ацетата аммония в 70% этаноле. Очищенные продукты ПЦР секвенировали в обоих направлениях с использованием коммерческого набора ABI PRISM © BigDye™ Terminator v. 3. kit (Applied Biosystems, США) и анализировали на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems, США) на базе Института проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, Центра коллективного пользования “Геном” (Москва, Россия) и ООО Синтол (Москва, Россия). Все секвенированные последовательности были опубликованы в базе данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), номера последовательностей указаны в табл. 2 (Приложение).

Анализ данных

Последовательности *ndhC-trnV* были выравнены в программе MAFFT v. 7.147b (Katoh *et al.*, 2002, 2013) с использованием алгоритма L–INS–i с последующим ручным редактированием в программе BioEdit v. 7.0.8.0 (Hall, 1999). Последовательности 45 полных пластидных геномов 29 видов *Rosa* и 10 последовательностей таксонов внешней группы, полученные из GenBank, выравнивали в программе MAFFT с использованием FFT–NS–2 алгоритма выравнивания. Так как выравнивание участка *ndhC-trnV* содержало многочисленные индели, мы оценили его на содержание неинформативных и сомнительно выравненных участков и провели их удаление в программе BMGE v. 1.12 (Criscuolo, Gribaldo, 2010). Оставшиеся индели были кодированы, как единичные мутационные события (Simmons, Ochoterena, 2000) в программе FastGap v. 1.2 (Borchsenius, 2009) и добавлены в конец выравнивания.

Обработанное таким образом выравнивание анализировали с использованием алгоритма статистической парсимонии, описанного в работе Темплтона с соавт. (Templeton *et al.*, 1992) и реализованного в программе TCS v. 1.21 (Clement *et al.*, 2000). Для установления вероятного корня сети гаплотипов, полученной в программе TCS, мы подготовили выравнивание гаплотипов, содержащее одну последовательность на гаплотип, и выравнивание видов, содержащее от одной до нескольких последовательностей на таксон, в зависимости от числа гаплотипов, установленных для каждого вида. Эти выравнивания были проанализированы вместе с последовательностями внешней группы методом максимального правдоподобия в программе raxmlGUI 2.0 beta (Silvestro, Michalak, 2012; Edler *et al.*, 2019), а также методом NeighborNet, реализованным в программе SplitsTree4 (Huson, 1998; Huson, Bryant, 2006). Отдельно методом максимального правдоподобия была проанализирована выборка из 45 полных пластидных геномов, полученных из GenBank. Все анализы были проведены в программе raxmlGUI 2.0 с установками по умолчанию и с использованием

модели GTRGAMMA с параметрами, рассчитанными программой. Значения бутстрепа рассчитывались для 100 реплик (опция быстрого бутстрепа).

Для укоренения деревьев и сетей использовали множественную внешнюю группу, включавшую последовательности *Rubus occidentalis* L. (OK054548), *R. arcticus* L. (OL891648), *R. pedunculosus* D. Don (OQ992654), *R. biflorus* Buch.-Ham. ex Sm. (OQ992653), *R. coreanus* Miq. (MH992398), *R. trifidus* Thunb. (MK465682), *Hagenia abyssinica* J. F. Gmel. (KX008604), *Sanguisorba officinalis* L. (MF678801), *S. tenuifolia* Fisch. ex Link (MH513641) и *Potentilla micropetala* D. Don (KY420021). Таксоны, использованные в качестве внешней группы, отбирались в соответствии с опубликованными филогенетическими деревьями для семейства Rosaceae (Potter *et al.*, 2002; Eriksson *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2017).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ межгенного спейсера ndhC-trnV методом статистической парсимонии

Последовательности межгенного спейсера *ndhC-trnV* после удаления плохо прочитавшихся участков с обоих концов варьировали по длине от 383 до 475 п.н. Итоговое выравнивание участка *ndhC-trnV* составило 588 позиций. После обрезки сомнительно выравненных участков в программе BMGE и кодирования инделей, как единичных мутационных событий, окончательная длина выравнивания составила 583 позиции. Анализ методом статистической парсимонии в программе TCS позволил объединить идентичные последовательности в 95 гаплотипов. Программа рассчитала максимально возможное число мутационных шагов при 95% вероятности парсимонического решения (лимит парсимонии) равным 10 и объединила все гаплотипы в одну сеть. Включить в анализ какие-либо последовательности внешней группы не удалось из-за значительного превышения лимита парсимонии.

Сеть содержит несколько замкнутых петель, вызванных гомоплазией. Часть этих петель была нами разрешена с использованием правил, описанных в работе Крэндэла и Темплтона (Crandall, Templeton, 1993). Несколько петель остались не разрешенными, что, однако, не помешало определению отношений большинства гаплотипов (рис. 1). Мы следуем терминологии, изложенной в работе Крэндэла и Темплтона (Crandall, Templeton, 1993), в определении гаплотипов, имеющих единственную связь с другим гаплотипом, как концевых (tip), а имеющих две или более связей с другими гаплотипами, как внутренних (interior) гаплотипов сети. Ниже мы описываем полученную сеть в терминах гаплогрупп (групп родственных гаплотипов) от I до IX, определяемых на основании их положения в сети, а также числу и длине связей между гаплотипами,

объединяемыми в такую гаплогруппу. Во многих случаях такие гаплогруппы приблизительно соответствуют таксономическим секциям рода *Rosa* с целым рядом примечательных исключений.

Гаплогруппа I представлена гаплотипами с 1 по 5 относящимися к *R. persica* (подрод *Hulthemia*) и находящимися на расстоянии от двух до четырех мутационных шагов друг от друга и на расстоянии девяти мутационных шагов от ближайшего гаплотипа 6 гаплогруппы II. Гаплогруппа I занимает наиболее изолированное положение в сети. Гаплотип 6 принадлежит ко II гаплогруппе и представлен последовательностями *R. spinosissima* из двух местонахождений в Восточных Карпатах и одного во Франции. Во второй гаплогруппе представлены преимущественно гаплотипы видов секции *Pimpinellifoliae* с несколькими исключениями. Это *R. macrophylla* (секция *Rosa*) и *R. praelucens* (секция *Microphyllae*) для которых выявлен тот же внутренний гаплотип 26, что и для ряда образцов *R. kokanica* из нескольких местонахождений в Узбекистане; *R. glomerata* (секция *Synstylae*) представленная двумя образцами, обладающими одним и тем же концевым гаплотипом 28; *R. acicularis*, *R. prattii* и *R. moyesii* (секция *Rosa*) представленные концевыми гаплотипами 31, 35 и 37, соответственно. Гаплогруппа II занимает центральное положение в сети и прямо или косвенно оказывается анцестральной для всех остальных групп.

Гаплогруппа III также представляет секцию *Pimpinellifoliae* и содержит гаплотипы от 14 до 25, выявленные у образцов *R. kokanica* из единственного местонахождения в Узбекистане.

Гаплогруппа IV представлена гаплотипами от 7 до 13, большей частью принадлежащими видам секций *Rosa* и *Synstylae*. Гаплотип 12 оказался общим для образцов, относящихся к секциям *Rosa* и *Caninae*. Два гаплотипа (11 и 12) североамериканских представителей секции *Rosa* (*R. palustris* и *R. nutkana*) также принадлежат к этой гаплогруппе.

Гаплогруппа V представлена гаплотипами от 38 до 46, выявленными у оставшихся евроазиатских и североамериканских представителей секции *Rosa*. Гаплогруппа VI представляет собой филогенетическую линию с многочисленными отсутствующими в выборке промежуточными гаплотипами, к которой относятся гаплотипы представителей олиготипных секций *Microphyllae*, *Laevigatae* и *Banksianae*. Как видно на рис. 1, при первичном анализе эта линия образовала обширную замкнутую петлю, вызванную гомоплазией, разорванную нами согласно правилам, изложенным в работе Крэндэла и Темплтона (Crandall, Templeton, 1993). Гаплотип 51 удален от этой группы на расстояние в шесть мутационных шагов и представляет собой единственный образец *R. omeiensis* (секция *Pimpinellifoliae*). Мы не включили его в состав шестой гаплогруппы, так как его положение изменчиво при разных способах анализа данных (см. ниже).

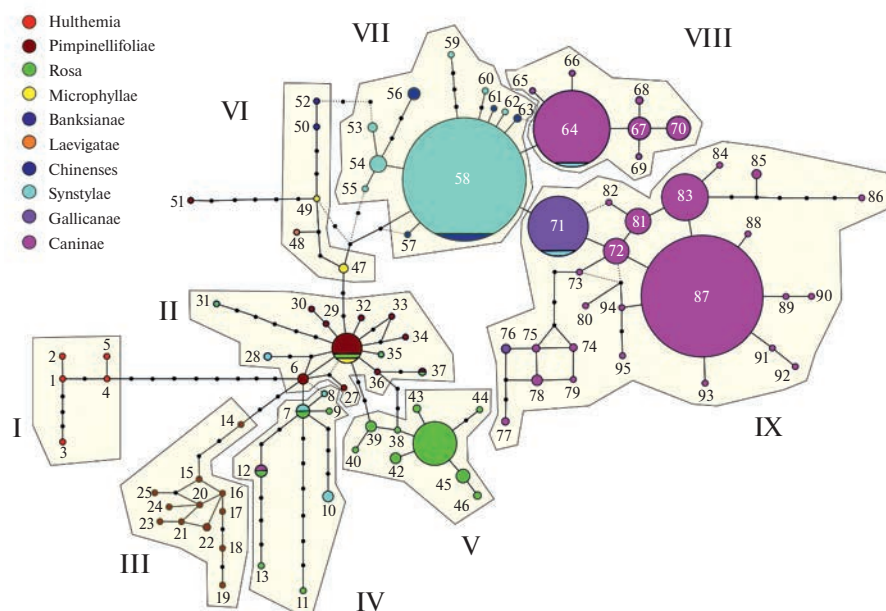


Рисунок 1. Сеть гаплотипов *ndhC-trnV* рода *Rosa*, построенная методом статистической парсимонии. Гаплогруппы обозначены римскими цифрами и околнурены. Размер кружков коррелирует с числом последовательностей, объединенных в один гаплотип. Черные точки обозначают отсутствующие промежуточные гаплотипы, не обнаруженные среди проанализированных образцов. Разрешенные замкнутые петли обозначены точечным пунктиром. Цвета гаплотипов и обозначения (в верхнем левом углу) соответствуют таксономическим секциям рода *Rosa*. Соответствие номеров гаплотипов видам и секциям приведено ниже (подробнее см. табл. 2 в Приложении):

I: 1–5: subgen. Hulthemia: 1–5 *R. persica*;

II–IX: 6–95: subgen. Rosa:

II: 6+26–37: sect. Pimpinellifoliae: 6 *R. spinosissima*; 26, 29–30, 32–34, 36 *R. kokanica*; 27 *R. koreana*; 37 *R. graciliflora* + sect. *Rosa*: 26 *R. macrophylla*; 31 *R. acicularis*; 35 *R. prattii*; 37 *R. moyesii* + sect. *Microphyllae*: 26 *R. praelucens* + sect. *Synstylae*: 28 *R. glomerata*

III: 14–25: sect. Pimpinellifoliae: 14–25 *R. kokanica*

IV: 7–13: sect. Rosa: 7 *R. caudata*, *R. davidii*; 9 *R. multibracteata*; 11 *R. palustris*; 12 *R. acicularis*, *R. nutkana*; 13 *R. acicularis* + sect. *Synstylae*: 7 *R. abyssinica*; 8 *R. glomerata*; 10 *R. multiflora*, *R. multiflora* var. *cathayensis* + sect. *Caninae*: 12 *R. canina*, *R. stylosa*, *R. sancti-andreae*

V: 38–46: sect. Rosa: 38 *R. cinnamomea*; 39 *R. pendulina*, *R. willmottiae* var. *glandulifera*, *R. fedtschenkoana*; 40 *R. fedtschenkoana*; 41 *R. amblyotis*, *R. cinnamomea*, *R. rugosa*, *R. davurica*; 42 *R. davurica*; 43–44 *R. cinnamomea*; 45 *R. arkansana*, *R. woodsii*; 46 *R. palustris*

VI: 47–52: sect. Microphyllae: 47, 49 *R. roxburghii*; + sect. *Laevigatae*: 48 *R. laevigata* + sect. *Banksianae*: 50 *R. banksiae*; 52 *R. cymosa* + sect. *Pimpinellifoliae*: 51 *R. omeiensis*

VII: 53–63: sect. Synstylae: 53 *R. degenensis*, *R. soulieana*, *R. soulieana* var. *sungpanensis*; 54 *R. derongensis*, *R. duplicata*, *R. lichiangensis*, *R. soulieana*; 58 *R. anemoniflora*, *R. brunonii*, *R. multiflora*, *R. multiflora* var. *cathayensis*, *R. filipes*, *R. fujisanensis*, *R. helenae*, *R. henryi*, *R. kwangtungensis*, *R. lasiosepala*, *R. longicuspis*, *R. luciaeae*, *R. maximowicziana*, *R. paniculigera*, *R. pricei*, *R. rubus*, *R. sambucina*, *R. shangchengensis*, *R. longicuspis* var. *sinowilsonii*, *R. transmorrisonensis*, *R. uniflorella*, *R. weisiensis*; 59 *R. shangchengensis*; 60 *R. setigera*; 62 *R. pricei* + sect. *Chinenses*: 56 *R. odorata*, *R. odorata* var. *gigantea*, *R. odorata* var. *pseudoindica*; 57 *R. odorata* var. *gigantea*; 58 *R. chinensis* var. *spontanea*, *R. chinensis* cult. 'Old Blush'; 61, 63 *R. lucidissima* + sect. *Synstylae* × sect. *Rosa*: 58 *R. × archipelagica*

VIII: 64–70: sect. Caninae: 64 *R. tomentosa*, *R. villosa*, *R. rubiginosa*, *R. elliptica*, *R. marginata*, *R. turcica*, *R. glauca*, *R. sicala*, *R. agrestis*, *R. gremlii*, *R. hungarica*; 65 *R. villosa*; 66 *R. rubiginosa*; 67 *R. rubiginosa*, *R. agrestis*, *R. micrantha*; 68 *R. × canina*, *R. pygmaea*; 69 *R. sicala*; 70 *R. rubiginosa*, *R. sicala*, *R. canina*, *R. gremlii* + sect. *Synstylae*: 64 *R. sempervirens*

IX: 71–95: sect. Caninae: 72 *R. pygmaea*, *R. corymbifera*; 73–75, 78–79 *R. pygmaea*; 77 *R. rubiginosa*; 80 *R. canina*; 81 *R. canina*, *R. pygmaea*, *R. rubiginosa*, *R. chomutoviensis*; 82 *R. pygmaea*; 83 *R. canina*, *R. pygmaea*, *R. rubiginosa*, *R. chomutoviensis*, *R. schmalhauseni*, *R. subpomifera*; 84–85 *R. canina*; 86 *R. marginata*; 87 *R. pygmaea*, *R. canina*, *R. subcanina*, *R. corymbifera*, *R. caryophyllacea*, *R. caesia*, *R. montana*, *R. cuneicarpa*; 88 *R. glauca*; 89 *R. corymbifera*; 90 *R. pygmaea*; 91–92 *R. arabica*; 93 *R. agrestis*; 94–95 *R. canina* + sect. *Gallicanae*: 71, 76 *R. gallica* + sect. *Synstylae*: 71 *R. arvensis*, *R. phoenicia*

Базальный гаплотип этой гаплогруппы (47), представленный тремя образцами *R. roxburghii*, является анцестральным для этой филогенетической линии, а также для гаплогруппы VII, представляющей большинство последовательностей секции *Synstylae* и все последовательности секции *Chinenses*. Большинство образцов, вошедших в эту гаплогруппу, относятся к разным видам обеих секций, обладающим одним и тем же внутренним гаплотипом 58.

Гаплогруппа VII и гаплотип 58, в частности, представляются анцестральными для двух филогенетических линий, представленных гаплогруппами VIII и IX. Эти гаплогруппы представлены близкородственными гаплотипами, различающимися между собой дистанциями в один мутационный шаг. К ним относится подавляющее большинство образцов видов секции *Caninae*. Гаплогруппа VIII представлена гаплотипами от 64 до 70, представляющих виды секции *Caninae* (большинство представителей подсекций *Rubigineae*, *Rubrifoliae*, *Trachyphyllae* и *Vestitae*, а также несколько последовательностей видов подсекции *Caninae*). Базальный для гаплогруппы внутренний гаплотип 64 встречается также у *R. sempervirens*, западно-евразийского представителя секции *Synstylae*. К гаплогруппе IX относятся гаплотипы от 71 до 95, представляющие оставшиеся виды секции *Caninae* (подсекция *Caninae* и меньшая часть последовательностей представителей подсекций *Rubigineae*, *Rubrifoliae*, *Trachyphyllae* и *Vestitae*) и виды секции *Gallicanae*. К ее базальному внутреннему гаплотипу 71 относится большинство последовательностей *R. gallica*, а также последовательности двух западно-евразийских видов секции *Synstylae* — *R. phoenicia* и *R. arvensis*.

Географическое распространение гаплогрупп

Картирование географического распространения гаплогрупп (с некоторыми экстраполяциями, основанными на знании ареалов ряда таксонов)

выявляет неслучайный паттерн их распространения (рис. 2).

Ареал гаплогруппы I (только *R. persica*) расположен в Средней Азии и северном Иране, достигая на востоке западного Китая. Ареал гаплогруппы II, представленной в основном членами секции *Pimpinellifoliae*, имеет центр в центральном Китае, и прерывистое распространение с очагами, разбросанными на территории СВ Китая, Российского Дальнего Востока, Средней Азии и Европы. Большинство находок приходится на китайскую провинцию Сычуань. Однако центральный и наиболее широко представленный в нашей выборке внутренний гаплотип 26 практически целиком приурочен к горам Узбекистана, с одной находкой в Синцзяне (Китай). Два других гаплотипа были встречены во Внутренней Монголии (северный Китай) и на юге Российского Дальнего Востока. Распространение гаплогруппы III, как уже упоминалось выше, ограничено единственным местонахождением *R. kokanica* в Узбекистане (Приложение табл. 2). Распространение гаплотипов группы IV охватывает умеренную зону Евразии и Северной Америки, достигая Аравийского полуострова и северо-восточной Африки на юге. Оно, однако, неравномерно, и большая часть находок происходит из юго-восточного Китая (провинции Сычуань, Чунцин, Гуйчжоу и Аньхой). Распространение данной гаплогруппы в Северной Америке не вполне ясно, так как в нашей выборке присутствуют только два образца с атлантического и тихоокеанского побережий. Гаплогруппа V является наиболее широко распространенной, практически по всей северной Евразии и Северной Америке. Ее ареал состоит из нескольких отдельных участков в северной Евразии с наиболее удаленным южным фрагментом в Китае в провинции Сычуань. Распространение гаплогруппы VII ограничено юго-восточным Китаем, с центром в провинциях Юннань и Сычуань. Только гаплотип 49 распространен на

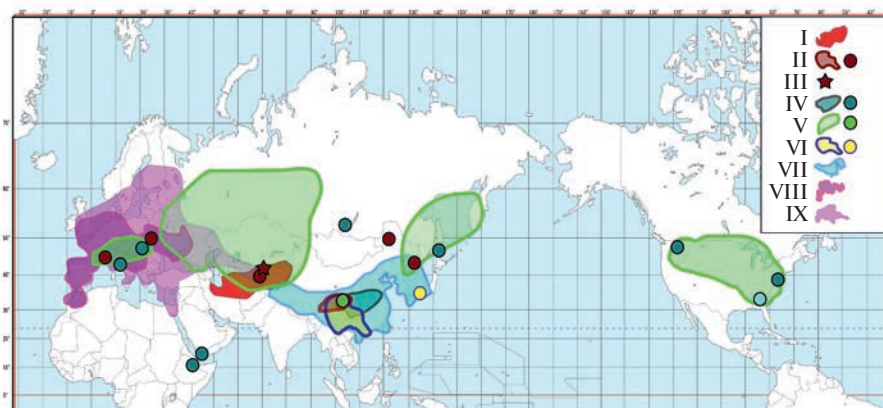


Рисунок 2. Географическое распространение основных гаплогрупп в роде *Rosa*. Цвета соответствуют номерам гаплогрупп на рис. 1 и показаны на легенде в верхнем правом углу.

юге Японии (*R. roxburghii* var. *hirtula*). Гаплогруппы группы VII распространены по всему южному и центральному Китаю, достигая северного Пакистана на западе, южной Японии на востоке, и юга Российского Дальнего Востока на северо-востоке. Эта гаплогруппа обладает дизъюнктивным ареалом с оторванным от основной его части фрагментом в юго-восточной части Северной Америки (*R. setigera*). Гаплогруппа VIII приурочена в своем распространении к Европе, в юго-западной части ареала достигая Атласских гор в северной Африке. Ареал гаплогруппы IX в основном совпадает с предыдущей гаплогруппой, однако он шире, глубже продвигаясь на север, достигая Средней Азии на востоке и Синайского полуострова на юго-востоке.

Анализ гаплогруппов *ndhC-trnV* методом NeighborNet

Так как внешнюю группу не удалось включить в сеть гаплотипов *ndhC-trnV* для рода *Rosa* из-за превышения рассчитанного программой TCS предельного числа мутационных шагов допускаящих парсимоническое решение, для укоренения сети потребовалось определение корневого гаплотипа. Анализ видового выравнивания в *raxmlGUI* дал плохо разрешенное дерево с низкой или нулевой поддержкой большинства ветвей (не показано). Анализ выравнивания гаплотипов в *SplitTree4* с помощью алгоритма NeighborNet построил сплитграф на котором гаплотипы 1–5 *R. persica* оказались ближайшими к внешней группе (рис. 3). Это позволило нам укоренить сеть гаплотипов, построенную в TCS, на гаплогруппу I, представленную гаплотипами *R. persica* (рис. 1).

Хотя этот анализ был проведен нами, главным образом, с целью укоренения сети, следует отметить, что он выявил примерно те же группы гаплотипов, что и анализ методом статистической парсимонии (рис. 3).

На сплитграфе выделяются три основные группы гаплотипов. Наиболее рано дивергировавшая группа гаплотипов образована плохо разрешенным пучком ветвей, соответствующим гаплогруппам с I по V и представляющих, главным образом, последовательности образцов видов секций *Pimpinellifoliae* и *Rosa*. Среди них, гаплогруппа I, представляющая подрод *Hulthemia*, выглядит расположенной ближе к внешней группе, чем все остальные. Гаплотип 51, располагающийся на длинной ветви, соединенной с гаплогруппой VI в сети TCS, на сплитграфе оказался среди ветвей гаплогрупп II и IV. Терминальная группа объединяет гаплотипы групп с VII по IX, представляющих последовательности образцов видов секций *Synstylae*, *Chinenses*, *Gallicanae* и *Caninae* и расположена дальше всех от внешней группы. Гаплогруппа VI, представляющая последовательности видов секций *Microphyllae*, *Banksianae* и *Laevigatae* расположена между ними.

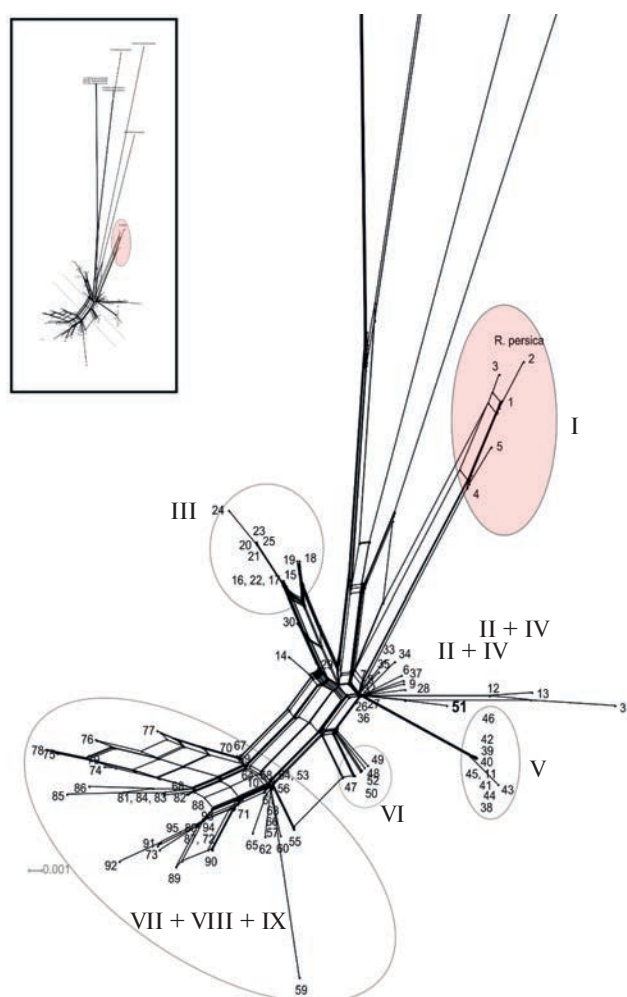


Рисунок 3. Сплитграф NeighborNet гаплотипов *ndhC-trnV* рода *Rosa*. Номера гаплотипов приведены в табл. 2 Приложения. Римские цифры обозначают гаплогруппы, как на рис. 1. Гаплогруппа I выделена закрашенным эллипсом, как корневая. Гаплотип 51 (*R. omeiensis*) выделен полужирным шрифтом, как занимающий иное положение в сети гаплотипов TCS.

Анализ полных последовательностей пластидных геномов

Для независимой проверки наших результатов мы проанализировали выравнивание 45 полных пластидных геномов шиповников. Полные пластидные геномы 45 образцов *Rosa* принадлежали к 29 видам и были получены из базы данных GenBank вместе с 10 полными геномами внешней группы. Последовательности видов *Rosa* варьировали по длине от 156333 до 157391 п.н. Выравнивание было обрезано в программе BMGE для удаления ненадежно выровненных участков и в окончательном виде составило 155119 позиций. Анализ методом максимального правдоподобия в программе *raxmlGUI* построил полностью

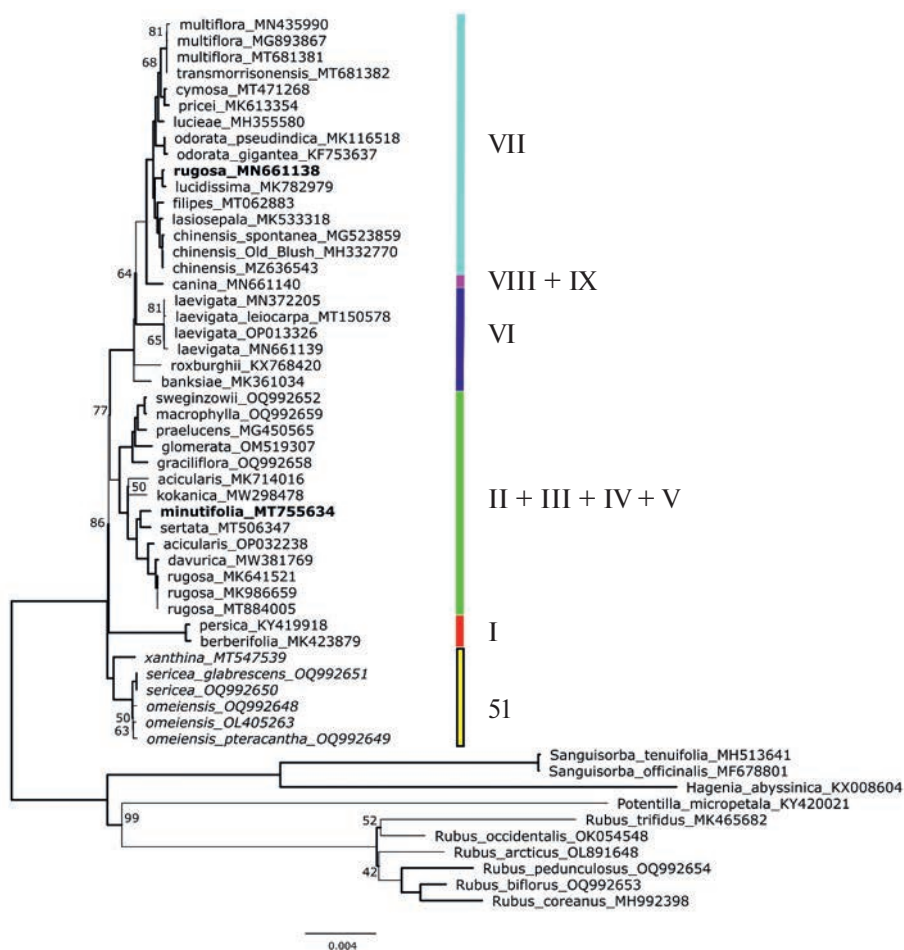


Рисунок 4. Филогенетическое дерево рода *Rosa*, построенное методом максимального правдоподобия по данным полных последовательностей пластидных геномов. Цвета и римские цифры справа обозначают группы гаплотипов и соответствуют гаплогруппам *ndhC-trnV* на рис. 1. Бутстреп поддержки выше 50% показаны над ветвями. Ветви, выделенные жирным, указывают на бутстреп поддержки 100%. Цифра 51 справа от первой дивергирующей клады соответствует номеру гаплотипа *R. omeiensis* в сети гаплотипов на рис. 1, 3. Жирным шрифтом выделены названия неверно таксономически идентифицированных образцов.

разрешенное дерево с хорошими поддержками ветвей (рис. 4), в котором клада *R. persica* (подрод *Hulthemia*) оказалась сестринской по отношению ко всем остальным представителям рода *Rosa*, за исключением последовательностей *R. xanthina*, *R. sericea* и *R. omeiensis*. Последние образовали наиболее рано дивергировавшую кладу, в нашем анализе гаплотипов *ndhC-trnV* представленную только гаплотипом 51 *R. omeiensis*. Положение на дереве (рис. 4) пластов *R. minutifolia* MT755634 в кладе, объединяющей представителей секций *Rosa* и *Pimpinellifoliae*, и *R. rugosa* MN661138 в кладе, объединяющей представителей секций *Synstylae* и *Chinenses*, вероятно, объясняется неверной таксономической идентификацией исходного материала (Zhao, Gao, 2020; Yin *et al.*, 2020).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Укоренение сети

Процедура укоренения критически важна в филогенетических исследованиях, так как топология филогенетического дерева полностью зависит от положения корня (Kinene *et al.*, 2016). Неукорененное дерево или сеть может лишь отграничить отдельные клады, но не может определить их эволюционные отношения. На наиболее хорошо разрешенном дереве семейства *Rosaceae* (Zhang *et al.*, 2017) род *Rosa* является сестринским для клады *Potentilleae*, включающей роды *Potentilla*, *Alchemilla*, *Fragaria*, *Chamaerhodos*, *Dryocallis* и *Sibbaldia*. Эта клада, в свою очередь, является сестринской

по отношению к кладе Agrimonieae. Клада *Rubus* является сестринской по отношению ко всей этой группе. Мы в нашем исследовании гаплотипов *ndhC-trnV* использовали множественную внешнюю группу и установили, что при анализе методом NeighborNet ближайшей к ней оказалась клада, представленная гаплотипами *R. persica* (рис. 3). Проверка этого результата на выборке 45 полных пластидных геномов, в которой были представлены большинство секций рода *Rosa*, подтвердила этот вывод (рис. 4). В нашем анализе, так же как в других филогенетических реконструкциях, основанных на анализе полных пластидных геномов (Cui *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022), клада *R. persica* оказалась сестринской по отношению к большинству других групп *Rosa*, хотя и не наиболее рано дивергировавшей. В работе Жанга с соавт. (Zhang *et al.*, 2022) наиболее рано дивергировавшей оказалась клада *R. minutifolia* (секция Minutifoliae), следующей рано дивергировавшей кладой, как и в нашем анализе, оказалась клада *R. xanthina* – *R. omeiensis*, и только после нее дивергировала *R. persica*. Этот результат отличается от реконструкции Фужере-Данезан с соавт. (Fougère-Danezan *et al.*, 2015), у которых при анализе пластидных данных клада *R. xanthina* – *R. omeiensis* оказалась поздно дивергировавшей и включенной в их большую кладу ‘C and allies clade’. Тем не менее, анализ разнообразных топологий деревьев, построенных как по отдельным пластидным маркерам, так и по полным пластомам в цитированных выше работах убеждает в правильности укоренения нашей сети на гаплогруппу I.

Основные таксономические группы шиповников

Таким образом, *R. persica* и, вероятно, также североамериканские *R. minutifolia* и *R. stellata* (секция Minutifoliae: не анализировалась в нашем исследовании), могут представлять собой наиболее рано дивергировавших представителей рода *Rosa*. Их родство было реконструировано в двух филогенетических исследованиях рода (Wissemann, Ritz, 2005; Fougère-Danezan *et al.*, 2015). Мы полагаем, что эти виды могут быть единственными сохранившимися до наших дней потомками древней и в настоящее время практически вымершей группы шиповников, широко распространенной в северном полушарии в олигоцене (Becker, 1963; Kvaček, Walther, 2004; Kellner *et al.*, 2012). Хотя они морфологически не схожи друг с другом и ранее помещались в два разных подрода, *Hulthemia* и *Hesperhodos*, соответственно, у них все же есть ряд сходных черт. Гипантии у всех трех видов обладают необычно широкими отверстиями (до 4–5 мм) и снаружи покрыты длинными острыми щетинками. У видов из других клад гипантии гораздо более закрытые, с отверстиями, не превышающими 2–3 мм в диаметре. Исключение, которое мы обсуждаем ниже, составляет только *R. roxburghii*.

Гаплотип 6 (*R. spinosissima*) является корневым для двух гаплогрупп, или филогенетических линий III и IV. Линия III в нашем исследовании представлена исключительно гаплотипами *R. kokanica*, желтоцветкового вида из Средней Азии. Необычное гаплотипическое разнообразие этого вида, представленного 12 гаплотипами, заслуживает специального исследования. Мы предполагаем, что оно могло возникнуть вследствие длительной изоляции популяций этого вида в предгорьях Тань-Шаня во время плейстоценовых оледенений. Линия, или гаплогруппа, IV представлена 7 гаплотипами видов, относящихся к секциям *Rosa*, *Synstylae* и *Caninae*, распространенных в разных частях обширного ареала рода, а также большим числом промежуточных гаплотипов отсутствующих в выборке. Вероятно, это остатки какой-то древней группы гаплотипов, большая часть которой в настоящее время вымерла, сохранившиеся отчасти вследствие гибридизации.

Таким образом, в нашем исследовании гаплотип 6 оказывается базальным по отношению к гаплогруппам III и IV и корневым для гаплогруппы II, отличаясь единственной мутацией от ее центрального и наиболее широко распространенного гаплотипа 26. Последний занимает центральное положение не только в своей гаплогруппе, но и во всей сети. Фактически, он является корневым для двух основных филогенетических линий *Rosa*, представленных, с одной стороны, гаплогруппой V, объединяющей большинство представителей секции *Rosa*, а с другой – всеми оставшимися гаплогруппами с VI по IX, объединяющих представителей секций *Microphyllae*, *Banksianae*, *Laevigatae*, *Synstylae*, *Gallicanae* и *Caninae*.

Последовательности представителей секции *Pimpinellifoliae* представлены только в группах II и III, в то время как основная масса последовательностей видов секции *Rosa* принадлежат группам VI и V. Тем не менее, гаплотипы нескольких видов секции *Rosa*, таких как *R. prattii*, *R. moyesii*, *R. acicularis* и *R. macrophylla*, принадлежат к гаплогруппе II. Это может быть объяснено как неполной сортировкой филогенетических линий, как в случае *R. macrophylla* (внутренний гаплотип 26), так и гибридизацией или ошибочной секционной идентификацией в случае трех других видов (концевые гаплотипы 31, 35, 37). В частности, *R. acicularis* в нашей сети представлена неродственными или отдаленно родственными гаплотипами 12, 13, 31, что можно объяснить гибридизацией и вымиранием большей части гаплотипов этого циркумбореального высокополиплоидного вида в ледниковое время, который заслуживает специального исследования на адекватно большем материале. Присутствие внутреннего гаплотипа 26 у *R. praelucens* (секция *Microphyllae*), другого высокополиплоидного (декаполиплоидного: $2n = 10x = 70$; Jian *et al.*, 2010) вида эндемичного для китайской провинции Юннань, вероятнее всего может быть связано с гибридизацией, возможно, неоднократно, с видами секций *Rosa* и/или *Pimpinellifoliae*.

(Fougère-Danezan *et al.*, 2015). Морфологически этот вид очень сходен с диплоидной *R. roxburghii*, однако на филогенетических деревьях, построенных по пластидным маркерам, регулярно оказывается в составе клады, общей с видами секции *Rosa* (Fougère-Danezan *et al.*, 2015; Cui *et al.*, 2022). Концевые гаплотипы 8, 10, 28, представленные у видов секции *Synstylae*, также вероятнее всего присутствуют в гаплогруппах II и IV в результате событий гибридизации видов этой секции с представителями секций *Pimpinellifoliae* и *Rosa*. Особо следует отметить нестабильное положение в сети и на сплитграфе гаплотипа 51, представленного у *R. omeiensis*. В нашем исследовании это была единственная последовательность представителя китайских видов секции *Pimpinellifoliae*, к которым относятся также *R. sericea* и *R. xanthina*. При анализе полных пластидных геномов эта группа часто оказывается наиболее рано дивергировавшей. Все это говорит о неоднородности секции *Pimpinellifoliae*, включающей в себя, вероятно, различных потомков исходной группы шиповников, морфологическое сходство которых может быть обусловлено общими плезиоморфиями.

Гаплогруппы с VII по IX объединяют последовательности видов секций *Synstylae*, *Chinenses*, *Gallianae* и *Caninae*. Эти гаплогруппы, вероятно, произошли от гаплогруппы II, занимающей центральное положение в нашей сети гаплотипов. Гаплогруппа VI расположена между ними и, вероятно, включает остатки в настоящее время почти вымершей группы шиповников, промежуточной между секциями *Pimpinellifoliae* и *Synstylae*. Отношения между гаплотипами этой группы менее определены из-за присутствия множественных промежуточных гаплотипов, отсутствующих в выборке. Тем не менее, в соответствии с этими результатами, *R. roxburghii* (секция *Microphyllae*, гаплотип 47) представляется анцестральной для видов секций *Banksianae* и *Laevigatae*. Эти виды также обладают широко раскрытыми гипантиями с большим отверстием, признаком примитивным с морфологической точки зрения.

Гаплогруппа VII включает большинство видов секции *Synstylae* и все виды секции *Chinenses*. Последняя отличается от первой главным образом свободными столбиками: у видов секции *Synstylae* столбики, сросшиеся в общую колонку. Хотя у видов этой секции они и свободны, однако далеко выступают из узкого отверстия гипантия, сильно напоминая этой чертой членов секции *Synstylae*. Все образцы *R. chinensis* обладают внутренним гаплотипом 58, общим с большинством видов секции *Synstylae*; *R. odorata* представлена концевыми гаплотипами 56 и 57, а *R. lucidissima* — концевыми гаплотипами 61 и 63, все из которых являются производными от гаплотипа 58. Таким образом, секция *Chinenses* не образует монофилетической группы и, вероятно, должна рассматриваться в рамках секции *Synstylae*.

Гаплотипы секции *Caninae* образуют две отчетливо различные филогенетические линии

(гаплогруппы VIII и IX) производные от гаплотипа 58, т.е. от секции *Synstylae*. В обоих случаях базальные внутренние гаплотипы 64 и 71 этой секции являются общими также и для западно-евразийских видов секции *Synstylae*. В случае гаплогруппы VIII это *R. sempervirens*, распространенная в Средиземноморье. В случае гаплогруппы IX это европейская *R. arvensis* и западно-азиатская *R. phoenicia*, обладающие гаплотипом 71, общим также и для *R. gallica* из секции *Gallianae*. Это подтверждает предшествующие результаты других авторов (Fougère-Danezan *et al.*, 2015; Zhu *et al.*, 2015), у которых западно-азиатские и европейские виды секции *Synstylae* также оказались в тех же кладах, что и виды секции *Caninae*. Тот факт, что западные виды секции *Synstylae* обладают базальными внутренними гаплотипами, принадлежащими к двум ветвям секции *Caninae* делает их или их непосредственных предков вероятными анцестральными видами этой секции. Таким образом, характерный для секции *Caninae* специфический тип гетерогамного мейоза независимо возникал в ходе эволюции этой группы по крайней мере дважды. Этот результат подтверждается также детальными цитогенетическими исследованиями нескольких западноевропейских представителей секции *Caninae* (Herklötz *et al.*, 2018; Lunerová *et al.*, 2020).

Особенности эволюции рода *Rosa*

Результаты проведенного нами анализа выявляют в широком смысле парафилетические отношения между основными крупными таксономическими группами шиповников: группа *Synstylae*—*Caninae* (гаплогруппы с VII по IX), так же, как и *Rosa* (гаплогруппы III и V) представляет собой потомка группы *Pimpinellifoliae* (гаплогруппы II и IV).

Эти заключения подтверждаются географическим распространением гаплогрупп и таксономических секций (рис. 2). Гаплогруппа I и виды секции *Minutifoliae* распространены дизъюнктивно в Средней Азии и на западе Северной Америки, соответственно. Мы полагаем, что подобный характер ареала этой группы подтверждает ее реликтовую природу. В ископаемом состоянии шиповники встречаются с верхнего эоцена, причем в олигоцене представители рода присутствуют в многочисленных местонахождениях как в Азии, так и в Европе и Северной Америке (Becker, 1963; Kvaček, Walther, 2004; Kellner *et al.*, 2012). Однако остатки представлены, главным образом, отдельными листочками сложных листьев, шипами, и в единичных случаях цветками, плодами или сложными листьями, что не позволяет идентифицировать их точнее, чем до уровня рода. Молекулярное датирование филогенетического дерева в работе Фужере-Данезан с соавторами (Fougère-Danezan *et al.*, 2015) не противоречит этим данным. Согласно ему, диверсификация главных клад произошла в среднем—верхнем олигоцене. В это же время происходит дивергенция

клады *R. minutifolia* — *R. persica*. Диверсификация современных секций произошла в миоцене — плиоцене. Таким образом, олигоценные находки не могут быть сопоставлены с современными секциями, а рано дивергировавшие *R. minutifolia* и *R. persica*, вероятно, представляют собой потомков вымершей первичной группы роз. Гаплогруппы со II по V, представленные видами таксономических секций *Pimpinellifoliae* и *Rosa*, широко распространены в Евразии и Северной Америке. Хотя виды первой из секций в Северной Америке отсутствуют, в Евразии их ареал обширен, хотя и тоже имеет прерывистый характер. Мы полагаем, что такой характер ареала указывает на длительное присутствие представителей этой секции на данной территории.

Географическое распространение гаплогрупп с VII по IX, представленных видами секций *Synstylae*, *Chinenses*, *Galicanae* и *Caninae*, напротив, является непрерывным (за исключением североамериканской *R. setigera* из секции *Synstylae*) и менее широким. Ареал секции *Synstylae* ограничен преимущественно южным и восточным Китаем с несколькими видами, достигшими в своем распространении западной Азии и Европы. Ареал секции *Caninae* ограничен Европой и Западной и Средней Азией. Олиготипные секции *Chinenses* и *Galicanae* обладают небольшими ареалами, включенными в более обширные ареалы соответствующих гаплогрупп. Подобный тип ареалов указывает на относительную молодость перечисленных секций, возникновение которых согласно результатам молекулярного датирования не превышает плиоценового времени, т.е. 5–6 млн лет назад (Fougère-Danezan *et al.*, 2015).

Таким образом, результаты нашего исследования приводят нас к заключению, что в пересмотре нуждается не система рода *Rosa*, как таковая, которая достаточно адекватно отражает существующие группы родства, а таксономическое положение отдельных видов. Наименее изученная в таксономическом и филогенетическом отношении секция *Pimpinellifoliae* представляется нам анцестральной для всех остальных секций рода, за исключением потомков наиболее древней и практически вымершей группы, представленной в настоящее время двумя североамериканскими (виды секции *Minutifoliae*) и одним центральноазиатским (*R. persica*) видом. Парафилия большинства групп связана с их недавним возникновением и быстрой диверсификацией, сопровождавшимися активной гибридизацией между молодыми видами, вследствие чего предковые группы не вымерли и существуют в настоящее время наряду со своими потомками.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование было выполнено в рамках государственного задания Главного ботанического сада им. Н. В. Цицина РАН № 122042700002-6

и, отчасти, поддержано грантами РФФИ № 16-04-01390 и 19-04-01308. Авторы также благодарны Министерству науки и высшего образования РФ за финансовую поддержку Центра коллективного пользования “Гербарий ГБС РАН”, грант № 075-15-2021-678.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарны следующим коллегам за помощь в сборе или получении образцов из различных природных местонахождений: К. Тоджибаеву (Ботанический институт НАН, Узбекистан), Г. Шрамко (Университет Дебрецена, Венгрия), Е. А. Чубарь (Национальный научный центр морской биологии, Россия), Ю. К. Виноградовой (ГБС РАН, Россия), В. Херклотцу (Шенкенбергский естественноисторический музей, Германия), В. М. Остапко (Донецкий ботанический сад, ДНР), А. А. Кагало (Институт экологии Карпат НАН, Украина), И. Бартишу (Институт ботаники, Чехия), М. Г. Пименову (МГУ им. М. В. Ломоносова, Россия), А. Элькорди (Соханский университет, Египет), а также кураторам Гербариев МНА, LE, KW, B, BP, DE за возможность изучения и деструктивного отбора материала.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бузунова И. О. *Rosa* L. // Флора Восточной Европы / Ред. Цвелев Н. Н. С.-Пб.: Мир и семья, 2001. Т. 10. С. 329–361.
- Шанцер И. А. Филогения и систематика недавно дивергировавших групп на примере рода *Rosa* // Труды Зоологического института РАН. 2011. Приложение № 2. С. 202–216.
- Шанцер И. А., Вагина А. В., Остапко В. М. Критическое исследование шиповников (*Rosa* L.) заповедника “Хомутовская степь” // Бюлл. Моск. о-ва исп. прир., отд. биол. 2011. Т. 116. Вып. 3. С. 38–49.
- Borchsenius F. FastGap 1.2. Department of Biosciences, Aarhus University, Denmark. 2009. Published online at http://www.aubot.dk/FastGap_home.htm
- Becker H. F. The fossil record of the genus *Rosa*. Bulletin of the Torrey Botanical Club. 1963. V. 90. P. 99–110.
- Bruneau A., Starr J. R., Joly S. Phylogenetic relationships in the genus *Rosa*: new evidence from plastid DNA sequences and an appraisal of current knowledge // Syst. Bot. 2007. V. 32. № 2. P. 366–378. doi:10.1600/036364407781179653
- Chen M., Zhang C., Gao X. The complete plastid genome sequence of *Rosa praeceps* (Rosaceae) // Mitochondrial DNA Part B. 2019. V. 4. № 1. P. 1918–1919. doi:10.1080/23802359.2019.1611394
- Chen X., Liu Y., Sun J., Wang L., Zhou S. The complete plastid genome sequence of *Rosa acicularis* in Rosaceae // Mitochondrial DNA Part B. 2019. V. 4. № 1. P. 1743–1744. doi:10.1080/23802359.2019.1610100

- Clement M., Posada D., Crandall K.A. TCS: a computer program to estimate gene genealogies // *Molec. Ecol.* 2000. V. 9. P. 1657–1659.
doi: 10.1046/j.1365-294x.2000.01020.x
- Crandall K.A., Templeton A.R. Empirical tests of some predictions from coalescent theory with applications to intraspecific phylogeny reconstruction // *Genetics*. 1993. V. 134. P. 959–969.
doi:10.1093/genetics/134.3.959
- Crépin F. Nouvelle classification des roses // *Extrait du Journal des Roses*. Drosne: Melun E., 1891. V. 3–5. P. 3–30.
- Crépin F. *Primitiae monographiae Rosarum*. Matériaux pour servir à l'histoire des Roses. Gand, Marché aux Grains: Annoot-Braeckman, 1869.
- Criscuolo A., Gribaldo S. BMGE (block mapping and gathering with entropy): a new software for selection of phylogenetic informative regions from multiple sequence alignments // *B.M.C. Evol. Biol.* 2010. V. 10: 210.
doi:10.1186/1471-2148-10-210
- Cui W.H., Zhong M.C., Du X.Y., Qu X.J., Jiang X.D., Sun Y.B., Wang D., Sui-Yun Chen S.Y., Hu J.Y. The complete plastid genome sequence of a rambler rose, *Rosa wichuraiana* (Rosaceae) // *Mitochondrial DNA Part B* 2020. V. 5. № 1. P. 252–253.
doi:10.1080/23802359.2019.1700198
- Cui W.H., Du X.Y., Zhong M.C., Fang W., Suo Z.Q., Wang D., Dong X., Jiang X.D., Hu J.Y. Complex and reticulate origin of edible roses (*Rosa*, Rosaceae) in China // *Horticulture Research*. 2022. V. 9: uhab051.
doi:10.1093/hr/uhab051
- Debray K., Marie-Magdelaine J., Ruttink T., Clotault J., Foucher F., Malécot V. Identification and assessment of variable single-copy orthologous (SCO) nuclear loci for low-level phylogenomics: a case study in the genus *Rosa* (Rosaceae) // *BMC Evol. Biol.* 2019. V. 19: 152.
doi:10.1186/s12862-019-1479-z
- Eddler D., Klein J., Antonelli A., Silvestro D. raxmlGUI 2.0 beta: a graphical interface and toolkit for phylogenetic analyses using RAxML // *bioRxiv*. 2019.
doi:10.1101/800912
- Eriksson T., Hibbs M.S., Yoder A.D., Delwiche C.F., Donoghue M.J. The phylogeny of Rosoideae (Rosaceae) based on sequences of the internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA and the *trnL*/F region of plastid DNA. // *Int. J. Pl. Sci.* 2003. V. 164. № 2. P. 197–211.
doi:10.1086/346163
- Fedorova A.V., Schanzer I.A., Kagalo A.A. Local differentiation and hybridization in populations of wild roses in W Ukraine // *Wulfenia*. 2010. V. 17. P. 99–115.
- Fougère-Danezan M., Joly S., Bruneau A., Gao X.F., Zhang L.B. Phylogeny and biogeography of wild roses with specific attention to polyploids // *Ann. Bot. (Oxford)*. 2015. V. 115. P. 275–291.
doi:10.1093/aob/mcu245
- Gurushidze M., Fritsch R.M., Blattner F.R. Species-level phylogeny of *Allium* subgenus *Melanocrommyum*: Incomplete lineage sorting, hybridization and *trnF* gene duplication // *Taxon*. 2010. V. 59. № 3. P. 829–840.
doi: 10.2307/25677671
- Hall T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // *Nucleic Acids Symposium Series*. 1999. V. 41. P. 95–98.
- Henker H. 25. *Rosa*. / *Gustav Hegi – Illustrierte Flora von Mitteleuropa*, 2nd ed. Weber H. E. (Ed.). Berlin: Parey Buchverlag, 2003, B. 4. T. 2C. P. 1–108.
- Herklotz V., Kovařík A., Lunerová J., Lippitsch S., Groth M., Ritz C.M. The fate of ribosomal RNA genes in spontaneous polyploid dogrose hybrids [*Rosa* L. sect. *Caninae* (DC.)Ser.] exhibiting non-symmetrical meiosis // *Plant J.* 2018. V. 94. P. 77–90.
doi: 10.1111/tpj.13843
- Hudson R. R. Gene genealogies and the coalescent process // *Oxford Surv. Evol. Biol.* 1990. V. 7. P. 1–44.
- Huson D. H. SplitsTree: A program for analyzing and visualizing evolutionary data // *Bioinformatics*. 1998. V. 14. P. 68–73.
- Huson D. H., Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies // *Molec. Biol. Evol.* 2006. V. 23. P. 254–267.
- International code of botanical nomenclature (Vienna code) / Eds McNeil J., Barrie C.F.R., Burdet H.M. et al. Ruggell, Liechtenstein: Gantner Verlag, 2006. 568 p.
- International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen, China, July 2017. / Eds Turland N.J., Wiersema J.H., Barrie F.R., Greuter W., Hawksworth D.L., Herendeen P.S., Knapp S., Kusber W.-H., Li D.-Z., Marhold K., May T.W., McNeill J., Monro, A.M., Prado J., Price, M.J., Smith G. F. // *Regnum Veg.* 2018. V. 159. Glashütten: Koeltz Botanical Books, 2018.
doi:10.12705/Code.2018
- Jacob S.S., Blattner F.R. A plastid genealogy of *Hordeum* (Poaceae): long-term persisting haplotypes, incomplete lineage sorting, regional extinction, and the consequences for phylogenetic inference // *Molec. Biol. Evol.* 2006. V. 23. № 8. P. 1602–1612.
doi:10.1093/molbev/msl018
- Jeon J.-H., Kim S. C. Comparative analysis of the complete chloroplast genome sequences of three closely related East-Asian wild roses (*Rosa* sect. *Synstylae*, Rosaceae) // *Genes (Basel)*. 2019. V. 10. № 1: 23.
doi:10.3390/genes10010023
- Jian H.-Y., Zhang H., Tang K.-X., Li S.-F., Wang Q.-G., Zhang T., Qiu X.-Q., Yan H.-J. Decaploidy in *Rosa praelucens* Byhouwer (Rosaceae) endemic to Zhongdian Plateau, Yunnan, China // *Caryologia*. 2010. V. 63. P. 162–167.
- Jian H. Y., Zhang Y. H., Yan H. J., Qiu X. Q., Wang Q. G., Li S. B., Zhang S. D. The complete plastid genome of a key ancestor of modern roses, *Rosa chinensis* var. *spontanea*, and a comparison with congeneric species // *Molecules*. 2018a. V. 23: 389.
doi:10.3390/molecules23020389
- Jian H. Y., Zhang S., Zhang T., Qiu X. Q., Yan H. J., Li S. B., Wang Q. G., Tang K. X. Characterization of the complete plastid genome of a critically endangered

- decaploid rose species, *Rosa praelucens* (Rosaceae) // Conservation Genet. Resources. 2018b. V. 10. P. 851–854.
doi:10.1007/s12686-017-0946-3
- Katoh K., Misawa K., Kuma K., Miyata T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform // Nucl. Acids Res. 2002. V. 30. P. 3059–3066.
doi: 10.1093/nar/gkf436
- Katoh K., Standley D. M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability // Molec. Biol. Evol. V. 2013. V. 30. P. 772–780.
doi: 10.1093/molbev/mst010
- Kellner A., Benner M., Walther H., Kunzmann L., Wissemann V., Ritz C. M. Leaf architecture of extant species of *Rosa* L. and the Paleogene species *Rosa lignitum* Heer (Rosaceae) // International Journal of Plant Sciences. 2012. V. 173. № 3. P. 239–250.
- Kinene T., Wainaina J., Maina S., Boykin L. M. Rooting trees, methods for. / Encyclopedia of Evolutionary Biology. Ed. Kliman R. M. Oxford: Academic Press, 2016. V. 3. P. 489–493.
- Kláštěský I. *Rosa* L. / Flora Europaea. Eds Tutin T. et al. Cambridge: Cambridge University Press: 1968. V. 2. P. 25–32.
- Koopman W. J. M., Wissemann V., De Cock K., Van Huylensbroeck J., De Riek J., Sabatino G. J. H., Visser D., Vosman B., Ritz C. M., Maes B., Werlemark G., Nybom H., Debener T., Linde M., Smulders M. J. M. AFLP markers as a tool to reconstruct complex relationships: a case study in *Rosa* (Rosaceae) // Amer. J. Bot. 2008. V. 95. № 3. P. 353–366.
doi: 10.3732/ajb.95.3.353
- Ku T. C., Robertson K. R. *Rosa* Linnaeus / Flora of China. Eds Wu C. Y., Raven P. H. Beijing/St. Louis: Science Press/Missouri Botanical Garden Press, 2003. V. 9. P. 339–381.
- Kvaček Z., Walther H. Oligocene flora of Bechlejovice at Děčín from the neovolcanic area of the České středohoří Mountains, Czech Republic // Acta Mus. Nat. Pragae, Ser. B, Hist. Nat. 2004. V. 60. № 1–2. P. 9–60.
- Lewis W. H., Ertter B., Bruneau A. *Rosa* L. // Flora of North America North of Mexico / Eds Editorial Committee. V. 9. Available online: http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=1&taxon_id=128746. (Accessed: 10.11.2022)
- Linnaeus C. Species Plantarum. Holmiae: Impensis Laurentii Salvii, 1753. V. 1. P. 491–492.
- Liu C., Wang G., Wang H., Xia T., Zhang S., Wang Q., Fang Y. Phylogenetic relationships in the genus *Rosa* revisited based on *rpl16*, *trnL-F*, and *atpB-rbcL* sequences // Hort. Sci. 2015. V. 50. № 11. P. 1618–1624.
- Lunerová J., Herklotz V., Laudien M., Vožárová R., Groth M., Kovařík A., Ritz C. M. Asymmetrical canina meiosis is accompanied by the expansion of a pericentromeric satellite in non-recombining univalent chromosomes in the genus *Rosa* // Ann. Bot. (Oxford). 2020. V. 125. № 7. P. 1025–1038.
doi:10.1093/aob/mcaa028
- Meng J., Fougère-Danezan M., Zhang L.-B., Li D.-Z., Yi T.-S. Untangling the hybrid origin of the Chinese tea-roses: evidence from DNA sequences of single-copy nuclear and chloroplast genes // Plant Syst. Evol. 2011. V. 297. P. 157–170.
doi:10.1007/s00606-011-0504-5
- Meng J., Jiang H., Linna Zhang L., He J. Characterization of the complete plastid genome of an important Chinese Old Rose *Rosa odorata* var. *pseudindica*. // Mitochondrial DNA Part B. 2019. V. 4. № 1. P. 679–680.
doi:10.1080/23802359.2019.1572469
- Peterson A., Harpke D., Peterson J., Harpke A., Peruzzi L. A pre-Miocene Irano-Turanian cradle: Origin and diversification of the species-rich monocot genus *Gagea* (Liliaceae). // Ecol. & Evol. 2019. V. 9. № 10. P. 5870–5890.
doi:10.1002/ece3.5170
- Plants of the World online (POWO). Available online: <http://plantsoftheworldonline.org/> (Accessed 7 August 2022).
- Potter D., Gao F., Bortiri P. E., Oh S.-H., Baggett S. Phylogenetic relationships in Rosaceae inferred from chloroplast *matK* and *trnL-trnF* nucleotide sequence data // Plant Syst. Evol. 2002. V. 231. P. 77–89.
doi:10.1007/s006060200012
- Rehder A. *Rosa* L. / Rehder A. Manual of cultivated trees and shrubs hardy in North America, 2nd ed., New York: Macmillan, 1949. P. 426–451. Ritz C. M., Schmutz H., Wissemann V. Evolution by reticulation: European dogroses originated by multiple hybridization across the genus *Rosa* // J. Heredity. 2005. V. 96. № 1. P. 4–14.
- Schanzer I. A., Fedorova A. V., Galkina M. A., Chubar E. A., Rodionov A. V., Kotseruba V. V. Is *Rosa* × *archipelagica* (Rosaceae, Rosoideae) really a spontaneous intersectional hybrid between *R. rugosa* and *R. maximowicziana*? Molecular data confirmation and evidence of paternal leakage // Phytotaxa. 2020. V. 428. № 2. P. 93–103.
doi:10.11646/phytotaxa.428.2.3
- Shaw J., Lickey E. B., Schilling E. E., Small R. L. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: The tortoise and the hare III. // Am. J. Bot. 2007. V. 94. № 3. P. 275–288.
doi:10.3732/ajb.94.3.275
- Silvestro D., Michalak I. raxmlGUI: a graphical front-end for RAxML // Organisms Diversity Evol. 2012. V. 12. P. 335–337.
doi:10.1007/s13127-011-0056-0
- Simmons M. P., Ochoterena H. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses // Syst. Biol. 2000. V. 49. № 2. P. 369–381.
doi:10.1093/sysbio/49.2.369
- Templeton A. R., Crandall K. A., Sing C. F. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation // Genetics. 1992. V. 132. P. 619–633.
- The World Checklist of Vascular Plants (WCVP). Ed. Goovaerts R. H. A. Available online: <https://wcvp.science.kew.org/> (Accessed 7.08.2022).

- Tomljenović N., Pejić I. Taxonomic review of the genus *Rosa* // Agric. Conspect. Sci. 2018. V. 83. № 2. P. 139–147.
https://hrcak.srce.hr/203011
- Wang M., Zhang C., Li M., Gao X. The complete plastid genome sequence of *Rosa banksiae* var. *normalis* (Rosaceae) // Mitochondrial DNA Part B. 2019. V. 4. № 1. P. 969–970.
doi:10.1080/23802359.2019.1580163
- Wang, Q., Hu H., An J., Bai G., Qunli Ren Q., Liu J. Complete plastid genome sequence of *Rosa roxburghii* and its phylogenetic analysis // Mitochondrial DNA Part B. 2018. V. 3. № 1. P. 149–150.
doi:10.1080/23802359.2018.1431074
- Wissemann V. Beauty and the bastards. Intensive hybridization controls the evolution of wild roses // B.I.F. FUTURA. 2006. V. 21. P. 158–163.
- Wissemann V. Conventional taxonomy (wild roses). / Encyclopedia of rose science. Eds Roberts A. V., Debenner T., Gudín S. Amsterdam: Elsevier, 2003. P. 111–117.
- Wissemann V., Ritz C. The genus *Rosa* (Rosaceae, Rosaceae) revisited: molecular analysis of nrITS-1 and *atpB-rbcL* intergenic spacer (IGS) versus conventional taxonomy // Bot. J. Linn. Soc. 2005. V. 147. P. 275–290.
doi:10.1111/j.1095-8339.2005.00368.x
- Yin X., Liao B., Guo S., Liang C., Pei J., Xu J., Chen S. The plastids genomic analyses of *Rosa laevigata*, *R. rugosa* and *R. canina* // Chinese Medicine. 2020. V. 15: 18.
doi:10.1186/s13020-020-0298-x
- Zhang C., Li S.-Q., Xie H.-H., Liu J.-Q., Gao X.-F. Comparative plastid genome analyses of *Rosa*: Insights into the phylogeny and gene divergence // Tree Genet. Genomes. 2022. V. 18: 20.
doi:10.1007/s11295-022-01549-8
- Zhang C., Xiong X., Gao X. The complete plastid genome sequence of *Rosa laevigata* (Rosaceae) // Mitochondrial DNA Part B. 2019. V. 4. № 2. P.: 3556–3557.
doi:10.1080/23802359.2019.1674200
- Zhang J., Esselink G. D., Che D., Fougère-Danezan M., Arens P., Smulders M. J. M. The diploid origins of allopolyploid rose species studied using single nucleotide polymorphism haplotypes flanking a microsatellite repeat // J. Hort. Sci. Biotechnol. 2013. V. 88. № 1. P. 85–92.
doi:10.1080/14620316.2013.11512940
- Zhang S. D., Jin J. J., Chen S. Y., Chase M. W., Soltis D. E., Li H. T., Yang J. B., Li D. Z., Yi T. S. Diversification of Rosaceae since the Late Cretaceous based on plastid phylogenomics. // New Phytol. 2017. V. 214. № 3. P. 1355–1367.
doi:10.1111/nph.14461
- Zhang S. D., Zhang C., Ling L. Z. The complete plastid genome of *Rosa berberifolia* // Mitochondrial DNA Part B. 2019. V. 4. № 1. P. 1741–1742.
doi:10.1080/23802359.2019.1610093
- Zhao L., Zhang H., Wang Q.-G., Ma C. L., Jian H.-Y. The complete plastid genome of *Rosa lucidissima*, a critically endangered wild rose endemic to China // Mitochondrial DNA Part B. 2019. V. 4(1). P. 1826–1827.
doi:10.1080/23802359.2019.1613198
- Zhao X., Gao C. The complete plastid genome of *Rosa minutifolia* // Mitochondrial DNA Part B. 2020. V. 5(3). P. 3320–3321.
doi: 10.1080/23802359.2020.1817807
- Zhu Z. M., Gao X. F., Fougère-Danezan M. Phylogeny of *Rosa* sections *Chinenses* and *Synstylae* (Rosaceae) based on plastid and nuclear markers // Molec. Phylogen. Evol. 2015. V. 87. P. 50–64.
doi:10.1016/j.ympev.2015.03.014

A haplotype network approach to reconstruct the phylogeny of *Rosa* L. (Rosaceae)

© 2024 Ivan A. Schanzer*, Alina V. Fedorova*, Ilya G. Meschersky**

* Tsitsin Main Botanical Garden, Russian Academy of Sciences, Botanicheskaya str., 4, Moscow 127276 Russia

** A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Leninskiy pr. 33, Moscow 119071 Russia

*E-mail: ischanzer@gmail.com

We used plastid *ndhC-trnV* intergenic spacer to reconstruct genealogy of haplotypes and phylogenetic relationships of major taxonomic groups of the genus *Rosa*. We analyzed the data using statistical parsimony, Maximum Likelihood and NeighborNet approaches. According to our results, the majority of species may be subdivided into three groups roughly corresponding to taxonomic sections *Pimpinellifoliae*, *Rosa* (former *Cinnamomeae*) and *Synstylae* + *Chinenses* + *Gallicanae* + *Caninae*. We assess their relationships as broadly paraphyletic, since the first group appears to be ancestral to the second and the third. The fourth group distanced from these three by many mutational steps consists of *R. persica* (subgenus *Hulthemia*) sequences. We argue that *R. persica* together with North American *R. minutifolia* and *R. stellata* (section *Minutifoliae*) probably represent the only remnants of an ancient group of roses widely distributed in the Northern Hemisphere in Oligocene. Two major lineages of the section *Caninae* arose independently from different ancestors belonging to *Synstylae*.

Keywords: haplotype genealogy, statistical parsimony, *ndhC-trnV* intergenic spacer, Maximum Likelihood, NeighborNet algorithm, taxonomy, biogeography

Таблица 1. Краткая информация по молекулярно-филогенетическим исследованиям рода *Rosa*.

Источник	Число видов*	Число образцов*	Смещенность таксономической выборки	Внешняя группа	Пластидные маркеры	Ядерные маркеры
Ritz <i>et al.</i> , 2005	58	125 (mostly ITS1 clones)	sect. <i>Caninae</i> избыточная выборка, sect. <i>Synstylae</i> недостаточная выборка	без внешней группы	нет	ITS1
Wissemann, Ritz, 2005	61	66	sect. <i>Caninae</i> избыточная выборка	<i>Rubus</i>	<i>atpB-rbcL</i>	ITS1
Bruneau <i>et al.</i> , 2007	67	79	sect. <i>Rosa</i> избыточная выборка	<i>Potentilla</i>	<i>trnL-trnF</i> , <i>psbA-trnH</i>	нет
Koorman <i>et al.</i> , 2008	46	92	sect. <i>Caninae</i> избыточная, sect. <i>Synstylae</i> и <i>Rosa</i> недостаточная выборка	<i>Rubus</i>	нет	AFLP
Zhang <i>et al.</i> , 2013	36	55	sect. <i>Caninae</i> избыточная выборка	без внешней группы	нет	Rc06 SNPSTR
Fougère-Danezan <i>et al.</i> , 2015	101	от 55 до 129	не очевидно	<i>Rubus</i> (хп); без внешней группы (яд)	<i>psbA-trnH</i> , <i>trnL-F</i> , <i>trnS-G</i> , интроны <i>trnL</i> , <i>trnG</i>	GAPDH
Liu <i>et al.</i> , 2015	32	48	sect. <i>Caninae</i> недостаточная выборка	<i>Rubus</i> , <i>Spiraea</i>	<i>trnL-trnF</i> , <i>atpB-rbcL</i> , интрон <i>rpl16</i>	нет
Zhu <i>et al.</i> , 2015a	60	123	sect. <i>Rosa</i> , <i>Pimpinellifoliae</i> , <i>Caninae</i> недостаточная выборка	<i>Potentilla</i> , <i>Rubus</i>	<i>ndhC-trnV</i> , <i>ndhF-rpl32</i> , <i>ndhJ-trnF</i> , <i>psbJ-petA</i>	ITS, GAPDH
Debray <i>et al.</i> , 2019	15	15	sect. <i>Caninae</i> отсутствует в выборке	<i>Fragaria</i> , <i>Geum</i> , <i>Potentilla</i> , <i>Rubus</i>	нет	теги ортологических однокопийных генов
Zhang <i>et al.</i> , 2022	37	44	sect. <i>Caninae</i> недостаточная выборка	<i>Dasiphora</i> , <i>Fragaria</i>	полные хп геномы	нет
Cui <i>et al.</i> , 2022	37	53	sect. <i>Caninae</i> , <i>Pimpinellifoliae</i> недостаточная выборка	<i>Fallugia</i> , <i>Fragaria</i> , <i>Potentilla</i> , <i>Rubus</i>	полные хп геномы	фазированные риботипы ITS1 и ITS2
данное исследование	101	503	не очевидно, отсутствует sect. <i>Minutifoliae</i>	<i>Agrimonia</i> , <i>Hagenia</i> , <i>Potentilla</i> , <i>Rubus</i>	<i>ndhC-trnV</i> , полные хп геномы	нет

Примечание. * Исключая культивары гибридного происхождения

Таблица 2. Изученные таксоны, образцы и номера последовательностей в GenBank.

Вид	Число изученных образцов	Гаплотип ndhC-trnV	Географический регион	Номера GenBank	Подрод или секция/подсекция по Wissmann (Wissmann, 2003)
<i>R. abyssinica</i> R.Br. ex Lindl.	4	7	Йемен, Эфиопия	KM352638, KM352639, KM352640, KM352641	Synstylae
<i>R. acicularis</i> Lindl.	3	12, 13, 31	Китай (Внутренняя Монголия), Россия (Сахалин, В Сибирь)	MK714016, MK848158 , MT302309	Rosa
<i>R. agrestis</i> Savi	3	64, 67, 93	Словакия, Марокко	MT302278, MT302289, MT302300	Caninae/Rubigineae
<i>R. amblyotis</i> C.A.Mey.	4	41	Россия (Камчатка, Сахалин)	KM352696, MK848155 , MK848156 , MK848157	Rosa
<i>R. anemoniflora</i> Fortune ex Lindl.	2	58	Китай (Фуцзянь)	KM352642, KM352643	Synstylae
<i>R. arabica</i> Crép.	2	91, 92	Египет (Синай)	MT302324, MT302325	Caninae/Rubigineae
<i>R. archipelagica</i> Tchubar	3	58	Россия (Дальний Восток)	MK848172 , MK848173 , MK848196	Rosa Synstylae
<i>R. arkansana</i> Porter	1	45	Китай, культ.	KM352644	Rosa
<i>R. arvensis</i> Huds.	5	71	Италия, Нидерланды, Венгрия	KM352645-KM352648, MT302311	Synstylae
<i>R. banksiae</i> R.Br.	1	50	Китай (Юннань)	MK361034	Banksianae
<i>R. brunonii</i> Lindl.	2	58	Китай (Тибет), Пакистан	KM352649, KM352650	Synstylae
<i>R. caesia</i> Sm.	1	87	Франция	KM352651	Caninae/Caninae
<i>R. canina</i> L.	51	12, 70, 80, 81, 83, 84, 85, 87, 94, 95	Украина, Россия (Европейская часть, Крым), Франция, Узбекистан, Чехия, Марокко, Италия, Венгрия, Черногория	HQ404961-HQ404979 , KJ886967 , KM352652, MT273175-MT273176, MT279070, MT279147-MT279149, MT279156, MT279176, MT279178-MT279180, MT279171, MT279176, MT279186-MT279187, MT279192, MT279182, MT279186-MT279187, MT279192, MT302285-MT302286, MT302288, MT302290, MT302292, MT302298, MT302302-MT302305, MT302312-MT302314	Caninae/Caninae
			Украина	MT279071	Caninae
			Украина	HQ404989	Caninae/Rubigineae
			Китай (Сычуань)	KM352656	Rosa
			Китай (Хубей, Ганьсу, Чунцин, Гуичжоу)	KM352657-KM352660, MG523859	Chinenses

Вид	Число изученных образцов	Гаплотип ndhC-trnV	Географический регион	Номера GenBank	Подрод или секция/подсекция по Виземану (Wiseemann, 2003)
<i>R. chinensis</i> Jacq. cult. 'Old Blush'	1	58	Китай, культ.	MN332770	Chinenses
<i>R. chomutoviensis</i> Chrshan. & Lasebna	3	81, 83	Украина	MT279088-MT279089, MT279111	Caninae
<i>R. cinnamomea</i> L.	7	38, 41, 43, 44	Нидерланды, культ., Россия (Европейская часть)	KM352712, MT302299, MT302323, MT302326-MT302329	Rosa
<i>R. corymbifera</i> Borkh.	11	72, 87	Украина, Россия (Крым)	HQ404986, MT273177-MT273186	Caninae/Caninae
<i>R. cuneicarpa</i> Galushko & Bagath. ex Buzunova	1	87	Россия (Дагестан)	MT302306	Caninae/Caninae
<i>R. cymosa</i> Tratt.	1	52	Китай (Гуанси)	KM352661	Banksianae
<i>R. davidii</i> Crép.	1	7	Китай (Сычуань)	KM352662	Rosa
<i>R. davurica</i> Pall.	5	41, 42	Китай (Тирин), Россия (Приморский край)	KM352663, MK848168-MK848171	Rosa
<i>R. degenensis</i> T.C.Ku	1	53	Китай (Юннань)	KM352664	Synstylae
<i>R. derongensis</i> T.C.Ku	1	54	Китай (Сычуань)	KM352665	Synstylae
<i>R. duplicata</i> T.T.Yu & T.C.Ku	2	54	Китай (Тибет, Юннань)	KM352666-KM352667	Synstylae
<i>R. elliptica</i> Tausch ex Tratt.	1	64	Франция	KM352668	Caninae/Rubigineae
<i>R. fedtschenkoana</i> Regel	2	39, 40	Узбекистан	MT279175, MT279181	Rosa
<i>R. filipes</i> Rehder & E.H.Wilson	3	58	Китай (Сычуань)	KM352669-KM352671	Synstylae
<i>R. fujisanensis</i> Makino	1	58	Япония	KM352672	Synstylae
<i>R. gallica</i> L.	38	71, 76, 87	Украина, Франция, Греция, Венгрия, Россия (Крым)	HQ404939-HQ404955, KM352673, MT273141-MT273150, MT273156, MT273187-MT273195	Gallicanae
<i>R. glauca</i> Pourr.	2	64, 88	Украина, Германия	MT302264, HQ404995	Caninae/Rubrifoliae
<i>R. glomerata</i> Rehder & E.H.Wilson	3	8, 28	Китай (Сычуань)	KM352677-KM352679	Synstylae
<i>R. gracili flora</i> Rehder & E.H.Wilson	1	37	Китай (Сычуань)	KM352680	Pimpinellifoliae
<i>R. gremlii</i> (Christ) Christ ex Gremli	6	64, 70	Германия	MT302293-MT302297, MT302301	Caninae/Rubigineae

Вид	Число изученных образцов	Гаплотип ndhC-trnV	Географический регион	Номера GenBank	Подрод или секция по Виземанну (Wissmann, 2003)
<i>R. helena</i> Rehder & E.H. Wilson	6	58	Китай (Сычуань, Юннань, Чунцин, Хубэй, Ганьсу)	KM352681-KM352686	Synstyleae
<i>R. henryi</i> Boulenger	8	58	Китай (Чунцин, Чжэцзян, Хэнань, Хунань, Фуцзянь)	KM352687-KM352694	Synstyleae
<i>R. hungarica</i> A.Kern.	2	64	Венгрия	MT302307-MT302308	Caninae/ Rubigineae
<i>R. kokanica</i> (Regel) Regel ex Juz.	32	15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 29, 30, 32, 33, 34, 36	Узбекистан	MT279140-MT279146, MT279151-MT279152, MT279154-MT279155, MT279157-MT279160, MT279162-MT279169, MT279172-MT279174, MT279177, MT279183-MT279185, MT279190-MT279191	Pimpinellifoliae
<i>R. koreana</i> Kom.	1	27	Россия (Приморский край)	MK848166	Pimpinellifoliae
<i>R. kwangtungensis</i> T.T.Yu & Tsai	1	58	Китай (Гуандун)	KM352697	Synstyleae
<i>R. laevigata</i> Michx.	1	48	Китай (Гуанси)	KM352702	Laevigatae
<i>R. lasiosepala</i> F.P.Metcalf	3	58	Китай (Гуанси, Юннань)	KM352698-KM352700	Synstyleae
<i>R. laxa</i> Retz.	1	39	Китай (Синьцзян)	KM352701	Rosa
<i>R. lichiangensis</i> T.T.Yu & T.C.Ku	2	54	Китай (Юннань)	KM352703, KY419934	Synstyleae
<i>R. longicuspis</i> Bertol.	3	58	Китай (Гуйчжоу, Сычуань, Юннань)	KM352704-KM352706	Synstyleae
<i>R. longicuspis</i> Bertol. var. <i>sinowilsonii</i> (Hemsl.) T.T.Yu & T.C.Ku	2	58	Китай (Гуйчжоу, Юннань)	KM352747-KM352748	Synstyleae
<i>R. lucidissima</i> H.Lév.	3	61, 63	Китай (Гуйчжоу, Юннань)	KM352710-KM352711, MK782979	Chinenses
<i>R. luciae</i> Franch. & Rochebr.	3	58	Китай (Гуандун), Корея	KM352707-KM352708, MG727864	Synstyleae
<i>R. macrophylla</i> Lindl.	1	26	Китай (Тибет)	KR105779	Rosa
<i>R. marginata</i> Wallr.	12	64, 72, 73, 86, 87	Украина, Россия (Европейская часть, Крым), Франция, Венгрия	HQ404960, KJ886959, KJ886961, KJ886963, KM352755, MT273163-MT273168, MT302310	Caninae/ Trachyphyllae
<i>R. marretii</i> H.Lév.	5	41	Россия (Сахалин)	MK848159-MK848163	Rosa

Вид	Число изученных образцов	Гаплотип ndhC-trnV	Географический регион	Номера GenBank	Подрод или секция по Виземанну (Wissmann, 2003)
<i>R. maximowicziana</i> Regel	14	58	Китай (Тирин), Корея, Россия (Приморский край)	KM352713, MG727865, MK848165 , MK848174-MK848175 , MK848177 , MK848179 , MK848181 , MK848183-MK848184 , MK848188-MK848189 , MK848194-MK848195	Synstyleae
<i>R. micrantha</i> Borrer ex Sm.	1	67	Италия	MT302291	Caninae/Rubigineae
<i>R. montana</i> Chaix	1	87	Франция	KM352714	Caninae/Caninae
<i>R. moyesii</i> Hemsl. & E.H.Wilson	1	37	Китай (Сычуань)	KM352715	Rosa
<i>R. multibracteata</i> Hemsl. & E.H.Wilson	1	9	Китай (Сычуань)	KM352716	Rosa
<i>R. multiflora</i> Thunb.	5	10, 58	Китай (Гуйчжоу, Чунцин, Шаньдун), Корея	KM352717-KM352718, KM352720, MG727863, MG893867	Synstyleae
<i>R. multiflora</i> Thunb. var. <i>cathayensis</i> Rehder & E.H.Wilson	3	10, 58	Китай (Аньхой, Чунцин)	KM352653-KM352655	Synstyleae
<i>R. nutkana</i> C.Presl	1	12	США (Монтана)	MT302321	Rosa
<i>R. odorata</i> (Andrews) Sweet	1	56	Китай (Юннань)	KM352721	Chinenses
<i>R. odorata</i> (Andrews) Sweet var. <i>gigantea</i> (Crépin) Rehder & E.H.Wilson	4	56, 57	Китай (Юннань)	KF753637, KM352674-KM352676	Chinenses
<i>R. odorata</i> (Andrews) Sweet var. <i>pseudoindica</i> (Lindley) Rehder	1	56	Китай (Юннань)	MK116518	Chinenses
<i>R. omeiensis</i> Rolfe	1	51	Китай (Сычуань)	KM352722	Pimpinellifoliae
<i>R. palustris</i> Marshall	2	11, 46	США (Мэриленд, Мичиган)	KM352723, MT302330	Rosa
<i>R. paniculigera</i> (Makino ex Koidz.) Makino ex Momiy.	2	58	Япония	KM352724-KM352725	Synstyleae
<i>R. pendulina</i> L.	1	39	Австрия	KM352726	Rosa
<i>R. persica</i> J.F.Gmel.	5	1, 2, 3, 4, 5	Китай (Синьцзян), Узбекистан	KY419918, MK423879, MT279153 , MT279188-MT279189	подрод Hulthemia
<i>R. phoenicia</i> Boiss.	1	71	Турция	KM352727	Synstyleae
<i>R. porrectidens</i> Chrshan. & Lasebna	1	87	Украина	HQ404956	Gallicanae или Caninae

Вид	Число изученных образцов	Гаплотип ndhC-trnV	Географический регион	Номера GenBank	Подрод или секция по Виземанну (Wissmann, 2003)
<i>R. praelucens</i> Bijh.	1	26	Китай (Юннань)	MG450565	подрод Plathyrhodon, или секция Microphyllae
<i>R. prattii</i> Hemsl.	1	35	Китай (Сычуань)	KR105778	Rosa
<i>R. pricei</i> Hayata	3	58, 62	Китай (Тайвань)	KM352729--KM352730, MK613354	Synstylae
<i>R. pygmaea</i> M.Bieb.	61	68, 72, 74, 75, 78, 79, 81, 83, 87, 90	Украина, Россия (Европейская часть, Крым)	HQ404957-HQ404959, KJ886958, KJ886960, KJ886962, KJ886964-KJ886965, MT279078, MT273169-MT273174, MT273196, MT279072-MT279077, MT279091-MT279109, MT279120-MT279139	Gallicanae или Caninae
<i>R. roxburghii</i> Tratt.	4	47, 49	Китай (Гуйчжоу, Сычуань), Япония	KM352695, KM352731, KX768420, KY419960	подрод Plathyrhodon, или секция Microphyllae
<i>R. rubiginosa</i> L.	39	64, 66, 67, 70, 77, 81, 83	Украина, Россия (Европейская часть), Морокко, Венгрия, Германия, Чехия, Черногория	KJ886943-KJ886945, KJ886947, KJ886951, KJ886953-KJ886955, KJ886957, MT302284, MT279079-MT279087, MT279090, MT302258-MT302261, MT302266-MT302277, MT302287, MT302315-MT302316	Caninae/Rubigineae
<i>R. rubiginosa</i> L. x <i>R. villosa</i> L.	2	87	Россия (Европейская часть)	KJ886966, KJ886968	Caninae Vestitae
<i>R. rubus</i> H.Lév. & Vaniot	6	58	Китай (Юннань, Ганьсу, Гуандун, Гуйчжоу, Хунань)	KM352732-KM352733, KM352735-KM352738	Synstylae
<i>R. rugosa</i> Thunb.	12	41	Россия (Приморский край)	MK848167, MK848176, MK848178, MK848180, MK848182, MK848185-MK848187, MK848190-MK848193	Rosa
<i>R. sambucina</i> Koidz.	2	58	Китай (Тайвань)	KM352739-KM352740	Synstylae
<i>R. sancti-andreae</i> Degen & Trauttm.	1	12	Венгрия	MT302263	Caninae/Vestitae
<i>R. schmalhauseni</i> Chrshan.	1	83	Украина	MT279110	Caninae/Caninae
<i>R. sempervirens</i> L.	3	64	Италия	KM352741-KM352743	Synstylae
<i>R. setigera</i> Michx.	1	60	США	KM352744	Synstylae
<i>R. shangchengensis</i> T.C.Ku	2	58, 59	Китай (Хэнань, Аньхой)	KM352745-KM352746	Synstylae
<i>R. sicula</i> Tratt.	5	64, 69, 70	Морокко	MT302279-MT302283	Caninae/Rubigineae

Вид	Число изученных образцов	Гаплотип ndhC-trnV	Географический регион	Номера GenBank	Подрод или секция по Виземану (Wissmann, 2003)
<i>R. soulieana</i> Crép.	5	53, 54, 55	Китай (Юннань, Сычуань, Тибет)	KM352749-KM352753	Synstylae
<i>R. soulieana</i> Crép. var. <i>sungpanensis</i> Rehder	1	53	Китай (Сычуань)	KM352754	Synstylae
<i>R. sp. 1</i>	1	14	Узбекистан	MT279150	
<i>R. sp. 2</i>	1	26	Узбекистан	MT279161	
<i>R. spinosissima</i> L.	4	6	Украина, Франция	HQ404992-HQ404994, KM352728	Pimpinellifoliae
<i>R. stylosa</i> Desv.	1	12	Венгрия	MT302265	Caninae/Caninae
<i>R. subcanina</i> (Christ) Vuk.	6	87	Украина	HQ404980-HQ404985	Caninae/Caninae
<i>R. subpomifera</i> Chrshan.	1	83	Украина	MT279112	Caninae/Vestitae
<i>R. tomentosa</i> Sm.	2	64	Украина	HQ404990-HQ404991	Caninae/Vestitae
<i>R. transmorrissonensis</i> Hayata	1	58	Китай (Тайвань)	KM352756	Synstylae
<i>R. turcica</i> Rouy	4	64	Россия (Крым)	MT273159-MT273162	Caninae/Rubigineae
<i>R. uniflorella</i> Buzunova	1	58	Китай (Чжэцзян)	KM352757	Synstylae
<i>R. villosa</i> L.	9	64, 65	Россия (Европейская часть), Венгрия	KJ886942, KJ886946, KJ886948-KJ886950, KJ886952, KJ886956-KJ886957, MT302262	Caninae/Vestitae
<i>R. weisiensis</i> T.T.Yu & T.C.Ku	2	58	Китай (Юннань)	KM352758-KM352759	Synstylae
<i>R. willmotiae</i> Hemsl. var. <i>glandulifera</i> T.T.Yu & T.C.Ku	1	39	Китай (Сычуань)	KM352760	Rosa
<i>R. woodsii</i> Lindl.	5	45	США (Вайоминг, Монтана)	MT302317-MT302320, MT302322	Rosa

Примечание. Жирным выделены номера последовательностей, полученных в ходе настоящего исследования

УДК: 581.1:57.043:577.1

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И ЭКСПРЕССИИ КОДИРУЮЩИХ ИХ ГЕНОВ У ПШЕНИЦЫ ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАЗВУКА

© 2024 г. С. С. Тарасов@, Е. К. Крутова

Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, пр. Гагарина, 97,

Нижний Новгород, 603022 Россия

@E-mail: tarasov_ss@mail.ru

Поступила в редакцию 07.12.2022 г.

После доработки 12.10.2023 г.

Принята к публикации 12.10.2023 г.

Изучалось влияние ультразвука (5, 10 и 20 мин, интенсивность 25 кВт/м², частота 26,1 кГц) на динамику активности основных антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы и экспрессию кодирующих их генов (*SOD-1*, *CAT*, *POD*) в прорастающих семенах и проростках пшеницы. Ультразвук через 1 ч преимущественно подавлял активность антиоксидантных ферментов, с последующим восстановлением и усилением (через 1 и 6 суток) активности. Содержание транскриптов мРНК исследуемых генов через 1 ч после воздействия преимущественно возрастало, а в дальнейшем (через 1 и 6 суток) либо было выше, либо оставалось равной контролю. Полученные результаты, видимо, свидетельствуют о запуске ультразвуком механизмов эустресса, т.е. стимулирующий эффект приводил к мобилизации защитных процессов клеток — гормезису.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, каталаза, пероксидаза, прорастающие семена, супероксиддисмутаза, ультразвук, экспрессия генов

DOI: 10.31857/S1026347024020037, **EDN:** WCWGIN

Ультразвук представляет собой акустические волны с частотой выше 20000 Гц, которые не восприимчивы ухом человека. Его принято делить на низкочастотный в диапазонах от 20000 до 100000 Гц и высокочастотный свыше 100000 Гц, а по взаимодействию с клетками ультразвук делится на контактный и воздушный (Сиротюк, 2008; Karthikesh, Yang, 2021). Ультразвуковое воздействие давно применяется в различных отраслях науки и технике, его способность влиять на биологические объекты используют в медицине, сельском хозяйстве, пищевой промышленности и ряде других отраслей (Tovoli *et al.*, 2018; Chavan *et al.*, 2022). Ультразвуковая обработка семян применяется для различных целей, в том числе для усиления процессов прорастания (Ratnikova *et al.*, 2015; Wong *et al.*, 2019), повышения резистентности растений к фитопатогенам (Kawakami *et al.*, 2019, увеличения содержания ценных метаболитов, например, фенольных соединений и сахаров в растениях (Ampofo, Ngadi, 2020; Naumenko *et al.*, 2022), улучшения пищевых свойств семян (Hassan *et al.*, 2017; Naumenko *et al.*, 2022). До конца не ясен общий механизм влияния ультразвука на клетки, но предполагают, что в основе его биологического действия лежит ультразвуковая кавитация,

подразделяющаяся на инерциальную, вызывающую образование микроударных волн, микропотоков, микроструй, радикальных молекул, и не инерциальную — характеризующаяся колебаниями длительно существующих, стабильных газовых пузырьков в клетках (Karthikesh, Yang, 2021).

Ультразвуковая кавитация приводит к усилению генерации активных форм кислорода (АФК), повышению мембранной проницаемости, оказывает тепловое воздействие на клетки. Микропузырьки, образующиеся в процессе кавитации, механически и химически воздействуют на клеточные структуры, изменяя конформацию биомолекул (López-Ribera, Vicient, 2017; Maresca *et al.*, 2018; Karthikesh, Yang, 2021). Изменение молекулярной конформации может существенно влиять на метаболические пути, в результате блокировки синтеза одних веществ и стимуляции других, что, как правило, проявляется в активации или дезактивации ряда ферментов и экспрессии генов (Maresca *et al.*, 2018; Hidvégi *et al.*, 2022).

Антиоксидантная система (АОС) растений активно участвует в ответных реакциях на ультразвуковое воздействие. Она представлена как ферментами (супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), пероксидаза (ПО), глутатионпероксидаза,

глутатионредуктаза, альтернативная оксидаза и др.), так и низкомолекулярными веществами (токоферолы, каротиноиды, ретинол, филлохиноны, глутатион, аскорбиновая кислота, фенольные соединения и др.) (Demidchik, 2015; Колупаев и др., 2016). Каждый фермент АОС растений кодируется многими вариациями генов и их количествократно выше, чем количество генов в геноме организмов других таксонов: животных, грибов, бактерий и архей (Winkel-Shirley, 2001; Dixon *et al.*, 2002; Cabassa-Hourton *et al.*, 2016; Fritsche *et al.*, 2017; Cao *et al.*, 2021; Sun *et al.*, 2021). СОД и КАТ важнейшие ферменты АОС, не требующие доноров электронов. Они работают в тандеме, дезактивируют ключевые АФК, тем самым поддерживают про-/антиоксидантный баланс клетки. ПО также принимает участие в защите клетки от АФК, восстанавливая H_2O_2 с участием какихлибо субстратов в качестве доноров электронов (например, глутатион, аскорбат, фенолы). Количество генов СОД и КАТ у растенийкратно выше, чем у животных, например, у человека в геноме только 3 гена СОД и 1 ген КАТ, в то время как у пшеницы 26 генов СОД (Jiang *et al.*, 2019) и 10 генов КАТ (Zhang *et al.*, 2022a). При действии ультразвуком на прорастающие семена данный баланс может быть существенно нарушен, что вероятно будет способствовать изменению процессов роста, развития и устойчивости растений, при этом возможны как положительные, так и отрицательные последствия.

Данные по активности антиоксидантных ферментов и экспрессии кодирующих их генов в прорастающих семенах при действии на них ультразвуком являются важнейшими показателями, что может сигнализировать о состоянии растений. Эти показатели важны как для фундаментального понимания физиолого-биохимических реакций растений на действия различных регуляторных механизмов, так и с прикладной — для выявления оптимальных способов управления ростом и развитием растений. Имеющиеся в литературе данные о влиянии ультразвука на АОС не однозначны. Во многих работах показано стимулирующее действие ультразвуковой обработки семян на активность ферментов АОС (Liu *et al.*, 2016; Ampofo, Ngadi, 2020; Naumenko *et al.*, 2022), а в некоторых демонстрируется подавление активности антиоксидантных ферментов (Liu *et al.*, 2016; Pesti-Asbóth *et al.*, 2022). Сообщалось о неоднозначном влиянии ультразвука на экспрессию генов АОС растений (Dobránszki *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022b). При оценке транскриптома прорастающих семян *Oryza sativa* L. через 36 ч после 30 мин ультразвуковой обработки (частота 40 кГц) методом секвенирования отмечалось увеличение содержания транскриптов большинства генов АОС (Zhang *et al.*, 2022b). А у эксплантов *Solanum tuberosum* L. было показано, что экспрессия генов *POD* сразу после 20 мин ультразвукового воздействия (частота 5 кГц, мощность 70 Вт)

повышалась, но через 24 ч подавлялась, а через 48 ч снова увеличивалась (Dobránszki *et al.*, 2020). Имеются данные об усилении экспрессии генов *SOD-1*, *SOD-3*, *CAT-1*, *APX-2* и *APX-3* в прорастающих семенах *Glycine max* L. после 15 мин ультразвуковой обработки (частота 40 кГц, мощность 100 Вт) (Huang *et al.*, 2022).

Многими исследователями изучалась зависимость физиолого-биохимических, морфометрических и иных показателей прорастания семян от мощности и продолжительности ультразвукового воздействия, типа среды, возраста семян и др. параметров (Wang *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2016; López-Ribera, Vicient, 2017; Ampofo, Ngadi, 2020), при этом внимание динамике изменения активности антиоксидантных ферментов и экспрессии кодирующих их генов уделялось не достаточное.

Цель работы — изучить влияние продолжительности ультразвукового воздействия на активность антиоксидантных ферментов и экспрессию некоторых кодирующих их генов в прорастающих семенах и проростках пшеницы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали семена пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) сорта Экада 70. Семена обрабатывали ультразвуком через 24 ч после замачивания в водопроводной воде. Для этого семена, массой 50 г, помещали в центр ультразвуковой ванны “УНИТРА – УНИМА” типа УМ – 4 (UNITRA – UNIMA UM-4) (LABIMEX, Польша), с тремя пьезоэлектрическими преобразователями, встроенными в центральную часть ее дна. Характеристики прибора: частота 26.1 кГц, характерная максимальная амплитуда акустического давления (р) – 250+20 кПа, интенсивность излучения – 25 кВт/м², объем – 4 л, размеры ванны: длина 260 мм, ширина 160 мм, глубина 120 мм. Семена были откалиброваны по массе, размеру и являлись морфологически идентичными. Для определения параметров воздействующего ультразвука использовался метод визуализации распределений интенсивностей в ультразвуковых пучках и кавитационных микропузырьков, генерируемых пьезопреобразователями, путем визуализации ультразвуковых полей с использованием красителей — методом “краска/бумага” (Пашовкин, Шильников, 2000). Семена находились в акустическом поле, образованном устойчивой структурой стоячих волн. Распределения интенсивностей в ультразвуковых пучках в области локализации семян, т.е. непосредственно над центральным пьезопреобразователем на дне и на 2 см выше были достаточно равномерными. Таким образом, на прорастающие семена в достаточном количестве и равномерно оказывалось воздействие ультразвуком высокой интенсивности. Обработку проводили в водной

среде, объемом 3 л, в течение 5, 10 и 20 мин, без термостатирования, температура в течение 20 мин увеличивалась на 7 °С (с 24 до 31 °С). Контролем служили одновременно замоченные в воде, но не обработанные ультразвуком семена.

Часть прорастающих семян гомогенизировалась сразу же после ультразвукового воздействия. Остальная часть проращивалась и исследовалась через 1 и 24 ч (семена целиком) и 6 сут (листья проростков) после ультразвуковой обработки. Для оценки ферментативной активности использовали прорастающие семена целиком, а для изучения содержания мРНК использовали только зародышевую ткань. У проростков для анализа брали листья, как для оценки активности ферментов, так и для исследования экспрессии генов. Навески всех исследуемых групп в рамках применяемой методики имели равное количество семян. Состояние АОС оценивали путем определения активности СОД, КАТ, ПО и уровня экспрессии некоторых кодирующих их генов.

Общую активность СОД определяли по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия (NBT) (Полесская и др., 2004). Гомогенизировали 0.5 г прорастающих семян или 0.1 г листьев в 2 мл 50 mM К, Na-фосфатного буфера (pH 7.8) с последующим центрифугированием в течение 5 мин при 12000 об./мин на центрифуге MPW-310 (Польша). Для каждого образца готовили 2 одинаковых реакционных смеси — одну помещали в темноту (темновой контроль), а другую — на яркий свет. Реакционная смесь содержала 0.5 мл 0.05% NBT, 0.9 мл 50 mM К, Na-фосфатного буфера (pH 7.8), 0.1 мл супернатанта, 0.02 мл 0.24% раствора Na-ЭДТА. В холостые пробирки вместо супернатанта добавляли такое же количество используемого буфера. Реакцию запускали путем добавления 0.02 мл 0.025% раствора рибофлавина. Пробирки инкубировали в течение 30 мин при соответствующих условиях, реакцию световых образцов останавливали путем помещения их в темный шкаф. Далее определяли оптическую плотность при длине волны 560 нм на спектрофотометре УФ-1200 Эковью (ТМ ECOVIEW, Китай). Активность СОД выражали в условных единицах на 1 мг белка. Общий белок определяли методом Лоури (Lowry *et al.*, 1951).

Активность КАТ в прорастающих семенах определяли газометрически (Методы биохимического..., 1987), а в листьях — спектрофотометрически, по восстановлению перекиси водорода (Patterson *et al.*, 1984). В первом случае 0.5 г прорастающих семян растирали в 10 (2+8) мл фосфатного буфера pH 7.2, содержимое переносили в один отсек "U" образной пробирки, а в другой отсек приливали 3 мл 3% раствора H₂O₂, пробирку плотно закрывали на резиновом шланге связанным с бюреткой заполненной водой, перекись быстро переливали в отсек с гомогенатом и определяли количество

выделенного O₂ в течение 3 мин, фиксируя активность через 1, 2 и 3 мин, соответственно. Активность выражали в см³ O₂ на 1 г семян.

Для оценки активности КАТ в листьях получали супернатант аналогично с СОД. Реакционная смесь содержала 2.8 мл 50 mM К, Na-фосфатного буфера (pH 7.0), 0.1 мл супернатанта и 0.1 мл 0.6 M H₂O₂, в холостую кювету вместо H₂O₂ добавляли 0.1 мл буфера. Измерение динамики оптической плотности проводили в течение 120 с на спектрофотометре Эковью УФ-1200 (ТМ ECOVIEW, Китай) при длине волны 240 нм. Активность КАТ выражали в относительных единицах на 1 мг белка.

Активность растворимой пероксидазы определяли по Бояркину, метод основан на определении скорости реакции окисления бензидина до образования синего продукта его окисления в присутствии H₂O₂ и пероксидазы (Методы биохимического..., 1987). Для этого 0.5 г прорастающих семян или 0.1 г листьев гомогенизировали с 2 мл 0.2 M Na-ацетатного буфера (pH 5.4) образцы центрифугировали в течение 5 мин при 12000 об./мин. Супернатант использовали для анализа. Реакционная смесь опытной кюветы содержала 1.8 мл ацетатного буфера (pH 5.4), 1 мл солянокислого бензидина, 0.1 мл супернатанта и 0.1 мл 0.3% H₂O₂. В холостую кювету вместо H₂O₂ добавляли ацетатный буфер. Измерение динамики оптической плотности проводили в течение 120 с на спектрофотометре УФ-1200 Эковью (ТМ ECOVIEW, Китай) при длине волны 590 нм. Активность ПО выражали в относительных единицах на 1 мг белка.

Экспрессию генов *SOD-1*, *CAT-1* и *POD* в прорастающих семенах определяли полуколичественно с помощью полимеразной цепной реакции после обратной транскрипции (ОТ-ПЦР) с детекцией результатов по конечной точке, с последующей визуализацией в агарозном геле (Молекулярно-генетические..., 2011). Для этого 0.05 г зародышевой ткани семян или листьев гомогенизировали с использованием набора для выделения тотальной РНК ExtractRNA (Евроген, Россия). кДНК синтезировали, используя набор для обратной транскрипции ОТ-1 с М—MLV обратной транскриптазой и случайными (random) гексапраймерами (Синтол, Россия). В качестве референсного гена использовался ген актина. Подбор праймеров проводили по кодирующему участку гена в программе Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>). Полученные олигонуклеотиды представлены в табл. 1.

Количественную оценку ампликонов проводили путем визуального анализа агарозного геля после его фотографирования и выражали в условных единицах (отн. ед.) (Schmittgen *et al.*, 2000; Молекулярно-генетические..., 2011).

Эксперимент проводился в 3 биологических и 3 аналитических повторностях. Результаты обрабатывались статистически, с расчетом среднего

Таблица 1. Нуклеотидная последовательность праймеров для проведения ПЦР

№	Ген	Тип праймера	Последовательность 5'–3'	Номер NCBI	Температура отжига	Размер ампликона (п.н.)
1	Актин	L	CTTCGTTTGGATCTCGCTGG	KC775780.1	60°	229
		R	GCCAATCGTGATGACCTGAC		60°	
2	Ta Cu/Zn SOD	L	ATTCAATTGTTGGCCGTGCT	JQ269677.1	57°	171
		R	CAGATCTGTACGACGTTGGC		56°	
3	Ta CAT-1	L	ACAATTTGACCGGGAACGCATA	X94352.1	60°	165
		R	CAACGGTAGAGAACCGGACA		60°	
4	Ta POD	L	AGATGGGGCCAGATGAGGGT	AB518867.1	60°	129
		R	ATCGACGATGGTCTGCACAA		58°	

арифметического (M) и стандартного отклонения (σ) биологических повторностей с использованием программы Microsoft Excel 2010. Достоверность различий оценивалось по t-критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони и H-критерию Крускала-Уоллиса, уровень значимости достоверности различий составил 95% (Гланц, 1999).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Активность антиоксидантных ферментов и экспрессия кодирующих их генов в прорастающих семенах и проростках пшеницы после ультразвукового воздействия имела как сходства, так и отличие. Было установлено подавление активности всех исследуемых ферментов в прорастающих семенах сразу после ультразвукового воздействия (рис. 1, 2, 3). В дальнейшем активность ферментов и экспрессия кодирующих их генов имели различную направленность.

Общей закономерностью для всех антиоксидантных ферментов являлось падение их активности в опытных образцах сразу после ультразвуковой обработки. Так, падение активности СОД, по сравнению с контролем, зафиксировано во всех опытных группах ($P \leq 0.05$) (рис. 1а). Наблюдалось существенное снижение активности ПО в семенах подвергавшихся 5 и 10 минутному ультразвуковому воздействию, при этом после 20 минутной ультразвуковой обработки статистически значимых отличий в активности фермента не зафиксировано (рис. 3а). Наименее подверженным ингибированию оказалась КАТ, было продемонстрировано лишь не значительное падение активности данного фермента в семенах после 5 минутного действия ультразвуком в течение всего времени фиксации активности (1, 2 и 3 мин) (рис. 2а), однако стоит обратить внимание на снижение в первую минуту фиксации активности КАТ.

Через 1 ч после действия ультразвуком на прорастающие семена активность ферментов АОС изменилась. При этом, выявлено отсутствие

статистически значимых изменений в активности СОД между опытными и контрольной группами ($P \leq 0.05$). Следовательно, в опытных группах активность данного фермента возросла, по сравнению с семенами, исследованными сразу после обработки ультразвуком (рис. 1б). Активность КАТ (рис. 2б) и ПО (рис. 3б) в опытных образцах спустя 1 ч после ультразвукового воздействия не изменялась относительно предыдущего измерения (т.е. сразу после обработки ультразвуком). Следует отметить, что активность ПО в семенах, обработанных ультразвуком в течение 20 мин, была достоверно ниже контрольного уровня. Интенсивность экспрессии генов *SOD-1*, *CAT-1* и *POD* отличалась друг от друга. Было показано увеличение содержания транскриптов мРНК гена *SOD-1* во всех опытных группах (рис. 1б), а также отсутствие достоверных изменений содержания транскриптов мРНК гена *CAT-1* (рис. 2б). Экспрессия гена *POD* в семенах, подвергавшихся 20 минутному ультразвуковому воздействию, была ниже контроля, в остальных опытных группах не отличалась от контрольных образцов (рис. 3б).

Через 24 ч после ультразвукового воздействия на прорастающие семена активность ферментов АОС и экспрессия их генов имела некоторые сходства и отличия. Было показано усиление активности СОД (рис. 1в) в семенах после 10 и 20 минутного ультразвукового воздействия, а увеличение активности КАТ (рис. 2в) и ПО (рис. 3в) ($P \leq 0.05$) только после 20 минутной ультразвуковой обработки. В остальных опытных группах активность ферментов не отличалась от контрольных значений ($P \leq 0.05$). Следует отметить, что не была установлена зависимость между уровнем экспрессии генов, кодирующих ферменты АОС, и активностью самих ферментов. Так было показано увеличение содержания транскриптов мРНК гена *SOD-1* только в образцах подвергавшихся 20 минутному ультразвуковому воздействию (рис. 1в), тогда как ген *CAT-1*, напротив, экспрессировался интенсивнее во всех опытных группах (рис. 2в). Содержание же транскриптов мРНК гена *POD*

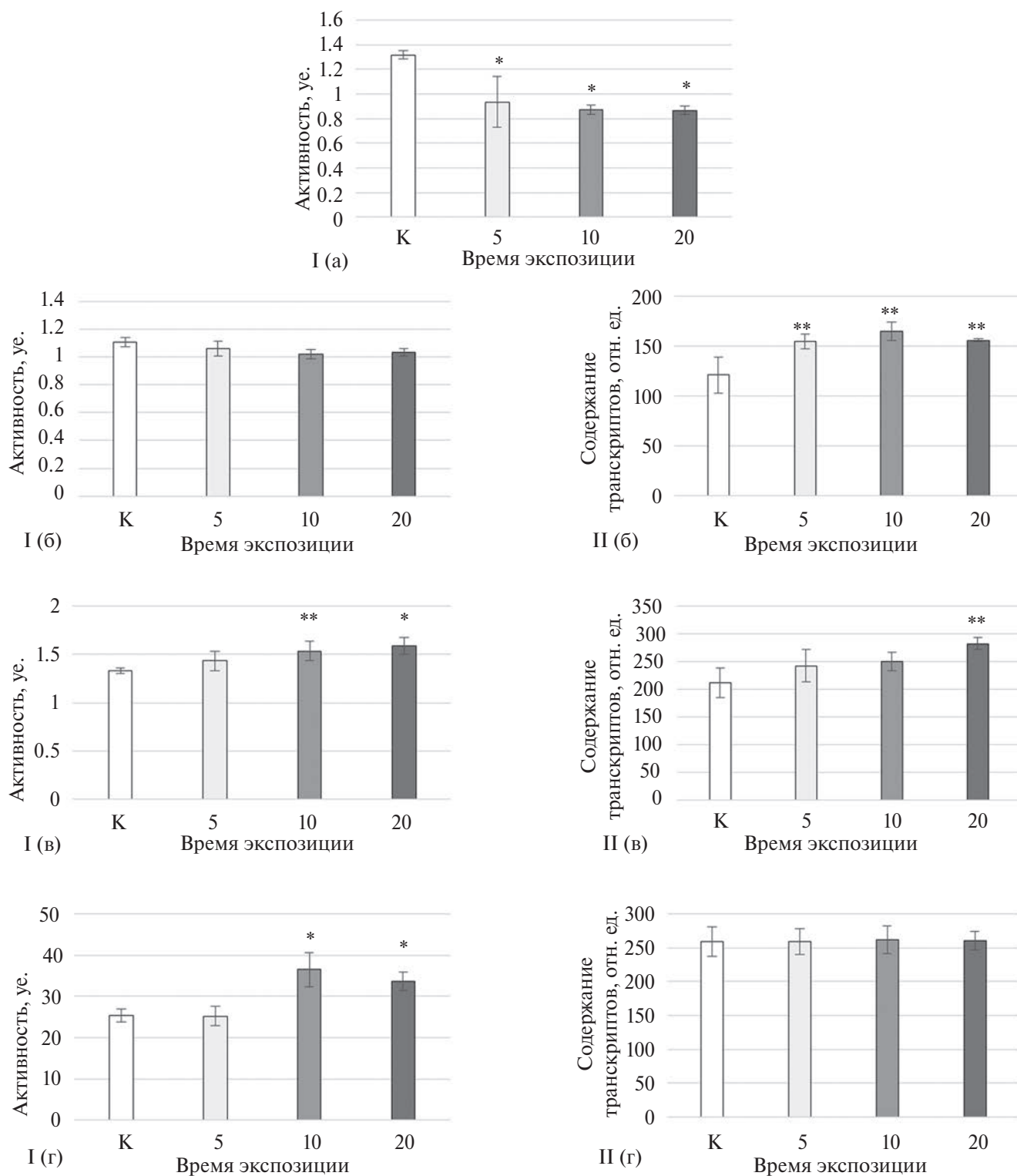


Рис. 1. Влияние продолжительности ультразвукового воздействия на динамику активности супероксиддисмутазы (I) и содержание транскриптов гена *SOD-1* (II) в прорастающих семенах (а, б, в) и проростках (г) пшеницы. К – контроль; 5, 10 и 20 – время ультразвукового воздействия на семена, мин; а – сразу после воздействия; б – через 1 ч; в – через 24 ч; г – через 6 суток после действия ультразвуком, соответственно. * $P \leq 0,05$ относительно контроля по критерию Стьюдента; ** $P \leq 0,05$ в сравнении с контролем по критерию Крускала-Уоллиса.

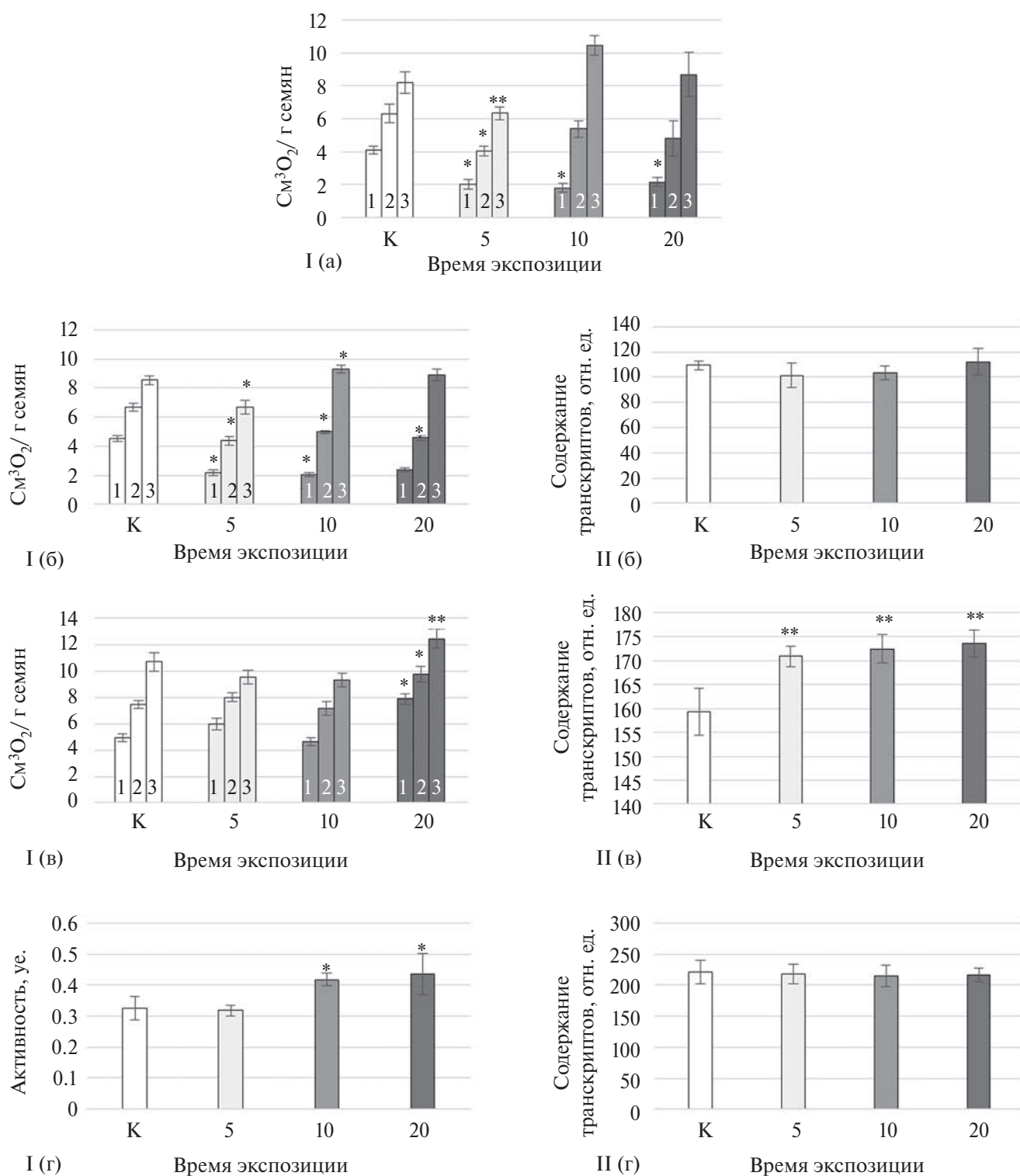


Рис. 2. Влияние продолжительности ультразвукового воздействия на динамику активности каталазы (I) и содержание транскриптов гена *CAT-1* (II) в прорастающих семенах (а, б, в) и проростках (г) пшеницы. 1, 2 и 3 – время фиксации активности фермента, мин. Обозначения см. рис. 1.

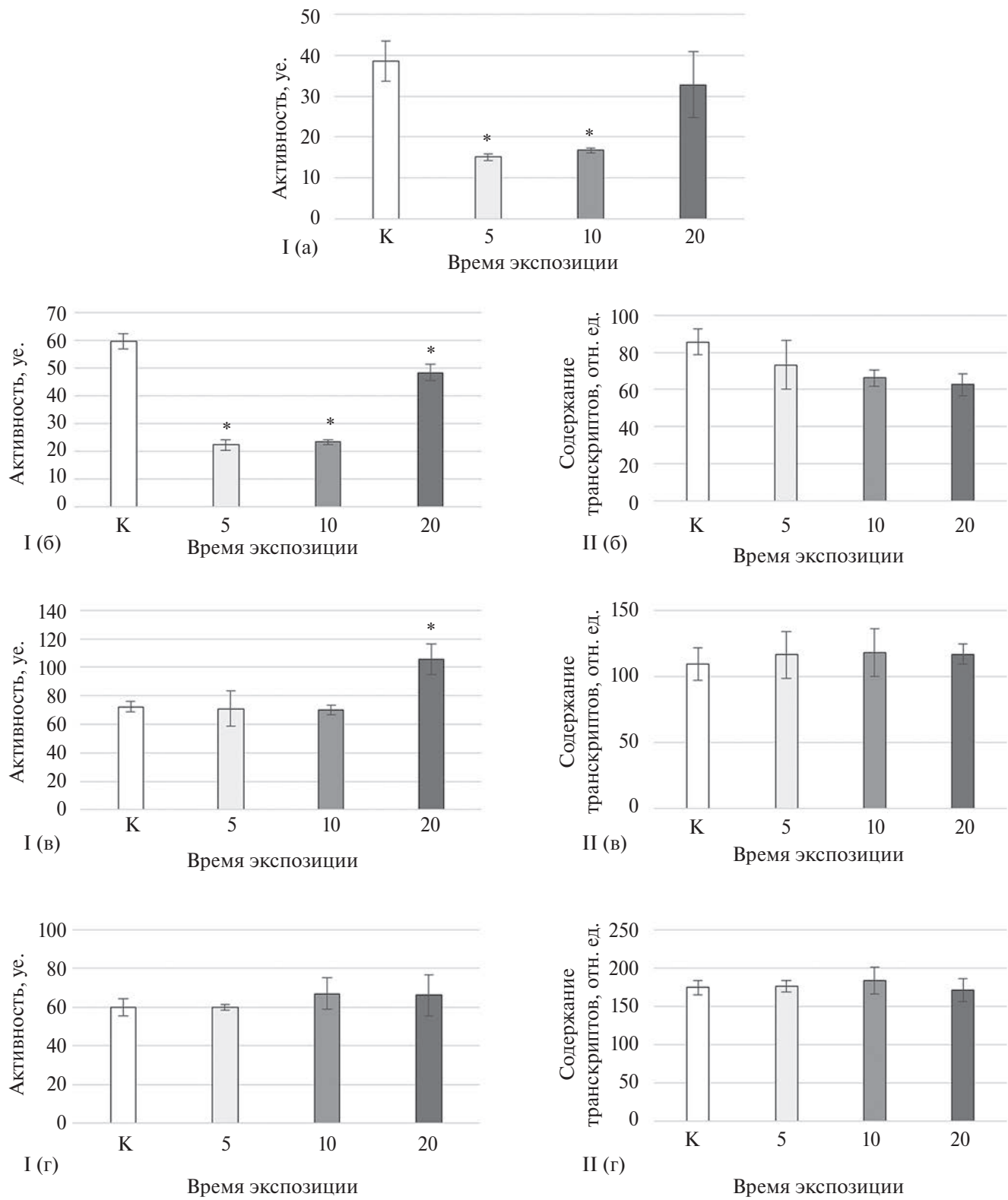


Рис. 3. Влияние продолжительности ультразвукового воздействия на динамику активности растворимой пероксидазы (I) и содержание транскриптов гена *POD* (II) в прорастающих семенах (а, б, в) и проростках (г) пшеницы. Обозначения см. рис. 1.

во всех семенах, подвергавшихся ультразвуковому воздействию, не отличалось от контрольных значений (рис 1в).

В листьях проростков спустя 6 суток после действия ультразвуком (10 и 20 мин обработки) на прорастающие семена отмечалось усиление активности СОД (рис. 1г) и КАТ (рис. 2г), тогда как в образцах подвергавшихся 5 минутному ультразвуковому воздействию достоверных отличий выявлено не было ($P \leq 0.05$). Активность ПО (рис 3г), как и экспрессия гена *POD* (рис 3г) в листьях всех опытных групп статистически значимо не отличалась от контроля ($P \leq 0.05$). Следует отметить, что экспрессия генов *SOD-1* (рис 1г) и *CAT-1* (рис 2г) во всех опытных группах не имела достоверных отличий ($P \leq 0.05$) несмотря на усиление активности кодируемых ими ферментов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ферментативный антиоксидантный статус формируется широким перечнем ферментов, среди которых наибольшее значение имеют СОД, КАТ и ПО (Demidchik, 2015; Ермаков *et al.*, 2019; Bobrovskikh *et al.*, 2020). Обсуждая и интерпретируя влияние ультразвука на активность ферментов АОС и экспрессию кодирующих их генов необходимо учитывать, что воздействие на молекулярном уровне осуществляется преимущественно на белковые структуры. Следует обращать внимание на изменение активности ферментов в растительных тканях и в водных растворах и механизм генетического регулирования на ультразвуковое воздействие.

Поскольку было установлено подавлением активности антиоксидантных ферментов сразу после ультразвукового воздействия на большинство опытных образцов с последующим восстановлением (через 1–24 ч) и усилением активности СОД и КАТ (через 6 суток) в листьях проростков можно предположить, что ультразвуковая обработка вероятнее всего оказывала эустрессирующее воздействие. Следовательно, после стадий тревоги и адаптации растений ультразвук приводил к гормезису, мобилизуя защитные механизмы клеток, в том числе, активируя ферменты АОС.

Падение активности антиоксидантных ферментов в прорастающих семенах сразу после ультразвукового воздействия, вероятно обусловлено особенностями изменения их конформации, уровнем агрегации, растворимости и пр. Исследования модельных белков показали, что ультразвук существенно влияет на уровень агрегации и растворимости, а также на степень флуоресценции и ряд других показателей. Например, длительное воздействие ультразвука на белок способствовало его агрегации и снижало степень растворимости (Deng *et al.*, 2021; Su, Cavaco-Paulo, 2021). Сонохимическое

воздействие ультразвуковой волны на белковые молекулы приводило к изменению их фолдинговых структур (Zhu *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Ding *et al.*, 2021; Yu *et al.*, 2021).

При воздействии на вторичную структуру белков не выявлено четкой зависимости между мощностью и временем ультразвукового воздействия и переходом одной структуры в другую. Изменение количества α -спиралей, β -складчатостей и участков с неопределенной структурой вероятнее всего зависело от природы белковых молекул, в первую очередь их аминокислотного состава (Ding *et al.*, 2021). Исследования влияния ультразвука на первичную структуру не однозначное, в некоторых работах демонстрировалось отсутствие такового воздействия (Biswas, Sit, 2020; Ding *et al.*, 2021), тогда как в других – наличие фрагментации белков (Lv *et al.*, 2019). Как в случае со вторичной структурой вероятнее всего это обусловлено природой белковых молекул (Lv *et al.*, 2019). Выявлена способность ультразвука оказывать влияние на активность ферментов (Zhu, *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2021), при этом кратковременное воздействие со слабой и умеренной мощностью может как усиливать, так и подавлять их активность, тогда как долговременное воздействие всегда приводит к существенному подавлению активности фермента. Известно, что ультразвук (частота 22 кГц, мощность 15 Вт/см², в течение 10–60 сек) (Gebicka, Gebicki, 1997) существенно снижал активность ПО в водных растворах, а ее частичная инактивация и модификация имела не химическую, а механическую основу (Ercan, Soysal, 2011), что согласуется с полученными нами данными, свидетельствующими о подавлении активности ПО в прорастающих семенах после ультразвукового воздействия (рис 3а, б). Известно, что ультразвук в водных растворах не способен дезактивировать КАТ (Kashkooli, 1980; Gebicka, Gebicki, 1997), что также наблюдалось в наших исследованиях, показавших незначительное подавление активности фермента в образцах после 5 минутной обработки ультразвуком.

Временное падение активности СОД (во всех опытных группах), КАТ (при 5 минутной обработки) и ПО (при 5 и 10 минутном воздействии), в прорастающих семенах сразу после ультразвуковой обработки, с последующим восстановлением активности спустя 1 ч (СОД), и 24 ч (КАТ и ПО) может свидетельствовать о временном ингибировании исследуемых ферментов, без серьезного нарушения структурной целостности молекул и последующего протеолиза. Усиление активности СОД и КАТ в опытных образцах подвергавшиеся 10 и 20 минутному ультразвуковому воздействию спустя 24 ч и 6 суток вероятнее всего было обусловлено усилением экспрессии генов данных ферментов.

В работах на растительных объектах демонстрировалось неоднозначное действие ультразвука

на ферменты АОС (Liu *et al.*, 2016; Ampofo, Ngadi, 2020; Huang *et al.*, 2022; Naumenko *et al.*, 2022; Pesti-Asbóth *et al.*, 2022). Так при действии ультразвука (частота 40 кГц, мощность 180 и 360 Вт, в течение 30, 45 и 60 мин.) на семена фасоли в период их набухания была показана активация ферментов АОС (КАТ и ПО) через 1–4 суток прорастания семян (Ampofo, Ngadi, 2020). Действие ультразвука (частота 40 кГц, мощность 100 Вт, в течение 15 мин) на семена сои не изменяло активность СОД, КАТ и ПО сразу после обработки (Huang *et al.*, 2022). Однако ультразвуковая обработка при аналогичных условиях усиливала активность СОД и КАТ, но не изменяла активность ПО через 1–3 суток прорастания семян (Huang *et al.*, 2022), что также подтверждено результатами данной работы. Действие ультразвука (частота 40 кГц, мощность 367 Вт, в течение 36 мин.) на предварительно замоченные семена овсяницы и ржи подавляло активность СОД и ПО (Liu *et al.*, 2016), но при обработке тех же семян, в фазу набухания, напротив, обнаруживалось стимулирование активности этих ферментов (Liu *et al.*, 2016). В данном исследовании установлено подавление активности всех исследуемых ферментов в предварительно замоченных семенах пшеницы сразу после ультразвукового воздействия, но было показано усиление активности СОД и КАТ и восстановление активности ПО через 1 и 6 суток после ультразвуковой обработки. Несмотря на кажущиеся противоречия в реакциях АОС растений на ультразвуковое воздействие такие результаты можно объяснить не только особенностями объекта исследования (вид растения, размер семян и их химический состав, возраст семян и пр.), продолжительностью и мощностью ультразвукового воздействия. На результаты влияет также фаза прорастания семян, в которой они были подвергнуты ультразвуковому воздействию. Стимулирующий эффект наблюдался после действия ультразвуком на семена, находящиеся в фазе набухания, а ингибирующий – в фазе роста первичных корешков. Кроме того, имеет значение время анализа биоматериала после ультразвуковой обработки. Например, семена фасоли исследовали спустя 24–96 ч после ультразвукового воздействия (Ampofo, Ngadi, 2020), а семена овсяницы и ржи гомогенизировали сразу после ультразвуковой обработки (Liu *et al.*, 2016).

Таким образом, от фазы прорастания семян существенно зависит эффект ультразвукового воздействия, который по множеству показателей значительно изменяется в динамике. В данной работе было изучено ультразвуковое воздействие на семена пшеницы, находящиеся в фазе роста первичных корешков (наиболее чувствительный к стрессовому воздействию период (Smolikova, Medvedev, 2022)), и показано первоначальное подавление активности ферментов АОС, последующее восстановление и усиление их активности, что в целом согласуется

с концепцией гормезиса (Calabrese, 2018; Jalal *et al.*, 2020; Jacome Burbano, Gilson, 2021). Усиление ферментативной активности видимо связано не с модификацией белковых молекул после ультразвукового воздействия, а с изменением уровня экспрессии генов, в частности, с усилением процессов транскрипции и запуском альтернативных путей реализации генетической информации (альтернативный сплайсинг, альтернативная инициация транскрипции, альтернативное полиадактирование) (Zhiguo *et al.*, 2013; Seo *et al.*, 2013; de Klerk, AC't Hoen, 2015; Li *et al.*, 2017; Gallegos, 2018; Reyes, Huber, 2018; John *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2022; Lam *et al.*, 2022), что может приводить к увеличению концентрации ферментов и изменению их изоформного состава (Jiang *et al.*, 2019; Saini *et al.*, 2021).

Увеличение содержания транскриптов мРНК исследуемых генов спустя 1 ч – 6 сут после ультразвукового воздействия вероятно обусловлено усилением процессов реализации генетического материала, в том числе в следствие ремоделирования хроматина, подавления процессов метилирования ДНК, активации ряда факторов транскрипции (в т.ч. теплового шока и имеющих в промоторе ССААТ мотив), что приводило к увеличению доступности ДНК для транскрипции (Maresca *et al.*, 2018; Hidvégi *et al.*, 2022). Активация транскрипции генов АОС может быть также обусловлена стрессовыми сигналами, возникающими в прорастающих семенах в результате ультразвукового воздействия, в их числе: гидравлические, химические, электрические (Vodeneev *et al.*, 2015), а повышенная генерация сигнальных молекул (сахара, АФК, гормоны и др.), образовавшихся вследствие повреждения клеток в результате ультразвукового воздействия, может стимулировать различные иницирующие пути биосинтеза мРНК (Pfannschmidt *et al.*, 2009; Hasanuzzaman *et al.*, 2020).

Отсутствие высокой зависимости между наблюдаемым изменением активности фермента и уровнем экспрессии его гена можно объяснить тем, что для оценки уровня экспрессии использовался только один ген, а их количество в геноме гораздо больше (Wang *et al.*, 2017; Jiang *et al.*, 2019; Tyagi *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2022a). При этом реакции генов, кодирующих один и тот же продукт, на внешнее воздействие неодинаковые и проявляются как в усилении, так и понижении уровня их экспрессии (Jiang *et al.*, 2019). Следует также отметить, что один ген может давать множество вариантов транскриптов мРНК, а праймеры, подобранные к аннотированным последовательностям представленных в генетической базе данных, могли не отжечься на кДНК альтернативных транскриптов (информация о которых в настоящее время не известна) (Zhiguo *et al.*, 2013; de Klerk, AC't Hoen, 2015; Li *et al.*, 2017; Gallegos, 2018; John *et al.*, 2021; Lam *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2022).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что в условиях ультразвукового воздействия на прорастающие семена пшеницы существенно менялось функционирование ферментов АОС, при этом изменение их активности носило преимущественно дозозависимый характер как в краткосрочном, так и в долгосрочном периоде. Активность ферментов в опытных образцах сразу после ультразвукового воздействия преимущественно ингибировалась, но затем восстанавливалась до уровня контроля или была выше контрольных значений. Максимальный эффект был выявлен в семенах, обработанных ультразвуком в течение 10 и 20 минут. Ультразвуковое воздействие усиливало экспрессию генов *SOD-1* и *CAT-1*, при этом накопление транскриптов мРНК, в отличие от увеличения активности ферментов, преимущественно имело дозозависимый характер. Таким образом, ультразвуковая обработка вероятнее всего оказывала эустрессирующее воздействие, что после стадий тревоги и адаптации приводило к гормезису, мобилизуя защитные механизмы клеток, в том числе активируя ферменты АОС.

В зародышевых тканях пшеницы зависимость усиления активности СОД и КАТ от ультразвукового воздействия регулировалась на уровне транскрипции соответствующих генов, поскольку увеличение концентрации транскриптов генов *SOD-1* и *CAT-1* предшествовало усилению активности данных ферментов. Факт отсутствия усиления экспрессии генов *SOD-1* и *CAT-1* в листьях проростков после ультразвуковой обработки семян при увеличении активности кодирующих их ферментов является перспективой дальнейших исследований. В частности изучение экспрессии всех генов, кодирующих СОД и КАТ, их факторов транскрипции, особенности структурной организации цис- и транс- регуляторных участков и альтернативных путей реализации генетической информации (альтернативная инициация транскрипции, сплайсинг и полиаденилирование) поможет более детально разобраться в механизмах влияния ультразвука на работу АОС растений.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Эта работа поддерживалась постоянным институциональным финансированием. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство этим конкретным исследованием получено не было.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
- Колупаев, Ю. Е. Антиоксиданты растительной клетки, и их роль в АФК сигналинге и устойчивости растений // Успехи соврем. биол. 2016. Т. 136. С. 181–198.
- Методы биохимического исследования растений / под редакцией А. И. Ермакова. Изд. 3-е, перераб. и доп. Л.: Агропромиздат, 1987 г. 432 с.
- Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / под редакцией Вл. В. Кузнецова, В. В. Кузнецова, Г. А. Романова. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. 2011 г. 487 с.
- Пашовкин Т. Н., Шильников Г. В. Регистрация и анализ распределений интенсивностей в ультразвуковых пучках с использованием красителей // Научное приборостроение. 2000. Т. 10. № 3. С. 17–26
- Полесская О. Г., Каширина Е. И., Алехина Н. Д. Изменение активности антиоксидантных ферментов в листьях и корнях пшеницы в зависимости от формы и дозы азота в среде // Физиология растений. 2004. Т. 51. С. 686–691.
- Сиротюк М. Г. Акустическая кавитация. М.: Наука, 2008. 271 с.
- Ampofo J. O., Ngadi M. Ultrasonic assisted phenolic elicitation and antioxidant potential of common bean (*Phaseolus vulgaris*) sprouts // Ultrason Sonochem. 2020. № 64. P. 104–974. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.104974>
- Biswas B., Sit N. Effect of ultrasonication on functional properties of tamarind seed protein isolates // J Food Sci Technol. 2020. V. 57. № 6. P. 2070–2078. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04241-8>
- Bobrovskikh A., Zubairova U., Kolodkin A., Doroshkov A. Subcellular compartmentalization of the plant antioxidant system: an integrated overview. PeerJ. 2020. V. 8. <https://doi.org/10.7717/peerj.9451>
- Cabassa-Hourton C., Schertl P., Bordenave-Jacquemin M., Saadallah K., Guivarc'h A., Lebreton S., Planchais S., Klodmann J., Eubel H., Crilat E., Lefebvre-De Vos D., Ghelis T., Richard L., Abdelly C., Carol P., Braun H. P., Savouré A. Proteomic and functional analysis of proline dehydrogenase 1 link proline catabolism to mitochondrial electron transport in *Arabidopsis thaliana* // Biochem J. 2016. V. 473. № 17. P. 2623–2634. <https://doi.org/10.1042/bcj20160314>
- Calabrese E. J. Hormesis: Path and Progression to Significance. Int J Mol Sci. 2018. V. 19. № 10. P. 28–71. <https://doi.org/10.3390/ijms19102871>
- Cao W., Wang P., Yang L., Fang Z., Zhang Y., Zhuang M., Lv H., Wang Y., Ji J. Carotenoid Biosynthetic Genes in Cabbage: Genome-Wide Identification, Evolution, and Expression Analysis // Genes (Basel). 2021. V. 12. № 12. P. 20–27. doi: 10.3390/genes12122027

- de Klerk E., AC't Hoen P.A. Alternative mRNA transcription, processing, and translation: insights from RNA sequencing // Trends Genet. 2015. V. 31. № 3. P. 128–139. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2015.01.001>
- Demidchik V. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology // Environ. Expt. Bot. 2015. № 109. P. 212–228. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.021>
- Deng X., Ma Y., Lei Y., Zhu X., Zhang L., Hu L., Lu S., Guo X., Zhang J. Ultrasonic structural modification of myofibrillar proteins from *Coregonus peled* improves emulsification properties // Ultrason Sonochem. 2021. № 76. P. 105–659. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105659>
- Ding Q., Tian G., Wang X., Deng W., Mao K., Sang Y. Effect of ultrasonic treatment on the structure and functional properties of mantle proteins from scallops (*Patinopecten yessoensis*) // Ultrason Sonochem. 2021. № 79. P. 105–770. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105770>
- Dixon D. P., Laphorn A. Edwards R. Plant glutathione transferases // Genome Biol. 2002. V. 3. № 3. REVIEWS3004.1–30004–10. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-3-reviews3004>
- Dobránszki J., Hidvégi N., Gulyás A., Tóth B., Teixeira da Silva J.A. Abiotic stress elements in in vitro potato (*Solanum tuberosum* L.) exposed to air-based and liquid-based ultrasound: A comparative transcriptomic assessment // Prog Biophys Mol Biol. 2020. V. 158. P. 47–56. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2020.09.001>
- Ercan S. S., Soysal C. Effect of ultrasound and temperature on tomato peroxidase // Ultrason Sonochem. 2011. V. 18. № 2. P. 689–695. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.09.014>
- Ermakov A., Bobrovskikh A., Zubairova U., Konstantinov D., Doroshkov A. Stress-induced changes in the expression of antioxidant system genes for rice (*Oryza sativa* L.) and bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // PeerJ. 2019. V. 7. <https://doi.org/10.7717/peerj.7791>
- Fritsche S., Wang X., Jung C. Recent Advances in our Understanding of Tocopherol Biosynthesis in Plants: An Overview of Key Genes, Functions, and Breeding of Vitamin E Improved Crops // Antioxidants (Basel). 2017. V. 6. № 4. P. 99. <https://doi.org/10.3390/antiox6040099>
- Gallegos J. Alternative Splicing Plays a Major Role in Plant Response to Cold Temperatures // Plant Cell. 2018. V. 30. № 7. P. 1378–1379. <https://doi.org/10.1105/tpc.18.00430>
- Gebicka L., Gebicki J. L. The effect of ultrasound on heme enzymes in aqueous solution // J Enzyme Inhib. 1997. V. 12. № 2. P. 133–141. <https://doi.org/10.3109/14756369709035814>
- Chavan P., Sharma P., Sharma S. R., Mittal T. C., Jaiswal A. K. Application of High-Intensity Ultrasound to Improve Food Processing Efficiency: A Review // Foods. 2022. V. 11. № 1. P. 122. <https://doi.org/10.3390/foods11010122>
- Huang Y., Mei G., Fu X., Wang Y., Ruan X., Cao D. Ultrasonic Waves Regulate Antioxidant Defense and Glucoseogenesis to Improve Germination from Naturally Aged Soybean Seeds // Front Plant Sci. 2022. № 13. P. 833–858. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.833858>
- Hasanuzzaman M., Bhuyan M., Parvin K., Bhuiyan T. F., Anee T. I., Nahar K., Hossen M. S., Zulfiqar F., Alam M. M., Fujita M. Regulation of ROS Metabolism in Plants under Environmental Stress: A Review of Recent Experimental Evidence // Int J Mol Sci. 2020. V. 21. № 22. P. 86–95. <https://doi.org/10.3390/ijms21228695>
- Hassan S., Imran M., Ahmad N., Khan M. K. Lipids characterization of ultrasound and microwave processed germinated sorghum // Lipids Health Dis. 2017. № 16. № 1. P. 125. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0516-4>
- Hidvégi N., Gulyás A., Dobránszki J. Ultrasound, as a hypomethylating agent, remodels DNA methylation and alters mRNA transcription in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings // Physiol Plant. 2022. V. 174. № 5. <https://doi.org/10.1111/ppl.13777>
- Jacome Burbano M.S., Gilson E. The Power of Stress: The Telo-Hormesis Hypothesis // Cells. 2021. V. 10. № 5. P. 11–56. <https://doi.org/10.3390/cells10051156>
- Jalal B., McNally R.J., Elias J.A., Potluri S., Ramachandran V. S. “Fake it till You Make it”! Contaminating Rubber Hands (“Multisensory Stimulation Therapy”) to Treat Obsessive-Compulsive Disorder // Front Hum Neurosci. 2020. V. 13. P. 414. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2019.00414>
- Jiang W., Yang L., He Y., Zhang H., Li W., Chen H., Ma D., Yin J. Genome-wide identification and transcriptional expression analysis of superoxide dismutase (SOD) family in wheat (*Triticum aestivum*) // PeerJ. 2019. V. 7. <https://doi.org/10.7717/peerj.8062>
- John S., Olas J. J., Mueller-Roeber B. Regulation of alternative splicing in response to temperature variation in plants // J Exp Bot. 2021. V. 72. № 18. P. 6150–6163. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab232>
- Karthikesh M. S., Yang X. The effect of ultrasound cavitation on endothelial cells // Exp Biol Med (Maywood). 2021. V. 246. № 7. P. 758–770. <https://doi.org/10.1177/1535370220982301>
- Kashkooli H. A., Rooney J. A., Roxby R. Effects of ultrasound on catalase and malate dehydrogenase // J Acoust Soc Am. 1980. V. 67. № 5. P. 1798–1801. <https://doi.org/10.1121/1.384309>
- Kawakami D., Yoshida T., Kanemaru Y., Huarhua Zaqinaula M. H., Mizukami T., Arimoto M., Shibata T., Goto A., Enami Y., Amano H., Teraoka T., Komatsu K., Arie T. Induction of resistance to diseases in plant by aerial ultrasound irradiation // J Pestic Sci. 2019. V. 44. № 1. P. 41–47. <https://doi.org/10.1584/jpestics.d18-064>

- Lam P. Y., Wang L., Lo C., Zhu F. Y. Alternative Splicing and Its Roles in Plant Metabolism // *Int J Mol Sci*. 2022. V. 23. № 13. P. 73–55.
<https://doi.org/10.3390/ijms23137355>
- Li Q. Q., Liu Z., Lu W., Liu M. Interplay between Alternative Splicing and Alternative Polyadenylation Defines the Expression Outcome of the Plant Unique OXIDATIVE TOLERANT-6 Gene // *Sci Rep*. 2017. V. 7. № 1. P. 20–52.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-02215-z>
- Li Y., Cheng Y., Zhang Z., Wang Y., Mintah B. K., Dabbour M., Jiang H., He R., Ma H. Modification of rapeseed protein by ultrasound-assisted pH shift treatment: Ultrasonic mode and frequency screening, changes in protein solubility and structural characteristics // *Ultrason Sonochem*. 2020. № 69. P. 105–240.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105240>
- Liu J., Wang Q., Karagić Đ., Liu X., Cui J., Gui J., Gu M., Gao W. Effects of ultrasonication on increased germination and improved seedling growth of aged grass seeds of tall fescue and Russian wildrye // *Sci Rep*. 2016. № 6. <https://doi.org/10.1038/srep22403>
- López-Ribera I., Vicient C. M. Use of ultrasonication to increase germination rates of Arabidopsis seeds // *Plant Methods*. 2017. V. 13. P. 31.
<https://doi.org/10.1186/s13007-017-0182-6>
- Lowry, O. N., Rosenbrough N. J., Tarr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem*. 1951. V. 193. № 1. P. 265–275.
- Lv S., Taha A., Hu H., Lu Q., Pan S. Effects of Ultrasonic-Assisted Extraction on the Physicochemical Properties of Different Walnut Proteins // *Molecules*. 2019. V. 24. № 23. P. 4260.
<https://doi.org/10.3390/molecules24234260>
- Maresca D., Lakshmanan A., Abedi M., Bar-Zion A., Farhadi A., Lu G. J., Szablowski J. O., Wu D., Yoo S., Shapiro M. G. Biomolecular Ultrasound and Sonogenetics // *Annu Rev Chem Biomol Eng*. 2018. V. 9. P. 229–252.
<https://doi.org/10.1146/annurev-chembioeng-060817-084034>
- Naumenko N., Potoroko I., Kalinina I. Stimulation of antioxidant activity and γ -aminobutyric acid synthesis in germinated wheat grain *Triticum aestivum* L. by ultrasound: Increasing the nutritional value of the product // *Ultrason Sonochem*. 2022. V. 86. P. 106–000.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106000>
- Patterson B. D., Payne L. A., Chen Y. Z., Graham D. An inhibitor of catalase induced by cold in chilling-sensitive plants. *Plant Physiol*. 1984. V. 76. № 4. P. 1014–1018.
<https://doi.org/10.1104/pp.76.4.1014>
- Pesti-Asbóth G., Molnár-Bíró P., Forgács I., Remenyik J., Dobránszki J. Ultrasonication affects the melatonin and auxin levels and the antioxidant system in potato *in vitro* // *Front Plant Sci*. 2022. V. 13. P. 979–141.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.979141>
- Pfannschmidt T., Bräutigam K., Wagner R., Dietzel L., Schröter Y., Steiner S., Nykytenko A. Potential regulation of gene expression in photosynthetic cells by redox and energy state: approaches towards better understanding // *Ann Bot*. 2009. V. 103. № 4. P. 599–607.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcn081>
- Ratnikova T. A., Podila R., Rao A. M., Taylor A. G. Tomato Seed Coat Permeability to Selected Carbon Nanomaterials and Enhancement of Germination and Seedling Growth // *ScientificWorldJournal*. 2015. V. 2015. P. 419–215.
<https://doi.org/10.1155/2015/419215>
- Reyes A., Huber W. Alternative start and termination sites of transcription drive most transcript isoform differences across human tissues // *Nucleic Acids Res*. 2018. V. 46. № 2. P. 582–592.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkx1165>
- Saini A., Rohila J. S., Govindan G., Li Y. F., Sunkar R. Splice Variants of Superoxide Dismutases in Rice and Their Expression Profiles under Abiotic Stresses // *Int J Mol Sci*. 2021. V. 22. № 8 P. 39–97.
<https://doi.org/10.3390/ijms22083997>
- Schmittgen T. D., Zakrajsek B. A., Mills A. G., Gorn V., Singer M. J., Reed M. W. Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction to study mRNA decay: comparison of endpoint and real-time methods // *Anal Biochem*. 2000. V. 285. № 2. P. 194–204.
<https://doi.org/10.1006/abio.2000.4753>
- Seo P. J., Park M. J., Park C. M. Alternative splicing of transcription factors in plant responses to low temperature stress: mechanisms and functions // *Planta*. 2013. V. 237. № 6. P. 1415–1424.
<https://doi.org/10.1007/s00425-013-1882-4>
- Smolikova G., Medvedev S. Seed-to-Seedling Transition: Novel Aspects // *Plants (Basel)*. 2022. V. 11. № 15. P. 19–88.
<https://doi.org/10.1007/s00425-013-1882-4>
- Su J., Cavaco-Paulo A. Effect of ultrasound on protein functionality // *Ultrason Sonochem*. 2021. № 76. P. 105–653.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105653>
- Sun Z., Li S., Chen W., Zhang J., Zhang L., Sun W., Wang Z. Plant Dehydrins: Expression, Regulatory Networks, and Protective Roles in Plants Challenged by Abiotic Stress // *Int J Mol Sci*. 2021. V. 22. № 23 <https://doi.org/10.3390/ijms222312619>
- Tovoli F., Cantisani V., Schiavone C., Piscaglia F. What Future for Ultrasound in Medicine? // *Ultraschall Med*. 2018. V. 39. № 1. P. 7–10.
<https://doi.org/10.1055/s-0043-125421>
- Tyagi S., Shumayla, Verma P. C., Singh K., Upadhyay S. K. Molecular characterization of ascorbate peroxidase (APX) and APX-related (APX-R) genes in *Triticum aestivum* L. // *Genomics*. 2020. V. 112. № 6. P. 4208–4223.
<https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.07.023>
- Vodeneev V., Akinchits E., Sukhov V. Variation potential in higher plants: Mechanisms of generation and propagation // *Plant Signal Behav*. 2015. V. 10. № 9.
<https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1057365>

- Wang Q., Chen G., Yersaiyiti H., Liu Y., Cui J., Wu C., Zhang Y., He X. Modeling analysis on germination and seedling growth using ultrasound seed pretreatment in switchgrass. *PLoS One*. 2012. V. 7. № 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047204>
- Wang W., Zhang X., Deng F., Yuan R., Shen F. Genome-wide characterization and expression analyses of superoxide dismutase (SOD) genes in *Gossypium hirsutum* // *BMC Genomics*. 2017. V. 18. № 1. P. 376. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3768-5>
- Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology // *Plant Physiol*. 2001 V. 126. № 2. P. 485–493. <https://doi.org/10.1104/pp.126.2.485>
- Wong K. S., Lee L., Yeo L. Y., Tan M. K. Enhancing rate of water absorption in seeds via a miniature surface acoustic wave device // *R Soc Open Sci*. 2019. № 6. № 3. P. 181560–181571. <https://doi.org/10.1098/rsos.181560>
- Yang X., Jia Z., Pu Q., Tian Y., Zhu F., Liu Y. ABA Mediates Plant Development and Abiotic Stress via Alternative Splicing // *Int J Mol Sci*. 2022. V. 23. № 7. P. 37–96. <https://doi.org/10.3390/ijms23073796>
- Yu M., Zhou Y., Wang X., Xie M., Zhang B., Yu H., Sun Z. Effect of ultrasonic pre-treatment on Ara h 1 in peanut sprouts // *Ultrason Sonochem*. 2021. № 75. P. 105–607. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105607>
- Zhang Y., Zheng L., Yun L., Ji L., Li G., Ji M., Shi Y., Zheng X. Catalase (CAT) Gene Family in Wheat (*Triticum aestivum* L.): Evolution, Expression Pattern and Function Analysis // *Int J Mol Sci*. 2022a. V. 23. № 1. P. 542. <https://doi.org/10.3390/ijms23010542>
- Zhang G., Xu J., Wang Y., Sun X., Huang S., Huang L., Liu Y., Liu H., Sun J. Combined transcriptome and metabolome analyses reveal the mechanisms of ultrasonication improvement of brown rice germination. *Ultrason Sonochem*. 2022b. № 91. P. 106–239. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106239>
- Zhao F., Liu X., Ding X., Dong H., Wang W. Effects of High-Intensity Ultrasound Pretreatment on Structure, Properties, and Enzymolysis of Soy Protein Isolate // *Molecules*. 2019. V. 24. № 20. P. 36–37. <https://doi.org/10.3390/molecules24203637>
- Zhao P., Huo S., Fan J., Chen J., Kiessling F., Boersma A. J., Göstl R., Herrmann A. Activation of the Catalytic Activity of Thrombin for Fibrin Formation by Ultrasound // *Angew Chem Int Ed Engl*. 2021. № 60. № 26. P. 14707–14714. <https://doi.org/10.1002/anie.202105404>
- Zhiguo, E., Wang L., Zhou J. Splicing and alternative splicing in rice and humans // *BMB Rep*. 2013. V. 46. № 9. P. 439–447. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2013.46.9.161>
- Zhu L., Zhu L., Murtaza A., Liu Y., Liu S., Li J., Iqbal A., Xu X., Pan S., Hu W. Ultrasonic Processing Induced Activity and Structural Changes of Polyphenol Oxidase in Orange (*Citrus sinensis* Osbeck) // *Molecules*. 2019. № 24. № 10. P. 1922. <https://doi.org/10.3390/molecules24101922>

Dynamics of the activity of antioxidant enzymes and the expression of the genes encoding them in wheat after ultrasound exposure

© 2024 S. S. Tarasov[#], E. K. Krutova

Nizhny Novgorod State Agricultural Academy, Gagarin Ave., 97, Nizhny Novgorod, 603022 Russia

[#]E-mail: tarasov_ss@mail.ru

The effect of ultrasound (5, 10 and 20 min, intensity 25 kW/m², frequency 26.1 kHz) on the dynamics of the activity of the main antioxidant enzymes: superoxide dismutase, catalase, peroxidase and the expression of the genes encoding them (SOD-1, CAT, POD) was studied in germinating seeds and wheat sprouts. Ultrasound after 1 hour predominantly suppressed the activity of antioxidant enzymes, with subsequent restoration and increase (after 1 and 6 days) of activity. The content of mRNA transcripts of the studied genes predominantly increased 1 hour after exposure, and subsequently (after 1 and 6 days) it was either higher or remained equal to the control. The results obtained apparently indicate that ultrasound triggers eustress mechanisms, i.e. the stimulating effect led to the mobilization of protective processes of cells – hormesis.

Key words: *Triticum aestivum*, catalase, peroxidase, germinating seeds, superoxide dismutase, ultrasound, gene expression

МИКРОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНОВ ОНДАТРЫ, ЗАРАЖЕННОЙ *QUINQUESERIALIS* *QUINQUESERIALIS* (TREMATODA: NOTOCOTILIDAE)

© 2024 г. О. Е. Мазур*[@], А. С. Фомина**[,] ***

*Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, ул. Сахьяновой, 6, Улан-Удэ, 670047 Россия

**Байкальский филиал ФГБНУ «ВНИРО», ул. Хахалова, 46, Улан-Удэ, 670034 Россия

*** ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет», ул. Смолина, 24а, Улан-Удэ, 670000 Россия

@E-mail: olmaz33@yandex.ru

Поступила в редакцию 07.04.2023 г.

После доработки 30.05.2023 г.

Принята к публикации 30.05.2023 г.

Quinqueserialis quinqueserialis (Trematoda: Notocotilidae) – широко распространенный вид в Голарктики, паразитирующий в слепой кишке у ондатры. В работе впервые приведены результаты микроморфологических исследований паренхиматозных органов ондатры при высокой интенсивности инвазии *Q. quinqueserialis*. У зараженных ондатр установлена активация В-клеточного и макрофагального звеньев иммунной системы на фоне ингибирования гранулоцитарных реакций в селезенке, в печени выявлены дистрофии разного типа, с формированием функциональной дезадаптации органа в почках регистрируются воспалительные изменения с признаками альтернативных, некробиотических процессов. Развитие деструктивных патоморфологических процессов указывают на участие трематоды в патогенезе этого паразитоза. Полученные данные дают новую информацию для понимания функций лимфоидных и паренхиматозных органов у диких грызунов при трематодозах.

Ключевые слова: *Quinqueserialis quinqueserialis*, ондатра, микроморфология, печень, почки, селезенка

DOI: 10.31857/S1026347024020044, **EDN:** WCKOTC

Ондатра (*Ondatra zibethicus*) (Linnaeus, 1766) (род *Rodentia*, семейство Cricetidae) полуводный грызун является эндемиком Северной Америки. Этот единственный в своем семействе вид является высоко адаптируемым. В результате масштабных интродукционных работ ондатра значительно расширила свой ареал до евроазиатской части Голарктики, успешно заселив водно-болотные угодья, пруды, прибрежные районы, озера, берега рек и эстуарии (Чашухин, 2007; Карабекова и др., 2019; Седалишев, Однокурцев, 2021; Шадрина и др., 2021; Schuster *et al.*, 2021). Ондатра, являясь травоядным животным и пищевым ресурсом для плотоядных млекопитающих, оказывает значительное влияние на состояние биоценозов (Чашухин, 2007). Кроме того, ондатра, являясь источником лекарственного и мясо-пушного сырья, представляет собой экономически важный вид. Этот вид имеет также важное эпидемиолого-эпизоотологическое значение, так как служит переносчиком ряда инфекционных зоонозов, а также является хозяином большого количества экто- и эндопаразитов (Ganoe *et al.*, 2020; Юлдашева, Мусуралиева, 2021). Несмотря на многостороннюю значимость *O. zibethicus*, очень мало сведений

по изучению болезней, вызванных гельминтами у этого вида.

По данным ретроспективных фаунистических сводок гельминтологических исследований паразитами ондатры, которые способны повлиять на численность популяций животного, являются трематоды (Warwick, 1936; Максимов, 1975; Жалцанова, Белякова, 1986). Трематоды из семейства Notocotylidae, паразитирующие у грызунов в слепой и толстой кишке, имеют широкий географический ареал. Причиной этого являются экологические особенности вида: водоемы богаты промежуточными хозяевами трематод – моллюсками Gastropoda, являющиеся частью рациона ондатр (Cuvier, 1797) (Каденации, 1975; Faltynkova, Haas, 2006; Чихляев и др., 2012; Naem, Smythe, 2015; Сербина, 2016; Gagnon, Detwiler, 2019).

Трематода *Quinqueserialis quinqueserialis* (Barker et Laughlin, 1911) – космополит этого семейства, является специфичным гельминтом ондатры. Впервые был изучен и назван *Notocotyle quinqueserialis* (Barker, Laughlin 1911), а затем переписан и переименован в *Q. quinqueserialis* (Harwood, 1939). Исследования паразитофауны ондатры показали, что этот вид является чаще

доминирующим, и с разной интенсивностью инвазии выявляется в Белоруссии (Анисимова, 2018), Казахстане (Базарбеков и др., 2017), Литве (Mañeika *et al.*, 2009), Германии (Schuster *et al.*, 2021), Аляске и Канаде (Naem, Smythe, 2015; Gagnon *et al.*, 2021), Америке (Willner *et al.*, 1980; Naem, Smythe, 2015), Британии (Warwick, 1936). Первые сведения о зараженности ондатры *Q. quinqueserialis* в России получены Е. А. Васильевым (1939), в республике Бурятия (Россия) Мачульским (1948). Экстенсивность инвазии (ЭИ) трематодой у ондатр из разных районов Республики Бурятия составляла 4.7–33.7%. Нами отмечены случаи зараженности ондатры до 500 экз. марит на одну особь, при ЭИ 85,7–97,1% (Фомина и др., 2012). Имеются данные по морфологическим и молекулярным характеристикам самой трематоды *Q. quinqueserialis* (McKenzie, Welch, 1979; Жалцанова, Белякова, 1986; Naem, Smythe, 2015; Gagnon *et al.*, 2021). Есть небольшое число работ по патогенезу паразитозов ондатры, вызванных гельминтами различных систематических групп (Knight, 1951; Ондатра..., 1993; Borucinska *et al.*, 1997; Miterpakova *et al.*, 2006; Ganoe *et al.*, 2020). Однако в целом, паразитологические исследования сообщают только о распространенности гельминтов без изучения физиологии животного и негативных последствий инвазий для его здоровья (Kennedy, 2016). Патогенная роль *Q. quinqueserialis* в развитии функциональных и морфологических дисфункций организма остается в целом не исследованной.

Данная работа является частью серии работ по изучению взаимоотношений в системе "*O. zibeticus* – *q. Quinqueserialis*", в которой впервые приведены результаты микроморфологических исследований паренхиматозных органов ондатры, незараженной и зараженной трематодой в естественных условиях среды обитания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биологический материал для исследований получен от ондатр, добытых отстрелом в период массовой промышленной заготовки шкурок в июле 2012 г. из различных участков южной части дельты реки Селенги (протоки Харауз, Мосалиха, Толстая ножка) (рис. 1). Дельта реки Селенги является основной речной системой бассейна оз. Байкал (Восточная Сибирь, Россия), где в настоящее время поддерживается достаточно высокий уровень популяции ондатры и ведется ее промысел (Дельта..., 2008).

Методом неполных гельминтологических вскрытий по К. И. Скрябину (1928) исследовано 36 экз. ондатр половозрелого возраста (1+...3+). Исследуемые животные были разделены на две группы: зараженные трематодой ($n = 26$ экз.)

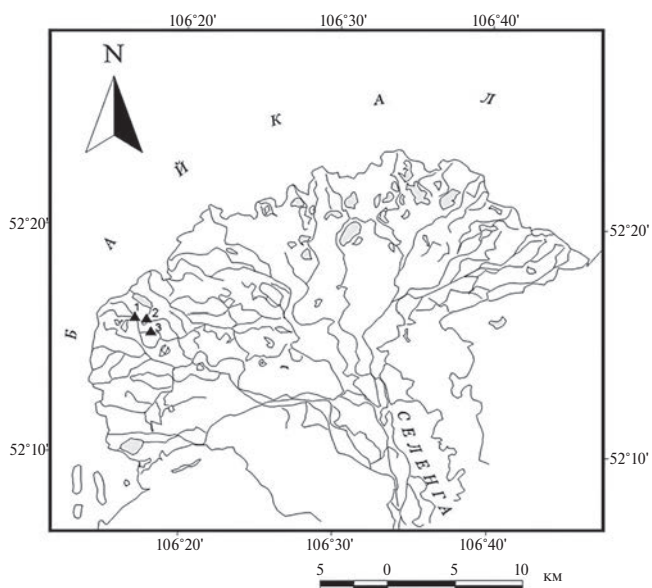


Рис. 1. Места отбора проб в дельте реки Селенги (протоки (1) Харауз, (2) Толстая ножка, (3) Мосалиха).

и незараженные ($n = 10$ экз.). Интенсивность инвазии трематодой в зараженной группе составила 200–500 экземпляров марит на одну особь. Определение возраста ондатры проводили по методу Д. С. Цыганкова (1955), основанному на различиях в весе, длине тела зверьков и стертости зубов.

Кусочки паренхиматозных органов (селезенка, почки и печень) размером 0.5 на 0.5 см фиксировали в забуференном 10% формалине, чтобы исключить посмертные изменения тканей. После фиксации органы обезжизивали в спиртах восходящей концентрации, начиная с 70% (в качестве дегидрирующих растворов взята смесь бутанола и этанола), заливали гистологическим парафином и изготавливали срезы по стандартной методике (Меркулов, 1969). Полученные срезы размером 3–4 мкм окрашивали гематоксилин-эозином Эрлиха, азур2-эозином. Микроскопическое исследование и количественный подсчет клеток проводили под световым микроскопом МС 300А (Micros-Austria). Среднее число клеток в срезах тканей определяли в поле зрения микроскопа при увеличении в 1000 раз на площади 1 мм².

Результаты исследований обрабатывали с помощью пакета программ Statistica 6.0. Для сравнения различий между показателями применяли непараметрический критерий Манна–Уитни (the Mann–Whitney U-test) при уровне достоверности $p < 0.01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование печени зараженных *Q. quinqueserialis* ондатр выявило нарушения реологических свойств крови (сладжирование), очаговую

Таблица 1. Клеточный состав герминативной и маргинальной зон селезенки ондатры при инвазии трематодой *Quinqueserialis quinqueserialis* ($M \pm m_x$)

Показатель (%)	Герминативная зона		Маргинальная зона	
	Незараженные	Зараженные	Незараженные	Зараженные
Малые лимфоциты	27.2 ± 4.8	44.3 ± 1.52*	27.8 ± 1.87	30.9 ± 2.1
Средние лимфоциты	8.6 ± 2.46	19.4 ± 1.48*	20.0 ± 1.84	19.8 ± 0.42
Большие лимфоциты	3.3 ± 0.67	2.8 ± 0.55	3.6 ± 0.95	3.7 ± 0.77
Бластные клетки	24.4 ± 3.49	12.5 ± 0.98	20.8 ± 1.25	21.6 ± 0.71
Плазмоциты	2.03 ± 0.11	4.0 ± 0.66*	3.0 ± 0.29	6.3 ± 0.47*
Плазмобласты	1.5 ± 0.75	3.2 ± 0.51*	4.3 ± 0.69	3.0 ± 0.78
Нейтрофилы	0	0	0.8 ± 0.11	0.1 ± 0.01*
Эозинофилы	0	0	2.8 ± 0.22	0.6 ± 0.25*
Макрофаги	0.7 ± 0.26	2.3 ± 0.44*	0.8 ± 0.19	1.2 ± 0.39*
Митотически делящиеся клетки	0.8 ± 0.31	1.9 ± 0.30*	0.8 ± 0.11	0.8 ± 0.33
Деструктивно измененные клетки	1.9 ± 0.75	2.8 ± 0.36*	2.0 ± 0.23	4.0 ± 0.66*
Клетки стромы	29.5 ± 0.35	6.6 ± 0.80	13.4 ± 0.7	7.9 ± 0.22

Примечание. М — среднее арифметическое; m_x — ошибка среднего; * — значимо относительно незараженных особей при $p < 0.01$.

отечность органа, эритростаз, чередование участков со слабым кровенаполнением и очагов венозно-капиллярного полнокровия, обширные очаги склероза тканей сосудов. Гепатоциты печени зараженных ондатр по сравнению с незараженными особями характеризовались наличием признаков обширной вакуольной гидропической и жировой дистрофии. В центрилобулярной и перипортальной зонах печени обнаруживались клетки с признаками апоптоза, кариолизиса и кариорексиса. В печени зараженных ондатр, наряду с обширными очагами некроза и альтернативными процессами, отмечалось значимое снижение числа двоядерных гепатоцитов до 3.1 ± 0.12 в поле зрения, против 4.4 ± 0.23 у незараженных животных.

Исследование почек ондатры показало, что у всех исследованных животных в органе наблюдались выраженные альтернативные, некробиотические изменения, с преимущественным поражением клеток эпителия канальцев. Вместе с тем у незараженных ондатр степень поражения канальцев почек была менее выражена. В почках зараженных животных отмечались явления диффузного отека интерстициальной ткани. Клубочки почек у незараженных особей были сохранены. У зараженных животных, напротив, в просвете капсулы Шумлянского-Боумэна выявлялся гомогенат бледно-розового цвета, зоны мезангия были расширены. В некоторых клубочках почек зараженных ондатр отмечено явление “проволочных петель” — десквамация эндотелиальных и эпителиальных клеток

гломерулярного фильтра. В канальцах почек единично встречались измененные клетки эпителия с незначительно выраженной гиалиново-капельной дистрофией. В канальцах почек зараженных ондатр обнаруживались обширные очаги гиалиново-капельной дистрофии, выявлялся некроз группы канальцев.

В селезенке зараженных и незараженных ондатр отмечались очаги диффузного кровенаполнения красной пульпы. У зараженных ондатр в красной пульпе селезенки выявлялось скопление амилоида и высокое содержание гемосидерофагов, свидетельствующее об обширном кровоизлиянии в селезенке. В белой пульпе обнаруживались крупные лимфатические фолликулы с умеренными зонами просветления.

Исследование клеточного состава герминативной зоны селезенки показало, что у зараженных ондатр значимо выше по сравнению с незараженными животными содержание следующих клеток: малых (в 1.6 раза) и средних лимфоцитов (2.3 раза), в 2 раза плазмоцитов и плазмобластов, в 3.3. раза макрофагов, митотически делящихся (в 2.4 раза) и деструктивно измененных клеток (в 1.5 раза) (табл. 1).

В маргинальной зоне селезенки зараженных животных отмечено значимое увеличение в 2 раза доли плазмоцитов и деструктивно измененных клеток, в 1.5 раза — доли макрофагов, и значимое снижение в 8 раз числа нейтрофилов и в 4.7 раза числа эозинофилов (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕУЛЬТАТОВ

Патогенное воздействие гельминтов связано не только с патологией органов локализации, но и с общим воздействием на организм хозяина (Wu *et al.*, 2022). Негативные эффекты паразитизма в большей степени фиксируются исследователями у людей и домашних животных, в то время на изучение патофизиологических процессов, инициированных гельминтами у диких млекопитающих, уделяется меньшее внимание. Нами обнаружено единичное число исследований по паразито-хозяйным взаимоотношениям между ондатрами и их гельминтами (Borucinska *et al.*, 1997; Miterpakova *et al.*, 2006; Ganoe *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2023).

Информация о патогенности *Q. quinqueserialis* в мире в целом отсутствует. Мишенью для паразитирования трематоды является слепая кишка ондатры. Ранее нами у зараженных *Q. quinqueserialis* ондатры было обнаружено при высокой интенсивности инвазии индукцию Т-супрессорной активности иммунного ответа, отсутствие гранулоцитарной реакции и появление бластных клеток в крови зараженных ондатр, было отмечено усиление бласттрансформации В-лимфоцитов в тканях слепой кишки (Мазур, Фомина, 2014). В данной работе впервые описаны микроморфологические изменения паренхиматозных и лимфоидных органов (печень, почки, селезенка) *O. zibethicus* зараженных *Q. quinqueserialis*.

Кишечные трематоды менее связаны со смертностью животных, чем другие виды гельминтов, однако могут наносить серьезные морфофункциональные повреждения органов и тканей (Toledo *et al.*, 2006). Наше исследование показало, что морфологические изменения в печени зараженных трематодой ондатр характеризовались разными видами дистрофий, отмечено снижение числа двуядерных гепатоцитов, что свидетельствовало о снижении регенерирующей способности органа. Известно, что восстановительные процессы в печени реализуются через внутриклеточную регенерацию, в частности образованием двух и более ядер в клетках печени (Wang *et al.*, 2017; Donne *et al.*, 2020). Есть данные, что повышение ploидности гепатоцитов является защитным механизмом против патогенов и повреждений ДНК, от окислительного стресса для которого первой мишенью как раз являются паренхиматозные клетки (Anatskaya, Vinogradov, 2007; Андреев и др., 2020). Так, при увеличении функциональной нагрузки на печень, в частности при переходе от молочного вскармливания самкой детенышей к самостоятельному питанию твердой пищей или после частичной гепатэктомии, в гепатоцитах фиксируются признаки оксидантного стресса, снижение общего содержания глутатиона, и повышение уровня пероксидного окисления липидов (Gupta, 2000), при этом отмечается повышение ploидности гепатоцитов (Margall-Ducos *et al.*, 2007). Окислительное повреждение инициирует нарушения

структурно-функционального состояния органа за счет повреждения белков, липидов и ДНК, а также модулирует сигнальные пути, контролирующие физиологические функции (Li *et al.*, 2015). Таким образом, полиплоидизацию ядер гепатоцитов можно рассматривать как адаптацию к повышенной функциональной нагрузке (Sigal *et al.*, 1999), а снижение ploидности ядер может свидетельствовать, как об увеличении нагрузки на орган, так и о неспособности его в целом к репарации на достаточном уровне. Сходные морфофункциональные изменения в печени наблюдались и при других трематодозах у животных в природе и эксперименте (Heckmann *et al.*, 2014; Сидельникова, Кувшинов, 2021). Есть многочисленные данные о метаболическом воздействии гельминтов на организм хозяина, в том числе и на белковый обмен (Куклина, Кукин, 2013; Мазур, Толочко, 2015; Gazzinelli-Guimaraes, Nutman, 2018; Kuleš *et al.*, 2021). О снижении функциональной способности печени, в частности протеосинтетической функции гепатоцитов косвенно свидетельствует более низкая концентрация общего белка сыворотки крови зараженных *Q. quinqueserialis* ондатр, о чем было сообщено в нашем предыдущем исследовании (Мазур, Фомина, 2014).

Исследование почек *O. zibethicus* показало, что у зараженных животных отмечаются явления диффузного отека интерстициальной ткани почек. У некоторых зараженных особей отмечена десквамация эндотелиальных и эпителиальных клеток гломерулярного фильтра. Расширение зоны мезангия зараженных животных может свидетельствовать о пролиферации мезангиальных клеток в почечных клубочках. Известно, что мезангиоциты выполняют целый ряд функций: создание мезангиального матрикса, который является аналогом базальной мембраны капилляров, обращенных в сторону мезангиальной области. Эти клетки выполняют также роль местных макрофагов, регулируют тонус стенок капилляров и участвуют в процессах клеточного обновления (Кучук, Висмонт, 2011; Шкурупий и др., 2018). Однако доказать факт поражения почек ондатры природной популяции как результат патогенного воздействия трематоды не представляется возможным, сходные изменения и общие черты патологии отмечались и у незараженных животных. Возможно, воспалительные реакции, развивающиеся в органе, протекали длительное время по типу аутоиммунных процессов, поскольку в данном случае антигеном могут являться поврежденные клетки организма по причине каких-либо скрытых инфекций или вызваны другими факторами окружающей среды.

Селезенка является периферическим органом иммунной системы млекопитающих, где происходят процессы антителообразования и цитокиновой продукции, располагаются хелперные, супрессорные и часть эффекторных клеток (Golub *et al.*, 2018; Алексеева и др., 2021). В ее герминативных зонах

у зараженных ондатр содержание малых и средних лимфоцитов, плазматических клеток и макрофагов было выше по сравнению с незараженными особями, что свидетельствовало об активации В-клеточного и макрофагального звеньев иммунной системы. Макрофаги — это основная популяция моноклеарных фагоцитов, которая вносит значительный вклад в иммунный ответ при заражении гельминтами. Их усиленная активация происходит после повторного столкновения с антигеном для предотвращения или устранения воспаления и тканевых повреждений, связанных с заражением (Coakley, Harris, 2020). Лимфоциты, основные эффекторные клетки иммунной системы, инициирующие развитие адаптивного иммунного ответа на антигенный стимул. Продуцирование иммуноглобулинов плазматическими клетками имеет решающее значение для разрушения антигенов (Лебедев, Понякин, 2003). Данные клеточные сдвиги в селезенке являются типичной реакцией при инвазии гельминтами (Van der Vlugt *et al.*, 2014; Reyes *et al.*, 2015; Haerberlein *et al.*, 2017). Известна роль трематод в модуляции иммунного ответа хозяина (Buchmann, 2022; Quinteros *et al.*, 2022). Например, при заражении мышей в эксперименте кишечной трематодой *Echinostoma caproni* выявлено увеличение лимфоцитов CD8, CD19 (В-клеток) со 2-й недели инвазии (Sotillo *et al.*, 2012), изменяется цитокинный профиль в селезенке мышей зараженных *E. caproni* (Trelis *et al.*, 2011), повышается уровень иммуноглобулинов и селезеночных макрофагов у мышей при инвазии *Neodiplostomum seoulense* в эксперименте (Shin *et al.*, 2007). Предыдущие наши исследования продемонстрировали подобные пролиферативные реакции у зараженных *Q. quinqueserialis* ондатр в органе локализации трематоды: инфильтрация тканей большими и средними лимфоцитами, высокое число интраэпителиальных лимфоцитов в собственной пластинке слизистой слепой кишки (Мазур, Фомина, 2014).

Наличие антигенной нагрузки на организм, как правило, вызывает активную миграцию нейтрофилов в маргинальную зону селезенки (Обернихин, Яглова, 2014). Однако в наших исследованиях мы этого не наблюдаем. Ранее нами также было обнаружено отсутствие гранулоцитарной реакции, как в крови, так, и в тканях органа локализации трематоды (Мазур, Фомина, 2014). Есть данные, что нейтрофилы, попадаящие в селезенку, а не в лимфоузлы, инициируют развитие Т-независимого иммунного ответа (Долгушин, 2019), что является неблагоприятным фактором для выживания трематоды. Поэтому низкое число нейтрофилов у зараженных *Q. quinqueserialis* ондатр, свидетельствует, о снижении функций врожденного иммунитета, очевидно, в результате иммунорегуляции трематодой. Есть исследования, показывающие, что трематоды способны к детоксикации АФК, продуцируемых нейтрофилами, эозинофилами, и другими типами клеток с помощью защитных ферментов в составе своих выделительно-секреторных

продуктов (Jefferies *et al.*, 2001; Freudenstein-Dan *et al.*, 2003; Serradell *et al.*, 2009). Эксперименты по истощению нейтрофильного пула или ингибированию внеклеточных нейтрофильных ловушек (Nets) приводило к увеличению количества гельминтов в организме зараженного хозяина (Ajendra *et al.*, 2016; Bouchery *et al.*, 2020; Schmidt *et al.*, 2020), что свидетельствует о важной роли нейтрофилов в противопаразитарном иммунитете.

У зараженных *Q. quinqueserialis* ондатр в маргинальной зоне селезенки отмечен низкий уровень и других гранулоцитов — эозинофилов. Это явление на фоне ранее описанного зафиксированного отсутствия эозинофилов в органе локализации паразита и в крови (Мазур, Фомина, 2014), свидетельствует также об исключении этих клеток из процесса иммунной защиты против *Q. quinqueserialis*. Эозинофильный ответ не наблюдался, очевидно, по причине кишечной локализации трематод *Q. quinqueserialis* и с отсутствием их активной миграции в организме хозяина; стимул в этих условиях для пролиферации эозинофилов отсутствует (Mejia, Nutman, 2012). Вместе с тем, возможно, имеет место подавление развития эозинофильного ответа, наблюдаемое при инвазиях высоко адаптированными к организму хозяина гельминтами. Гельминтозы это хронические заболевания, которые подразумевают создание паразитами стратегий для избегания или предотвращения иммунного ответа организма, например, таких как антигенная трансформация, использование иммунорегуляторных цитокинов хозяина в качестве собственных ростковых факторов, индукция супрессорных цитокинов — IL-10 и снижение синтеза провоспалительных маркеров — IL-4, IL-5 (Yang *et al.*, 2007; Roumier *et al.*, 2008; El-Ahwany *et al.*, 2012; Cortés *et al.*, 2017). Паразит-индуцированный апоптоз эффекторных клеток, в т.ч. эозинофилов также был описан как механизм иммуносупрессии при некоторых паразитозах (Serradell *et al.*, 2007; Bosurgi, Rothlin, 2021).

Таким образом, изменения клеточного состава паренхиматозных органов, не являющиеся прямыми мишенями *Q. quinqueserialis* свидетельствуют о способности *Q. quinqueserialis* регулировать течение иммунного ответа и проявлять митогенную активность по отношению к гемопоэтическим тканям, а развитие деструктивных патоморфологических процессов при высокой интенсивности инвазии у зараженных животных указывают на участие трематоды в патогенезе паразитоза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования впервые показали, что трематода *Q. quinqueserialis* оказывает многогранное патологическое действие, вызывающее нарушение клеточных структур паренхиматозных и лимфоидных органов. В печени зараженных

трематодой ондатры выявлено развитие дистрофий разного типа, с формированием функциональной дезадаптации органа. Регистрировались воспалительные изменения в почках с признаками альтернативных, некробиотических процессов. Активация лимфопоэза в селезенке, В-клеточного и макрофагального звеньев иммунной системы на фоне неэффективной реализации защитных реакций врожденного иммунитета (ингибирование гранулоцитарных реакций) свидетельствовали об активной роли трематоды в регуляции иммунного ответа. Полученные данные дают новую информацию для понимания функций лимфоидных и паренхиматозных органов у диких грызунов при паразитозах.

Работа выполнена в рамках государственного задания (проект FWSM-2021–0002). Авторы выражают благодарность В. И. Елизову и Д. Н. Никонову (“Байкальский специализированный участок по борьбе с болезнями рыб и других гидробионтов”, с. Кабанск, Кабанский район, Республика Бурятия) за помощь в получении материала.

Эта работа поддерживалась постоянным институциональным финансированием. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство этим конкретным исследованием получено не было.

Исследования проводились на биологическом материале, полученном в результате отстрела ондатры для промышленной заготовки шкур. Поэтому им не требовалось этическое одобрение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеева Н. Т., Кварацхелия А. Г., Соколов Д. А., Бахмет А. А., Попов М. В., Вердиян Г. Г., Клочкова С. В. Функциональная морфология иммунных структур селезенки при действии повреждающих факторов // Журн. анатомии и гистопатологии. 2021. № 10(3). С. 91–97.
<https://doi.org/10.18499/2225-7357-2021-10-3-91-97>
- Андреев В. П., Циркунов В. М., Кравчук Р. И. Клиническая морфология печени: ядерный аппарат гепатоцитов // Гепатология и гастроэнтерология. 2020. № 2. С. 126–142.
<https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-2-126-142>
- Анисимова Е. И. Зараженность ондатры (*Ondatra zibethica* L.) и водяной полевки (*Arvicola terrestris* L.) гельминтами в Центральной Беларуси // Вест. Мозырского гос. пед. университета им. И. П. Шамякина. 2018. № 1(51). С. 7–11.
- Базарбеков К. У., Тарасовская Н. Е., Булекбаева Л. Т. Некоторые вопросы биологии ондатры (*Ondatra zibethica*) в степной зоне Павлоградской области // Биол. науки Казахстана. 2017. № 2. С. 30–37.
- Васильев Е. А. Паразитофауна ондатры // Тр. Карел. гос. пед. ин-та. Сер. биол. наук. 1939. Т. 1. Вып. 1. С. 93–99.
- Дельта реки Селенги — естественный биофильтр и индикатор состояния озера Байкал / отв. ред. А. К. Тулохонов, А. М. Плюсин; Рос. акад. наук, Сиб. отд-ние, Байкальский институт природопользования. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2008. 314 с.
- Долгушин И. И. Нейтрофильные гранулоциты: новые лица старых знакомых // Бюлл. сиб. медицины. 2019. № 18 (1). С. 30–37.
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-30-37>
- Жалцанова Д.-С. Д., Беякова Ю. В. О промежуточном хозяине трематоды *Quinqueserialis quinqueserialis* (Trematoda, Novocotyliidae) в СССР и морфология ее партенит и личинок // Паразитология. 1986. Т. 20. № 4. С. 61–63.
- Каденацци А. Н. Гельминты и гельминтозы ондатры в СССР // Эпизоотии в популяциях ондатры в СССР. Новосибирск: Наука, 1975. С. 10–68.
- Карабекова Д. У., Исакова С. А., Остащенко А. Н. К эколого-фаунистическому исследованию гельминтов грызунов (Rodentia) Чуйской области // Исследование живой природы Кыргызстана. 2019. № 1–2. С. 51–56.
- Куклина М. М., Куклин В. В. Особенности обмена веществ птенцов моевки *Rissa tridactyla* (Linnaeus, 1758) при инвазии цестодами // Росс. паразитол. журн. 2013. № 1. С. 49–53.
- Кучук Э. Н., Висмонт Ф. И. Патологическая физиология почек. Минск: БГМУ, 2011. 41 с.
- Лебедев К. А., Понякина И. Д. Иммунная недостаточность (выявление и лечение). М.: Мед. книга; Н. Новгород: Изд-во Нижегород. гос. мед. академии, 2003. 443 с.
- Мазур О. Е., Толочко Л. В. Цитоморфологические и биохимические показатели байкальского омуля *Coregonus migratorius* при инвазии плероцеркоидами *Diphyllbothrium dendriticum* (Cestoda: Pseudophyllidae) // Изв. РАН. Сер. биологическая. 2015. № 2. С. 155–163.
<https://doi.org/10.7868/S000233291502006X>
- Мазур О. Е., Фомина А. С. Морфологические особенности клеточных реакций ондатры (*Ondatra zibethica*) при разной интенсивности инвазии трематодой *Quinqueserialis quinqueserialis* (Trematoda: Notocotilidae) // Изв. РАН. Сер. биологическая. 2014. № 5. С. 492–499.
<https://doi.org/10.7868/S0002332914050087>
- Максимов А. А. Болезни и их распространение в популяции ондатры // В кн. Эпизоотии в популяциях ондатры в СССР. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1975. С. 10–68.
- Мачульский С. Н. Паразитофауна ондатры, акклиматизированной в Бурят-Монгольской АССР // Тр. Бурят. зоовет. ин-та. Улан-Удэ, 1948. Вып. 4. С. 73–78.
- Меркулов Г. А. Курс патологической техники. Л.: Медицина, 1969. 423 с.
- Обернихин С. С., Яглова Н. В. Структурно-функциональные изменения органов иммунной системы при развитии системного воспалительного ответа у потомства самок мышей, перенесших стимулирующее воздействие на иммунную систему

- в ранние сроки беременности // Иммунология. 2014. № 1. С. 8–12.
- Ондатра. Морфология, систематика, экология / Ред. В. Е. Соколов, Н. П. Лавров. М.: Наука, 1993. 542 с.
- Седалищев В. Т., Однокурцев В. А. Ондатра Якутии // Биол. науки Казахстана. 2021. № 1. С. 48–57.
- Сербина Е. А. Роль битиниид (Gastropoda: Bithyniidae) как хозяев трематод семейства Notocotylidae в экосистемах разных природно-климатических зон Западно-Сибирской равнины // Биол. внутр. вод. 2016. № 2. С. 74–81.
<https://doi.org/10.7868/S0320965216020157>.
- Сидельникова А. А., Кувшинов Д. Ю. Описторхоз: выбор экспериментальной модели для морфологических исследований // Междунар. науч.-исследовательский журн. 2021. Ч. 2. № 11 (113). С. 88–92.
<https://doi.org/10.23670/IRJ.2021.113.11.05>
- Скрябин К. И. Метод полных гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека. М. Изд-во МГУ, 1928. 45 с.
- Фомина А. С., Шишмарева И. И., Мазур О. Е. О зараженности дефинитивного (*Ondatra zibethicus*) и промежуточного (*Anisus stroemi*) хозяев трематодой *Quinqueserialis quinqueserialis* в дельте реки Селенги (бассейн оз. Байкал) // Вопр. нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2012. № 4/1. С. 56–58.
- Цыганков Д. С. Методика определения возраста и продолжительности жизни ондатры // Зоол. журн. 1955. Т. 34. Вып. 3. С. 640–641.
- Чашухин В. А. Ондатра: причины и следствия биологической инвазии. 2007. М.: Т-во науч. Изд. КМК, 133 с.
- Чихляев И. В., Кириллова Н. Ю., Кириллов А. А. Характеристика жизненных циклов трематод (Trematoda) наземных позвоночных среднего Поволжья // Изв. Самарского науч. центра Рос. акад. наук. 2012. Т. 14. № 5. 132–142.
- Шадрина Е. Г., Вольперт Я. Л., Охлопков И. М. Интродукция млекопитающих в Якутии: анализ результативности, перспектив и негативных последствий // Росс. журн. биол. инвазий. 2021. Т. 14. № 4. С. 134–156.
<https://doi.org/10.35885/1996-1499-2021-14-4-134-156>
- Шкурупий В. А., Потапова О. В., Межевскалова А. С., Черданцева Л. А., Ковнер А. В., Шестопалов А. М. Структурные изменения в почках мышей в острый период после инфицирования вирусами гриппа А/Н5N1 и А/Н1N1 // Бюл. эксперим. биол. медицины. 2018. Т. 166. № 9. С. 330–335.
- Юлдашева, А. М., Мусуралиева Д. Н. Изучение ондатры (*Ondatra zibethicus* L.) в Иссык-Кульской котловине // Исследование живой природы Кыргызстана. 2021. № 2. С. 132–133.
- Ajendra J., Specht S., Ziewer S., Schiefer A., Pfarr K., Parčina M., Thomas T., Kufer A., Hoerauf A., Hübner M. P. NOD2 dependent neutrophil recruitment is required for early protective immune responses against infectious *Litomosoides sigmodontis* L3 larvae // Sci. Rep. 2016. № 6. P. 39648.
<https://doi.org/10.1038/srep39648>
- Anatskaya O. V., Vinogradov A. E. Genome multiplication as adaptation to tissue survival: Evidence from gene expression in mammalian heart and liver // Genomics. 2007. V. 89. P. 70–80.
- Borucinska J. D., Van Kruiningen H. J., Caira J. N., Garmendia A. E. Clinicopathological features and histopathology of experimental hepatic capillariasis in muskrats (*Ondatra zibethicus*) // J. Wildl. Dis. 1997. V. 33. № 1. P. 122–130.
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-33.1.122>
- Bosurgi L., Rothlin C. V. Management of cell death in parasitic infections // Semin Immunopathol. 2021. № 43. P. 481–492.
<https://doi.org/10.1007/s00281-021-00875-8>
- Bouchery T., Moyat M., Sotillo J., Silverstein S., Volpe B., Coakley G., Tsourouktoglou T.-D., Becker L., Shah K., Kulagin M., Guiet R., Camberis M., Schmidt A., Seitz A., Giacomini P., Le Gros G., Papayannopoulos V., Loukas A., Harris N. L. Hookworms evade host immunity by secreting a deoxyribonuclease to degrade neutrophil extracellular traps // Cell Host Microbe. 2020. V. 27. № 2. P. 277–289.
<https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.01.011>
- Buchmann K. Antiparasitic immune responses. In: Buchmann K., Secombes C. J. (eds.) Principles of Fish Immunology. Springer, Cham. 2022.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-85420-1_17
- Coakley G., Harris N. L. Interactions between macrophages and helminths // Parasite Immunol. 2020. № 42. P. 12717.
<https://doi.org/10.1111/pim.12717>
- Cortés A., Muñoz-Antoli C., Esteban JG, Toledo R. Th2 and Th1 responses: clear and hidden sides of immunity against intestinal helminths // Trends Parasitol. 2017. V. 33. № 9. P. 678–93.
<https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.05.004>
- Donne R., Saroul-Ainana M., Cordier P., Celton-Morizur S., Desdouets Ch. Polyploidy in liver development, homeostasis and disease // Nat. rev. Gastroenterol. Hepatol. 2020. № 17. P. 391–405.
- El-Ahwany E., Bauomy I. R., Nagy F., Zalat R., Mahmoud O., Zada S. T-Regulatory cell responses to immunization with a soluble egg antigen in *Schistosoma mansoni* infected mice // Korean J. Parasitol. 2012. V. 50. № 1. P. 29–35.
- Faltynkova A., Haas W. Larval trematodes in freshwater molluscs from the Elbe to Danube rivers (Southeast Germany): before and today // Parasitol Res. 2006. № 99. P. 572–582.
- Freudenstein-Dan A., Gold D., Fishelson Z. Killing of schistosomes by elastase and hydrogen peroxide: implications for leukocyte-mediated schistosome killing // J. Parasitol. 2003. V. 89. P. 1129–1135.
- Gagnon D. K., Detwiler J. T. Broader geographic sampling increases extent of intermediate host specificity for a trematode parasite (Notocotylidae: *Quinqueserialis quinqueserialis*) // J. Parasitol. 2019. № 105 (6). P. 874–877.
- Gagnon D., Kasl E., Preisser W., Belden L., Detwiler J. Morphological and molecular characterization

- of *Quinqueserialis* (Digenea: Notocotylidae) species diversity in North America // *Parasitology*. 2021. V. 148. № 9. P. 1083–1091.
<https://doi.org/10.1017/S0031182021000792>
- Ganoe L. S., Brown J. D., Yabsley M. J., Lovallo M. J., Walter W. D. A Review of Pathogens, Diseases, and Contaminants of Muskrats (*Ondatra zibethicus*) in North America // *Front. Vet. Sci.* 2020. № 7. P. 233.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00233>
- Gazzinelli-Guimaraes P. H., Nutman T. B. Helminth parasites and immune regulation // *F1000Res*. 2018. № 7. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15596.1>.
- Golub R., Jonathan Tan J., Watanabe T., Brendolan A. Origin and immunological functions of spleen stromal cells // *Trends Immunology*. 2018. Vol. 39. № 6. P. 503–514.
<https://doi.org/10.1016/j.it.2018.02.007>
- Gupta S. Hepatic polyploidy and liver growth control // *Seminars Cancer biology*. 2000. V. 10. P. 161–171.
- Haeblerlein S., Obieglo K., Ozir-Fazalalikhhan A., Chaye M. A. M., Veninga H., Van der Vlugt L., Voskamp A., Boon L., Den Haan J. M. M., Westerhof L. B., Wilbers R. H. P., Schots A., Schramm G., Hokke C. H., Smits H. H. Schistosome egg antigens, including the glycoprotein IPSE/alpha-1, trigger the development of regulatory B cells // *PLoS Pathog.* 2017. № 13 (7). e1006539.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006539>
- Heckmann R., Halajian A., El-Naggar A., Luus-Powell W. A Histopathology study of Caspian Seal (*Pusa caspica*) (Phocidae, Mammalia) liver infected with Trematode, *Pseudamphistomum truncatum* (Rudolphi, 1819) (Opisthorchidae, Trematoda) // *Iran J. Parasitol.* 2014. № 9(2). P. 266–275.
- Harwood D. Notes on Tennessee helminths. IV. North American trematodes of the subfamily Notocotylinae // *J. Tennessee Acad. Sci.* 1939. V. 14. № 3. P. 332–340.
- Jefferies J. R., Campbell A. M., van Rossum A. J., Barrett J., Brophy P. M. Proteomic analysis of *Fasciola hepatica* excretory–secretory products // *Proteomics*. 2001. № 1. P. 32–1128.
- Kennedy M. J. Synopsis of the parasites of the vertebrates of Canada: helminths and protozoa of terrestrial mammals. Edmonton: University of Alberta Libraries; 2016.
<https://doi.org/10.5962/bhl.title.115662>
- Knight I. M. Diseases and parasites of the Muskrat (*Ondatra zibethica*) in British Columbia // *Canad. J. Zoology*. 1951. V. 29. P. 188–214
<https://doi.org/10.1139/z51-018>Published
- Kuleš J., Lovrić L., Gelemanović A., Ljubić B. B., Rubić I., Bujanić M., Konjević D. Complementary liver and serum protein profile in wild boars infected by the giant liver fluke *Fascioloides magna* using tandem mass tags quantitative approach // *J. Proteomics*. 2021. V. 247. P. 104332.
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2021.104332>
- Li S., Tan H.-Y., Wang N., Zhang Z.-J., Lao L., Wong C.-W., Feng Y. The Role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases // *Int. J. Mol. Sci.* 2015. № 16. P. 26087–26124.
<https://doi.org/10.3390/ijms161125942>
- Maheika V., Kontenytė R., Paulauskas A. New data on the helminths of the muskrat (*Ondatra zibethicus*) in Lithuania // *Estonian J. Ecol.* 2009. V. 58. № 2. P. 103–111.
- Margall-Ducos G., Morizur-Celton S., Couton D., Bregerie O., Desdouets C. Liver tetraploidization is controlled by a new process of incomplete cytokinesis // *J. Cell Science*. 2007. V. 120. P. 3633–3639.
- McKenzie C. E., Welch H. E. Parasite fauna of the muskrat, *Ondatra zibethica* (Linnaeus, 1766), in Manitoba, Canada // *Can. J. Zool.* 1979. V. 57. № 3. P. 640–646.
- Mejia R., Nutman T. B. Evaluation and differential diagnosis of marked, persistent eosinophilia // *Seminars in Hematology*. 2012. V. 49. № 2. P. 149–159.
<https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2012.01.006>
- Miterpakova M., Antolova D., Ševčíkova Z., Stanko M., Dinkel A., Gašpar V., Dubinsky P. *Echinococcus multilocularis* in muskrat (*Ondatra zibethicus*): the first finding of the parasite in naturally infected rodent in the Slovak Republic // *Helminthologia*. 2006. V. 43. № 2. P. 76–80.
- Naem, S., Smythe, A. B. Tegumental ultrastructure of adult *Quinqueserialis quinqueserialis* (Trematoda: Notocotylidae): an intestinal parasite of muskrat (*Ondatra zibethicus*) // *Parasitol. Res.* 2015. № 114. P. 2473–2480.
<https://doi.org/10.1007/s00436-015-4444-9>
- Quinteros S., O'Brien B., Donnelly S. Exploring the role of macrophages in determining the pathogenesis of liver fluke infection // *Parasitology*. 2022 V. 149. № 10. P. 1364–1373.
<https://doi.org/10.1017/S0031182022000749>
- Reyes J. L., Wang A., Fernando M. R., Graepe R., Leung G., Van Rooijen N., Sigvardsson M., McKay D. M. Splenic B Cells from *Hymenolepis diminuta*–infected mice ameliorate colitis independent of T Cells and via cooperation with macrophages // *J. Immunol.* 2015. V. 194. № 1. P. 364–378.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1400738>
- Roumier T., Capron M., Dombrowicz D., Faveeuw Ch. Pathogen induced regulatory cell populations preventing allergy through the Th1/Th2 paradigm point of view // *Immunol. Res.* 2008. V. 40. P. 117.
- Serradell M. C., Guasconi L., Cervi L., Chiappello L. S., Masih D. T. Excretory–secretory products from *Fasciola hepatica* induce eosinophil apoptosis by a caspase-dependent mechanism // *Vet. Immunol. Immunopathology*. 2007. V. 117. № 3–4. P. 197–208.
<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2007.03.007>
- Serradell M. C., Guasconi L., Masih D. T. Involvement of a mitochondrial pathway and key role of hydrogen peroxide during eosinophil apoptosis induced by excretory–secretory products from *Fasciola hepatica* // *Mol. Biochem. Parasitol.* 2009. № 163. P. 95–106.
<https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2008.10.005>
- Schmidt A., Seitz A., Giacomini P., Gros G. L., Papayanopoulos V., Loukas A., Harris N. L. Hookworms evade host immunity by secreting a deoxyribonuclease to degrade neutrophil extracellular traps // *Cell Host Microbe*. 2020. V. 27. № 2. P. 277–289.
<https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.01.011>

- Schuster R. K., Specht P., Rieger S. On the helminth fauna of the muskrat (*Ondatra zibethicus* (Linnaeus, 1766)) in the Barnim District of Brandenburg State/Germany // *Animals*. 2021. № 11. С. 2444. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4444-9>
- Shin E. H., Lee S. H., Kim J. L., Park Y. K., Chai J. Y. T-helper-1 and T-helper-2 immune responses in mice infected with the intestinal fluke *Neodiplostomum seoulense*: their possible roles in worm expulsion and host fatality // *J. Parasitol.* 2007. V. 93. № 5. P. 1036–1045. <https://doi.org/10.1645/GE-1203R.1>
- Sigal S. H., Rajvanshi P., Gorla G. R., Sokhi R. P., Saxena R., Gebhard D. R., Reid L. M., Gupta, S. Partial hepatectomy-induced polyploidy attenuates hepatocyte replication and activates cell aging events // *American J. Physiology-Gastrointestinal Liver Physiology*. 1999. V. 276. P. 1260–1272.
- Sotillo J., Trelis M., Fried B., Marcilla A., Esteban J. G., Toledo R. Cellular immune responses in *Echinostoma caproni* experimentally infected mice // *Parasit. Research*. 2012. V. 110 № 2. P. 1033–1036.
- Toledo R., Esteban J. G., Fried B. Immunology and pathology of intestinal trematodes in their definitive hosts // *Advances Parasitology*. 2006. № 63. P. 285–365. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(06\)63004-2](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(06)63004-2)
- Trelis M., Sotillo J., Monteagudo C., Fried B., Marcilla A., Esteban J. G., Toledo R. *Echinostoma caproni* (Trematoda): Differential in vivo cytokine responses in high and low compatible hosts // *Exp. Parasitology*. 2011. V.127. № 2. P. 387–397. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.09.004>
- Van der Vlugt L. E., Zinsou J. F., Ozir-Fazalalikhan A., Kremsner P. G., Yazdanbakhsh M., Adegnik A. A., Smits H. H. Interleukin 10 (IL-10)-producing CD-1dhi regulatory B cells from *Schistosoma haematobium*-infected individuals induce IL-10-positive T cells and suppress effector T-cell cytokines // *J. Infect. Dis.* 2014. V. 210. P. 1207–1216.
- Wang M. J., Chen F., Lau J., Hu Y.-P. Hepatocyte polyploidization and its association with pathophysiological processes // *Cell Death Dis.* 2017. № 8. P. 2805. <https://doi.org/10.1038/cddis.2017.167>
- Warwick T. The parasites of the muskrat (*Ondatra zibethica* L.) in the British isles // *Parasitology*. 1936. V. 28. № 3. P. 395–402.
- Willner G. R., Feldhamer G. A., Zucker E. E., Chapman J. A. *Ondatra zibethicus* // *The American Society of Mammalogists, Mammalian Species*. 1980. V. 141. P. 1–8.
- Wu Y., Duffey M., Alex S. E., Suarez-Reyes C., Clark E. H., Weatherhead J. E. The role of helminths in the development of non-communicable diseases // *Front Immunol.* 2022 V. 31. № 13. P. 941–977. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.941977>.
- Yang J., Zhao J., Yang Y., Zhang L., Yang X., Zhu X., Ji M., Sun N., Su Ch. *Schistosoma japonicum* egg antigens stimulate CD4 CD25 T cells and modulate airway inflammation in a murine model of asthma // *Immunology*. 2007. V. 120. № 1. P. 8–18.
- Zhang Y., Abdu A., Wu T., Forzán M. J., Hammer K., Lejeune M. *Taenia crassiceps* cysticercoids in a wild muskrat and a domestic dog in the Northeastern United States // *Pathogens*. 2023. № 12. 204 p. <https://doi.org/10.3390/pathogens12020204>

Micromorphological changes in the parenchymatous organs of the muskrat infected with *Quinqueserialis quinqueserialis* (Trematoda: Notocotilidae)

© 2024 O. E. Mazur^{1#}, A. S. Fomina^{2,3}

¹Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, st. Sakhyanova, 6, Ulan-Ude, 670047 Russia

²Baikal branch of the FSBSI “VNIRO”, st. Khakhalova, 4b Ulan-Ude, 670034 Russia

³Buryat State University, st. Smolina, 24a, Ulan-Ude, 670000 Russia

#E-mail: olmaz33@yandex.ru

Quinqueserialis quinqueserialis (Trematoda: Notocotilidae) is a widespread species in the Holarctic that parasitizes the cecum of the muskrat. The paper presents for the first time the results of micromorphological studies of parenchymal organs of the muskrat at a high intensity of invasion by *Q. quinqueserialis*. In infected muskrats, activation of the B-cell and macrophage components of the immune system was established against the background of inhibition of granulocytic reactions in the spleen, various types of dystrophies were detected in the liver, with the formation of functional maladjustment of the organ, inflammatory changes were recorded in the kidneys with signs of alterative, necrobiotic processes. The development of destructive pathomorphological processes indicates the participation of trematodes in the pathogenesis of this parasitosis. The obtained data provide new information for understanding the functions of lymphoid and parenchymal organs in wild rodents with trematodosis.

Keywords: *Quinqueserialis quinqueserialis*, muskrat, micromorphology, liver, kidneys, spleen

ВЛИЯНИЕ ДАЛАРГИНА НА УРОВЕНЬ КОРТИКОСТЕРОНА У КРЫС С РАЗЛИЧНЫМИ ИНДИВИДУАЛЬНО-ТИПОЛОГИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ ПОВЕДЕНИЯ В МОДЕЛИ ПТСР

© 2024 г. О. Г. Семенова*, А. В. Вьюшина*, А. В. Притворова*[@], С. Г. Пивина*, Н. Э. Ордян*

^{*}Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, наб. Макарова, д. 6, Санкт-Петербург, 199034 Россия

^{@E-mail:} Pritvorovaav@infran.ru

Поступила в редакцию 14.03.2023 г.

После доработки 04.07.2023 г.

Принята к публикации 06.07.2023 г.

У крыс с различными типологическими особенностями поведения в модели посттравматического стрессового расстройства (ПТСР) исследовано влияние синтетического аналога лей-энкефалина (даларгина) на уровень кортикостерона в крови и массу надпочечников. По результатам тестирования поведения были сформированы 4 группы животных: активные низкотревожные (АНТ) и высокотревожные (АВТ), а также пассивные низкотревожные (ПНТ) и высокотревожные (ПВТ) крысы. Каждую из 4 групп крыс делили на 3 подгруппы, где подгруппа 1 — интактный контроль. Через 20 суток после первого стрессорного воздействия крысам из подгруппы 3 в течение 7 дней внутримышечно вводили даларгин, а крысам из подгруппы 2 — физиологический раствор. Установлено, что курс инъекций даларгина крысам в модели ПТСР оказывал положительное действие на исследованные показатели только у группы активных животных с высокой тревожностью.

Ключевые слова: посттравматическое стрессовое расстройство, даларгин, кортикостерон, надпочечники, тревожность, активность, крысы

DOI: 10.31857/S1026347024020059, **EDN:** WCCUCY

Воздействие психологически травмирующих событий, таких как боевые действия, природные и техногенные катастрофы способствует значительному риску развития посттравматического стрессового расстройства (ПТСР) у человека. На сегодняшний день диагностические биомаркеры для ПТСР не определены, а наиболее часто исследуемый уровень кортизола как показатель не однозначен. В ряде исследований обнаружено снижение уровня кортизола у пациентов с ПТСР, в то время как в других исследованиях такие данные не подтверждаются, а в некоторых работах даже сообщается, что ПТСР связано с гиперкортизолемией. В целом, большинство исследований поддерживают гипотезу ослабления функционирования гипотиз—адреналовой системы (ГАС) при ПТСР (Schmidt *et al.*, 2013).

Остается малоисследованным вопрос о предрасположенности и интенсивности развития этого заболевания. Доступные в настоящее время фармакологические схемы лечения расстройств, связанных с психотравмирующими воздействиями, преимущественно включают антидепрессанты и анксиолитические препараты (Szkłarczyk *et al.*, 2015), которые часто неэффективны или плохо переносятся.

Дефицит опиоидов играет определенную роль в заболеваниях, связанных с нарушением эмоционального фона, в том числе депрессиях и ПТСР. В настоящее время предполагается, что стратегия лечения может заключаться в противодействии этому дефициту либо путем индукции, либо путем восполнения дефицита эндогенных лигандов. Из протестированных опиоидных соединений только агонисты δ -опиоидных рецепторов продемонстрировали четкий антидепрессивный профиль (Filliol *et al.*, 2000). Рандомизированное плацебо-контролируемое пилотное исследование агониста δ -опиоидных рецепторов AZD2327 при тревожной депрессии свидетельствовало о возможной эффективности соединений-агонистов δ -опиоидных рецепторов в качестве новых методов лечения депрессий (Richards *et al.*, 2016). В целом, анализ литературы показывает положительные результаты, связанные с использованием соединений на основе агонистов δ -опиоидных рецепторов в доклинических и клинических испытаниях, подтверждая необходимость продолжения изучения этих соединений при лечении психических расстройств (Browne, Lucki, 2019). Поскольку депрессия, по крайней мере в 50% случаев является коморбидным заболеванием в диагнозе ПТСР (Волошин,

2005), то агонисты опиоидных рецепторов могут представлять собой новую терапевтическую стратегию и при ПТСР.

Синтетический аналог лей-энкефалина фармакологический препарат “Даларгин” взаимодействует преимущественно с μ - и δ -опиоидными рецепторами, плохо проникает через гематоэнцефалический барьер, не вызывает физической зависимости и, ограничивая проявление стресс-реакции, повышает выживаемость животных в экстремальных условиях (Лишманов и др., 2012).

В опубликованной ранее статье (Семенова и др., 2021) нами было выявлено разнонаправленное влияние даларгина на результаты поведенческих тестов у животных с различными индивидуально-типологическими особенностями поведения в модели ПТСР. Предположение о значительной роли в этом феномене гипофиз–адреналовой системы послужило основанием для исследования в данной работе влияния даларгина на уровень кортикостерона у таких животных в модели ПТСР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проведена на животных из питомника Института физиологии им. И. П. Павлова РАН. В исследовании использовали крыс–самцов Вистар весом 250–280 г., в возрасте 2.5 мес., с соблюдением рекомендаций по этике работы с животными (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes). Протоколы опытов были утверждены Комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И. П. Павлова РАН. Животные содержались в пластиковых клетках, по 4–6 штук, на стандартной диете при свободном доступе к воде и пище и 12-часовом режиме смены дня и ночи (свет включали в 8.00 и выключали в 20.00 часов). Взятие образцов крови проводили с 11:00 до 12:00 часов.

После недельного периода адаптации к условиям лаборатории по результатам тестирования в Т-образном лабиринте и приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) из взятых в эксперимент 140 крыс были сформированы группы активных ($n = 56$) и пассивных ($n = 36$) особей, различающиеся по уровню тревожности: активные низкотревожные (АНТ, $n = 27$); активные высокотревожные (АВТ, $n = 29$); пассивные низкотревожные (ПНТ, $n = 18$); пассивные высокотревожные (ПВТ, $n = 18$). Каждая группа (АНТ, АВТ, ПНТ, ПВТ) была разделена на три подгруппы: подгруппа 1 – контроль (крысы, не подвергавшиеся стрессорным и фармакологическим воздействиям), подгруппа 2 (активный контроль) – модель ПТСР + инъекции физиологического раствора и подгруппа 3 – модель ПТСР + инъекции даларгина.

Для формирования экспериментального аналога ПТСР использовали водно-иммерсионное воздействие (Семенова и др., 2021). Через 20 суток после первого воздействия крысам подгруппы 3 в течение недели один раз в день внутримышечно вводили раствор даларгина в дозе 0.1 мг/кг, а животным из подгруппы 2 – физиологический раствор в эквивалентном объеме. Следует отметить, что при системном введении в дозах до 1 мг/кг даларгин не проникает через гематоэнцефалический барьер (Лишманов и др., 2012) и взаимодействует с опиоидными рецепторами только на периферии. Спустя 2 суток после недельного курса инъекций все животные были протестированы в ПКЛ (данные не представлены), а спустя еще 2 суток крысы декапитировали, с последующим забором крови, одновременно у крыс извлекали и взвешивали надпочечники. Кровь центрифугировали (1000 g, 20 мин, 4°C) и далее сыворотку хранили при температуре –20°C до момента определения содержания в ней кортикостерона. Для определения количества кортикостерона был использован набор для ИФА ХЕМА-кортикостерон K210R, (Россия) и анализатор Thermo Scientific Multiskan FS (USA).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета программ STATISTICA 8.0 (Stat Soft Inc.). Данные анализировали с помощью непараметрического U-теста Манна-Уитни после того как была проведена оценка нормальности распределения значений в выборках с помощью критерия Шапиро-Уилка. При сравнении между группами и подгруппами во всех случаях использовали поправку Бонферрони. Данные представлены в виде медиан (Me) и интерквартильного размаха (IQR) между значениями 25 и 75 перцентилей.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследований уровня кортикостерона в сыворотке крови у крыс представлены в табл. 1.

Сравнение групп АНТ, АВТ, ПНТ, ПВТ в подгруппе 1 (контроль) показало, что у пассивных крыс (ПНТ, ПВТ) содержание кортикостерона в крови достоверно выше ($p < 0.008$), чем у активных особей (АНТ, АВТ). При сравнении между группами АНТ и АВТ, а также ПНТ и ПВТ видно, что, как у активных, так и у пассивных групп крыс, различающихся по уровню тревожности, достоверных отличий в уровне кортикостерона не наблюдается.

У АНТ крыс в модели ПТСР (подгруппа 2) содержание кортикостерона в крови увеличилось ($p < 0.017$) более, чем в 2.5 раза по сравнению с подгруппой 1 (контроль). Введение даларгина крысам в модели ПТСР (подгруппа 3) снизило ($p < 0.017$) содержание кортикостерона в крови крыс АНТ по сравнению с подгруппой 2 на 40%, при этом

Таблица 1. Содержание кортикостерона (нмоль/л) в сыворотке крови у крыс в экспериментальных группах

Группы крыс	Подгруппа 1 Me (IQR) (n)	Подгруппа 2 Me (IQR) (n)	Подгруппа 3 Me (IQR) (n)
активные низкотревожные	152.9 (139.8–195.3) (10)	401.2 (397.5–451.4) (9) *	233.7 (171.1–332.8) (8) **
активные высокотревожные	135.8 (132.4–148.5) (10)	296.2 (253.3–337.8) (9) *	219.7 (200.2–232.4) (10) **
пассивные низкотревожные	233.1 (191.2–245.3) (6) ◇ #	369.8 (356.4–372.5) (6) *	497.4 (485.3–524.1) (6) ***
пассивные высокотревожные	294.8 (267.4–327.4) (6) ◇ #	364.9 (348.6–410.5) (6) *	403.8 (330.6–493.1) (6) *

Примечание. ◇ – достоверные отличия от группы АНТ,
– достоверные отличия от группы АВТ,
* – достоверные отличия от подгруппы 1,
** – достоверные отличия от подгруппы 2 (критерий Манна-Уитни).

подгруппа 3 не отличалась от подгруппы 1 по уровню кортикостерона.

У АВТ крыс в модели ПТСР (подгруппа 2) содержание кортикостерона в крови увеличилось ($p < 0.017$) в 2 раза по сравнению с подгруппой 1 (контроль). Введение даларгина животным в модели ПТСР (подгруппа 3) снизило ($p < 0.017$) содержание кортикостерона в крови крыс по сравнению с подгруппой 2 на 30% и, одновременно, привело к отсутствию достоверных различий между подгруппой 3 и подгруппой 1 (контроль).

У ПНТ крыс в модели ПТСР (подгруппа 2) содержание кортикостерона в крови увеличилось ($p < 0.017$) на 64% по сравнению с подгруппой 1. Введение крысам даларгина в модели ПТСР (подгруппа 3) повысило ($p < 0.017$) содержание кортикостерона в крови крыс по сравнению с подгруппой 2 на 38%, а по сравнению с контролем (подгруппа 1) в 2 раза.

У ПВТ крыс в модели ПТСР (подгруппа 2) содержание кортикостерона в крови увеличилось ($p < 0.017$) на 27%. У ПВТ крыс с введением даларгина в модели ПТСР (подгруппа 3) не выявлено достоверных отличий в уровне содержания кортикостерона от подгруппы 2, и он остается достоверно более высоким по сравнению с контролем (подгруппа 1).

Результаты исследования относительной массы надпочечников, представлены в табл. 2.

Сравнение групп АНТ, АВТ, ПНТ, ПВТ в подгруппе 1 (контроль) показало, что у пассивных крыс (ПНТ, ПВТ) относительная масса надпочечников достоверно ниже ($p < 0.008$), чем у активных

особей (АНТ, АВТ). При сравнении отдельно групп АНТ и АВТ, а также ПНТ и ПВТ видно, что, как у активных, так и у пассивных групп крыс, различающихся по уровню тревожности достоверных отличий по показателю относительной массы надпочечников не выявлено.

У АНТ крыс в модели ПТСР (подгруппа 2) показатель относительной массы надпочечников снизился ($p < 0.017$) по сравнению с подгруппой 1 (контроль). Введение даларгина крысам в модели ПТСР (подгруппа 3) увеличило ($p < 0.017$) исследуемый показатель по сравнению с подгруппой 2, при этом подгруппа 3 не отличалась от подгруппы 1. У АВТ крыс не выявлено достоверных отличий по показателю относительной массы надпочечников между тремя исследуемыми подгруппами. У ПНТ крыс в модели ПТСР (подгруппа 2) относительная масса надпочечников не изменилась по сравнению с подгруппой 1. Введение крысам даларгина в модели ПТСР (подгруппа 3) увеличило относительную массу надпочечников по сравнению как с подгруппой 2, так и с контролем (подгруппа 1). У ПВТ крыс в модели ПТСР (подгруппа 2) относительная масса надпочечников увеличилась ($p < 0.017$). Введение даларгина в модели ПТСР (подгруппа 3) не изменило этот показатель.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При стрессорном возбуждении ГАС секреция кортикостероидов усиливается, что позволяет организму быстро реагировать на стрессовые

Таблица 2. Относительная масса надпочечников (мг/на100 г веса крысы) у крыс в экспериментальных группах

Группы крыс	Подгруппа 1 Me (IQR) (n)	Подгруппа 2 Me (IQR) (n)	Подгруппа 3 Me (IQR) (n)
активные низкотревожные	22.1 (19.3–22.5) (10)	18.1 (16.7–18.7) (9) *	20.2 (19.0–22.1) (8)
активные высокотревожные	21.5 (21.0–22.6) (10)	22.3 (21.1–23.1) (9)	20.7 (19.6–22.6) (10)
пассивные низкотревожные	16.0 (14.8–16.4) (6) ♦ #	16.1 (14.7–16.9) (6)	17.6 (17.5–18.1) (6) * **
пассивные высокотревожные	15.8 (14.7–16.3) (6) ♦ #	19.7 (18.1–21.8) (6) *	18.2 (16.0–19.3) (6) *

Примечание. ♦ — достоверные отличия от группы АНТ,

— достоверные отличия от группы АВТ,

* — достоверные отличия от подгруппы 1,

** — достоверные отличия от подгруппы 2 (критерий Манна-Уитни).

события и возвращаться в нормальное состояние. После сильного или хронического стресса возможны серьезные нарушения гормональной функции ГАС, с последующим развитием постстрессорных психопатологий. Посттравматическое стрессовое расстройство определяется как непсихотическая отсроченная реакция на травматический стресс (боевые действия, техногенные и природные катастрофы), способный вызвать психические отклонения у любого человека (Тарабрина, 2007). Существует ряд работ, отмечающих индивидуальные различия в адаптивных механизмах стресс-реакций. Указывается о дефиците активности стресс-лимитирующих систем, в том числе опиоидергической (Хоженко, 2009).

Повышение активности опиоидной системы в стрессорных условиях подтверждается многочисленными исследованиями. При стрессе под воздействием кортиколиберина в гипофизе наряду с адренотропным гормоном (АКТГ) высвобождаются эндорфины (Blum *et al.*, 2021). У животных, демонстрирующих стресс-устойчивость, было также обнаружено увеличение концентрации эндорфинов в крови и тканях (Лишманов и др., 2012).

Показано, что даларгин (аналог лей-энкефалина) препятствует развитию гипертрофии надпочечников у стрессированных крыс и предотвращает истощение депо глюкокортикоидов в надпочечниках. Кроме того, показано, что опиоидные пептиды снижают секрецию тех гормонов, уровень которых при стрессе повышен (АКТГ, вазопрессин, катехоламины, кортизол) (Лишманов и др., 2012).

У крыс группы АНТ, в модели ПТСР возрастает уровень кортикостерона в крови и снижается

относительная масса надпочечников. На основании представленных данных можно заключить, что идет адаптивная реакция к травматическому стрессу со стороны ГАС. Под воздействием препарата даларгин, на фоне снижения уровня кортикостерона, происходит повышение тревожности и интенсификация снижения локомоторно-исследовательской активности у крыс группы АНТ (Семенова и др., 2021), что свидетельствует о развитии ПТСР-подобного состояния. Можно предположить, что у этих крыс после моделирования ПТСР и применения курсового введения даларгина развился дисбаланс между центральными и периферическими механизмами адаптации. Кроме того, вероятной причиной повышения тревожности может являться увеличение уровня CRF, синтезируемого в ответ на сигналы о снижении концентрации кортикостерона в крови, (Шалапина, Шабанов, 2005; Brockway, Crowley, 2020).

У крыс группы АВТ в модели ПТСР наблюдается повышение уровня кортикостерона в крови и снижение этого показателя до уровня контроля под воздействием даларгина, при этом достоверных изменений относительной массы надпочечников ни в модели ПТСР (подгруппа 2) ни в модели ПТСР с инъекциями даларгина (подгруппа 3) не выявлено. Под воздействием даларгина уровень кортикостерона в крови возвращается к уровню контроля, кроме того, показатели поведения у данных крыс под влиянием даларгина также возвращаются к уровню контрольных значений (Семенова и др., 2021). В литературе анксиолитическое влияние агонистов δ -опиоидных рецепторов было показано в опытах на линейных

мышцах, демонстрирующих высокий уровень страха (Szklańczyk *et al.*, 2015). Возможно, у крыс АВТ из подгруппы 3 сохраняется нормальное функционирование отрицательной обратной связи. Как результат, не происходит нарушения взаимодействия центральных и периферических механизмов стрессорной адаптации, сохраняется регуляция продукции CRF и АКТГ, а уровень тревожности практически не отличается от контрольных значений.

У крыс группы ПНТ в модели ПТСР значительное повышение уровня тревожности (Семенова и др., 2021) на фоне увеличения концентрации циркулирующего кортикостерона, вероятно, связано с нарушением отрицательной обратной связи. При введении даларгина у крыс группы ПНТ уровень кортикостерона еще более возрастает. Усиленная выработка кортикостерона может быть причиной гипертрофии надпочечников, наблюдаемой у животных группы ПНТ (табл. 2). В целом, представляется картина с развитием дегенеративных процессов в надпочечниках и прогрессированием патологического состояния у ПНТ особей (Wilson *et al.*, 2013). Таким образом, инъекции даларгина у крыс группы ПНТ в модели ПТСР усугубляют дисбаланс в ГАС, что подтверждается изменениями показателей поведения, исследованных нами ранее.

В предыдущей работе при исследовании крыс группы ПВТ нам не удалось обнаружить достоверных изменений в показателях поведенческой реакции этих животных ни в модели ПТСР, ни после курса инъекций даларгина (Семенова и др., 2021). Результаты настоящего исследования показали, что в данной группе самый высокий уровень кортикостерона в контроле (подгруппа 1). В модели ПТСР у крыс группы ПВТ подгруппы 2 наблюдаются изменения, выраженные в повышении уровня кортикостерона. Уровень кортикостерона, так же, как и масса надпочечников, после введения даларгина в модели ПТСР не изменились по сравнению с подгруппой 2. Высокая тревожность и повышенный уровень кортикостерона, свойственные данной группе в интактном состоянии, могут быть связаны с гиперактивностью ГАС. Возможно, вследствие этого у крыс с данными индивидуально типологическими особенностями поведения реакция ГАС на стресс недостаточна, а взаимодействие ГАС со стресслимитирующими системами затруднено. Кроме того, Цейликман с соавт. (Tseilikman *et al.*, 2022), основываясь на выявленных в своих работах поведенческих, нейробиологических и эндокринных параметрах предполагают, что “высокотревожные крысы консервативны, тогда как крысы с низким уровнем тревожности являются реактивными респондентами по отношению к воздействию стресса, вызванного присутствием запаха хищника (кошки)”. Консервативность поведенческих и эндокринных реакций таких крыс авторы обосновывают, в том числе и специфическим метаболизмом этих животных.

Полученные нами результаты могут свидетельствовать о том, что подобные реактивные или консервативные реакции на стресс, кроме перечисленных (Tseilikman *et al.*, 2022) параметров, могут также быть результатом функционирования стресслимитирующих систем, в частности опиоидэргической, причем разница в индивидуально типологических особенностях может быть связана как с механизмами выброса эндогенных опиоидных пептидов, так и с механизмами рецепторного восприятия. Как видно из полученных результатов введение даларгина в течение 7 дней в момент максимального проявления признаков развития ПТСР-подобного состояния (Шаляпина и др., 2006) по-разному влияет на исследованные нами группы крыс – АНТ, АВТ, ПНТ и ПВТ (табл. 1, 2).

Следует отметить, что исследованные группы животных, отличающиеся по индивидуально-типологическим характеристикам, отличаются также и базальным уровнем кортикостерона. В ответ на развитие ПТСР-подобного состояния у всех групп отмечается увеличение уровня циркулирующего кортикостерона, тогда как после курса инъекций даларгина уровень кортикостерона изменялся по-разному (табл. 1). Также по-разному изменялась и масса надпочечников (табл. 2). Вероятно, в таком индивидуальном характере системы ГАС может заключаться одно из объяснений многовариантности реакций ГАС на стресс, которая представлена в разных исследованиях. Наиболее успешное действие даларгина демонстрируют крысы группы АВТ. У крыс групп ПНТ и ПВТ можно говорить скорее о негативном влиянии препарата даларгин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные позволяют предположить, что функциональное состояние опиоидной системы у животных с различными индивидуально типологическими особенностями во многом обуславливает их способность к адаптации. Представленные данные еще раз подтверждают необходимость дифференцированного подхода при терапии последствий посттравматических стрессовых расстройств. При этом возникает множество вопросов, требующих дальнейших более подробных исследований для успешного клинического подхода при лечении опиоидными пептидами, взаимодействующими с дельта-опиоидными рецепторами.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН (№ 1023032400236–8–3.1.4.)

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты на животных проводились в соответствии с рекомендациями по этике работы с животными (Директива 2010/63/ЕС Европейского парламента и Совета о защите животных, используемых в научных целях). Протоколы экспериментов одобрены Комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (протокол № 06/08 от 8 июня 2020 г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Волошин В. М. Посттравматическое стрессовое расстройство. М.: Анахарсис, 2005. 200 с.
- Лишманов Ю. Б., Маслов Л. Н., Нарыжная Н. В., Пей Ж.-М., Колар Ф., Жанг И., Портниченко А. Г., Ванг Х. Эндогенная опиоидная система как звено срочной и долговременной адаптации организма к экстремальным воздействиям. Перспективы клинического применения опиоидных пептидов // Вестник РАМН. 2012. № 6. С. 73–82.
- Семенова О. Г., Вьюшина А. В., Притворова А. В., Ракицкая В. В., Ордян Н. Э. Влияние даларгина на изменение тревожности у крыс с различными индивидуально-типологическими особенностями поведения в модели ПТСР // Журн. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова. 2021. Т. 71. № 5. С. 680–689.
DOI:10.31857/S0044467721050099
- Тарабрина Н. В. Практическое руководство по психологии посттравматического стресса. М.: Когито-Центр, 2007. ч. 1–2. 208 с.
- Хоженко Е. В. Нейрональные механизмы формирования основных клинических синдромов при посттравматическом стрессовом расстройстве // Клинич. медицина. 2009. Т. 87. № 4. С. 4–9.
- Шаляпина В. Г., Вершинина Е. А., Ракицкая В. В., Рыжова Л. Ю., Семенова М. Г., Семенова О. Г. Изменение приспособительного поведения активных и пассивных крыс вистар в водно-иммерсионной модели депрессии // Журн. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова. 2006. Т. 56. № 4. С. 543–547.
- Шаляпина В. Г., Шабанов П. Д., Основы нейроэндокринологии. СПб.: Элби-СПб, 2005. 472 с.
- Blum K., Modestino E. J., Baron D., Brewer R., Thanos P., Elman I., Badgaiyan R. D., Downs B. W., Bagchi D., McLaughlin T., Bowirrat A., Roy A. K., Gold M. S. Endorphinergic Enhancement Attenuation of Post-traumatic Stress Disorder (PTSD) via Activation of Neuro-immunological Function in the Face of a Viral Pandemic // CurrPsychopharmacol. 2021. № 10. P. 86–97.
DOI: 10.2174/221155600999210104221215
- Brockway D. F., Crowley N. A. Turning the tides on neuropsychiatric diseases: the role of peptides in the prefrontal cortex // Frontiers in Behavioral Neuroscience. 2020. № 14. P. 1–23.
DOI: 10.3389/fnbeh.2020.588400
- Browne C. A., Lucki I. Targeting opioid dysregulation in depression for the development of novel therapeutics // Pharmacology & Therapeutics. 2019. V. 201. P. 51–76.
DOI: 10.1016/j.pharmthera.2019.04.009
- Filliol D., Ghazizadeh S., Chulha J., Martin M., Matthes H. W., Simonin F., Befort K., Gavériaux-Ruff C., Dierich A., LeMeur M., Valverde O., Maldonado R., Kieffer B. L. Mice deficient for delta- and mu-opioid receptors exhibit opposing alterations of emotional responses // Nat.Genet. 2000. V. 25. № 2. P. 195–200.
DOI: 10.1038/76061
- Richards E. M., Mathews D. C., Luckenbaugh D. A., Ionescu D. F., Machado-Vieira R., Niciu M. J., Duncan W. C., Nolan N. M., Franco-Chaves J. A., Hudzik T., Maciag C., Li Sh., Cross A., Smith M. A., Zarate C. A. A randomized, placebo-controlled pilot trial of the delta opioid receptor agonist AZD2327 in anxious depression // Psychopharmacology (Berl). 2016. V. 233. № 6. P. 1119–1130.
DOI: 10.1007/s00213-015-4195-4
- Schmidt U., Kaltwasser S. F., Wotjak C. T. Biomarkers in Posttraumatic Stress Disorder: Overview and Implications for Future Research // Disease Markers. 2013. V. 35. № 1. P. 43–54.
DOI: 10.1155/2013/835876
- Szklarczyk K., Korostynski M., Cieslak P. E., Wawrzczak-Bargielaa A., Przewlocki R. Opioid-dependent regulation of high and low fear responses in two inbred mouse strains // Behavioural Brain Research. 2015. № 292. P. 95–101.
DOI: 10.1016/j.bbr.2015.06.001
- Tseilikman V., Akulov A., Shevelev O., Khotiskina A., Kontsevaya G., Moshkin M., Fedotova J., Pashkov A., Tseilikman O., Agletdinov E., Tseilikman D., Kondashevskaya M., Zavjalov E. Paradoxical anxiety level reduction in animal chronic stress: a unique role of hippocampus neurobiology // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. P. 91–51.
DOI: 10.3390/ijms23169151
- Wilson C. B., McLaughlin L. D., Nair A., Ebenezer Ph. J., Dange R., Francis J. Inflammation and Oxidative Stress Are Elevated in the Brain, Blood, and Adrenal Glands during the Progression of Post-Traumatic Stress Disorder in a Predator Exposure Animal Model // PLoS ONE. 2013. V. 8. № 10.
DOI: 10.1371/journal.pone.0076146

The effect of dalargin on the level of corticosterone in rats with different individual typological features of behavior in the ptsd model

© 2024 O. G. Semenova, A. V. Vyushina, A. V. Pritvorova[#], S. G. Pivina, N. E. Ordyan

I. P. Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Makarova emb., 6, St. Petersburg, 199034 Russia

[#]*E-mail: Pritvorovaav@infran.ru*

The effect of the synthetic analogue of leu-enkephalin (dalargin) on the level of corticosterone in the blood and the mass of the adrenal glands in rats with various typological features of behavior in the model of post-traumatic stress disorder (PTSD) was studied. Groups were formed: active low-anxiety (ALA) and high-anxiety (AHA), as well as passive low-anxiety (PLA) and high-anxiety (PHA) rats. Each of the 4 groups of rats was divided into 3 subgroups, where subgroup 1 is an intact control. 20 days after the first stressful exposure, rats from subgroup 3 were injected intramuscularly with the dalargin for 7 days, and rats from subgroup 2 were injected with the saline solution. It was found that the course of injections of dalargin into rats in the PTSD model had a positive effect on the studied indicators only in the group of active highly-anxiety animals.

Keywords: post-traumatic stress disorder, dalargin, corticosterone, adrenal glands, anxiety, activity, rats

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ И СЕЗОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОНЦЕНТРАЦИИ ХЛОРОФИЛЛА *a* В БАРЕНЦЕВОМ МОРЕ

© 2024 г. В. В. Водопьянова*, В. Г. Дворецкий*, А. С. Булавина*

*Мурманский морской биологический институт РАН, ул. Владимирская 17, Мурманск, 183010 Россия

@E-mail: vodopyanova@mmbi.info

Поступила в редакцию 22.02.2023 г.

После доработки 15.05.2023 г.

Принята к публикации 15.05.2023 г.

Исследованы вариации поверхностной концентрации хлорофилла *a* (Хл-а), полученные в ходе 25 рейсов, проведенных с 1984 г. по 2020 г. в Баренцевом море и сопредельных водах арх. Шпицберген. Построены сезонные карты распределения среднесезонных величин Хл-а на акватории Баренцева моря. Установлены значимые сезонные и пространственные вариации содержания Хл-а в различных водных массах. Количество Хл-а в поверхностном слое Баренцева моря достигает максимальных значений в весенний период — 46% от годового. В летний период этот показатель снижается до 28%, в течение осени и зимы относительное содержание Хл-а уменьшается до 21% и 5%, соответственно. Наибольший вклад в суммарное годовое содержание Хл-а вносят арктические и атлантические воды. Для арктических вод характерно достижение максимальных концентраций Хл-а весной и последующее их уменьшение летом и осенью. В атлантических водах наиболее продуктивным является летний период. Проведена оценка влияния климатических факторов на динамику и распределение Хл-а. Применение моделей показало, что высокую значимость для концентрации Хл-а имеют индексы атмосферной циркуляции, аномалий среднегодовой температуры воды и солёности, и ледовитости Баренцева моря.

Ключевые слова: фитопланктон, хлорофилл *a*, водные массы, Баренцево море

DOI: 10.31857/S1026347024020066, **EDN:** WCCDWF

Баренцево море занимает особое место среди окраинных морей Северного Ледовитого океана. Здесь формируется более 48% первичной продукции (ПП) арктического шельфа и около 40% ПП всего Северного Ледовитого океана (СЛО) (Wassmann *et al.*, 2006). За счет этого Баренцево море является крупнейшим промысловым районом. Термический режим Баренцева моря определяется влиянием теплых вод атлантического происхождения, поступающих из Норвежского моря на юго-западе, а также холодных арктических вод, поступающих из Северного Ледовитого океана на севере. Все это способствует формированию разнообразных планктонных и бентосных сообществ (Матишов, 2011; Дворецкий, Дворецкий, 2015).

Фитопланктон — ключевой компонент пелагических морских экосистем, который обеспечивает трансформацию поступающей солнечной энергии в энергию химических соединений, которые используются на более высоких трофических уровнях (Raymont, 1980). С учетом того, что в Арктическом регионе, включая и Баренцево море, в последние годы регистрируются существенные климатические сдвиги (Jacobsen, Ozhigin, 2011; Matishov *et al.*, 2014; Ожигин и др., 2016; Трофимов и др., 2018)

исследование пелагических сообществ и их реакций на внешние изменения представляется актуальной задачей.

Значительный интерес представляет исследование пространственно-временных колебаний концентрации хлорофилла *a* (Хл-а), поскольку этот показатель отражает обилие фотосинтезирующих организмов в водной толще. Этот параметр хорошо коррелирует с биомассой и первичной продукцией фитопланктона (Lee *et al.*, 2015) и позволяет оценивать реакции фитопланктонных сообществ на климатические колебания и антропогенное воздействие.

Цель работы — исследование пространственной и сезонной изменчивости Хл-а в Баренцевом море и сопредельных водах. Основной акцент сделан на изучение распределения Хл-а в различных водных массах и выявлении влияния климатических факторов на его динамику.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Данные для анализа получены в ходе 25 рейсов ММБИ РАН в Баренцевом море и прилегающих водах в период с 1984 г. по 2020 г. (табл. 1, рис. 1).

Проведен анализ 765 проб, отобранных в поверхностном слое (до глубины 1 м) при помощи 5–10-литровых батометров Нискина (Hydro-Bios, Германия). Пробы воды объемом 5 л фильтровали на вакуумной установке на борту судна через мембранные фильтры диаметром 47 мм и размером пор 0.6 мкм. Фильтры хранили при -20°C . В 1984–1993 гг. концентрацию Хл-а определяли флуорометрически (Strickland, Parsons, 1972). В 2006–2020 гг. использовали стандартную методику (ГОСТ..., 2001): осадок экстрагировали 90%-ным ацетоном. После гомогенизации образцы центрифугировали при 8000 об/мин. Концентрацию Хл-а в экстракте определяли на спектрофотометре Nicolet Evolution 500.

Распределение Хл-а рассматривали в связи с основными водными массами, которые идентифицировали по гидрологическим критериям (Wassmann *et al.*, 2006, Ожигин и др., 2016). Выделено 8 водных масс (ВМ): АВ – атлантическая ($T > 3.5^{\circ}\text{C}$, $S > 35$), АрВ – арктическая ($T < 0^{\circ}\text{C}$, $S = 32...34.8$), БВ – баренцевоморская ($T = -1.5...5^{\circ}\text{C}$, $S = 34.5...35$), МПВ – мурманская прибрежная ($T = 1...9^{\circ}\text{C}$, $S = 33.8...34.7$), БПВ – беломорская прибрежная ($T = -1.8...8^{\circ}\text{C}$, $S = 32.5...34.7$), ППВ – печорская прибрежная ($T = -1.8...8^{\circ}\text{C}$, $S = 30...34.5$), НЗПВ – новоземельская прибрежная ($T = -1.8...6^{\circ}\text{C}$, $S = 33...34.7$) и ШПВ – шпицбергенская прибрежная ($T = 1...6^{\circ}\text{C}$, $S = 32.8...34.4$).

В качестве предикторов сезонных и пространственных вариаций Хл-а использовали: 1) зимний (декабрь–февраль) индекс Североатлантического колебания (North Atlantic Oscillation, NAO); 2) индекс Арктического колебания (Arctic Oscillation, AO); 3) аномалии среднегодовой температуры и солености на вековом разрезе “Кольский меридиан” (dT , dS); 4) площади ледяного покрова в Баренцевом море (SIE – годовая, $SIE-a$ – апрельская, $SIE-s$ – сентябрьская, тыс. км²). Данные были получены из следующих источников: сайты климатического прогностического центра США (NOAA, www.cpc.ncep.noaa.gov), Национального центра климатических исследований США (www.climateataguide.ucar.edu), Полярного филиала ФГБУ ВНИРО (www.pinro.vniro.ru), Национального центра данных о снеге и льде США (www.nsidc.org), а также получены из отчетов Рабочей группы по комплексной оценке Баренцева моря (Eriksen, Filin, 2022).

Индексы NAO и AO характеризуют глобальную атмосферную циркуляцию в северном полушарии (Hurrell, Deser, 2009). Индекс NAO является суммарной мерой состояния циркуляции в средних широтах Северной Атлантики. Североатлантическое колебание (NAO) отражает колебание атмосферной массы между севером и югом Северной Атлантики с центрами в районе Исландии (минимум) и в районе Азорских о-вов (максимум). Пространственные особенности и временная

Таблица 1. Информация о рейсах, количество станций отбора проб для анализа хлорофилла *a* в Баренцевом море в 1984–2020 гг.

Рейс	Период	Судно	Количество станций
1	Лето 1984	Помор	46
2	Лето 1984	Дальние Зеленцы	29
3	Лето 1984	Ахилл	24
4	Весна 1985	Помор	29
5	Лето 1986	Дальние Зеленцы	17
6	Лето 1987	Дальние Зеленцы	48
7	Весна 1988	Дальние Зеленцы	56
8	Лето 1991	Дальние Зеленцы	61
9	Лето 1993	Дальние Зеленцы	33
10	Лето 1993	Дальние Зеленцы	16
11	Лето 1993	Дальние Зеленцы	23
12	Осень 2006	Дальние Зеленцы	18
13	Лето 2010	Дальние Зеленцы	34
14	Осень 2013	Дальние Зеленцы	10
15	Лето 2015	Дальние Зеленцы	52
16	Весна 2016	Дальние Зеленцы	51
17	Лето 2016	Дальние Зеленцы	52
18	Лето 2017	Дальние Зеленцы	30
19	Зима 2017	Дальние Зеленцы	27
20	Весна 2018	Дальние Зеленцы	46
21	Весна 2019	Дальние Зеленцы	30
22	Лето 2019	Дальние Зеленцы	12
23	Зима 2019	Дальние Зеленцы	6
24	Осень 2020	Дальние Зеленцы	6
25	Осень 2020	Дальние Зеленцы	9
	Всего		765

изменчивость NAO определяют по полю давления на уровне моря. Индекс NAO вычисляется как разность нормированных значений давления на станции Гибралтар (Лиссабон или Понта Дельгада) и станции Рейкьявик (Hurrell, Deser, 2009).

Арктическое колебание отражает глобальные процессы аномалий циркуляции в стратосфере Северного полушария (Thompson, Wallace, 1998). Значения индекса вычисляются по данным давления на уровне моря в регионе Северного полушария с координатами (20° с.ш. – 90° с.ш.) или по среднемесячным аномалиям высоты геопотенциальной поверхности 1000 (или 700) гПа в узлах регулярной сетки, которые нормализуются относительно базового периода. Аномалии dT, dS отражают гидрологические изменения в Баренцевом море на протяжении более века (Ожигин и др., 2016; Трофимов и др., 2018). В расчетах использовали данные для станций 3–7 (70°30'–72°00' с.ш., 33°30' в.д., основная ветвь Мурманского течения, слой 0–200 м). Данные о площади льда являются интегральным показателем процессов потепления/похолодания в Арктике.

Сравнение выборок для сезонов и ВМ проводили при помощи однофакторного дисперсионного анализа или теста Краскела–Уоллиса (Zar, 1999) в случае, когда нормальность данных не выявлена. Множественные сравнения проводили тестом Тьюки–Крамера или Z-тестом Краскела–Уоллиса

(Zar, 1999). Для каждой выборки рассчитывали диапазон и средние со стандартными отклонениями.

Для выявления общих тенденций изменения концентрации Хл-а в связи с динамикой климатических факторов, использовали модели, основанные на многофакторных регрессиях (Legendre, Legendre, 1998). Модули GLM и GLZ (Generalized Linear Models) применяются для оценки линейных и нелинейных эффектов для любого количества и типа предикторов с дискретной или непрерывной зависимой переменной. Часть климатических индикаторов, использованных для анализа (индексы NAO и АО, аномалии температуры и солёности), не демонстрировала линейных трендов (www.cpc.ncep.noaa.gov; www.climateataguide.ucar.edu; www.pinro.vniro.ru), тогда как площадь ледяного покрова проявляла тенденцию к снижению на протяжении периода исследования (www.nsidc.org; Eriksen, Filin, 2022). По этой причине были применены, как линейные, так и нелинейные модели. В нашем случае была использована тождественная связь ($f(z) = z$), поэтому значения концентраций Хл-а были нормализованы десятичным логарифмом. Площади ледяного покрова были нормализованы для приведения величин климатических индексов к одному порядку величин. Статистическая значимость независимых переменных (климатических предикторов) оценивалась на основе статистики Вальда (Legendre, Legendre, 1998). Вклад климатических факторов в общую вариацию Хл-а определяли по коэффициенту детерминации (R^2). Статистическая обработка данных выполнена с применением программных пакетов Statistica 10 (StatSoft Inc., США) и NCSS-PASS2004 (NCSS Statistical Software, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В Баренцевом море и сопредельных водах нами были выявлены существенные сезонные и пространственные вариации содержания Хл-а в поверхностном слое (рис. 2, табл. 2). В различные сезоны года локализация центров с повышенными концентрациями фитопигментов существенно отличалась.

Зимой концентрация Хл-а колебалась слабо. Показатели этого параметра на акватории моря находились в пределах от 0.05 до 0.28 мг/м³ (табл. 2). Максимальные значения зарегистрированы в ШПВ (0.23–0.28 мг/м³) (рис. 2а). Весной концентрации Хл-а в Баренцевом море изменялись в широком диапазоне (0.01–8.25 мг/м³), достигая максимальных значений в районе Шпицбергенской банки, у западного побережья Новой Земли и на севере акватории моря (рис. 2б). Средняя концентрация Хл-а в это время года превышала 1 мг/м³ (табл. 2). Наибольшие средние концентрации

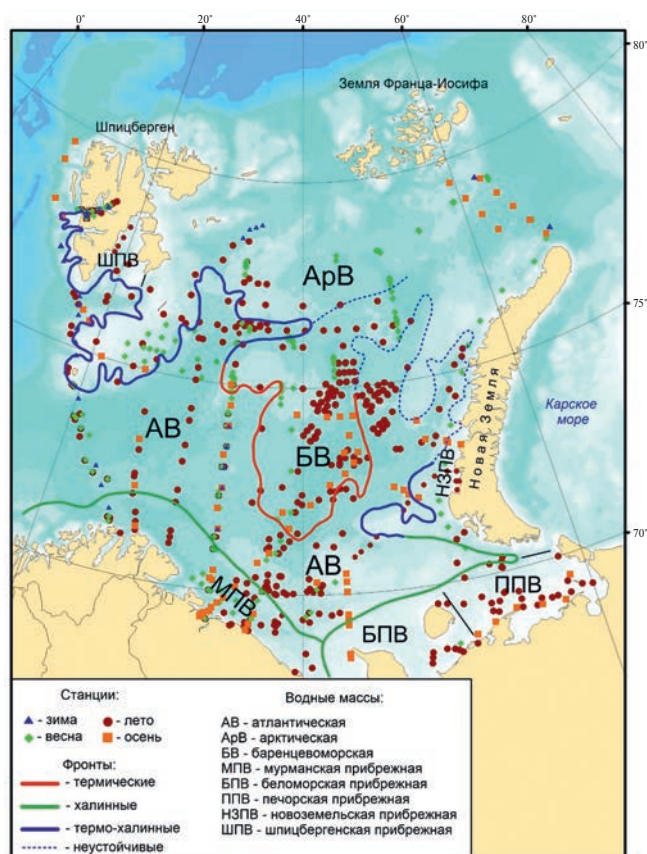


Рис. 1. Станции отбора проб для анализа хлорофилла *a* в Баренцевом море в 1984–2020 гг., среднее многолетнее положение фронтальных зон и водные массы Баренцева моря (Matishov *et al.*, 2012).

Таблица 2. Статистические показатели (диапазон варьирования, среднее $\pm$ стандартное отклонение) поверхностной концентрации хлорофилла *a* (мг/м³) в водных массах Баренцева моря и сопредельных вод в 1984–2020 гг.

Водная масса	Сезон				
	Зима	Весна	Лето	Осень	Все
АрВ	0.10–0.22 0.16 $\pm$ 0.06	0.28–5.61 1.54 $\pm$ 1.50	0.05–1.51 0.30 $\pm$ 0.37	0.18–0.36 0.25 $\pm$ 0.07	0.05–5.61 0.99 $\pm$ 1.31
АВ	0.05–0.21 0.14 $\pm$ 0.06	0.13–4.59 0.74 $\pm$ 0.94	0.03–4.99 0.98 $\pm$ 0.78	0.12–1.22 0.51 $\pm$ 0.37	0.03–4.99 0.81 $\pm$ 0.79
БВ	—	0.13–2.58 0.44 $\pm$ 0.58	0.03–12.36 0.57 $\pm$ 1.09	0.08–0.91 0.42 $\pm$ 0.24	0.03–12.36 0.54 $\pm$ 0.97
МПВ	0.13–0.21 0.17 $\pm$ 0.06	0.01–1.91 0.46 $\pm$ 0.38	0.14–2.78 0.76 $\pm$ 0.48	0.11–1.65 0.66 $\pm$ 0.41	0.01–2.78 0.60 $\pm$ 0.44
НЗПВ	—	1.12–3.18 2.06 $\pm$ 1.04	0.09–3.06 0.65 $\pm$ 0.77	0.32–0.57 0.44 $\pm$ 0.09	0.09–3.18 0.78 $\pm$ 0.85
ППВ	—	—	0.14–0.96 0.41 $\pm$ 0.23	0.60–1.48 0.95 $\pm$ 0.37	0.14–1.48 0.48 $\pm$ 0.31
ШПВ	0.23–0.28 0.26 $\pm$ 0.02	1.12–8.25 3.77 $\pm$ 2.51	0.15–2.99 0.84 $\pm$ 0.61	0.11–0.18 0.15 $\pm$ 0.03	0.11–8.25 1.44 $\pm$ 1.89
БПВ	—	—	0.28–1.57 0.81 $\pm$ 0.36	0.45–1.19 0.98 $\pm$ 0.27	0.28–1.57 0.88 $\pm$ 0.33
Все	0.05–0.28 0.18 $\pm$ 0.07	0.01–8.25 1.01 $\pm$ 1.45	0.03–12.36 0.66 $\pm$ 0.81	0.08–1.65 0.55 $\pm$ 0.37	0.01–12.36 0.73 $\pm$ 1.00

Примечание. Водные массы: АрВ — арктическая, АВ — атлантическая, БВ — баренцевоморская, МПВ — мурманская прибрежная, НЗПВ — новоземельская прибрежная, ППВ — печорская прибрежная, ШПВ — шпицбергенская прибрежная, БПВ — беломорская прибрежная.

Хл-а весной наблюдались в ШПВ (3.77 мг/м³), НЗПВ (2.07 мг/м³) и АрВ (1.54 мг/м³). Исследования в ШПВ и НЗПВ весной проводились в разные годы, но всегда в мае, в то время как отбор проб в АрВ производился в разные годы во все весенние месяцы. Это увеличивает разброс значений концентраций Хл-а в АрВ, так как в марте и апреле количественные показатели обилия фитопланктона значительно уступают его уровням в мае, когда в северных районах моря регистрируется максимальное развитие фитопланктона. Летом средняя концентрация Хл-а в Баренцевом море была ниже, чем весной (0.66 мг/м³) (табл. 2). Содержание Хл-а на акватории моря колебалось в широких пределах (0.03–12.36 мг/м³). Наибольшие концентрации регистрировали в центре и на юге моря, а наименьшие, в отличие от зимнего и весеннего периодов, наблюдались в АрВ (рис. 2в). Осенью концентрация Хл-а колебалась в диапазоне 0.08–1.65 мг/м³ (табл. 2). Максимумы Хл-а отмечены на юго-западе и юго-востоке моря (рис. 2г) и приурочены к прибрежным континентальным ВМ — Печорской, Беломорской, Мурманской.

Наибольшие величины содержания Хл-а отмечены в весенне-летний период (табл. 2). Средние значения Хл-а весной, летом и осенью были сходны ($p > 0.05$), но существенно отличались от концентраций, полученных зимой ($p < 0.05$) (табл. 2).

Множественные сравнения ВМ показали статистически значимые отличия концентрации Хл-а ($p < 0.05$) для пар АВ–БВ, МПВ–БВ и БВ–ШПВ (табл. 2).

Чтобы проследить сезонную динамику развития фитопланктона на акватории моря, были построены карты аномалий внутригодового хода концентраций Хл-а. Летние аномалии рассчитывались по отношению к базовому периоду март–август (рис. 3а), осенние — по отношению к базовому периоду июнь–ноябрь (рис. 3б). Таким образом, отрицательные аномалии будут наблюдаться в районах, где концентрация Хл-а летом меньше, чем весной (рис. 3а), и осенью меньше, чем летом (рис. 3б). В районах, для которых характерно увеличение концентрации от весны к лету (рис. 3а) и от лета к осени (рис. 3б), аномалии будут положительными.

Для АрВ было характерно достижение максимальных концентраций Хл-а весной и последующее их уменьшение летом и осенью. В АВ наиболее продуктивным был летний период. Области увеличения концентрации Хл-а в общих чертах соответствуют области распространения АВ (рис. 3а). Фронтальные зоны Баренцева моря могут менять свое положение в течение года (Ожигин и др., 2016). Наибольшей стабильностью положения отличается участок Полярного фронта,

приуроченный к контакту атлантических и арктических вод. Он располагается квазистационарно на стыке Шпицбергенской банки и Медвежьинского желоба. Участок Полярного фронта, расположенный в центральной части моря в области контакта АВ и БВ менее контрастен и имеет существенную пространственную динамику. Он может значительно смещаться на восток относительно своего среднего положения, показанного на рис. 3.

Чтобы оценить относительный вклад каждой ВМ в производство первичной продукции Баренцева моря, необходимо учитывать не только концентрацию Хл-а в различные сезоны года

в каждой ВМ, но и площадь, занимаемую ей на акватории моря. Используя данные о средней сезонной концентрации Хл-а и средней многолетней площади ВМ, было рассчитано относительное содержание Хл-а в ВМ Баренцева моря в % от годового (рис. 4). Площади ВМ были вычислены по карте в их средних границах, указанных на рис. 1.

Наибольшее относительное содержание Хл-а в поверхностном слое Баренцева моря было зарегистрировано в весенний период — 46% от годового (20.4% в АрВ), что является характерной особенностью арктической и субарктической

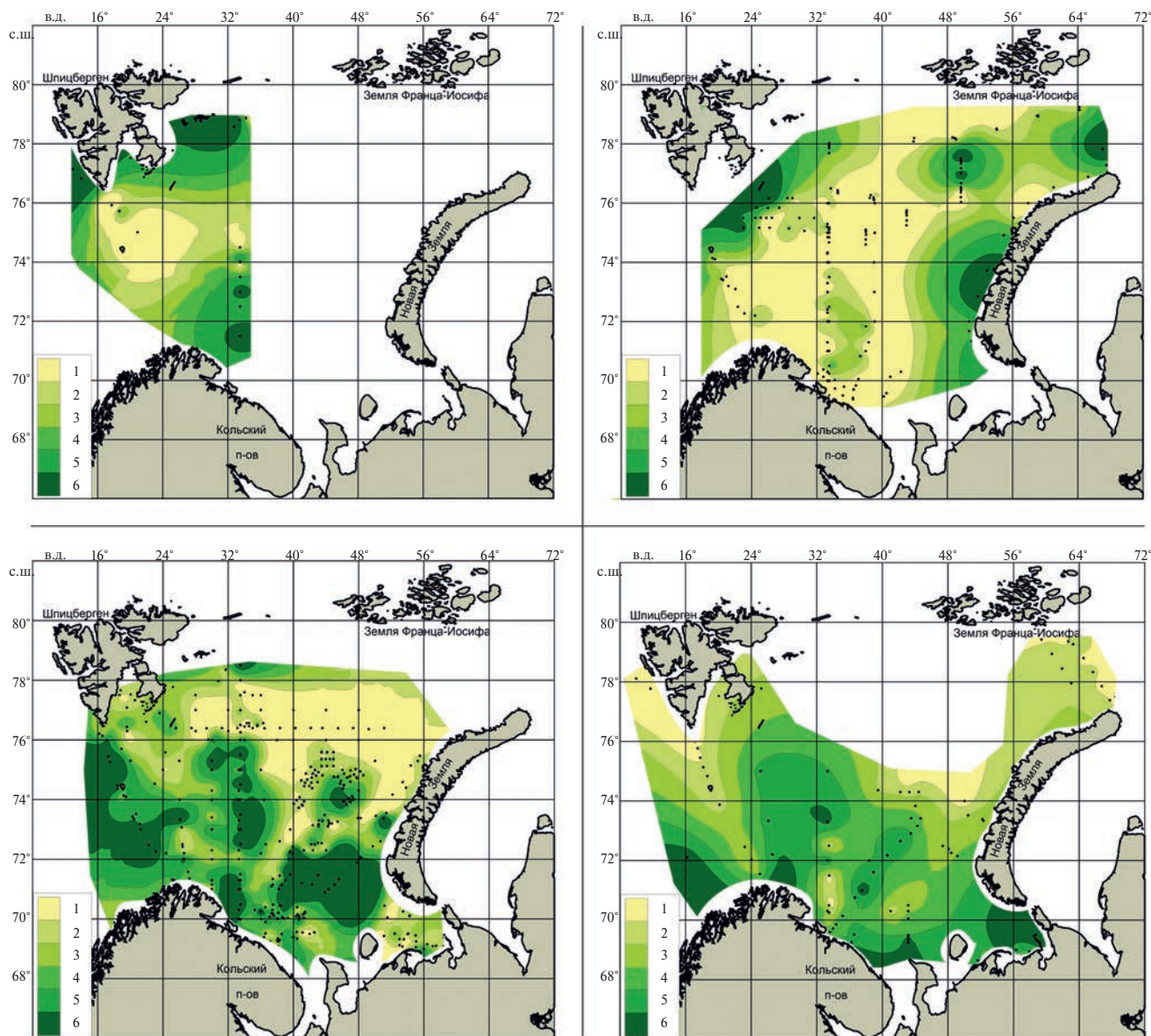


Рис. 2. Сезонное распределение усредненных концентраций хлорофилла *a* (мг/м³) в поверхностном слое Баренцева моря в 1984–2020 гг. (а) зима: 1 – < 0.05, 2–0.05–0.10, 3–0.11–0.12, 4–0.13–0.15, 5–0.16–0.18, 6 – > 0.18. (б) весна: 1 – < 0.1, 2–0.1–0.5, 3–0.6–0.9, 4–1.0–1.3, 5–1.4–2.2, 6 – > 2.2. (в) лето: 1 – < 0.10, 2–0.10–0.25, 3–0.26–0.39, 4–0.40–0.54, 5–0.55–0.80, 6 – > 0.80. (г) осень: 1 – < 0.08, 2–0.09–0.23, 3–0.24–0.32, 4–0.33–0.50, 5–0.51–0.75, 6 – > 0.75.

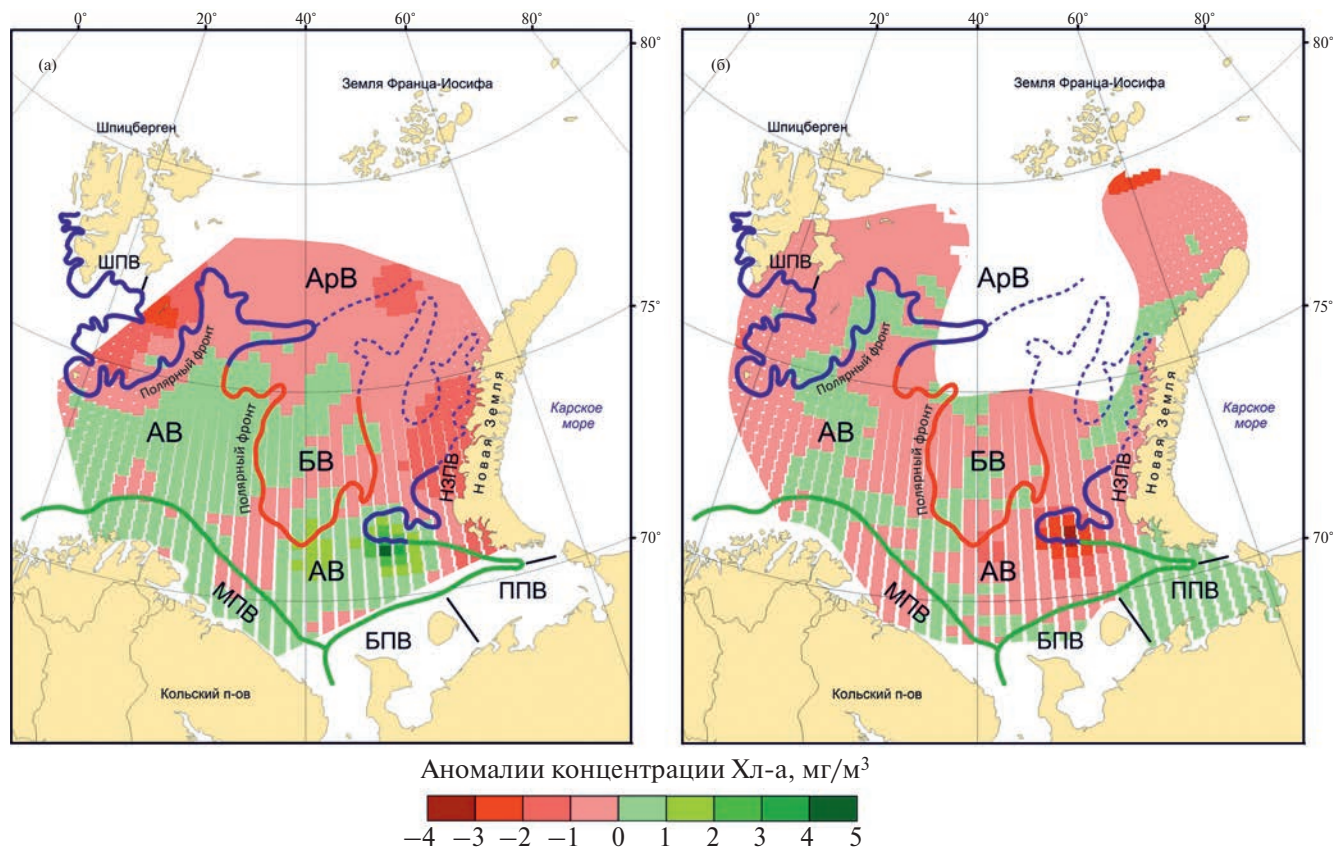


Рис. 3. Аномалии концентрации хлорофилла *a* в поверхностном слое Баренцева моря: (а) лето; (б) осень. Водные массы: АрВ – арктическая, АВ – атлантическая, БВ – баренцевоморская, МПВ – мурманская прибрежная, НЗВП – новоземельская прибрежная, ППВ – печорская прибрежная, ШПВ – шпицбергенская прибрежная, БПВ – беломорская прибрежная.

зоны Мирового океана, где основная часть годовой первичной продукции формируется во время весеннего цветения фитопланктона. Летом, этот показатель снизился до 28.7%, при этом наибольшее содержание Хл-а было отмечено в АВ – 11.8%. Осенью и зимой продолжалось снижение относительного содержания Хл-а до 20.6% и 4.7%, соответственно. Наибольший вклад в суммарное годовое содержание Хл-а внесли АрВ и АВ (рис. 4).

Наблюдалась также и межгодовая изменчивость концентраций и пространственного распределения Хл-а на акватории Баренцева моря. Развитие фитопланктона определяется многими факторами, большинство из которых имеют под собой климатическую основу. В период исследования зимний индекс NAO демонстрировал выраженные колебания, при этом его средняя величина была близка к 0. Прослеживались периоды с выраженными положительными величинами индекса: в 1989–1994 гг., в 1999–2000 гг., и в 2014–2020 гг. Индекс АО сильно варьировал, его среднегодовые величины были ниже 0 в 1984–1989 гг., в 2005–2006 гг., в 2009–2010 гг., в 2012–2014 гг.,

в 2016 г. и в 2019 г. Аномалии температуры воды на Кольском разрезе были выше среднемноголетней величины в 1989–1992 гг. и начиная с 2004 г. Соленость демонстрировала слабые отклонения от многолетних показателей, однако с 2004 г. регистрировали устойчивые положительные аномалии. Ледовитость Баренцева моря была ниже средних многолетних значений в 1983–1984 гг., в 1991–1996 гг., а также с 2004 г. Сходные тенденции отмечены для апрельских и сентябрьских значений.

Моделирование позволило оценить характер и дать количественную оценку влияния различных климатических факторов. В табл. 3 представлены параметры предикторов регрессионной модели прогноза изменения Хл-а и их статистическая значимость. Практически все факторы, кроме площади льда в сентябре, были значимо связаны с концентрацией Хл-а в поверхностном слое. Обнаружена прямая зависимость концентрации Хл-а от большинства климатических факторов, о чем свидетельствовали положительные коэффициенты регрессионной модели. В случае индекса АО и среднегодовой площади ледяного

покрова обнаружена обратная зависимость. Найденная линейная модель была статистически значимой (множественный $R = 0.39$, множественный $R^2 = 0.15$, скорректированный $R^2 = 0.14$, $F = 17.23$, $p < 0.01$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Многолетние исследования *in situ* концентраций Хл-а в Баренцевом море, включая его малоизученные и труднодоступные районы, позволили провести анализ пространственных и сезонных колебаний содержания Хл-а. Были выявлены существенные сезонные различия центров локализации максимальных концентраций Хл-а. Первые очаги развития фитопланктона обнаруживаются в весенний период на севере Баренцева моря у ледовой кромки, а также и у побережья архипелагов Шпицберген и Новая Земля. Ранее неоднократно были зафиксированы максимальные значения Хл-а в весенний период в северных районах Баренцева моря и в районе

ледовой кромки (Wassman *et al.*, 2006; Макаревич, Дружкова, 2010; Makarevich *et al.*, 2012, 2022). Весеннее развитие фитопланктона определяется комплексом факторов, среди которых температура воды, световой режим и концентрация биогенных элементов играют первостепенную роль (Pal, Choudhury, 2014). Влияние температуры, как правило, опосредовано через формирование стратификации за счет нагревания поверхностного слоя и инициирования таяния льда (Pal, Choudhury, 2014). Образующийся тонкий слой талых вод отделен от нижележащих вод ярко выраженным пикноклином. Благодаря этому весной в АрВ компенсационная точка (глубина, на которой освещенность достаточна, чтобы фотосинтез компенсировал затраты на дыхание) залегает ниже глубины перемешанного слоя, что обеспечивает благоприятные условия для развития фитопланктона (Raymont, 1980).

Высокие концентрации Хл-а весной вблизи западного побережья арх. Новая Земля также, вероятно, связаны с таянием льда и образованием слоя талых вод. Кроме того, сток с арх. Новая

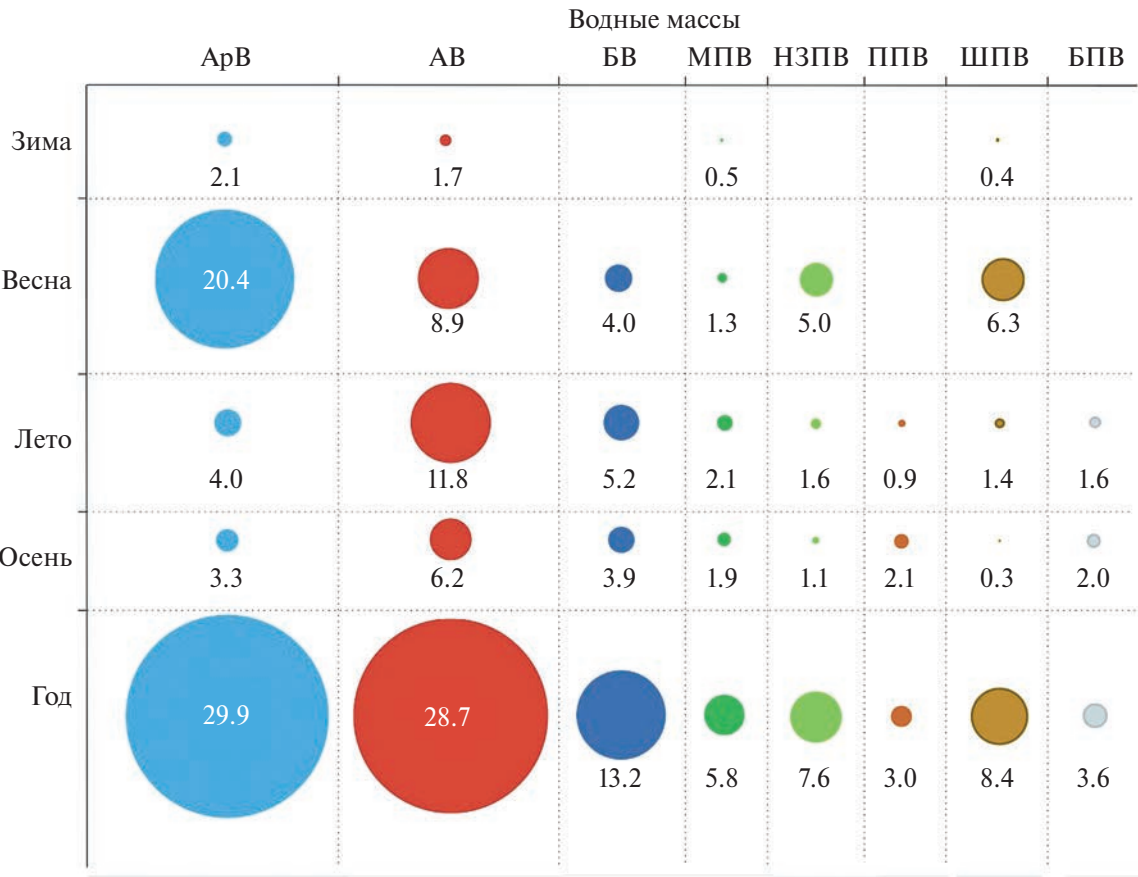


Рис. 4. Относительное содержание хлорофилла *a* в поверхностном слое ВМ Баренцева моря, %. Водные массы: АрВ – арктическая, АВ – атлантическая, БВ – баренцевоморская, МПВ – мурманская прибрежная, НЗПВ – ново-земельская прибрежная, ППВ – печорская прибрежная, ШПВ – шпицбергенская прибрежная, БПВ – беломорская прибрежная.

Таблица 3. Итоговые параметры модели (GLZ-анализ), описывающей взаимосвязи поверхностной концентрации хлорофилла *a* (мг/м³) в Баренцевом море и сопредельных водах в 1984–2020 гг. с климатическими факторами

Параметр	Коэффициент	Стандартная ошибка	95% ДИ1	95% ДИ2	Статистика Вальда	p
NAO-w	0.02	0.01	0.00	0.04	4.50	0.034
АО	−0.05	0.03	−0.10	0.00	4.45	0.035
dT	0.26	0.03	0.20	0.32	73.36	0.000
dS	0.07	0.03	0.02	0.15	5.49	0.027
SIE-a	1.73	0.21	1.31	2.15	66.00	0.000
SIE-s	0.03	0.02	−0.01	0.07	2.32	0.128
SIE	−0.80	0.13	−1.06	−0.54	35.38	0.000
b	−3.00	0.47	−3.91	−2.06	40.04	0.000

Примечание. NAO-w – зимний индекс Североатлантического колебания, АО – индекс Арктического колебания, dT, dS – аномалии среднегодовой температуры воды (°C) и солёности в основной ветви Мурманского течения (разрез “Кольский меридиан”), SIE-a, SIE-s, SIE – десятичные логарифмы апрельской, сентябрьской и среднегодовой площадей ледяного покрова в Баренцевом море (тыс. км²), b – свободный член уравнения (постоянная переменная) модели. Полужирным шрифтом выделены значимые факторы. 95% ДИ1,2 – нижняя и верхняя граница 95%-го доверительного интервала.

Земля может служить дополнительным источником биогенных веществ. В прибрежных водах арх. Шпицберген массовое весеннее развитие микроводорослей наряду с таянием льда связано, кроме того, с мелководностью района (Sakshaug *et al.*, 2009).

В летний период наибольшие концентрации Хл-а были отмечены в южной и центральной частях Баренцева моря. В этих районах формирование квазиоднородного поверхностного слоя связано не с таянием льда, а с сезонным прогревом поверхности воды. Поэтому изолированный поверхностный слой здесь формируется позже, чем на севере моря. Следовательно, глубина залегания компенсационной точки в южных районах моря начинает превышать толщину перемешанного слоя на 1–2 месяца позднее, чем в северных. Таким образом, активное развитие фитопланктона и его максимальная численность в АВ, БВ и прибрежных континентальных водах (БПВ, ППВ, МПВ) наблюдается позднее, чем в АрВ.

Длительное существование изолированного поверхностного слоя препятствует поступлению в него нитратов и фосфатов из нижележащих слоев водной толщи, ухудшая условия для дальнейшего развития фитопланктона (Sakshaug *et al.*, 2009; Pal, Choudhury, 2014). Снижение плотности фитопланктона происходит из-за быстрого истощения питательных веществ (Матишов, 1997; Wassmann *et al.*, 2006; Makarevich *et al.*, 2012), а также за счет интенсивного выедания копеподами и другими зоопланктонными организмами, пики численности которых наблюдаются через 30–35 суток после массового “цветения” фитопланктона (Дворецкий, Дворецкий, 2015). Более раннее начало развития фитопланктона в АрВ означает и более раннее

снижение его численности. Поэтому летом концентрации Хл-а в АрВ заметно снижаются. В то же время, в ВМ, где поверхностный слой формируется лишь в конце весны, максимальные концентрации Хл-а приходятся на летний период. В июне и июле в АрВ были обнаружены участки “цветения” фитопланктона, связанные с отступающей кромкой льда (Makarevich *et al.*, 2022). По многолетним данным нами также были зафиксированы отдельные участки с высокими концентрациями Хл-а в АрВ в летний период. Летние максимумы Хл-а в АрВ приурочены к области плавучих льдов, и, вероятно, связаны с более поздним формированием талого слоя в самых северных районах моря. В среднем же, согласно нашим данным, максимальные концентрации Хл-а в АрВ наблюдаются весной, а летом следует их снижение. В АВ, БВ и МПВ максимальное развитие фитопланктона, напротив, приходится на летний сезон. Таким образом, в весенний и летний периоды существования зон повышенных концентраций фитопланктона обусловлено формированием довольно тонкого поверхностного перемешанного слоя, где высокие концентрации биогенных элементов вместе с достаточной освещенностью благоприятствуют эффективному росту и развитию популяций микроводорослей. Важную роль играет и последующее выедание.

В прибрежных водах отмечается несколько всплесков развития фитопланктона (3–4) в течение вегетационного периода. В теплые периоды года в прибрежье существует хорошо выраженный поверхностный опресненный слой. Он способствует всплескам обилия микроводорослей, а речной сток обеспечивает регулярное пополнение питательных веществ. Это объясняет нахождение осенних

максимумов Хл-а преимущественно в прибрежных водах Баренцева моря: МПВ, БПВ, ППВ. В юго-восточной части Баренцева моря (ППВ) наибольшие концентрации Хл-а были отмечены осенью. Этот район подвержен сильному влиянию пресноводного стока реки Печоры. Речной сток обеспечивает поступление значительного количества биогенных элементов, что способствует развитию фитопланктона в прибрежных районах (Makarevich *et al.*, 2012). Предыдущие исследования также установили, что численность и биомасса фитопланктона в Печорском море выше, чем в открытом море (Макаревич, Дружкова, 2010).

Зимой продукция фитопланктона невелика, а распределение питательных веществ в толще воды более однородно. В период полярной ночи концентрации Хл-а редко превышают 0.1–0.2 мг/м³ (Sakshaug *et al.*, 2009). Исследования, посвященные зимнему фитопланктону, немногочисленны, и наша работа расширяет существующие представления о характере локализации Хл-а в западном секторе Баренцева моря. Наиболее высокие концентрации Хл-а зимой были выявлены в ШПВ. Воды, расположенные к западу от Шпицбергена, и в его фьордах сильно подвержены влиянию АВ. Эти воды характеризуются повышенным содержанием биогенных элементов, что благоприятствует существованию микроводорослей даже в условиях неблагоприятного светового режима. Следует отметить, что в пределах ШПВ измерения проводились преимущественно в заливах арх. Шпицберген и это могло повлиять на результат.

Было рассчитано, что почти половина Хл-а в Баренцевом море продуцируется в весенний период. Это объясняется высокой продуктивностью в этот сезон АрВ, которые поставляют около 30% ежегодной продукции Хл-а в Баренцевом море.

Содержание Хл-а в поверхностном слое демонстрировало тенденцию к увеличению в течение периода исследования, поскольку коэффициент в GLZ-модели для года исследования был положительным. Планктонные сообщества очень чувствительны к внешнему воздействию и по-разному реагируют на климатические воздействия (Raymont, 1980). Реакцию фитопланктона можно оценить по ПП, общему годовому запасу, численности, биомассе и концентрации Хл-а (Raymont, 1980; Dalpadado *et al.*, 2020; Водопьянова, Калинка, 2022). Применение линейных и нелинейных моделей показало, что климатические факторы оказывали значимое влияние на межгодовую изменчивость концентраций Хл-а. Результаты моделирования позволяют прогнозировать повышенную концентрацию Хл-а в периоды с положительными значениями индекса NAO, аномалиями температуры и солёности на разрезе “Кольский меридиан”, высокой ледовитостью в апреле, низкой средней годовой ледовитостью и отрицательными значениями индекса АО.

Повышение температуры воды приводит к потере льда в окраинных морях СЛО и может сильно повлиять на фенологию и сезонные вариации обилия фитопланктона в Баренцевом море. Результаты недавних исследований свидетельствуют о более раннем “цветении” в Баренцевом море и смещении границы максимальной концентрации Хл-а в северном и восточном направлении (Dalpadado *et al.*, 2020).

Нами были выявлены значимые различия в сезонном распределении Хл-а между ВМ Баренцева моря и различия в их продукционном потенциале. Изменение гидрологической структуры вод Баренцева моря под влиянием происходящих климатических изменений может существенно повлиять на объем первичной продукции. Образование тонкого поверхностного слоя является важным условием для массового развития фитопланктона. Недавние исследования показали, что усиление притока атлантических вод в Баренцево море и сокращение площади льда привело к интенсификации процессов перемешивания и ослаблению стратификации вод Баренцева моря (Lind *et al.*, 2018). Однако наши данные свидетельствуют об общей положительной реакции фитопланктона на потепление, отмеченное в Арктике и, в частности, в Баренцевом море. Ослабление стратификации приводит к изменению ряда других условий и факторов, влияющих на развитие фитопланктона. Выявление этих изменений и их влияния на пелагические сообщества микроводорослей требует дополнительного изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование многолетних данных позволило уточнить представления об особенностях пространственного распределения Хл-а в Баренцевом море. Получены новые сведения о локализации Хл-а в пределах основных ВМ.

Средние концентрации Хл-а в Баренцевом море достигают максимальных значений в весенний период. Летом и осенью средние концентрации Хл-а в Баренцевом море снижаются. В весенний период продуцируется около 46% от суммарного годового количества хлорофилла. В летний период этот показатель снижается до 28%, в течение осени и зимы — до 21% и 5%, соответственно.

Наибольший вклад в суммарное годовое содержание Хл-а вносят АрВ и АВ. Для арктических вод характерно достижение максимальных концентраций Хл-а весной и последующее их уменьшение летом и осенью. В атлантических водах наиболее продуктивным является летний период. В целом, в более южных районах моря достижение максимальных концентраций Хл-а происходит позже, чем в северных. Вероятно, это связано с особенностями формирования устойчивой стратификации водной толщи. Образование на поверхности

изолированного слоя воды и развитие в нем фитопланктона приводит к увеличению концентрации Хл-а. В северных районах моря в связи с таянием льда весной формируется талый слой, отделенный хорошо выраженным галоклином от нижележащих вод. В более южных районах поверхностный слой формируется позже, так как связан с прогревом поверхности воды.

Выявлена значительная роль климатических факторов (индексы глобальной атмосферной циркуляции, аномалии температуры и солености воды, ледовитость моря) в пространственной и сезонной динамике содержания Хл-а в поверхностном слое. Происходящие климатические колебания, приводящие к изменению гидрологической структуры вод Баренцева моря способны оказывать влияние на объем первичной продукции. Полученные данные могут служить основой для дальнейшего мониторинга морского планктона в Арктике.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания ММБИ, тема “Структурно-динамические трансформации пелагических экосистем морских арктических бассейнов в условиях техногенных и естественных изменений среды” (FMEE-2024–0016).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Водопьянова В. В., Калинка О. П. Мониторинг концентраций хлорофилла в Баренцевом море: сравнение многолетних *in situ* и спутниковых данных // Труды Кольского научного центра РАН. 2022. Т. 13. № 4 (10). С. 27–34. <https://doi.org/10.37614/2307-5252.2022.4.10.003>
- ГОСТ 17.1.4.02–90. ВОДА. Методика спектрофотометрического определения хлорофилла *a* // Государственный контроль качества воды. М.: ИПК Изд-во стандартов. 2001. С. 551–563.
- Дворецкий В. Г., Дворецкий А. Г. Экология зоопланктонных сообществ Баренцева моря и сопредельных вод. СПб.: Реноме. 2015. 736 с.
- Матишов Г. Г. (ред.). Комплексные исследования больших морских экосистем России. Апатиты: Изд-во КНЦ РАН. 2011. 516 с.
- Макаревич П. Р., Дружкова Е. И. Сезонные циклические процессы в прибрежных планктонных альгоценозах северных морей. Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН. 2010. 280 с.
- Ожигин В. К., Ившин В. А., Трофимов А. О., Карсаков М. Ю. Воды Баренцева моря: структура, циркуляция, изменчивость. Мурманск: Изд-во ПИНРО. 2016. 260 с.
- Матишов Г. Г. Планктон морей Западной Арктики. Апатиты: Изд-во КНЦ РАН. 1997. 352 с.
- Трофимов А. Г., Карсаков А. Л., Ившин В. А. Изменения климата в Баренцевом море на протяжении последнего полувека // Труды ВНИРО. 2018. Т. 173. С. 79–91.
- Dalpadado P., Arrigo K. R., van Dijken G. L., Skjoldal H. R., Bagøien E., Dolgov A. V., Prokopchuk I. P., Sperfeld E. Climate effects on temporal and spatial dynamics of phytoplankton and zooplankton in the Barents Sea // *Progr. Oceanogr.* 2020. V. 182. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2020.102320>
- Eriksen E., Filin A. (eds.). ICES. Working Group on the Integrated Assessments of the Barents Sea (WGIBAR). ICES Scientific Reports. 2022. 4:50. 235 p.
- Hurrell J. W., Deser C. North Atlantic climate variability: The role of the North Atlantic Oscillation // *J. Mar. Syst.* 2009. V. 78. P. 28–41. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2008.11.026>
- Jakobsen, T., Ozhigin, V.K. (eds.). The Barents Sea: ecosystem, resources, management: Half a century of Russian-Norwegian cooperation. Tapir Academic Press: Trondheim. 2011. 825 p.
- Lee Y. J., Matrai P. A., Friedrichs M. A., Saba V. S., Antoine D., Ardyna M., Asanuma I., Babin M., Belanger S., Benoît-Gagne M., Devred E., Fernandez-Mendez M., Gentili B., Hirawake T., Kang S., Kameda T., Katlein C., Lee S. H., Lee Z., Melin F., Scardi M., Smyth T. J., Tang S., Turpie K. R., Waters K. J., Westberry T. K. An assessment of phytoplankton primary productivity in the Arctic Ocean from satellite ocean color/*in situ* chlorophyll *a* based models // *Journal of Geophysical Research: Oceans.* 2015. V. 120(9). P. 6508–6541. <https://doi.org/10.1002/2015JC011018>
- Legendre P., Legendre L. Numerical ecology. Elsevier Science: Amsterdam. 1998. 853 p. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(00\)00291-X](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(00)00291-X)
- Lind, S., Ingvaldsen, R.B. & Furevik, T. Arctic warming hotspot in the northern Barents Sea linked to declining sea-ice import // *Nature Clim. Change.* 2018. V. 8. P. 634–639. <https://doi.org/10.1038/s41558-018-0205-y>
- Makarevich P., Druzhkova E., Larionov V. Primary producers of the Barents Sea // *Diversity of Ecosystems.* In Tech: Rijeka, Croatia, 2012. P. 367–392. <https://doi.org/10.5772/37512>
- Makarevich P. R., Vodopianova V. V., Bulavina A. S. Dynamics of the spatial chlorophyll-*a* distribution at the Polar Front in the marginal ice zone of the Barents Sea during spring // *Water* 2022. V. 14. <https://doi.org/10.3390/w14010101>
- Matishov G. G., Berdnikov S. V., Zhichkin, A.P. et al. Atlas of climatic changes in nine large marine ecosystems of the Northern Hemisphere (1827–2013). NOAA atlas NESDIS: 78. International ocean atlas and information series. 2014.V. 14. <http://doi.org/10.7289/V5Q52MK5>
- Matishov, G., Moiseev, D., Lyubina, O. et al. Climate and cyclic hydrobiological changes of the Barents Sea from the twentieth to twenty-first centuries. *Polar Biol.* 2012. V. 35. P. 1773–1790. <https://doi.org/10.1007/s00300-012-1237-9>

- Pal R., Choudhury A. K. An introduction to phytoplanktons: diversity and ecology. Springer: New Delhi. 2014. 167 p. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-1838-8>
- Raymont, J. E. G. Plankton and productivity in the oceans, 2rid ed., vol. 1, Phytoplankton. Pergamon Press: New York. USA, 1980. 477 p.
- Sakshaug E., Johnsen G., Kovacs K. (eds.) Ecosystem Barents Sea. Trondheim: Tapir Academic Press. 2009. 587 p. <https://doi.org/10.1007/s00300-011-0985-2>
- Strickland J. D. H., Parsons T. R. A practical handbook of seawater analysis. Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada. Ottawa, Canada, 1972. 310 p.
- Thompson D. W., Wallace J. M. The Arctic oscillation signature in the wintertime geopotential height and temperature fields // *Geophys. Res. Lett.* 1998. V. 25. P. 1297–1300.
- Wassmann P., Reigstad M., Haug T., Rudels B., Carroll M. L., Hop H., Gabrielsen G. W., Falk-petersen S., Denisenko S. G., Arashkevich E., Slagstad D., Pavlova O. Food webs and carbon flux in the Barents Sea // *Progr. Oceanogr.* 2006. V. 71. P. 232–287. <https://doi.org/10.1016/J.POCEAN.2006.10.003>
- Zar J. H. Biostatistical Analysis. 4th Edition. Prentice-Hall Inc.: USA. 1999. 931 p.

Spatial and seasonal variability of chlorophyll *A* concentration in the Barents Sea

© 2024 V. V. Vodopyanova[#], V. G. Dvoretsky, A. S. Bulavina

*Murmansk Marine Biological Institute of the Russian Academy of Sciences,
Murmansk, Russia*

[#]*E-mail: vodopyanova@mmbi.info*

Variations of the surface chlorophyll *a* concentration (Chl-*a*) measured during 25 cruises conducted from 1984 to 2020 were investigated in the Barents Sea and adjacent Svalbard waters. Seasonal maps of the mean annual Chl-*a* estimations were created for the Barents Sea. Significant seasonal and temporal variations of Chl-*a* were found in different water masses. Surface Chl-*a* content reached a maximum in the spring (46% of the annual estimation). In the summer, it tended to decrease accounting for 28% of the total annual value while in the autumn and winter Chl-*a* was found to be 21% and 5% of the total annual stock, respectively. Atlantic Water and Arctic Water had the highest contribution to the total annual Chl-*a* biomass. In Arctic Water, peaks of Chl-*a* concentrations were registered in spring and these decreased in summer and autumn. Summer season was the most productive period in Atlantic Water. Chl-*a* dynamics and distribution in relation to climatic factors were investigated. Application of generalized linear and non-linear models to predict Chl-*a* variations showed high significance of the indices associated with global atmospheric circulation, mean annual temperature and salinity anomalies as well as ice extent in the Barents Sea.

Keywords: phytoplankton, chlorophyll *a*, water masses, Barents Sea

РОЛЬ ГРИБОВ И БАКТЕРИЙ В МИНЕРАЛИЗАЦИИ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА В ПОЧВАХ ЮЖНОЙ ТАЙГИ ЕВРОПЕЙСКОЙ РОССИИ

© 2024 г. С. М. Разгулин*[@], Л. В. Воронин**

*Институт лесоведения РАН, ул. Советская, д. 21, с. Успенское, Одинцовский район Московской обл., 143030 Россия

**Ярославский государственный педагогический университет им. К. Д. Ушинского ул. Республиканская, д. 108/1, Ярославль, 150000 Россия

@E-mail: Kriador@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.02.2023 г.

После доработки 13.10.2023 г.

Принята к публикации 13.10.2023 г.

На протяжении двух лет определяли вклад грибов и бактерий в процесс нетто-аммонификации в дерново-подзолистой почве под кислично-черничным березняком (Ярославская обл., Россия) с использованием селективных ингибиторов белкового синтеза. Установлено, что для подстилки характерен примерно равный вклад грибов и бактерий в этот процесс. В гумусовом горизонте в год нормального увлажнения вклад грибов был немного выше вклада бактерий, а в засушливый год наблюдалось однозначное доминирование грибов. В элювиальной части профиля отмечен сопоставимый вклад этих групп с незначительным превалированием одной из них по годам исследования. Максимальная температура воздуха способна регулировать сезонную динамику численности сапротрофных грибов в почве и влиять на родовую структуру микобиоты в горизонтах почвенного профиля березняка.

Ключевые слова: нетто-аммонификация, микобиота, сапротрофные грибы, селективные ингибиторы
DOI: 10.31857/S1026347024020073, **EDN:** WCAXRB

Дефицит азота сдерживает продуктивность лесов бореальной зоны. Одним из важнейших процессов азотного цикла служит минерализация соединений азота в почве микроорганизмами, сложным образом связанная с ростом фитоценоза, функционированием микоризных комплексов растений, азотфиксацией, атмосферной эмиссией азота, почвенной фауной, позвоночными животными, а также с газообразными и инфильтрационными потерями (Sponseller *et al.*, 2016). Этот процесс хорошо изучен в лесах Северной Америки и в некоторых лесных экосистемах Западной Европы (Разгулин, 2022).

В России, с ее бесконечным разнообразием лесных почв и колоссальной площадью насаждений, нетто-минерализация соединений азота, измеренная в условиях “*in situ*”, представлена единичными работами (Разгулин, 2022) и, в целом, изучена недостаточно.

Грибы и бактерии являются основными группами микроорганизмов деструкторов органического вещества почвы, обеспечивающих функционирование биогеохимических циклов, включающих и круговорот азота. В лесных почвах сапротрофные грибы выделяют широкий спектр внеклеточных ферментов и являются основными деструкторами лигнина, а также целлюлозы и гемицеллюлозы

(de Boer *et al.*, 2005; Strickland, Rousk, 2010; Morrison *et al.*, 2016).

Почвенные бактерии также способствуют расщеплению фенольных соединений, включая лигнин, хотя их эффективность намного ниже, чем у грибов. Недавно обнаружено, что гены, кодирующие ферменты целлюлазы, присутствуют в 24% всех секвенированных бактериальных геномов лесной подстилки. Кроме того, геномы некоторых бактерий, выделенных из лесных почв, кодируют белки, участвующие в разложении биомассы мертвых растений, что стимулирует эффективность ее гидролиза. Бактерии, продуцирующие хитинолитические ферменты, более эффективно перерабатывают полисахариды и меланин отмирающего мицелия грибов, чем сами грибы. Роль бактерий, ассоциированных с микоризами, изменяется от помощников микориз до микофагов. Вероятно, бактерии играют более важную роль в трансформации органической массы, чем предполагалось ранее, и вносят значительный вклад в процессы разложения органического вещества в подстилке и почве (Llado *et al.*, 2017).

Определение численности и биомассы грибов и бактерий в почве представляет собой сложную, но окончательно не решенную методическую задачу (Strickland, Rousk, 2010). Исследования,

выполненные различными методами, показали устойчивое доминирование грибов в верхних горизонтах почв (Compton *et al.*, 2004; Ананьева *и др.*, 2010; Добровольская *и др.*, 2015; Никитин *и др.*, 2019). В бореальных и умеренных лесах грибная биомасса (горизонт 0–30 см), измеренная по содержанию фосфолипидов жирных кислот, составляла 1234 и 226 мг С/кг, а бактериальная – 258 и 53 мг С/кг соответственно, с соотношением грибов: бактерии равным 4–5 (He *et al.*, 2020). Использование метода каскадной фильтрации выявило близкое соотношение этих групп микроорганизмов в верхних горизонтах почвы, однако в нижних частях профиля со значительным превышением доминировали бактерии (Полянская *и др.*, 2020).

В бореальных лесах сапротрофная микобиота подстилки продуцирует широкий набор ферментов (фосфатазу, сульфатазу, аминопептидазу, ацетил-глюкозаминидазу, глюкозидазу, целлюлогидразазу, ксилозидазу, пероксидазу и фенолоксидазу), разлагающих органическое вещество почвы с уровнем активности, сравнимым с активностью эктомикориз (Phillips *et al.*, 2014), локализованных в более глубоких горизонтах почвы (Lindahl, Tunlid, 2015; Baskaran *et al.*, 2017). Высокая эффективность в разложении гемицеллюлозы, целлюлозы и хитина отмечена у дрожжей, которые также активно используют продукты разложения другими микроорганизмами (Mašinová *et al.*, 2018).

Известны работы по определению отдельно вклада грибов и бактерий в процессы дыхания и образования оксидов азота в почве (West, 1986; Castaldi *et al.*, 1998; Bailey *et al.*, 2003; Blagodatskaya *et al.*, 2010; Ананьева *и др.*, 2010, 2015; Богородская, Шишкин, 2020). Аналогичных исследований нетто-минерализации азота в лесных почвах значительно меньше. Отмечается как незначительное превалирование бактерий над грибами в процессе аммонификации (Land *et al.*, 1993), так и отсутствие однозначного результата. Указывается на возрастание аммонификации при использовании ингибиторов (Boyle *et al.*, 2008).

В настоящей работе поставлена задача определения роли грибов и бактерий в процессе минерализации азота, и также исследования взаимосвязи численности сапротрофных грибов с сезонной динамикой нетто-минерализации соединений азота в почве березняка.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились в среднепродуктивном кислично-черничном березняке, с составом древостоя 7Б3Ос, 65 лет, II класса бонитета (Рыбинский район Ярославской области) в 2020 и 2021 гг. Преобладает береза поникшая (*Betula pendula*) и осина обыкновенная (*Populus tremula*). В подросте ель европейская (*Picea abies*)

в количестве 500 экз/га. В подлеске преобладают рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia*) и крушина ломкая (*Frangula alnus*). В напочвенном покрове присутствуют костяника каменистая (*Rubus saxatilis*), черника обыкновенная (*Vaccinium myrtillus*), майник двулистный (*Majanthemum bifolium*) ожка волосистая (*Lusula pilosa*), голокучник обыкновенный (*Gymnocarpium dryopteris*).

Почва дерново-среднеподзолистая, легкосуглинистая. Хорошо выражена корнено насыщенная подстилка мощностью 2–3 см. Гумусовый горизонт тонкий, мощностью 1 см, черный, мелкозернистый. Элювиальная часть профиля светло-серого цвета с палевым оттенком, корней мало. С глубины 30–50 см начинается иллювиальная часть профиля, неоднородная по окраске, механическому составу, структуре. На глубине 50–80 см подстилается тяжелой валунной мореной, из красно-бурого среднего и тяжелого суглинка.

Отбор и подготовка проб. Для измерения нетто-минерализации соединений азота в почве березняка раз в месяц с мая по октябрь отбирали образцы подстилки (A_0 , 0–2 см), гумусового (A_1 , 2–3 см) и элювиального (A_2 , 3–13 см) горизонтов. Из проб удаляли крупные (более 1 мм в диаметре) корни. На ситах с диаметром отверстий 5 и 3 мм сепарировали подстилку, а пробы из гумусового и элювиального горизонтов просеивали через сито 2 мм. Все пробы помещались в открытые полиэтиленовые пакеты и хранили 1 сут при комнатной температуре.

Влажность определяли термовесовым методом, высушивая 1 сут в термостате пробы подстилки при 85°C, и почву из минеральных горизонтов при 105°C.

Схема эксперимента с ингибиторами. Для определения вклада грибов и бактерий в процесс минерализации азота использовали селективные ингибиторы из группы аминогликозидных антибиотиков, подавляющих синтез белка. Циклогексимид подавляет синтез белков у эукариотных организмов с 80S рибосомами, включая микроскопические грибы с 80S и 70S рибосомами. Стрептомицин блокирует синтез белка у прокариот с 70S рибосомами (Land *et al.*, 1993). При определении концентрации антибиотиков учитывали результаты исследования (Blagodatskaya *et al.*, 2010), в которых наибольшее ингибирование субстрат-индуцированного дыхания лесной подстилки ($C_{орг}$ 43%) обеспечивалось 50 мг циклогексимид и стрептомицина на 1г пробы. В настоящей работе в подстилку ($C_{орг}$ 27%) вносили циклогексимид (30 мг/г) и стрептомицин (50 мг/г). В гумусовый и элювиальный горизонты, с меньшим содержанием органического углерода, вносили 15 и 10 мг/г циклогексимид и 25 и 20 мг/г стрептомицина соответственно. Использовали 2% и 5% водные растворы циклогексимид и стрептомицина. Близкие дозы внесения антибиотиков (20–60 мг/г) использовались и другими авторами

(Ананьева и др., 2015; Богородская, Шишкин, 2020). В верхних горизонтах почвы применяют и более низкие концентрации указанных веществ, равные 2–3 мг/г (Land *et al.*, 1993; Boyle *et al.*, 2008).

Эксперимент проводился для каждого из трех горизонтов и включал следующие варианты: контроль с добавлением бидистиллированной воды, вариант с добавлением циклогексимида, вариант с добавлением стрептомицина.

Навески подстилки и пробы из горизонтов A_1 (4 г сухого веса) и A_2 (6 г сухого веса) помещали в алюминиевые боксы и инкубировали 25–29 суток в лаборатории при комнатной температуре.

Все варианты выполнялись в 4-кратной повторности для каждого горизонта. Влажность в процессе инкубации контролировали весовым методом, при необходимости добавляя воду каждые 3–4 суток.

Аналитические методы. Содержание обменного аммония в пробах подстилки и минеральной почве определяли в начале и окончании экспозиции. Пробы почвы экстрагировались 100 мл 2% раствором хлорида калия в течение суток, центрифугировались и фильтровались. Аммоний в фильтрате определяли методом изотермической дистилляции аммиака в щелочной среде (Разгулин, 2009). Нетто-аммонификация рассчитывалась как разность содержания аммония между окончанием и началом экспозиции. Так как вклад нитрификации в нетто-минерализованный азот в этом типе леса не превышал 1.6%, содержание нитратов не определяли (Разгулин, 2022).

В течение вегетации 2 раза за каждый срок измеряли эмиссию CO_2 в контрольном варианте каждого горизонта, помещая 4 бокса с почвой в баллон из пластика емкостью 1 л с герметичной резиновой пробкой. Пробы воздуха отбирали шприцем из баллона через 1 ч в вакуумированные флаконы в трехкратной повторности. Содержание CO_2 измеряли на газоанализаторе с поглотителями Реберга, оттитровывая избыток гидрата окиси бария соляной кислотой. В качестве газа-носителя использовали аргон (Алекин и др., 1973).

В пробах почвы определяли содержание $\text{C}_{\text{орг}}$ методом потери при прокаливании и $\text{N}_{\text{орг}}$ по Кьельдалю, в 4-х и 2-хкратной повторности соответственно. Результаты химических анализов рассчитаны на вес сухой почвы.

Определение численности почвенных грибов производили методом почвенных разведений Ваксмана и глубинного посева почвенной суспензии на агаризованную питательную среду Чапека (Методы..., 1982) с добавлением антибиотиков, в трех повторностях. Засеянные водно-почвенной суспензией чашки Петри периодически просматривали, начиная с третьих суток. Окончательный учёт проводили через 10 сут. При этом учитывали общее число колоний, условно допуская, что каждая колония образовалась из диаспоры (одной споры или

небольшого фрагмента гифы). Рассчитывали численность диаспор, или колониеобразующих единиц (КОЕ), на 1 г воздушно-сухой почвы. Идентификацию грибов проводили до уровня рода (Литвинов, 1967).

Температура воздуха приведена по данным Гидрометобсерватории им. М. А. Рыкачева г. Рыбинска.

Статистическая обработка результатов. Данные о химическом составе почвы представлены в виде средних, а эмиссия CO_2 из почвы и численность грибов представлены в виде среднего и его ошибки (табл. 1, 2). Сумма аммонифицированного азота за вегетацию рассчитывалась по накоплению азота за отдельные сроки только с 5% уровнем значимости (табл. 5, 6). Статистические расчеты выполнены с использованием программы “Статистика 6”.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сезонная динамика численности почвенных грибов (КОЕ) различалась по годам исследования. В средний по условиям температуры и увлажнения 2020 г. значения КОЕ в почве березняка были близки в подстилке и гумусовом горизонте, а в элювиальной части профиля были на порядок меньше.

В подстилке этот показатель минимален в июле и августе, так как снижается количество прошлогодней мортмассы, используемой грибами и максимален в октябре, при поступлении опада и возрастания численности гидролитиков – подстилочных сапротрофов. В июле численность КОЕ незначительно возрастает в гумусовом горизонте, так как в него перемещаются сапротрофы из подстилки, способные использовать гумус. В сентябре значения КОЕ снова увеличиваются при довольно высокой температуре почвы, позволяющей активно развиваться микромицетам и снижаются в октябре, вероятно из-за недостаточного поступления органической массы из подстилки. В горизонте A_2 в течение вегетации численность КОЕ изменяется незначительно, с минимумом в июле (табл. 1).

За оба года исследований в горизонтах A_0 и A_2 численность грибов была отрицательно связана с содержанием аммония, с $r = (-0.72)$ и (-0.62) при $p = 0.19$ и 0.27 соответственно.

Отрицательная корреляция может указывать на интенсивную ассимиляцию органических соединений и аммония грибами (Беккер, 1988). В 2020 г. в подстилке, вероятно, температура воздуха в значительной степени определяет температуру почвы. Сезонная динамика общей численности грибов в почве хорошо коррелировала с максимальной температурой воздуха. Коэффициент корреляции между этими параметрами снижался с глубиной почвенного профиля, составляя в горизонтах A_0 , A_1 и A_2 (-0.88) , 0.83 и (-0.60) , при $p = 0.05$, 0.08 и 0.28 соответственно. Отрицательная корреляция

Таблица 1. Сезонная динамика максимальной температуры воздуха, химического состава почвы, эмиссии углекислого газа и численности углекислого газа и газа, численности мицелиальных грибов (КОЕ) в почве березняка в 2020 г.

Горизонт, параметр	Дата				
	26. V	1.VII	3.VIII	4.IX	5.X
Температура воздуха, T °C	20.6	24.1	21.4	21.6	16.8
A ₀ . C _{орг} %, N _{орг} %, NH ₄ ⁺ , мг N/100 г	27.0, 0.88, 11,0	27.0, 1.25, 10.5	24.0, 1.24, 9.8	34.0, 0.92, 3.4	25.0, 1.1, 5.1
C–CO ₂ , мг C/100г/ч	5.7 ± 0.9	6.1 ± 1	10.6 ± 1.5	6.7 ± 0.7	6.0 ± 0.8
КОЕ/г	45666 ± 4333	38666 ± 1763	37000 ± 600	48000 ± 570	62000 ± 3055
A ₁ . C _{орг} %, N _{орг} %, NH ₄ ⁺ , мг N/100 г	7.0, 0.08, 3.6	7.0, 0.10, 5.0	15.0, 0.34, 4.0	8.3, 0.33, 4.7	8.0, 0.23, 4.6
C–CO ₂ , мг C/100г/ч	3.2 ± 0.2	3.5 ± 0.3	7.7 ± 0.8	6.1 ± 0.7	6.7 ± 0.8
КОЕ/г	44333 ± 1452	47666 ± 20000	33333 ± 4666	43000 ± 2516	26333 ± 666
A ₂ . C _{орг} %, N _{орг} %, NH ₄ ⁺ , мг N/100 г	2.6, 0.05, 0.5	3.0, 0.06, 2.0	2.1, 0.05, 0.7	2.1, 0.03, 1.1	2.7, 0.016, 0.7
C–CO ₂ , мг C/100г/ч	1.3 ± 0.5	3.5 ± 0.5	3.4 ± 0.5	6.1 ± 1	3.2 ± 0.1
КОЕ/г	4200 ± 100	3366 ± 484	4500 ± 1228	4833 ± 1300	4566 ± 800

в подстилке была обусловлена увеличением значений КОЕ в октябре, при минимальной температуре. В элювиальном горизонте минимальные значения КОЕ наблюдались при максимальной температуре. Вероятно, из-за высокой численности грибов рода *Trichoderma* и снижения численности грибов рода *Penicillium* в первые два срока наблюдений (табл. 3), в эти периоды, отмечена отрицательная корреляция КОЕ пенициллов с температурой воздуха в подстилке ($r = -0.80$ при $p = 0.1$). В горизонтах A₁ и A₂, данные параметры коррелировали положительно, с $r = 0.83$ и 0.93 при $p = 0.1$ и 0.02 соответственно.

В засушливый 2021 г. в первые два срока во всех горизонтах почвы была отмечена очень высокая численность дрожжей (табл. 2), их присутствие подавляло развитие остальных грибов во всех горизонтах в мае и июне. После прекращения доминирования дрожжей, численность остальных грибов в июле увеличивается во всем профиле в 4–6 раз. Численность дрожжей хорошо коррелировала с температурой воздуха, со значениями r в горизонтах A₀, A₁ и A₂ – 0.85, 0.64 и 0.81 при $p = 0.07$, 0.24 и 0.09 соответственно. Реагируя на преобладание дрожжей, совпадающее с высокими температурами в первые два срока, численность грибов пеницилловой группы отрицательно коррелировала с температурой воздуха в горизонтах A₀ и A₂ с r (–0.96) и (–0.75) при $p = 0.07$ и 0.14 соответственно. Общая численность грибов хорошо коррелировала

между горизонтами A₀–A₁ и A₀–A₂, с $r = 0.86$ и 0.92 при $p = 0.07$ – 0.03 .

В 2020 г. сезонные изменения общей численности грибов и содержание C_{орг} и N_{орг} в почве отрицательно коррелировали в горизонте A₂, с $r = (-0.8)$ и (–0.7) при $p = 0.09$ и 0.17 соответственно. В 2021 г. значения КОЕ коррелировали в зависимости “КОЕ пенициллов – содержание аммония” значения r возрастают до (–0.83) при $p = 0.08$, что указывает на ведущую роль этой группы в иммобилизации аммония. За оба года исследований взаимосвязи между значениями КОЕ и содержанием C и N органических в почве были хорошо выражены в горизонте A₂ и в меньшей степени в подстилке, что может быть обусловлено микоризообразующими базидиомицетами, локализованными преимущественно в горизонтах A₀ и A₁ и не учитываемых в данной работе.

В 2021 г. численность дрожжей в горизонтах A₀ и A₁ положительно коррелировала с концентрациями аммония, с $r = 0.82$ и 0.77 при $p = 0.08$ и 0.15 .

Сезонная динамика численности грибов в лесных почвах изучена крайне недостаточно и представлена единичными работами с малым числом измерений за период исследования (Хабибуллина, Кузнецова, 2014).

Для почвенных сапротрофов было характерно низкое биоразнообразие. Для всех дат отбора доминантами были анаморфные грибы родов *Penicillium* и *Trichoderma*, составляющие соответственно до

100% и 20% всей микобиоты почвы (табл. 3, 4), что характерно для дерново-подзолистых почв и отмечалось ранее для данного района исследования (Еникеева, 1977). Грибы рода *Penicillium* являются основными сапротрофами-гидролитиками в подстилке и гумусовом горизонте, и взаимодействуют с минеральной частью почвы в более глубоких горизонтах (Мирчинк, 1988). Значительно меньше доля рода *Trichoderma*, быстрорастущих гидролитиков с богатым диапазоном ферментов, подстилочных сапротрофов (Chigineva *et al.*, 2011), населяющих и гумусовый горизонт (Petrovič *et al.*, 1993).

В 2020 г. подстилке в июле и августе в небольшом количестве присутствовали представители рода *Phialophora*, обладающие большим набором разнообразных ферментов (Мирчинк, 1988), и грибы рода *Taeniolella* (июль, октябрь). В августе появляются различные дрожжи, а дрожжи из рода *Torula* – в сентябре. В октябре вклад рода *Penicillium* сокращается до 70%, а доля грибов из рода *Phialophora* возрастает до 28%. В гумусовом горизонте в мае присутствует род *Gilmaniella*, в июле и августе появляются дрожжи, а также грибы из рода *Taeniolella* и *Bispora*. В сентябре и октябре до 10–24% возрастает вклад дрожжей, а доля пеницилловой группы в октябре уменьшается до 76%. В горизонте А₂ отмечается самый высокий вклад грибов из рода *Penicillium* – (80–99%). Встречаются также и представители родов *Septonema*, *Bispora*, *Phialophora*.

Вероятно, повышенная температура почвы в 2021 г. привела к значительным изменениям микобиоты в почве березняка. По сравнению с 2020 г. в 2021 г. в подстилке отсутствуют грибы рода *Taeniolella*, но появляются представители родов *Aurebasidium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*. В гумусовом горизонте перестают встречаться грибы из родов *Gilmaniella*, *Taeniolella*, *Bispora*, но появляются представители группы *Mucor*. Из микобиоты элювиальной толщи уходят грибы из родов *Septonema*, *Bispora*, *Phialophora*, *Taeniolella*, но отмечены грибы из рода *Aspergillus*. Во всех горизонтах присутствуют две группы аскомицетов со светлым и темным стерильным мицелием. Вклад светлого стерильного мицелия в общую численность грибов не превышает 10%. Темный стерильный мицелий появляется только в июле и его вклад в КОЕ достигает 33–40%, что может быть связано высокими температурами почвы (Шубин, Предтеченская, 1997). Это обстоятельство снижает доминирование пенициллов с 80–100% КОЕ в мае и июне до 34–50% КОЕ в июле (табл. 4). Вероятно, повышенная температура почвы увеличивает число родов грибов с 9 в 2020 г. до 11 в 2021 г.

В лесах Центральной Европы видовое разнообразие сапротрофных грибов в значительной степени определяется характеристиками насаждения (породным составом, возрастом, числом стволов на единицу площади и пр.). Также прослеживается положительная связь с рН почвы и содержанием

Таблица 2. Сезонная динамика максимальной температуры воздуха, химического состава почвы, численности дрожжей и мицелиальных грибов в почве березняка в 2021 г.

Горизонт, параметр	Дата				
	18.V	22.VI	25. VII	30.VIII	4. X
Температура воздуха, Т °С	31.0	33.3	23.4	19.3	10.4
А ₀ . С _{орг} %, N _{орг} %, NH ₄ ⁺ , мг N/100 г	17, 0.94, 9.4	16.5, 0.78, 8.1	21, 0.42, 5.3	23, 1.12, 7.3	22, 0.92, 4.1
Дрожжи, КОЕ/г	17066667 ± 533333	16133333 ± 66666	10	0	0
Грибы, КОЕ/ г	32000 ± 5507	23333 ± 2027	86000 ± 6000	39000 ± 2516	52000 ± 5507
А ₁ . С _{орг} %, N _{орг} %, NH ₄ ⁺ , мг N/100г	6.3, 0.19, 2.4	5.8, 0.11, 2.7	6.9, 0.15, 1.9	7.3, 0.14, 2.1	9.4, 0.18, 1.6
Дрожжи, КОЕ/г	1306667 ± 133333	16200000 ± 127580	0	0	0
Грибы, КОЕ/г	2866 ± 120	633 ± 80	4033 ± 150	1766 ± 185	1900 ± 321
А ₂ . С _{орг} %, N _{орг} %, NH ₄ ⁺ , мг N/100 г	2.8, 0.04, 0.7	2.5, 0.055, 0.4	2.6, 0.053, 0.3	2.4, 0.047, 0.7	2.5, 0.05, 0.5
Дрожжи, КОЕ/г	1200000 ± 120000	800000 ± 75000	0	0	0
Грибы, КОЕ/г	100 ± 58	800 ± 120	3066 ± 437	1400 ± 115	1966 ± 353

Таблица 3. Сезонная динамика родового состава грибов в почве березняка (% от общей численности грибов) в 2020 г.

Горизонт	Дата				
	26. V	1. VII	3. VIII	4. IX	5. X
A ₀	Penicillium 80 Trichoderma 20	Penicillium 77 Trichoderma 18 Phialophora 3 Taenionella 2	Penicillium 89 Trichoderma 8 Phialophora 1 Дрожжи 2	Penicillium 86 Trichoderma 7 Дрожжи 7	Penicillium 70 Phialophora 28 Taenionella 2
A ₁	Penicillium 88 Trichoderma 1 Gilmaniella 1 Дрожжи 10	Penicillium 95 Phialophora 2 Taenionella 1 Дрожжи 2	Penicillium 80 Дрожжи 12 Trichoderma 6 Bispora 2	Penicillium 89 Дрожжи 10 Trichoderma 1	Penicillium 76 Дрожжи 24
A ₂	Penicillium 97 Неидентифици- рованный вид 3	Penicillium 97 Septonema 3	Penicillium 93 Trichoderma 5 Bispora 2	Penicillium 80 Taenionella 10 Trichoderma 9 Phialophora 1	Penicillium 99 Phialophora 1

фосфора. Предполагается, что в данном регионе лимитирование продуктивности лесных массивов по азоту может смениться дефицитом по фосфору (Odrizola *et. al.*, 2021).

Выделяя внеклеточные ферменты, микроорганизмы обеспечивают распад сложных полифенол-белковых комплексов органического вещества почвы на N-содержащие мономеры, такие как

нуклеиновые кислоты, аминокислоты или аминоксахара. Эти относительно небольшие органические молекулы N могут быть поглощены и непосредственно включены в биомассу микроорганизмов, или дезаминированы под действием внутриклеточных ферментов с образованием NH_4^+ . Полученный NH_4^+ затем может быть включен в биосинтез микроорганизмов или высвобождается из клетки,

Таблица 4. Сезонная динамика родового состава грибов в почве березняка (% от общей численности грибов) в 2021 г.

Горизонт	Дата				
	18. V	22. VI	25. VII	30. VIII	4. X
A ₀	Penicillium 80 Mucor 7 Aurebasidium 3	Penicillium 80 Trichoderma 6 Mucor 6 Aspergillus 3 Светлый стерильный мицелий 5	Penicillium 30 Cladosporium 30 Phialophora 1 Дрожжи 2 Темный стерильный мицелий 30 Trichoderma 6 Fusarium 4	Penicillium 82 Trichoderma 12 Светлый стерильный мицелий 4 Aspergillus 2	Penicillium 88 Trichoderma 6 Светлый стерильный мицелий 4 Aspergillus 2
A ₁	Penicillium 90 Mucor 10	Penicillium 92 Trichoderma 4 Cladosporium 2 Светлый стерильный мицелий 2	Penicillium 60 Trichoderma 30 Темный стерильный мицелий 10	Penicillium 88 Trichoderma 12	Penicillium 78 Trichoderma 12 Светлый стерильный мицелий 10
A ₂	Penicillium 100	Penicillium 89 Mucor 4 Aspergillus 3 Светлый стерильный мицелий 4	Penicillium 50 Темный стерильный мицелий 40 Trichoderma 6 Aspergillus 4	Penicillium 92 Trichoderma 6 Светлый стерильный мицелий 2	Penicillium 74 Trichoderma 20 Светлый стерильный мицелий 4 Aspergillus 2

Таблица 5. Сезонная динамика накопления аммония в горизонтах почвы березняка в 2020 г. Мг N/ 100 г

Горизонт	Дата					
	29.V – 23.VI	2.VII–27. VII	5.VIII–30.VIII	7.IX –29.IX	6. X –27. X	Всего
A ₀ , контроль	6.0 ± 0.7	14.2 ± 1.2	16.2 ± 0.8	13.8 ± 0.8	1.9 ± 0.3	52 ± 2
A ₀ , циклогексимид	38.0 ± 1.7	32.0 ± 1.3	39.4 ± 2	33.1 ± 3	11.9 ± 0.7	154 ± 3.9
A ₀ , стрептомицин	19.6 ± 1.2	29.2 ± 1	50.0 ± 2	44.8 ± 2	22.4 ± 1.2	166 ± 3
A ₁ , контроль	0.3 ± 0.2	5.1 ± 0.4	4.7 ± 0.1	2.4 ± 0.3	0.8 ± 0.3	13 ± 0.6
A ₁ , циклогексимид	6.2 ± 0.4	15.7 ± 1	15.6 ± 2	11.4 ± 1.6	2.2 ± 1.7	49 ± 3
A ₁ , стрептомицин	9.2 ± 1	19.5 ± 1	23.8 ± 1.5	10 ± 1	5.5 ± 0.4	68 ± 2
A ₂ , контроль	0.4 ± 0.1	2.9 ± 0.3	1.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	5 ± 0.4
A ₂ , циклогексимид	4.4 ± 0.6	6.7 ± 1	1.0 ± 0.3	2.2 ± 0.2	4.1 ± 0.2	18 ± 1.2
A ₂ , стрептомицин	2.5 ± 0.2	6.6 ± 0.3	2.6 ± 0.2	1.4 ± 0.2	1.8 ± 0.1	15 ± 0.4

что приводит к аммонификации. Обладая экстрацеллюлярными ферментами с высокой протеиназной и протеолитической активностью, в этом процессе участвуют и грибы (Мирчинк, 1988), включая доминирующих в лесных почвах представителей родов *Penicillium* и *Trichoderma* (Павлюкова и др., 1998).

В 2020 г. в подстилке во всех вариантах эксперимента максимум накопления аммония был отмечен в августе (табл. 5). Сезонная динамика процесса коррелировала в вариантах между контролем и циклогексимидом, с $r = 0.69$ при $p = 0.19$. Грибы преобладали над бактериями по вкладу в минерализованный азот (отношение вариантов стрептомицин/циклогексимид) в последние три срока измерений. В гумусовом горизонте сезонные изменения накопления аммония были синхронны во всех 3 горизонтах. Коэффициенты корреляции между вариантами контроля и циклогексимидом, контроля и стрептомицина, а также между вариантами циклогексимидом и стрептомицина составляли 0.93, 0.91 и 0.90 соответственно, при $p = 0.02–0.03$. Наибольшее накопление было отмечено в июле и августе. Вклад грибов был выше вклада бактерий во все сроки, кроме сентября. В горизонте A₂ в контроле максимум накопления отмечен в июне. Сезонные изменения процесса коррелировали между вариантами с ингибиторами с $r = 0.74$ при $p = 0.15$. В накоплении азота грибы доминировали над бактериями только в августе.

В 2021 г. в подстилке сезонная динамика накопления аммония коррелировала в вариантах контроля и циклогексимидом, контроля и стрептомицина, а также между вариантами циклогексимидом и стрептомицина с $r = 0.78, 0.92$ и 0.79 соответственно, при $p = 0.03–0.12$. Наибольшее

количество минерализованного азота приходилось на май в контроле и с мая по июль в вариантах с ингибиторами (табл. 6). Вклад грибов был выше вклада бактерий в мае-июне и июле-августе. В контроле гумусового горизонта максимумы были получены в мае и июне. Сезонные изменения накопления аммония хорошо коррелировали только между вариантами контроля и стрептомицина, с $r = 0.99$ при $p = 0.0004$. Грибы доминировали над бактериями весь период наблюдений. В контроле элювиальной части профиля высокое накопление аммония наблюдалось первые три срока. Сезонная динамика процесса коррелировала только между вариантами контроля и стрептомицина, с $r = 0.89$ при $p = 0.04$. Вклад грибов в накопление аммония был выше вклада бактерий весь сезон, кроме октября.

Таким образом, в почвенном профиле под березняком с мая по октябрь было минерализовано 70 мг N/100 г в 2020 г и 57 мг N/100 г в 2021 г. Несмотря на различия в гидротермических показателях, в подстилке отношение суммы минерализованного азота в вариантах с антибиотиками было близко к 1 за оба года наблюдений (табл. 3, 4), что указывает на сравнимые доли участия грибов и бактерий в процессе минерализации азота. В горизонтах A₁ и A₂ соотношение вкладов грибов и бактерий в процесс минерализации азота изменялось по годам исследования. В 2020 г. в горизонте A₁ отношение минерализованного азота в варианте со стрептомицином к варианту с циклогексимидом составило 1.3, что свидетельствует о небольшом преобладании грибов над бактериями. В сухой 2021 г., с хорошей аэрацией почвенного профиля это отношение составляло 8.8, что подчеркивает несомненное доминирование грибов. В горизонте

Таблица 6. Сезонная динамика накопления аммония в горизонтах почвы березняка в 2021 г. Мг N/ 100 г

Горизонт	Дата					
	21.V – 16.VI	25.VI-19. VII	28.VII-23.VIII	1.IX –27.IX	7. X –26. X	Всего
A ₀ , контроль	14.6 ± 1.0	7.7 ± 1.2	7.4 ± 0.6	6.5 ± 0.8	0.3 ± 0.2	36 ± 1.7
A ₀ , циклогексимид	30.8 ± 2	31.0 ± 2.5	20.0 ± 1.3	30.4 ± 1.5	6.9 ± 0.7	119 ± 3.6
A ₀ , стрептомицин	33.7 ± 2	27.4 ± 1.9	29.0 ± 1.7	21.1 ± 2	4.9 ± 0.5	116 ± 3.3
A ₁ , контроль	4.7 ± 0.7	3.5 ± 0.1	2.5 ± 0.4	0.3 ± 0.2	0.1 ± 0.1	11 ± 1
A ₁ , циклогексимид	1.4 ± 0.3	0	1.4 ± 0.2	2.4 ± 0.8	0	5 ± 1
A ₁ , стрептомицин	14.6 ± 2	11.4 ± 0.7	10.2 ± 0.9	4.1 ± 0.7	4.3 ± 1	44 ± 1.8
A ₂ , контроль	3.0 ± 0.4	3.4 ± 0.8	2.9 ± 0.3	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.1	10 ± 1
A ₂ , циклогексимид	4.9 ± 1	0.6 ± 0.5	3.1 ± 0.4	0.1 ± 0.04	2.3 ± 0.2	10 ± 1.2
A ₂ , стрептомицин	6.2 ± 0.9	4.0 ± 1	4.1 ± 0.6	1.6 ± 0.2	1.0 ± 0.1	17 ± 0.4

A₂ в 2020 г. вклады грибов и бактерий были близки, а в 2021 г. вклад грибов превышал вклад бактерий в 1.5 раза.

В 2020 г. в контрольном варианте в горизонтах A₀ и A₂, где вклады грибов и бактерий были примерно одинаковыми, общая численность грибов и накопление азота связаны отрицательной связью, с $r = (-0.85) - (-0.89)$ при $p = 0.04$. Данная зависимость с отрицательным знаком прослеживается и в 2021 г. в горизонте A₂, с $r = (-0.72)$ при $p = 0.28$. Возможно, это обстоятельство связано с дефицитом азота в этих горизонтах и вероятной ассимиляцией вновь образованного аммония микобиотой в условиях конкуренции за азот со стороны бактерий. Содержание аммония в почве также отрицательно коррелировало с КОЕ грибов, как было показано выше.

В 2021 г. численность дрожжей положительно коррелировала с накоплением азота в контрольном варианте со значениями r в горизонтах A₀ и A₂ 0.77 и 0.67 при $p = 0.13$ и 0.21. В 2020 г. прослеживалась зависимость между накоплением азота в подстилке и эмиссией CO₂, с $r = 0.68$ при $p = 0.24$.

Среднесезонные значения аммонификации в этом типе леса, полученные в природе, составили в подстилке, гумусовом горизонте и элювиальной части профиля 0.63, 0.07 и 0.019 мг N/100 г/сут (Разгулин, 2022), что соизмеримо с приведенными данными лабораторного эксперимента, равными соответственно 0.43, 0.10, 0.04 мг N/100 г/сут в 2020 г. и 0.28, 0.08, 0.07 мг N/100 г/сут в 2021 г.

Во всех вариантах эксперимента внесение ингибиторов до 30 раз увеличивало аммонификацию по сравнению с контролем, что отмечалось и ранее (Boyle *et al.*, 2008; Strickland, Rousk, 2010).

Возможно, это связано с устранением конкурентной группы микроорганизмов и возникшим преимуществом в ресурсах. Наиболее реалистичным объяснением считается утилизация оставшимися в живых микроорганизмами низкомолекулярных органических соединений, высвобождаемых из клеток, убитых антибиотиками (Land *et al.*, 1993).

Полагают, что даже после добавления антибиотиков ранее существовавшие внеклеточные и внутриклеточные ферменты оставались активными даже при остановке биосинтеза микробного белка. Аммоний поступал в почву, и измерения показывали усиление аммонификации (Boyle *et al.*, 2008).

В условиях 10 сут инкубации лесной почвы (Италия) получено незначительное превышение вклада бактерий над грибами в процесс аммонификации (Land *et al.*, 1993). Исследования двух лесов дугласии (штат Орегон, США) с различным плодородием почв показало, что относительная биомасса грибов снижается с увеличением плодородия почвы и доступности азота, а вклад бактерий возрастает. Однако селективное ингибирование нетто-аммонификации подстилки на участке с плодородной почвой в один год исследования показало преобладание бактерий, а на второй год грибов. На участке с низким плодородием минерализация азота в первый год исследования была близка к нулю, а на второй год был получен близкий вклад групп микроорганизмов в этот процесс. Исследования были выполнены в мае, 1 раз в год (Boyle *et al.*, 2008).

На основе данных протеомного анализа углеводно-активных ферментов, было сделано предположение, что в цикле C и N в почве хвойного леса (Германия) участвуют преимущественно бактерии и в меньшей степени грибы (Starke *et al.*, 2021).

Таким образом, полученные данные показали частичное соответствие результатов более ранних работ выводам авторов о близком вкладе грибов и бактерий в процесс аммонификации в органических горизонтах и усилению аммонификации при внесении ингибиторов.

К ограничению ингибиторного анализа относят недостаточную селективность (не исключают действие циклогексимида на бактерии). Ингибиторы способны образовывать прочные комплексы с органическим веществом почвы, что снижает их эффективность. Длительные периоды пребывания биоцидного соединения в почве приводят к изменению микробного сообщества и позволяют развиться побочным эффектам (Land *et al.*, 1993).

В то же время, процессы разложения органического вещества почвы определяются не только взаимодействием грибов и бактерий, но и всей почвенной биотой, включая и беспозвоночных животных. Полагают, что малочисленная почвенная фауна может усиливать роль грибов, а многочисленная — роль бактерий (Strickland, Rousk, 2010), что в нашем исследовании не учитывалось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Температура воздуха, обуславливающая уровень нагревания почвы, способна регулировать сезонные изменения общей численности грибов и изменять родовую структуру микобиоты в горизонтах дерново-подзолистой почвы под березняком.

Зависимости между сезонными изменениями содержания в почве $C_{орг}$, $N_{орг}$ и общей численностью грибов носили знакопеременный характер. В почвенном профиле содержание аммония отрицательно коррелировало с общей численностью гифальных грибов.

Анализ вклада грибов и бактерий с использованием селективных ингибиторов показал, что для подстилki характерны примерно одинаковые величины вклада грибов и бактерий в минерализации соединений азота. В гумусовом горизонте в средний по температуре и увлажнению год наблюдается небольшое превышение доли грибов. В засушливый год грибы безусловно преобладают над бактериями. В элювиальной части профиля отмечены сопоставимые величины вклада этих групп, с незначительным преобладанием одной из них по годам исследования.

Ингибиторы увеличивают активность аммонификации во всех горизонтах почвы под березняком по сравнению с контролем.

Эта работа поддерживалась постоянным институциональным финансированием. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство этим конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алекин О. А., Семенов А. Д., Скопинцев Б. А. Руководство по химическому анализу вод суши. Л.: Гидрометеиздат, 1973. 270 с.
- Ананьева Н. Д., Стольникова Е. В., Сусьян Е. А., Ходжаева А. К. Грибная и бактериальная микробная биомасса (селективное ингибирование) и продуцирование CO_2 и N_2O дерново-подзолистыми почвами постагrogenных биогеоценозов // Почвоведение. 2010. № 11. С. 1387–1393.
- Ананьева Н. Д., Иващенко К. В., Стольникова Е. В., Степанов А. Л., Кудеяров В. Н. Особенности определения нетто-продуцирования N_2O почвами // Почвоведение. 2015. № 6. С. 702–714.
DOI: 10.7868/S0032180X15060027
- Беккер З. Э. Физиология и биохимия грибов. М.: Изд-во МГУ, 1988. 230 с.
- Богородская А. В., Шишикин А. С. Динамика микробной биомассы, ее структура и функциональная активность в почвах при лесовозобновлении на вырубках пихтарников Енисейского края // Почвоведение. 2020. № 1. С. 119–130.
DOI: 10.31857/S0032180X20010050
- Добровольская Т. Г., Звягинцев Д. Г., Чернов И. Ю., Голловченко А. В., Зенова Г. М., Лысак Л. В., Манучарова Н. А., Марфенина О. Е., Полянская Л. М., Степанов А. Л., Умаров М. М. Роль микроорганизмов в экологических функциях почв // Почвоведение. 2015. № 9. С. 1087–1096.
DOI: 10.7868/S0032180X15090038
- Еникеева М. Г. Влияние мелкой мелиорации на микрофлору почв в подзоне южной тайги // Лесоводственные исследования в подзоне южной тайги. М.: Наука, 1977. 146 с.
- Литвинов М. А. Определитель микроскопических почвенных грибов. Л.: “Наука”, 1967. 303 с.
- Методы экспериментальной микологии. Справочник. Киев: Наукова думка, 1982. 550 с.
- Мирчинк Т. Г. Почвенная микология. М.: Изд-во МГУ, 1988. 219 с.
- Никитин Д. А., Чернова Т. И., Железова А. Д., Тхакахова А. К., Никитина С. А., Семенова М. В., Ксенофонтова Н. А., Кутюкова О. В. Сезонная динамика биомассы микроорганизмов в дерново-подзолистой почве // Почвоведение. 2019. № 11. С. 1356–1364.
DOI: 10.1134/S0032180X19110078
- Павлюкова Е. Б., Белозерский М. А., Дунаевский Я. Е. Внеклеточные протеолитические ферменты микелиальных грибов. Обзор // Биохимия. 1998. Т. 63. С. 1059–1089.
- Полянская Л. М., Юмаков Д. Д., Тюгай З. Н., Степанов А. Л. Соотношение грибов и бактерий

- в темногомусовой лесной почве // Почвоведение. 2020. № 9. С. 1094–1099.
DOI: 10.31857/S0032180X20090129
- Разгулин С. М. Полевой метод измерения минерализации азота в лесных почвах // Почвоведение. 2009. № 11. С. 1341–1344.
- Разгулин С. М. Цикл азота в экосистемах южной тайги Европейской России. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2022. 161 с.
- Хабибуллина Ф. М., Кузнецова Е. Т. Характеристика почвенной микобиоты во вторичных лиственных лесах подзоны средней тайги (Республика Коми) // Известия Самарского научного центра Российской академии наук, 2014. Т. 16. № (3). С. 891–895.
- Шубин В. И., Предтеченская О. О. Влияние вытаптывания на плодоношение макромицетов в березняках разнотравных // Микология и фитопатология. 1997 Т. 31, вып. 3. С. 54–60.
- Bailey V. L., Smith J. L., Bolton H. Novel antibiotics as inhibitors for the selective respiratory inhibition method of measuring fungal: bacterial ratios in soil // Biology and Fertility of Soils. 2003. V. 38. P. 154–160.
DOI: 10.1007/s00374-003-0620-7
- Baskaran P., Hyvönen R., Berglund S., Clemmensen K., Ågren G., Björn D., Lindahl B., Manzoni S. Modelling the influence of ectomycorrhizal decomposition on plant nutrition and soil carbon sequestration in boreal forest ecosystems // New Phytologist. 2017. V. 213. P. 1452–1465.
DOI: 10.1111/nph.14213
- Blagodatskaya E., Dannenman M., Gashe R., Butterbach-Bahl K. Microclimate and forest management alter fungal-to-bacterial ratio and N₂O-emission during rewetting in the forest floor and mineral soil of mountainous beech forests // Biogeochemistry. 2010. V. 97. P. 55–70.
DOI: 10.1007/s 10533.009.9310.3
- de Boer W., Folman L. B., Summerbell R. C., Boddy L. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development // FEMS Microbiology Reviews. 2005. 29. P. 795–781.
DOI: 10.1016/j.femsre
- Boyle S. A., Yarwood R. R., Bottomley P. J., Myrold D. D. Bacterial and fungal contributions to soil nitrogen cycling under Douglas fir and red alder at two sites in Oregon // Soil Biology and Biochemistry. 2008. V. 40. P. 443–451.
DOI: 10.1016/j.soilbio.2007.09.007
- Castaldi S., Smith K. Effects of cycloheximide on N₂O and NO₃ production in a forest and an agricultural soil // Biology and Fertility of Soils. 1998. V. 27. P. 27–34.
DOI: org/10.1007/s003740050395
- Chigineva N. I., Aleksandrova A. V., Marhan S., Kandeler E., Tiunov A. V. The importance of mycelial connection at the soil–litter interface for nutrient translocation, enzyme activity and litter decomposition // Applied Soil Ecology. 2011. V. 51. P. 35–41.
DOI: org/10.1016/j.apsoil
- Compton J. E., Watrud L. S., Porteous L. A., DeGroot S. Response of soil microbial biomass and community composition to chronic nitrogen additions at Harvard forest // Forest Ecology and Management. 2004. V. 196. P. 143–158.
DOI: 10.1016/j.foreco.2004.03.017
- He L., Rodrigues J. L., Soudzilovskaia N., Barcelo M., Ols-son P. A., Song C., Tedersoo L., Yuan F., Yuan F., Lip-son D. A., Xu X. Global biogeography of fungal and bacterial biomass carbon in topsoil // Soil. 2020. V. 151. 108024.
DOI: 10.1016/j.soilbio.2020.108024
- Land L., Badaluco L., Pomare F. and Nanniperi P. Effectiveness of antibiotics to distinguish the contributions of fungi and bacteria to net nitrogen mineralization, nitrification and respiration // Soil Biology and Biochemistry. 1993. V. 25. P. 1771–1778.
DOI: org/10.1016/0038-0717(93)90182-B
- Lindahl B., Tunlid A. Ectomycorrhizal fungi – potential organic matter decomposers, yet not saprotrophs // New Phytologist. 2015. V. 205. P. 1443–1447.
DOI: 10.1111/nph.13201
- Llado S., Lypez-Mondejar R., Baldrian P. Forest Soil Bacteria: Diversity, Involvement in Ecosystem Processes, and Response to Global Change // Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2017. V. 81. № 2.
DOI: 10.1128/MMBR.00063-16
- Mašínová T., Yurkov A., Baldrian P. Forest soil yeasts: De-composition potential and the utilization of carbon sources // Fungal Ecology. 2018. V. 34. P. 10–19.
DOI: 10.1016/j.funeco.2018.03.005
- Morrison E. W., Frey S. D., Sadowsky J. J., van Diepen L. N. A., Thomas W. K., Pringl Chronic nitrogen additions fundamentally restructure the soil fungal community in a temperate forest // Fungal Ecology. 2016. V. 23. P. 48–57.
DOI: org/10.1016/j. funeco
- Odriozola I., Navrátilová D., Tláškalová P., Klinerová T., Červenková Z., P. Kohout P., Větrovský T., Čížková P., Stary M., Baldrian P. Predictors of soil fungal biomass and community composition in temperate mountainous forests in Central Europe // Soil Biology and Biochemistry. 2021. V. 161.
DOI: 10.1016/j.soilbio.2021.108366
- Petrovič M., Briški F., Kaštelan-Macan M. Biosorption and biodegradation of humic substances by *Trichoderma viride* // Prehrambeno-tehnology biotechnology re-views. 1993. Vol. 31. P. 145–149.
- Phillips L., Ward V., Jones M. Ectomycorrhizal fungi contribute to soil organic matter cycling in sub-boreal for-ests // The ISME Journal. 2014. V. 8. P. 699–713.
DOI: 10.1038/ismej.2013.195
- Sponseller R., Gundale M., Fitter M., Ring E., Nordin A., Nasholm T., Laudon H. Nitrogen dynamics in man-aged boreal forests: Recent advances and future re-search directions // Ambio. 2016. V. 45. P. 175–187.
DOI: 10.1007/s13280-015-0755-4
- Starke R., Mondéjar R., Human Z., Navrátilová D., Štursová M., Větrovský T., Olson H., Orton D., Callister S., Lipton M.,

- et al.*, Niche differentiation of bacteria and fungi in carbon and nitrogen cycling of different habitats in a temperate coniferous forest: A metaproteomic approach // *Soil Biology and Biochemistry*. 2021. V. 155. DOI: 10.1016/j.soilbio.2021.108170
- Strickland M. S., Rousk J.* Review Considering fungal: bacterial dominance in soils – Methods, controls, and ecosystem implications // *Soil Biology and Biochemistry*. 2010. V. 42. P. 1385–1395. DOI: org/10.1016/j.soilbio.2010.05.007
- West A., Sparling G.* Improvements to the selective respiratory inhibition technique to measure eukaryote: prokaryom ratios in soils // *Journal of Microbiological Methods*. 1986. V 5. P. 125–138.

The role of fungi and bacteria in the mineralization of nitrogen compounds in the ecosystems of the Southern Taiga of European Russia

© 2024 S. M. Razgulin^{1#}, L. V. Voronin²

¹*Institute of Forest Science Russian Academy of Science st. Sovetskaya, 21, p. Uspenskoe, Odintsovsky district of Moscow region, 143030 Russia*

²*Ushinsky Yaroslavl State Pedagogical University, 108/1 str. Respublykanskaya, 150000 Yaroslavl Russia*
#e-mail: Kriador@yandex.ru

For two years, the contribution of fungi and bacteria to the process of net ammonification in the soddy-podzolic soil of the sorrel-blueberry birch forest of the Yaroslavl region was determined using inhibitory analysis. Established, that the litter is characterized by an equal participation of fungi and bacteria in this process. In the humus horizon, a slight excess of fungi over bacteria was noted in a year of normal moisture and a clear dominance of fungi in a dry year. In the eluvial part of the profile, a close contribution of these groups was noted, with an insignificant prevalence of one of them over the years of study. The maximum air temperature is able to change the seasonal dynamics of the abundance of saprotrophic fungi in the soil and to some extent form the generic structure of the mycobiota in the horizons of the soil profile of the birch forest.

Keywords: net ammonification, saprotrophic fungi, inhibitors

РОЛЬ БИОРАЗНООБРАЗИЯ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЭКОСИСТЕМ. СООБЩЕНИЕ 1. ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ МОНИТОРИНГА ЭКОСИСТЕМ

© 2024 г. Н. А. Щипанов*[@], А. А. Калинин*

*Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН,

Ленинский проспект, 33, Москва, 119071 Россия

@E-mail: shchipa@mail.ru

Поступила в редакцию 17.07.2023 г.

После доработки 10.10.2023 г.

Принята к публикации 10.10.2023 г.

Изменение природных экосистем стало повседневной реальностью и оценка их способности обеспечивать общество продуктами и услугами (пресная вода, климат, плодородие почвы и т.д.), необходимыми для благополучия населения превращается в актуальную прикладную задачу. Все большее внимание привлекает вопрос: “изменит ли утрата биологического разнообразия функционирование локальных экосистем”. В первом сообщении мы рассматриваем основные современные подходы к мониторингу экосистем. Обсуждается выделение исторических, и новых (novel) экосистем, упругость экосистемы (resilience), пороговый эффект, теоретически обоснованное восстановление и социально-экологические компромиссы. Рассмотрены принципы индикации, требования к индикаторам, возможность и перспективы использования мелких млекопитающих в качестве индикаторов динамики локальных экосистем.

Ключевые слова: мониторинг, биоразнообразие, упругость экосистемы, новые и исторические экосистемы, индикаторы экосистемы, мелкие млекопитающие

DOI: 10.31857/S1026347024020081, EDN: WCAHZV

Существование современной жизни на Земле обеспечено локальными экосистемами в том виде, в котором они сформировались к моменту появления человека — специфического фактора их трансформации и динамики. Результатом деятельности экосистем является обеспечение “экосистемных функций”: производство первичной продукции, разложение, круговорот питательных веществ, трофические взаимодействия и т.д., и “сервисов (услуг)”, например, производство целевого сырья (древесины, пушнины и пр.), пищи, регуляцию климата, контроль вредителей и т.п. (Sekericioglu, 2010). Реализация экосистемных функций и сервисов тесно связана с биологическим разнообразием системы (см. напр. Hooper *et al.*, 2005; Mouillot *et al.*, 2011; Tilman *et al.*, 2014; Berlinguer *et al.*, 2023). Соответственно, потеря биологического разнообразия, влекущая за собой деградацию функций экосистем, реально угрожает благополучию людей (Díaz *et al.*, 2006). Изменение природных экосистем в глобальном масштабе стало повседневной реальностью (Vitousek *et al.*, 1997; Tittensor *et al.*, 2014), и актуальность вопроса: “изменит ли утрата биологического разнообразия функционирование экосистем и их способность обеспечивать

общество продуктами и услугами, необходимыми для процветания?” постоянно возрастает (Cardinale *et al.*, 2012). Как замечают Мори с соавторами, изучение биоразнообразия теперь “не просто “любпытная тематика”, а тематика “востребованная” для блага человечества” (Mori *et al.*, 2017).

Интенсивно разрабатывается теоретическая основа связи биоразнообразия и функционирования экосистем — “biodiversity-ecosystem functioning” — BEF (напр. Loreau *et al.*, 2001; Isbell *et al.*, 2015 a, b; Hautier *et al.*, 2015). Изучение различных аспектов взаимосвязи биологического разнообразия с функциональностью экосистем находится в середине своего пути, многие аспекты предсказаны в теоретических моделях, но не подкреплены эмпирическими данными. Наполнение BEF фактическими результатами — продолжающийся процесс, тем не менее, уже имеющиеся знания позволяют формировать предложения для реализации на законодательном уровне (Mori *et al.*, 2017). В апреле 2012 г. с участием 94 стран была создана межправительственная научно-политическая платформа по биоразнообразию и экосистемным услугам (IPBES; <http://www.ipbes.net/>) — независимый межправительственный орган, для “укрепления

научно-политического взаимодействия в области биоразнообразия и экосистемных услуг в целях сохранения и устойчивого использования биоразнообразия, долгосрочного благополучия человека и устойчивого развития". IPBES включает шесть взаимосвязанных элементов, составляющих социально-экологическую систему, функционирующую в различных масштабах во времени и пространстве: природа — вклад природы для людей — антропогенный вклад — институты и системы управления, другие косвенные движущие силы изменений — непосредственные движущие силы изменений — оценка качества жизни. Эмпирические исследования в рамках концепции BEF позволяют оценивать изменение экосистемных функций и сервисов, с учетом позитивных и негативных управляющих воздействий человека, и являются основой для выработки рекомендаций по менеджменту экосистем с целью оптимизации их функционирования. Основным объектом наблюдения является биоразнообразие, которое реагирует на позитивные и негативные воздействия. Управление системой основано на оценках состояния экосистемы, которое может быть осуществлено с учетом анализа ряда вопросов, занимающих в современной теории ключевое положение. На основании продуманного управления могут быть усилены позитивные и уменьшены негативные воздействия. Основой для такого управления является оценка состояния, динамики, функциональной структуры и продукции системы, на основе ее изучения в рамках общих теоретических представлений (рис. 1)

Информационные основы менеджмента экосистем

Для нашего анализа наибольший интерес на рис. 1 представляет аналитический блок, связанный с предоставлением, необходимой для успешного управления биологическим разнообразием информации. В зависимости от функции, или, лучше сказать, работы, которую выполняет экосистема, менеджмент получает разные задачи и предусматривает разные способы их реализации (Kueffer, Kaiser-Bunbury, 2014). Выполняемая работа зависит от степени измененности экосистемы. В наиболее общем виде принято говорить об "исторических" и "новых" экосистемах. Остановимся на этом подробнее.

Исторические, и новые (novel) экосистемы. Понятие "исторической" экосистемы — довольно условно. В ходе эволюции сообщества видов менялись, и существование определенного типа экосистем может быть отнесено лишь относительно небольшому периоду времени — порядка 10–15 тыс. лет; при этом, многие современные экосистемы формировались под влиянием человека (Jackson, Hobbs, 2009). Во время формирования современных экосистем, практически на всей последлениковой территории Европы сменялись резко контрастирующие



Рис. 1. Концептуальная схема связи биоразнообразия и социальных воздействий (по Mori et al., 2017 с изменениями). Синие стрелки — "вещественные", желтые — информационные связи. Зеленая стрелка — положительные, красная — отрицательные воздействия общества на биологическое разнообразие, пунктир — воздействие, ожидаемое при управлении, толщина стрелок — мощность воздействия. Функциональный блок — на зеленом, аналитический — на голубом фоне.

экосистемы; сухие степи, луга, леса (Маркова и др., 2008; Jackson, Hobbs, 2009). Заселение освобожденной ото льда территории происходило за счет вселения видов, которые в период заселения были инвазивными. В частности, на Русской Равнине население млекопитающих в разных пропорциях представлено Восточно- и Западно-палеарктическими видами. Некоторые экосистемы формировались под воздействием человека в течение тысячелетий и приобрели новые, иногда значительно отличающиеся от исходных, свойства, которые удовлетворяли запросам людей (Hobbs et al., 2009; Jackson, Hobbs, 2009; Kueffer, Kaiser-Bunbury, 2014).

Такие экосистемы предложено рассматривать как “новые” (novel) (Hobbs *et al.*, 2009). Появление новых экосистем связано с хозяйственными требованиями, которые определяли тип землепользования с целью получить максимальную продукцию целевых видов, или оптимизации условий проживания людей. Их формирование часто определялось и/или сопровождалось интродукцией чужеродных видов. В настоящее время, около трети свободной ото льда поверхности суши занято экосистемами, в большей или меньшей степени, трансформированных человеком (Hobbs *et al.*, 2013; 2014 а). Появление новых экосистем может быть связано не только с целенаправленной трансформацией и/или интродукцией чужеродных видов, но и выборочной (неслучайной) элиминацией видов (Mori *et al.*, 2015; 2017). Критика концепции “новых экосистем”, связана с неопределенностью оценки их масштаба и, соответственно, выработки стратегии управления такими системами, в результате чего “исторические” экосистемы могут выпасть из внимания исследователей и пострадать при неадекватном менеджменте (Murcia *et al.*, 2014). Вместе с тем, нельзя и просто сконцентрироваться на сохранении “исторических экосистем” (выше мы уже говорили, что это весьма неопределенное понятие), вне зависимости от нашего желания, мы вынуждены иметь дело с новыми экосистемами, как с “неудобной реальностью” — (Hobbs *et al.*, 2014 b). Анализ состояния новых экосистем не предполагает ослабления внимания к изучению и охране исторических экосистем, но рассматривает их в масштабе “ландшафта” (Hobbs *et al.*, 2014 а), например, сопряженное исследование городской территории — “новой” экосистемы, культивируемых экосистем в пригороде — “гибридных” экосистем, и леса — “исторической” экосистемы. Возникает естественный вопрос, о соотношения площадей природных и измененных систем, при котором “исторические” экосистемы потеряют устойчивость. Этот аспект проблемы связан с оценками “упругости” или “сопротивляемости” экосистемы.

Упругость экосистемы, точка перелома. Способность экосистемы поглощать шоковые воздействия и нарушения, сохраняя тот же уровень основных функций, характеризует ее упругость (Folke *et al.*, 2004; Walker *et al.*, 2004; Mori *et al.*, 2013). Упругость системы предполагает ее ответ на трех уровнях: 1) устойчивость особей к фактору достаточно высока и не вызывает реакции — ответ на индивидуальном уровне; 2) особи чувствительны к фактору, но воздействие может быть компенсировано популяционным восстановлением — ответ на популяционном уровне; 3) воздействие оказалось достаточно сильным, не может быть компенсировано на предыдущих уровнях, и приводит к изменению состояния системы — реорганизация системы (Falk, 2017; Falk *et al.*, 2019; 2022). Многие процессы в природе нелинейны,

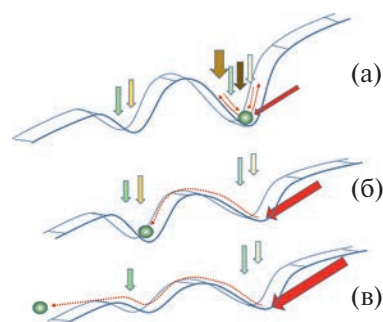


Рис. 2. Изменение положения аттрактора экосистемы при изменении биоразнообразия. Весь набор видов входящих в экосистему (цветные стрелки), т.е. ее биоразнообразие оказывают воздействие на “плоскость” среды, в результате возникает ландшафт с большими или меньшими углублениями. Это устойчивые состояния экосистемы или аттракторы (зеленый шарик). Незначительные колебания среды позволяют аттрактору длительное время находится на одном месте. После антропогенного воздействия (красная стрелка), если оно преодолело индивидуальную резистентность, аттрактор системы (шарик) получает импульс и пытается выскочить из ямки — а. Если антропогенное воздействие было достаточно сильным, чтобы произошло изменение “ландшафта” (функционального разнообразия), шарик может выскочить из ямки, преодолеть “порог” или “точку перелома” (выпуклости “ландшафта”), и, если шарик преодолевает его, система попадает в новое состояние — б, или совсем покинуть систему — в. Величину полученного импульса можно оценить по силе раскачивания шарика (тонкие красные стрелки на рис. а).

и переход экосистем в новое состояние является типичным примером нелинейности ответа (Liu *et al.* 2007). При переходе системы в новое состояние аттрактор колебаний системы изменяется, часто с пороговым эффектом, причем переход является “внезапным” и “неожиданным” (Folke *et al.*, 2004; Carpenter, Folke, 2006; Mori *et al.*, 2013). Приближение системы к пороговому состоянию — точке перелома, можно определить по увеличившейся неустойчивости, коэффициенту вариации, состояний системы (Carpenter, Brock, 2006; Mori *et al.*, 2013; Morin *et al.*, 2014; Jucker *et al.*, 2014). Используя идеи Фолке и Мори с соавторами (Folke *et al.*, 2004; Mori *et al.*, 2013) проиллюстрируем сказанное на модели шарик-ямка, которая широко используется в теоретических работах по описанию динамики экосистем (рис. 2).

Теоретически обоснованное восстановление и социально-экологические компромиссы. По мнению Кюффера и Кайзер-Банбери (Kueffer, Kaiser-Bunbury, 2014) “Роль деятельности человека в сохранении биоразнообразия в антропоцене определяется тремя измерениями: 1) степенью антропогенного изменения от “дочеловеческой” исторической (или первозданной) природы к антропогенной новой природе; 2) преднамеренным (например, характер землепользования)

и непреднамеренным (например, изменение климата) влиянием человека на экосистему, приводящим к изменению дикой или возникновению искусственно созданной природы; 3) приоритетом землепользования: поддержание биоразнообразия или производство продукции и целевых экосистемных услуг". В зависимости от приоритетной задачи и своего состояния разные типы экосистем требуют различного вмешательства человека. Если приоритетом является производство экосистемных услуг, имеющих общее экологическое и социальное значение, например, поддержание локального климата, обеспеченности местности пресной водой, влажность, поддержание традиционных промыслов и т.п., целесообразно сохранение и/или восстановление исторической экосистемы. Это предполагает минимальное вмешательство: мониторинг, охрану, и восстановление исторически свойственных системе функций (McCann, 2007; Devoto *et al.*, 2012). В новых экосистемах менеджмент зависит от ожидаемых целевых экосистемных услуг. Однако, во всех случаях, критерием успешности управления является сохранение основных экосистемных функций, оцениваемых по состоянию биоразнообразия на данной территории (Kueffer, Kaiser-Bunbury, 2014). Наконец, социально-экологический компромисс призван сбалансировать получаемые от экосистемы целевые хозяйственные услуги с поддержанием ее максимальной функциональной продуктивности. При этом, критерием оптимизации баланса между выходом целевой продукции (напр. древесины) и максимальным сохранением основных функций системы, является поддержание высокого уровня разнообразия видов (Mori, Kitagawa, 2014).

Здесь нам хотелось бы подчеркнуть, что во всех случаях, успешное управление экосистемами возможно на основе постоянного получения адекватной информации, характеризующей биоразнообразие системы. Традиционно общей характеристикой является разнообразие, оцениваемое с учетом видового богатства — числа видов, и/или их пропорциональной представленности (Hilmer *et al.*, 2018), оцениваемой различными индексами разнообразия (рис. 3а). Однако, эта информация дает лишь самое общее представление об экосистеме и не всегда связана с ее функциональной структурой и продуктивностью (Wu *et al.*, 2023). Понимание взаимосвязей и взаимодействий в экосистеме может быть значительно расширено при использовании "функциональных признаков" (Mlambo, 2014). В последнее время лавинообразно нарастает число публикаций, посвященных изучению функционального разнообразия экосистемы (Petchey, Gaston, 2006; Gross *et al.*, 2017; Weiss, Ray, 2019; Wu *et al.*, 2023), с целью оценки экосистемных услуг (Díaz *et al.*, 2006, de Bello *et al.*, 2010), функций (Reiss *et al.*, 2009), охраны и менеджмента (Vandewalle *et al.*, 2010).

В качестве характеристики функционального разнообразия рассматривают разнообразие функциональных черт, входящих в экосистему особей разных видов (рис. 3б). Функциональные черты определены, как фенотипические характеристики особей (физиологические, морфологические или поведенческие), которые позволяют им реагировать в континууме флуктуаций окружающей среды (Violle *et al.*, 2007; Weiss, Ray, 2019). Теоретически, функциональное разнообразие повышает многофункциональность и устойчивость экосистем (Lavorel, Garnier, 2002; Valencia *et al.*, 2015; Mori *et al.*, 2017; Gross *et al.*, 2017). При этом есть черты, которые отвечают за реакцию на условия среды — черты ответа (response traits), и черты, влияющие на функционирование экосистемы (effect traits) (Lavorel, Garnier, 2002). К настоящему времени накопилось достаточно эмпирических данных, которые показывают, что не все "функциональные" черты связаны с выполнением экосистемных функций. Использование необоснованно выбранных функциональных черт может давать искаженную оценку функционирования экосистемы (Wright *et al.*, 2006, Wu *et al.*, 2023). Понимание функциональных черт значимых для анализа состояния экосистемы требует обоснования и унификации (Violle *et al.*, 2007; Mlambo, 2014; Weiss, Ray, 2019). С этой точки зрения, наиболее перспективными выглядят функциональные черты, связанные с трофическими стратегиями видов, интегрирующие разнообразные взаимодействия в экосистеме (Gravel *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2023). При этом, биомасса объединенных трофической стратегией видов отражает мощность потока ресурса (Barnes *et al.*, 2016). Это дает возможность оценивать функциональную структуру экосистемы на основе ресурсных потоков (рис. 3в—д).

Индицируемое и индикаторы

С точки зрения информационного обеспечения успешного менеджмента определенную ценность имеют все оценки разнообразия, показанные на рис. 3. Так, например, имеются исследования, показывающие связь продуктивности и видового богатства (Mogin *et al.*, 2014) и зависимость стабильности продуктивности от видового богатства (Jucker *et al.*, 2014); на основе оценок видового разнообразия анализируют сходство и различия сообществ (Литвинов, 2001), сукцессионные изменения (Hilmer *et al.*, 2018). Однако, хотя оценки общего разнообразия видов, в целом, коррелируют с продуктивностью и устойчивостью экосистем, они могут давать искаженное представление о ее функциях (Wu *et al.*, 2023). Более адекватными являются оценки, основанные на изучении потоков ресурсов (напр. VanBuren, Jarzyna, 2022). Потоки трофических ресурсов позволяют существовать

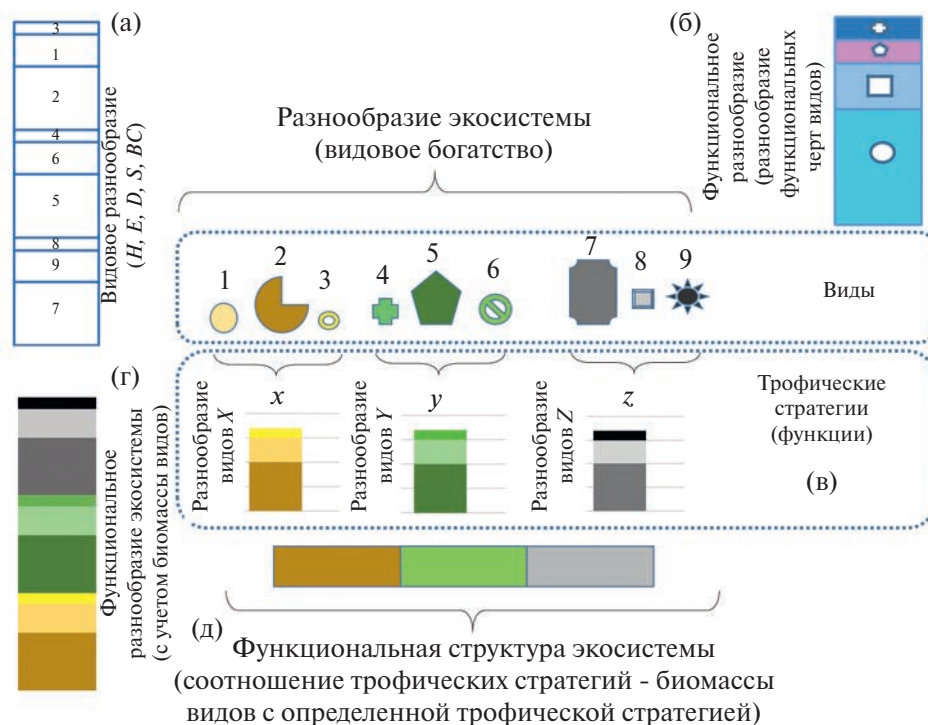


Рис. 3. Оценки биоразнообразия. Видовое богатство оценивают, как число видов 1–9, без учета их количественной оценки. Биоразнообразие системы (а) оценивают с учетом соотношения обилия видов в выборке, обычно индексами Шеннона – H , Пиелу – E и, реже, индексом Симпсона – D , сравнение выборок проводят с использованием индексов сходства Сёрсенсена (Sørensen) – S , и/или, с учетом количественного соотношения, – индексом несходства Брея-Кёртиса – BC . На основании различных функциональных черт особей можно оценить функциональное разнообразие системы (б), при этом функциональные черты особи не обязательно связаны с потоком ресурсов, что может приводить к искажениям в оценке экосистемных функций (Wu et al., 2023). Зная биомассу вида на единице площади можно рассчитать разнообразие потоков ресурса в трофических группах x , y , z (в). Соотношение мощности потоков ресурса у видов с разными трофическими стратегиями характеризует функциональное разнообразие экосистемы (г) и ее фундаментальную функциональную структуру (д).

особям в определенном количестве и так, или иначе, определяют биомассу использующих этот поток видов (Barnes et al., 2016). Таким образом, биомасса животных с определенной трофикой, зависит от потока ресурса, а, соответственно, изменения в структуре потоков, характеризуют и изменения в функциональном разнообразии экосистемы (Vandewalle et al., 2010; Wilman et al., 2014; Suárez-Castro et al., 2022).

Разумеется, исчерпывающая оценка всеобъемлющего разнообразия экосистемы практически невозможна, и многие процессы и изменения оценивают с помощью “индикаторов” – видов или набора видов (Kelly, Harwell, 1990; Buckley, 2003). Обычно анализируют 1) виды/состав; идентичность и разнообразие элементов, включая списки видов и меры видового разнообразия; 2) структура; физиогномика растительности, измеренная в пределах изменчивости в масштабе экосистемы и в ландшафтном масштабе; и 3) функция; экологические и эволюционные процессы, включая поток генов, нарушения и круговорот питательных веществ (Gao et al., 2015). Использование

вида/видов в качестве индикаторов предполагает, что 1) присутствие вида индикатора и его показатели могут отражать состояние других видов/таксонов в сообществе; и 2) наличие и колебания обилия индикатора могут отражать химические/физические изменения в окружающей среде (Simberloff, 1997). При этом, для получения адекватных оценок на основе использования индикаторов (и отдельных видов, и метрик видового разнообразия) необходимо иметь ясные представления о связи индикатора с индицируемым объектом/явлением (Gao et al., 2015).

На основании всего изложенного выше, попробуем сформулировать основные требования к индикаторам, пригодным для оценки функциональных характеристик экосистемы. 1) Связь индикаторов с определенным трофическим потоком/потоками должна быть хорошо известна и легко интерпретируема. 2) Индикаторы должны быть чувствительны к изменению величины потока ресурса. 3) Пространственный масштаб реакции индикатора должен соответствовать масштабу индицируемой системы.

Чаще всего в качестве индикаторов используются сосудистые растения, мхи, лишайники, различные группы беспозвоночных, относительно реже используются птицы и млекопитающие (Gao *et al.*, 2015). Вместе с тем, нельзя не заметить, что растительные индикаторы имеют довольно сильную инерцию, и их реакция на значимые изменения в экосистеме запаздывает. Разнообразие беспозвоночных очень велико, а мультифункциональность видов может искажать представления о функциональном разнообразии экосистемы. Например, функциональное разнообразие снижается при увеличении разнообразия потребителей за счет повышенной нелинейности трофических взаимодействий (Wu *et al.*, 2023). Использование беспозвоночных и растений в качестве индикаторов следует рассматривать с осторожностью, поскольку они в основном реагируют на локальные изменения среды и могут оказаться неадекватными индикаторами для организмов, которые реагируют на широкомасштабные возмущения (Carignan, Villard, 2002). С этой точки зрения более привлекательными выглядят птицы и млекопитающие.

Птицы более доступны для наблюдения и чаще используются как индикаторы (Steele *et al.*, 1984; Egwumah *et al.*, 2017). От себя заметим, что птицы способны быстро и широко перемещаться. С одной стороны, это повышает их чувствительность как индикатора, но с другой может приводить к искажениям оценки за счет возникновения временных концентраций, связанных с эпизодическим появлением ресурсного потока. Кроме того, популяции птиц, как правило, связаны с пространствами, превышающими масштабы индицируемого сообщества. Однако, эти недостатки становятся достоинствами, когда речь идет об интегрированной оценке изменений в большем масштабе, например, индикации загрязнений (Egwumah *et al.*, 2017).

Мелкие млекопитающие требуют больших усилий для получения первичных данных (Steele *et al.*, 1984). Тем не менее, нам представляется, что это одни из перспективных животных, роль которых, как индикаторов состояния экосистем, остается недооцененной.

Мелкие млекопитающие, как правило, обильны и, уже поэтому, играют существенную роль в различных экосистемах (Hayward, Phillipson, 1979; Barrett, Peles, 1999; Overmars *et al.*, 2014; Gao *et al.*, 2015; Torre *et al.*, 2016, 2023). Благодаря небольшим размерам, и относительно высокому метаболизму, эти животные чувствительны к различным факторам среды: температуре и влажности, обеспеченности кормами, наличию убежищ, характеру почвенного покрова и т.п., т.е. к тому, что мы рассматриваем, как основные характеристики местообитания (Bourlière, 1975; Merritt, 2010; Hilmers *et al.*, 2018). Мелкие млекопитающие характеризуются коротким жизненным циклом:

небольшой продолжительностью жизни, быстрым созреванием и высокими темпами размножения (Fleming, 1979). Все это делает их перспективной индикационной группой для мониторинга экосистем (Pearce, Venier, 2005). Различные виды и группы видов адаптированы к использованию определенного типа пищевых ресурсов, эти адаптации часто выражены морфологически (Башенина, 1977; Зайцев, 2005). Компромиссы между биоэнергетическими потребностями, возможностями локомоции и свойствами среды определяют сравнительно небольшие размеры домашних участков (home range) — обычно менее 0.2 га (McNab, 1963; Кряжмский, 1992). Показана связь функционального разнообразия млекопитающих с эффективностью освоения энергетического потока (Кряжмский, Большаков, 2008). Обилие мелких млекопитающих, опосредованное такими функциональными чертами, как рост, воспроизводство и выживание, связано с гетерогенностью ландшафта (Panicić *et al.*, 2022). Долгосрочные наблюдения позволяют обнаружить нелинейные процессы — “внезапное неожиданное изменение системы”. Так, например, при трансформации пастбищной экосистемы в Калмыкии обнаружен резкий перелом в ее функционировании, который проявился с задержкой, после изменения растительности; в соответствии с предсказаниями теории “вязкости” экосистемы было отмечено увеличение коэффициента вариации перед точкой перелома и показано смещение аттрактора популяционной траектории (Tchabovsky *et al.*, 2016). Наконец, нельзя не обратить внимание на прямое, хозяйственное значение мелких млекопитающих. В зависимости от численности эти животные могут представлять жизненно-важный элемент экосистемы, или являться вредоносными видами (Шилова, 1993; Sieg, 1987; Singleton, *et al.*, 1999; Shchipanov, 2019).

Работа выполнена в рамках государственного задания № AAAA-A18-118042490060-1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Башенина Н. В. Пути адаптации мышевидных грызунов. М.: Наука, 1977. 355 с.
- Зайцев М. В. Эколого-морфологические особенности функционирования жевательного аппарата землероек // Эволюционные факторы формирования разнообразия животного мира. М.: КМК, 2005. С. 135–145.
- Кряжмский Ф. В. Участки обитания животных и регуляция энергетического баланса // Экология. 1992. № 4. С. 55–66.
- Кряжмский Ф. В., Большаков В. Н. Функционально-экологическая роль биологического разнообразия в популяциях и сообществах // Экология. 2008. № 6. С. 403–410.

- Литвинов Ю. Н. Сообщества и популяции мелких млекопитающих в экосистемах Сибири. Новосибирск: ЦЭРИС, 2001. 128 с.
- Маркова А. К., ван Кольфсхотен Т., Бохнке Ш., Косинцев П. А., Мол И., Пузаченко А. Ю., Симакова А. Н., Смирнов Н. Г., Верпоорте А., Головачев И. Б. Эволюция экосистем Европы при переходе от плейстоцена к голоцену (24–8 тыс. л. н.). Москва: КМК, 2008. 556 с.
- Шилова С. А. Популяционная экология как основа контроля численности мелких млекопитающих. М.: Наука, 1993. 201 с.
- Barnes A. D., Weigelt P., Jochum M., Ott D., Hodapp D., Haneda N. F., Brose U. Species richness and biomass explain spatial turnover in ecosystem functioning across tropical and temperate ecosystems // *Philos. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci.* 2016. V. 371. № 1694. P. 20150279.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0279>
- Barrett G. W., Peles J. D. Small mammal ecology: a landscape perspective // *Landscape ecology of small mammals* / Eds Barrett G. W., Peles J. D. N.Y.: Springer, 1999. P. 1–8.
- Berlinches de Gea A., Hautier Y., Geisen S. Interactive effects of global change drivers as determinants of the link between soil biodiversity and ecosystem functioning // *Glob. Change Biol.* 2023. V. 29. № 2. P. 296–307.
[doi: 10.1111/gcb.16471](https://doi.org/10.1111/gcb.16471)
- Bourlière F. Mammals, small and large: the ecological implications of size // *Small mammals: their productivity and population dynamics* / Eds Golley F. B., Petrusewicz K., Ryszkowski L. N.Y.: Cambridge University Press, 1975. P. 1–8
- Buckley R. Ecological indicators of tourist impacts in parks // *J. of Ecotourism.* 2003. V. 2. № 1. P. 54–66.
<https://doi.org/10.1080/14724040308668133>
- Cardinale B. J., Duffy J. E., Gonzalez A., Hooper D. U., Perrings C., Venail P., Narwani A., Mace G. M., Tilman D., Wardle D. A., Kinzig A. P., Daily G. C., Loreau M., Grace J. B., Larigauderie A., Srivastava D. Naeem S. Biodiversity loss and its impact on humanity // *Nature.* 2012. V. 486. № 7401. P. 59–67.
[doi: 10.1038/nature11148](https://doi.org/10.1038/nature11148)
- Carignan V., Villard M. Selecting indicator species to monitor ecological integrity: a review // *Environ. Monitoring and Assessment.* 2002. V. 78. № 1. P. 45–61. [doi: 10.1023/A:1016136723584](https://doi.org/10.1023/A:1016136723584)
- Carpenter S. R., Brock W. A. Rising variance: a leading indicator of ecological transition // *Ecol. Lett.* 2006. V. 9. P. 311–318.
[doi: 10.1111/j.1461-0248.2005.00877.x](https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00877.x)
- Carpenter S. R., Folke C. Ecology for transformation // *Trends Ecol. Evol.* 2006. V. 21. P. 309–315.
[doi: 10.1016/j.tree.2006.02.007](https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.02.007)
- de Bello F., Lavelle S., Di'az S., Harrington R., Bardgett R. D., Berg M. P., Cipriotti P., Cornelissen J. H. C., Feld C. K., Hering D., Martins da Silva P., Potts S. G., Sandin L., Sousa J. P., Storkey J., Wardle D. A., Harrison P. A. Towards an assessment of multiple ecosystem processes and services via functional traits // *Biodivers. Conserv.* 2010. V. 19. P. 2873–2893.
[doi: 10.1007/s10531-010-9850-9](https://doi.org/10.1007/s10531-010-9850-9)
- Devoto M., Bailey S., Craze P., Memmott J. Understanding and planning ecological restoration of plant–pollinator networks // *Ecol. Lett.* 2012. V. 15. № 4. P. 319–328.
[doi: 10.1111/j.1461-0248.2012.01740.x](https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2012.01740.x)
- Díaz S., Fargione J., Chapin III F. S., Tilman D. Biodiversity loss threatens human well-being // *PLoS Biol.* 2006. V. 4. № 8. P. e277 [doi: 10.1371](https://doi.org/10.1371)
- Egwumah F. A., Egwumah P. O., Edet D. I. Paramount roles of wild birds as bioindicators of contamination // *J. Avian & Wildlife Biol.* 2017. V. 2. № 1. P. 194–200.
[doi: 10.15406/ijawb.2017.02.00041](https://doi.org/10.15406/ijawb.2017.02.00041)
- Falk D. A. Restoration ecology, resilience, and the axes of change I // *Ann. Missouri Bot. Gard.* 2017. V. 102. № 2. P. 201–216.
[doi: 10.3417/2017006](https://doi.org/10.3417/2017006)
- Falk D. A., van Mantgem P. J., Keeley J. E., Gregg R. M., Guiterman C. H., Tepley A. J., Young D. J. N., Marshall L. A. Mechanisms of forest resilience // *For. Ecol. Manag.* 2022. V. 512. P. 120–129.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2022.120129>
- Falk D. A., Watts A. C., Thode A. E. Scaling ecological resilience // *Front. Ecol. Evol.* 2019. P. 275.
<https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00275>
- Fleming T. H. Life-history strategies // *Ecology of small mammals* / Ed. Stoddart. Dordrecht: Springer Netherlands, 1979. P. 1–61.
- Folke C., Carpenter S., Walker B., Scheffer M., Elmqvist T., Gunderson L., Holling C. S. Regime shifts, resilience, and biodiversity in ecosystem management // *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 2004. V. 35. P. 557–581.
[doi: 10.1146/annurev.ecolsys.35.021103.105711](https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.35.021103.105711)
- Gao T., Nielsen A. B., Hedblom M. Reviewing the strength of evidence of biodiversity indicators for forest ecosystems in Europe // *Ecol. Ind.* 2015. V. 57. P. 420–434.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.05.028>
- Gravel D., Albouy C., Thuiller W. The meaning of functional trait composition of food webs for ecosystem functioning // *Philos. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci.* 2016. V. 371. № 1694. P. 20150268.
[doi: 10.1098/rstb.2015.0268](https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0268)
- Gross N., Bagousse-Pinguet Y. L., Liancourt P., Berdugo M., Gotelli N. J., Maestre F. T. Functional trait diversity maximizes ecosystem multifunctionality // *Nat. Ecol. Evol.* 2017. V. 1. № 5. P. 0132.
[doi: 10.1038/s41559-017-0132](https://doi.org/10.1038/s41559-017-0132)
- Hautier Y., Tilman D., Isbell F., Seabloom E. W., Borger E. T., Reich P. B. Anthropogenic environmental changes affect ecosystem stability via biodiversity // *Science.* 2015. V. 348. P. 336–340.
[doi: 10.1126/science.aaa1788](https://doi.org/10.1126/science.aaa1788)
- Hayward G. F., Phillipson J. Community structure and functional role of small mammals in ecosystems // *Ecology of small mammals* / Eds

- Stoddart D. M. London: Chapman and Hall, 1979. P. 135–211.
- Hilmers T., Friess N., Bässler C., Heurich M., Brandl R., Pretzsch H., Müller J. Biodiversity along temperate forest succession // *J. App. Ecol.* 2018. V. 55. № 6. P. 2756–2766.
doi: 10.1111/1365-2664.13238
- Hobbs R. J., Higgs E., Hall C. M., Bridgewater P., Chapin III F. S., Ellis E. C., Ewe J. J., Hallett L. M., Harris J., Hulvey K. B., Jackson S. T., Kennedy P. L., Kueffer C., Lach L., Lantz T. C., Lugo A. E., Mascaro J., Murphy S. D., Nelson C. R., Perring M. P., Richardson D. M., Seastedt T. R., Standish R. J., Starzomski B. M., Suding K. N., Tognetti P. M., Yakob L., Yung L. Managing the whole landscape: historical, hybrid, and novel ecosystems // *Front. Ecol. Environ.* 2014 a. V. 12. № 10. P. 557–564.
doi:10.1890/130300
- Hobbs R. J., Higgs E. S., Hall C. (eds.). Novel ecosystems: intervening in the new ecological world order. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2013. 368 p.
- Hobbs R. J., Higgs E. S., Harris J. A. Novel ecosystems: concept or inconvenient reality? A response to Murcia et al // *Trends Ecol. Evol.* 2014 b. V. 29. № 12. P. 645–646.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.09.006>
- Hobbs R. J., Higgs E. S., Harris J. A. Novel ecosystems: implications for conservation and restoration // *Trends Ecol. Evol.* 2009. V. 24. № 11. P. 599–605.
doi: 10.1016/j.tree.2009.05.012 A
- Hooper D. U., Chapin III F. S., Ewel J. J., Hector A., Inchausti P., Lavorel S., Lawton J. H., Lodge D. M., Loreau M., Naeem S., Schmid B., Setälä H., Symstad A. J., Vandermeer J., Wardle D. A. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge // *Ecol. Monogr.* 2005. V. 75. № 1. P. 3–35.
<https://doi.org/10.1890/04-0922>
- Isbell F., Craven D., Connolly J., Loreau M., Schmid B., Beierkuhnlein C., Pascal A. N., Eisenhauer N. Biodiversity increases the resistance of ecosystem productivity to climate extremes // *Nature.* 2015 a. V. 526. P. 574–577.
<https://doi.org/10.1038/nature15374>
- Isbell F., Tilman D., Polasky S., Loreau M. The biodiversity dependent ecosystem service debt // *Ecol. Lett.* 2015 b. V. 18. P. 119–134.
doi: 10.1111/ele.12393
- Jackson S. T., Hobbs R. J. Ecological restoration in the light of ecological history // *Science.* 2009. V. 325. № 5940. P. 567–569.
doi: 10.1126/science.1172977
- Jucker T., Bouriaud O., Avacaritei D., Coomes D. A. Stabilizing effects of diversity on aboveground wood production in forest ecosystems: linking patterns and processes // *Ecol. Lett.* 2014. V. 17. P. 1560–1569.
<https://doi.org/10.1111/ele.12382>
- Kelly J. R., Harwell M. A. Indicators of ecosystem recovery // *Environ. Manage.* 1990. V. 14. P. 527–545.
- Kueffer C., Kaiser-Bunbury C. N. Reconciling conflicting perspectives for biodiversity conservation in the Anthropocene // *Front. Ecol. Environ.* 2014. V. 12. № 2. P. 131–137.
doi:10.1890/120201
- Lavorel S., Garnier É. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail // *Functional ecology.* 2002. V. 16. № 5. P. 545–556.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.2002.00664>
- Liu J., Dietz T., Carpenter S. R., Alberti M., Folke C., Moran E., Pell A. N., Deadman P., Kratz T., Lubchenco J., Ostrom E., Ouyang Z., Provencher W., Redman C. L., Schneider S. H., Taylor W. W. Complexity of coupled human and natural systems // *Science.* 2007. V. 317. № 5844. P. 1513–1516.
doi: 10.1126/science.1144004
- Loreau M., Naeem S., Inchausti P., Bengtsson J., Grime J. P., Hector A., Hooper D. U., Huston M. A., Raffaelli D., Schmid B., Tilman D., Wardle D. A. Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges // *Science.* 2001. V. 294. № 5543. P. 804–808.
doi: 10.1126/science.1064088
- McCann K. Protecting biostructure // *Nature.* 2007. V. 446, 29.
- McNab B. K. Bioenergetics and the determination of home range size // *The Am. Nat.* 1963. V. 97. № 894. P. 133–140.
- Merritt J. F. The biology of small mammals. JHU Press, 2010. 313 p.
- Mlambo M. C. Not all traits are ‘functional’: insights from taxonomy and biodiversity-ecosystem functioning research // *Biodivers. Conserv.* 2014. V. 23. P. 781–790.
Doi: 10.1007/s10531-014-0618-5
- Mori A. S., Kitagawa R. Retention forestry as a major paradigm for safeguarding forest biodiversity in productive landscapes: a global meta-analysis // *Biol. Conserv.* 2014. V. 175. P. 65–73.
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.04.016>
- Mori A. S., Furukawa T., Sasaki T. Response diversity determines the resilience of ecosystems to environmental change // *Biol. Rev.* 2013. V. 88. № 2. P. 349–364.
doi: 10.1111/brv.12004
- Mori A. S., Lertzman K. P., Gustafsson L. Biodiversity and ecosystem services in forest ecosystems: a research agenda for applied forest ecology // *J. App. Ecol.* 2017. V. 54. № 1. P. 12–27.
doi: 10.1111/1365-2664.12669
- Mori A. S., Shiono T., Haraguchi T. F., Ota A. T., Koide D., Ohgue T., Kitagawa R., Maeshiro R., Aung T. T., Nakamori T., Hagiwara Y., Matsuoka S., Ikeda A., Hishi T., Hobara S., Mizumachi E., Frisch A., Thor G., Fujii S., Osono T., Gustafsson L. Functional redundancy of multiple forest taxa along an elevational gradient: predicting the consequences of non-random species loss // *J. Biogeogr.* 2015. V. 42. P. 1383–1396.
<https://doi.org/10.1111/jbi.12514>

- Morin X., Fahse L., de Mazancourt C., Scherer-Lorenzen M., Bugmann H. Temporal stability in forest productivity increases with tree diversity due to asynchrony in species dynamics // *Ecol. Lett.* 2014. V. 17. P. 1526–1535.
doi: 10.1111/ele.12357
- Mouillot D., Villéger S., Scherer-Lorenzen M., Mason N. W. Functional structure of biological communities predicts ecosystem multifunctionality // *PloS one*. 2011. V. 6. № 3. P. e17476.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017476>
- Murcia C., Aronson J., Kattan G. H., Moreno-Mateos D., Dixon K., Simberloff D. A critique of the ‘novel ecosystem’ concept // *Trends Ecol. Evol.* 2014. V. 29. № 10. P. 548–553.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.07.006>
- Overmars K. P., Schulp C. J., Alkemade R., Verburg P. H., Temme A. J., Omtzigt N., Schaminée J. H. Developing a methodology for a species-based and spatially explicit indicator for biodiversity on agricultural land in the EU // *Ecol. Indic.* 2014. V. 37. P. 186–198.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.11.006>
- Paniccia C., Carranza M. L., Frate L., Di Febbraro M., Rocchini D., Loy A. Distribution and functional traits of small mammals across the Mediterranean area: landscape composition and structure definitively matter // *Ecol. Indic.* 2022. V. 135. P. 108–550.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.108550>
- Pearce J., Venier L. Small mammals as bioindicators of sustainable boreal forest management // *For. Ecol. Manag.* 2005. V. 208. № 1–3. P. 153–175.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.11.024>
- Petchey O. L., Gaston K. J. Functional diversity: back to basics and looking forward // *Ecol. Lett.* 2006. V. 9. № 6. P. 741–758.
doi: 10.1111/j.1461-0248.2006.00924.x
- Reiss J., Bridle J. R., Montoya J. M., Woodward G. Emerging horizons in biodiversity and ecosystem functioning research // *Trends Ecol. Evol.* 2009. V. 24. P. 505–514.
doi: 10.1016/j.tree.2009.03.018
- Sekercioglu C. H. Ecosystem functions and services // *Conservation biology for all*. 2010. P. 45–72.
- Shchipanov N. A. Population resilience of small mammals. Why it is important and what it depends // *Povolzh. J. Ecol.* 2019. № 4. P. 503–523.
<https://doi.org/10.35885/1684-7318-2019-4-503-523>
- Sieg C. H. Small mammals: pests or vital components of the ecosystem // *Great plains wildlife damage control workshop proceedings*. 1987. V. 9 7., P. 88–92.
- Simberloff D. Flagships, umbrellas, and keystones: is single-species management passe in the landscape era? // *Biol. Conserv.* 1997. V. 83. № 3. P. 247–257.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(97\)00081-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(97)00081-5)
- Singleton G. R., Leirs H., Hinds L. A., Zhang Z. Ecologically-based management of rodent pests—re-evaluating our approach to an old problem // *Ecologically-based Management of Rodent Pests*. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR). Canberra. 1999. V. 31. P. 17–29.
- Steele B. B., Bayn Jr R. L., Grant C. V. Environmental monitoring using populations of birds and small mammals: analyses of sampling effort // *Biol. Conserv.* 1984. V. 30. № 2. P. 157–172.
[https://doi.org/10.1016/0006-3207\(84\)90064-8](https://doi.org/10.1016/0006-3207(84)90064-8)
- Suárez-Castro A. F., Raymundo M., Bimler M., Mayfield M. M. Using multi-scale spatially explicit frameworks to understand the relationship between functional diversity and species richness // *Ecography*. 2022. № 6. P. e05844.
<https://doi.org/10.1111/ecog.05844>
- Tchabovsky A. V., Savinetskaya L. E., Surkova E. N., Ovchinnikova N. L., Kshnyasev I. A. Delayed threshold response of a rodent population to human-induced landscape change // *Oecologia*. 2016. V. 182. P. 1075–1082.
<https://doi.org/10.1007/s00442-016-3736-9>
- Tilman D., Isbell F., Cowles J. M. Biodiversity and ecosystem functioning // *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 2014. V. 45. P. 471–493.
<https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-120213-091917>
- Tittensor D. P., Walpole M., Hill S. L., Boyce D. G., Britten G. L., Burgess N. D., Butchart S. H. M., Leadley P. W., Regan E. C., Alkemade R., Baumung R., Bellard C., Bouwman L., Bowles-Newark N. J., Chenery A. M., Cheung W. W. L., Christensen V., Cooper H. D., Crowther A. R., Dixon M. J. R., Galli A., Gaveau V., Gregory R. D., Gutierrez N. L., Hirsch T. L., Höft R., Januchowski-Hartley S. R., Karmann M., Krug C. B., Leverington F. J., Loh J., Lojenga R. K., Malsch K., Marques A., Morgan D. H. W., Mumby P. J., Newbold T., Noonan-Mooney K., Pagad S. N., Parks B. C., Pereira H. M., Robertson T., Rondinini C., Santini L., Scharlemann J. P. W., Schindler S., Sumaila U. R., Teh L. S. L., van Kolck J., Visconti P., Ye Y. A mid-term analysis of progress toward international biodiversity targets // *Science*. 2014. V. 346. № 6206. P. 241–244.
doi: 10.1126/science.1257484
- Torre I., Freixas L., Arrizabalaga A., Díaz M. The efficiency of two widely used commercial live-traps to develop monitoring protocols for small mammal biodiversity // *Ecol. Indic.* 2016. V. 66. P. 481–487.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.02.017>
- Torre I., Ribas A., Puig-Gironès R. Effects of Post-Fire Management on a Mediterranean Small Mammal Community // *Fire*. 2023. V. 6. № 1. P. 34.
<https://doi.org/10.3390/fire6010034>
- Valencia E., Maestre F. T., Le Bagousse-Pinguet Y., Quero J. L., Tamme R., Börger L., Garcia-Gomez M., Gross N. Functional diversity enhances the resistance of ecosystem multifunctionality to aridity in Mediterranean drylands // *New Phytologist*. 2015. V. 206. № 2. P. 660–671.
<https://doi.org/10.1111/nph.13268>
- VanBuren C. S., Jarzyna M. A. Trends in functional composition of small mammal communities across millennial time scales // *Ecography*. 2022. № 7. P. e06096.
<https://doi.org/10.1111/ecog.06096>

- Vandewalle M., De Bello F., Berg M. P., Bolger T., Dolédec S., Dubs F., Feld C. K., Harrington R., Harrison P. A., Lavorel S., da Silva P. M., Moretti M., Niemelä J., Santos P., Sattler T., Sousa J. P., Sykes M. T., Vanbergen A. J., Woodcock B. A. Functional traits as indicators of biodiversity response to land use changes across ecosystems and organisms // *Biol. Conserv.* 2010. V. 19. № 10. P. 2921–2947. <https://doi.org/10.1007/s10531-010-9798-9>
- Violle C., Navas M. L., Vile D., Kazakou E., Fortunel C., Hummel I., Garnier E. Let the concept of trait be functional! // *Oikos*. 2007 V. 116. P. 882–892
- Vitousek P. M., Mooney H. A., Lubchenco J., Melillo J. M. Human domination of Earth's ecosystems // *Science*. 1997. V. 277. № 5325. P. 494–499. doi: 10.1126/science.277.5325.494
- Walker B., Holling C. S., Carpenter S. R., Kinzig A. Resilience, adaptability and transformability in social–ecological systems // *Ecol. Societ.* 2004. V. 9. № 2. <http://www.jstor.org/stable/26267673>
- Weiss K. C., Ray C. A. Unifying functional trait approaches to understand the assemblage of ecological communities: synthesizing taxonomic divides // *Ecography*. 2019. V. 42. № 12. P. 2012–2020. <https://doi.org/10.1111/ecog.04387>
- Wilman H., Belmaker J., Simpson J., de la Rosa C., Rivadeneira M. M., Jetz W. EltonTraits 1.0: Species-level foraging attributes of the world's birds and mammals: Ecological Archives E095–178 // *Ecology*. 2014. V. 95. № 7. P. 2027–2027. <https://doi.org/10.1890/13-1917.1>
- Wright J. P., Naeem S., Hector A., Lehman C., Reich P. B., Schmid B., Tilman D. Conventional functional classification schemes underestimate the relationship with ecosystem functioning // *Ecol. Lett.* 2006. V. 9. P. 111–120. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00850.x>
- Wu D., Xu C., Wang S., Zhang L., Kortsch S. Why are biodiversity – ecosystem functioning relationships so elusive? Trophic interactions may amplify ecosystem function variability // *J. Anim. Ecol.* 2023. V. 92. № 2. P. 367–376. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13808>

The role of biodiversity in the functioning of ecosystems. Message1. General principles of ecosystems monitoring

© 2024 N. A. Shchipanov[#], A. A. Kalinin

A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Leninsky Prospekt, 33, Moscow, 119071 Russia

[#]*Email: shchipo@mail.ru*

Ecosystem change is the everyday reality and assessment of its ability to provide men with ecosystem products and services (fresh water, climate, soil fertility, etc.), which are necessary for humans' welfare is an urgent applied issue. The question “if changes in the loss of biological diversity affect the functioning of local ecosystems” is attracting increasing attention. In the first communication, we consider modern approaches to ecosystem monitoring. The concept of historical and novel ecosystems, ecosystem resilience, threshold effects, theory-driven restoration, and social-ecological considerations are reviewed. The principles of indication, requirements for indicators, possibilities and perspectives for the use of small mammals as indicators of the dynamics of local ecosystems are considered.

Key words: monitoring, biodiversity, ecosystem resilience, historical and novel ecosystems, ecosystem indicators, small mammals

РОЛЬ БИОРАЗНООБРАЗИЯ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЭКОСИСТЕМ. СООБЩЕНИЕ 2. МЕЛКИЕ МЛЕКОПИТАЮЩИЕ В СИСТЕМЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА: ПОЛУЧЕНИЕ ДАННЫХ, ОЦЕНКА РАЗНООБРАЗИЯ, СОСТОЯНИЯ И ДИНАМИКИ ЭКОСИСТЕМ

© 2024 г. Н. А. Щипанов*@, А. А. Калинин*

*Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН,
Ленинский проспект, 33, Москва, 119071 Россия
@E-mail: shchipa@mail.ru

Поступила в редакцию 17.07.2023 г.
После доработки 10.10.2023 г.
Принята к публикации 10.10.2023 г.

Мы рассматриваем возможность анализа общего и функционального разнообразия экосистемы, а также однозначной интерпретации полученных результатов на основе опыта своей работы и ранее полученных данных. Оцениваются перспективы использования учетов мелких млекопитающих без изъятия, разделения выборок на оседлую составляющую, позволяющую характеризовать локальные потоки ресурсов, и нерезидентов, зависящих от состояния территории в целом. Дается описание протокола мечения, способов оценки пространственной активности, расчета плотности на единицу площади и полноты выявления видового богатства. Сравниваются оценки, получаемые на основе величины улова на единицу ловчего усилия для неразделенной выборки, плотности оседлых, величины потока нерезидентов. Рассмотрена возможность анализа потока ресурсов в “исторической”, новой и гибридной экосистемах, использование данных для анализа упругости экосистемы и обнаружения точки перелома.

Ключевые слова: мелкие млекопитающие, мечение с повторным отловом, пространственная активность, плотность оседлых, потоки ресурса, упругость экосистемы

DOI: 10.31857/S1026347024020098, EDN: WBZBKW

Первичные данные и характеристики обилия

При использовании мелких млекопитающих в качестве индикационной группы исследователи отмечают отсутствие стандартизации выборок, которая может приводить к различиям в оценках обусловленным различием используемых ловушек, способов отлова, величины ловчего усилия и продолжительностью периода наблюдений (Togre *et al.* 2004, 2016; Pearce, Venier, 2005). Ниже мы остановимся на некоторых принципиальных характеристиках, влияющих на информационную ценность выборок.

Оседлые и нерезиденты. Из-за небольших размеров и высокого уровня метаболизма мелкие млекопитающие чувствительны к характеристикам окружающей среды (Шмидт-Ниельсон, 1987). Для зверьков выгодно хорошее знание территории: распределение на ней убежищ, доступных кормов и т.п. Это возможно при длительном обитании на определенном, постоянно посещаемом

ограниченном пространстве — домашнем участке (Burt, 1943; Fleming, 1979). Технически, обитание особи на домашнем участке характеризуется предсказуемой вероятностью посещения любой точки пространства, принадлежащей участку. Особей, обладающих домашним участком, рассматривают, как “оседлых”. Оседлое население тесно связано с локальными потоками ресурсов и характеризует специфику функционирования конкретной системы.

Не менее важную часть жизненного цикла особи составляет расселение (Lidicker, Stenseth 1992). “Расселением” в узком смысле термина, принято называть перемещение особи от места, где она родилась, до места, где она будет (или может) размножаться (Howard 1960). Расселение определяет генетическое единство и пространственно-генетическое структурирование населения (Peakall *et al.*, 2003; Nichols *et al.*, 2012; Cayuela *et al.*, 2018; Shchipanov *et al.*, 2023), обеспечивает связь между локальными популяциями и возможность

поддержания заселенности пространства (Hanski 1999, Хански 2022; Щипанов, 2023). Расселение включает в себя три стадии: эмиграцию, собственное перемещение, иммиграцию, и рассматривается как эффективное, если имеет генетические последствия (Ronce, 2007). Исходя из этого Ронсе (Ronce, 2007) предлагает ограничить рассмотрение расселения “эффективным расселением”. Однако “неэффективное расселение” имеет не меньшее значение для экологии популяций, влияя на демографию и доступность ресурса (Stenseth, Lidicker, 1992). Помимо расселения в узком смысле термина, особи могут “бродяжничать”, не находя места для оседания или совершать далекие выходы за пределы домашнего участка — “экскурсии” (Lidicker, 1985). Определить характер перемещения за пределами домашнего участка можно на основании многократных наблюдений помеченной особи, но такие наблюдения единичны, и, как правило, случайны (Щипанов и др., 2008а; Щипанов, Ляпина, 2008). Для обозначения животных, находящихся за пределами домашних участков, предложен термин “нерезиденты” (Щипанов, Купцов, 2004), объединяющий особей, не имеющих определенной вероятности повторного обнаружения на месте поимки (Щипанов и др., 2008 а; Щипанов, Ляпина, 2008; Калинин, 2012; Щипанов, 2021). Находясь на незнакомой территории, животные имеют больше шансов стать добычей хищников, и, по-видимому, именно нерезидентная часть популяции составляет основную пищевую ресурс хищников. Кроме того, учитывая роль мелких млекопитающих в распространении микроорганизмов (Dickman 1999; Щипанов и др. 2006), можно говорить о специфическом значении нерезидентов для функционирования экосистем.

Отловы с изъятием и без изъятия. Влияние изучения на объект. В наиболее общем виде можно разделить методы получения первичного материала на отловы с изъятием и без изъятия животных. К первым относятся учеты в “давилки” и “западни”: цилиндры, конуса, ведра и т.п., помещаемые в ловчие канавки, с заборчиками или без них (если в “западнях” не используются специально оборудованные устройства для отлова живых зверьков), во втором случае, это различные варианты мечения с повторным отловом в живоловки. Все способы отлова имеют свою специфику, и улов различается как количественно, так и качественно (Шефтель, 2018).

Большинство наблюдений, в том числе и мониторинговых исследований в 20-м столетии, проводили при отловах с изъятием (Кучерук, 1952, 1963; Карасева, Телицина, 1996; Карасева и др, 2008). Несмотря на то, что современные этические стандарты не отвергают использования методов учета с изъятием (Sikes, 2016), в современных исследованиях предпочтение, все же, отдается способам получения данных с минимальным воздействием на популяции животных, для мелких

млекопитающих — различным методам индивидуального мечения с возвращением животных на место поимки. Использование живоловок рекомендовано в ряде национальных европейских программ по мониторингу (Flowerdew *et al.*, 2004; Torre *et al.*, 2004) и в современных исследованиях в разных странах мира используют различные варианты отлова и мечения в живоловки (напр., Hopkins, Kennedy, 2004; Fontúrbel, 2010; Pinotti *et al.*, 2015; Le Borgne *et al.*, 2018; Torre *et al.*, 2023). В соответствии с современными этическими стандартами грызунов предлагается метить ушными метками, землероек — выстрижением шерсти (Gurnell, Flowerdew 2006; Le Borgne *et al.*, 2018; Torre *et al.*, 2023). Тем не менее, мечение ампутацией фаланг пальцев признается допустимым: рекомендовано использовать собранный материал для генетического анализа (Sikes, 2016). Использование пожизненной метки — ампутации пальцев, в сочетании с переходящей годовой нумерацией, позволяет оценить выживание особей после зимы (напр., Churchfield *et al.*, 1995; Shchipanov *et al.*, 2022), а собранные биоматериалы — пространственно-генетическую структуру (напр., Щипанов и др., 2020; Shchipanov *et al.*, 2023).

Помимо этических соображений, мы хотели бы отметить, что достаточно объемное локальное изъятие животных, необходимое для получения репрезентативной выборки, может повлиять на сам наблюдаемый объект (Калинин, 2019). Ранее было обнаружено, что разные виды мелких млекопитающих проявляют различную способность к восстановлению локальных группировок, опосредованную разным потенциалом расселения (Щипанов, 2002, 2016; Shchipanov, 2019). Для большинства видов мелких млекопитающих специальные исследования по изучению восстановления после депопуляции территории не проводили, однако для ряда таежных видов, также, показаны колебания расселения, не всегда совпадающие с динамикой плотности оседлого населения (Калинин 2012). Всего предложено выделять три группы видов: виды с переменным уровнем расселения, которые разделяются на две подгруппы — виды, изменяющие уровень в ответ на воздействие, и виды, изменяющие его периодически, виды с постоянно низким и постоянно высоким потенциалом расселения (Щипанов, 2002, 2016). У видов с постоянно низким уровнем расселения восстановление локально депопулированных участков идет медленно. Так, например, полуденная песчанка (*Meriones meridianus*) после изъятия на площадях от 0.1 до 1 га восстанавливала исходную плотность 4–8 месяцев (Попов и др., 1989; Шилова, 1993; Shilova, Tchabovsky, 2009). У видов с переменным потенциалом расселения скорость восстановления зависела от фазы популяционного цикла. Полевка-экономка (*Microtus oeconomus*) на Чукотке в годы с высоким уровнем расселения, успевала

восстанавливаться в процессе изъятия, т.е. в результате вылова ее плотность практически не снижалась. В год с высокой плотностью, но низким уровнем расселения, численность на депопулированном участке не восстановилась в течение всего лета (Щипанов, Касаткин, 1992). Виды, реагирующие на воздействие, изменяют структуру населения. Лесная мышь (*Sylvaeus uralensis*), например, после локальной депопуляции, вместо стабильного оседлого населения с высокой плотностью и охраняемой общей территорией, образовала поселение с разреженным непостоянным составом, не охраняющим заселенное пространство (Щипанов и др., 1997). Таким образом, изъятие может оказаться катастрофическим для локальной популяции или изменить ее структуру.

С другой стороны, по оценкам В. Н. Большакова с соавт. (1973), при отлове ловчими канавками, результат изъятия чувствуется лишь в небольших, фрагментированных местообитаниях, но в целом, не влияет на оценки структуры и обилия. Но заметим, что в “западни” попадают преимущественно “нерезидентные” (Щипанов и др., 2003; Калинин, 2012), а в давилки и живоловки — и оседлые,

и нерезидентные зверьки (Калинин и др., 2020). В результате, учеты в канавки характеризуют “популяционные процессы, происходящие на большей территории, нежели линии давилок” (Шефтель, 2018). Однако, при отлове в “западни” пропорции смещены в сторону преобладания в улове видов с большей интенсивностью расселения.

С учетом аспектов, обсужденных выше, нам представляется, что мечение в живоловки в наибольшей степени соответствует задачам мониторинга.

Живоловки и их расстановка. Основу для оценки разнообразия представляет выборка, в которой, по возможности полно представлены виды, входящие в исследуемое сообщество. В практике используются ловушки с механизмом, срабатывающим только на взятие приманки — “с крючком”, и ловушки, срабатывающие на посещение — “трапиковые ловушки”. Ловушки первого типа действуют избирательно, в них попадают только те виды, для которых привлекательна приманка. Ловушки второго типа улавливают всех, посещающих их животных. В основном используют две модели трапиковых живоловок: в европейских странах — чаще ловушку Лонгворта (Longworth trap),

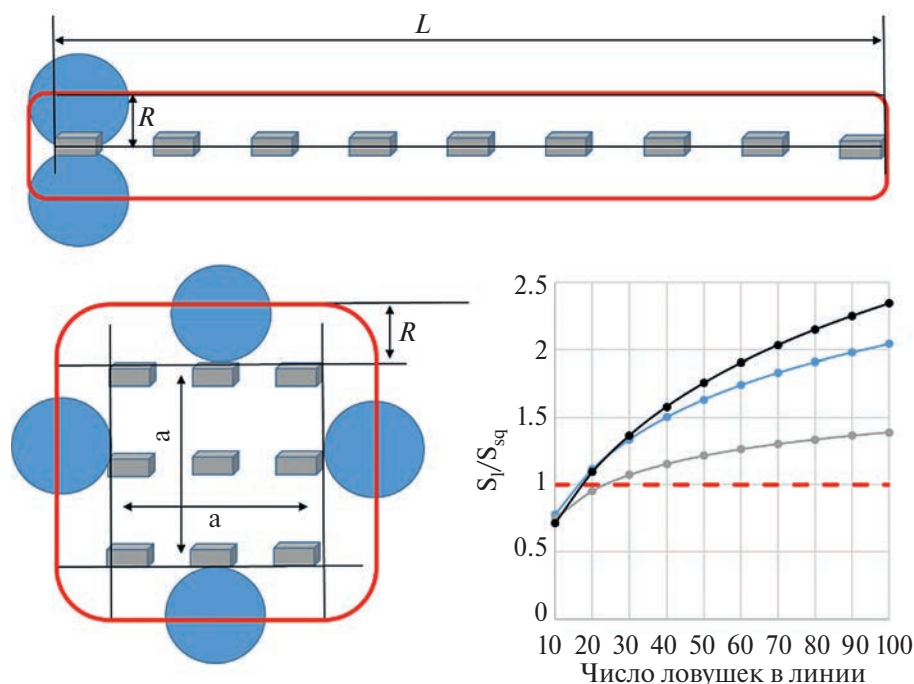


Рис. 1. Изменение соотношения облавливаемых площадей при постановке ловушек площадкой (S_{sq}) и линией (SI). Синие круги — площадь, посещаемая среднестатистической особью, на которой она может быть поймана; красная линия — граница зоны облова. $S_{sq} = (a + 2R)^2$; $SI = 2RL$, где a — дистанция между крайними линиями площадки, R — радиус пространства посещаемого среднестатистической оседлой особью, a — длина линии. Расчет для расстояния между ловушками 10 м. На графике показано соотношение площадей, облавливаемых линией относительно площадки (SI/S_{sq}), в зависимости от числа ловушек в линии и радиусам посещаемой площади (R) равным 10 м (серая кривая), 20 м (голубая кривая) и 30 м (черная кривая). При равенстве площадей соотношения равны 1 (красный пунктир на графике). Положение кривой выше порога показывает превышение площади, охваченной учетом при постановке ловушек в линию, относительно такого же числа ловушек, поставленных с теми же интервалами площадкой.

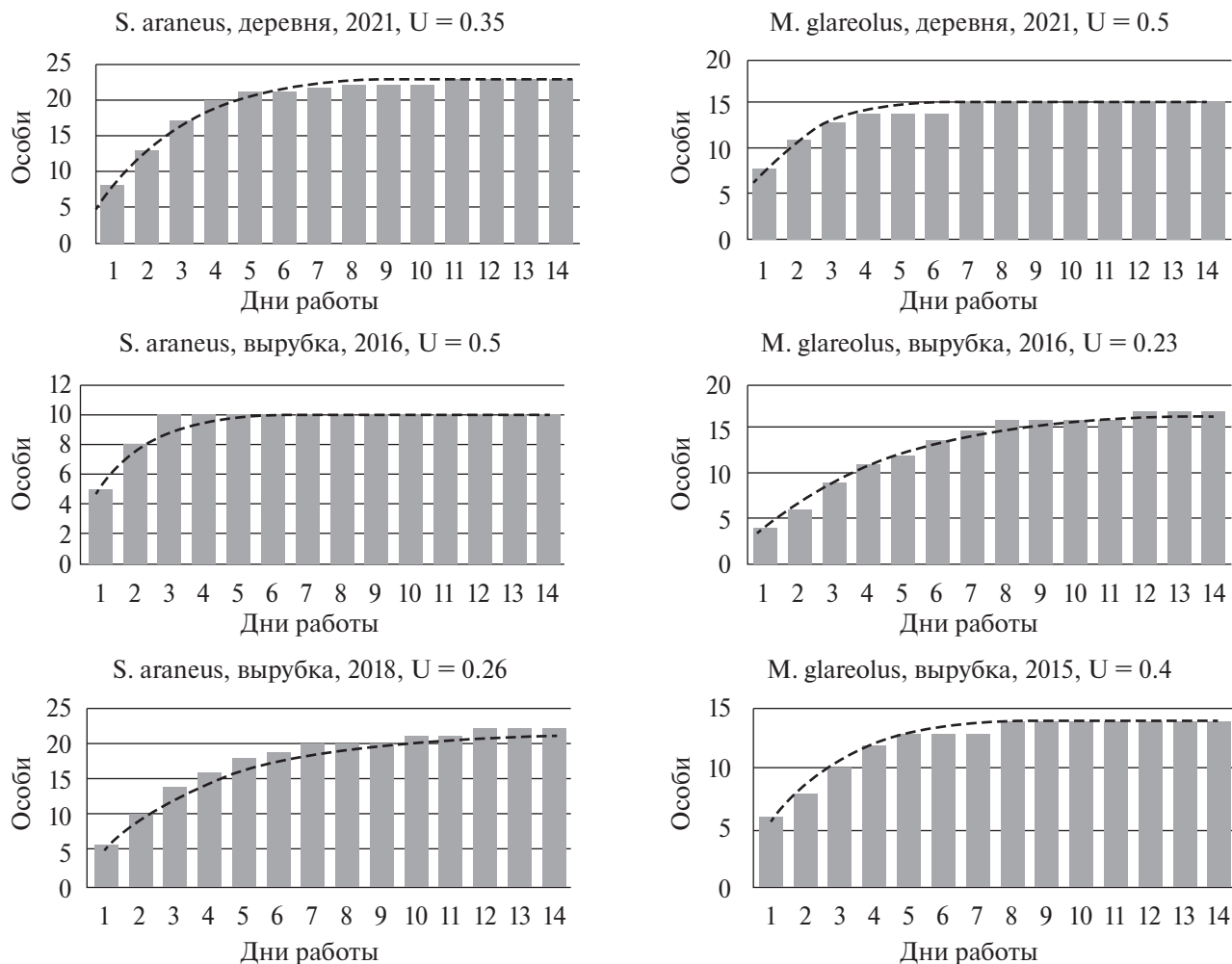


Рис. 2. Накопленное количество оседлых зверьков, помеченных за время наблюдения. Столбики — фактическое, пунктир — ожидаемое для данной улавливаемости (U) количество. Вид, год, место и U подписаны на графиках.

в Новом Свете — ловушку Шермана (Sherman trap) (Torre *et al.*, 2016). Несмотря на то, что и та и другая ловушки срабатывают на посещение, сравнение уловистости ловушек Шермана и ловушек Лонгворта не всегда дает однозначные результаты. Так, Торре с соавторами (Torre *et al.*, 2016) считают их взаимозаменяемыми, а двухлетние исследования, проведенные в луговых местообитаниях южного Висконсина (США), показали, что в разные годы различные группы мелких млекопитающих предпочитали разные типы ловушек (Anthony *et al.*, 2005). Поэтому, иногда используют оба типа ловушек, поставленных одновременно, чередуясь через одну (Pinotti *et al.*, 2015). Мы используем оригинальную ловушку с высокочувствительным трапиком, чертежи которой были неоднократно опубликованы (Щипанов, 1986; Щипанов и др., 2000, 2008б; Shchirpanov *et al.*, 2005). Ловушка может иметь разные габариты, разные фиксаторы закрывшейся дверки и изготовлена из разных материалов, эффективность ее работы определяется лишь

конфигурацией проволочного трапика. Эта ловушка улавливает практически все виды, попадающиеся и в “давилки”, и в “западни” (Щипанов и др., 2008б, 2010; Калинин 2012).

Расстановка живоловок не имеет единого стандарта, в зависимости от задачи исследования их могут выставлять кластерами (Torre *et al.*, 2016, Le Borgne *et al.*, 2018), площадками или линиями (Flowerdew *et al.*, 2004; Hopkins, Kennedy, 2004; Шефтель 2018). С точки зрения оценки структуры сообщества постановка ловушек линейей или площадкой больших различий не имеют. Было показано, что структура видового богатства мелких млекопитающих, полученная на трансектах и на площадках, хорошо, хотя и не всегда (4 из 6 сезонов), коррелирует между собой (Hopkins, Kennedy, 2004). Вместе с тем, при равном ловчем усилии линия достаточной длины охватывает большее пространство и большее число микроместообитаний, пересекая их случайным образом, то есть, дает более репрезентативную выборку (рис. 1).

Характеристики обилия. Для оценки обилия, используют 1) относительную оценку: индекс улова, или уловистость – величину улова на единицу ловчего усилия и 2) абсолютную: плотность – число особей вида, обитающих на единице площади (Карасева и др., 2008). В настоящее время большинство мониторинговых оценок предполагают использование относительного обилия (напр., Cramer, Willig, 2005; Pearce, Venier, 2005; Chao *et al.*, 2009; Le Borgne *et al.*, 2018; Torre *et al.*, 2023). При учете живоловками это рассчитывают, как индекс полного улова (I_{TC}): $I_{TC} = 100 \sum ID / nT$, где ID – индивидуальный номер особи, n – число рабочих дней, T – число ловушек в линии.

При использовании, I_{TC} следует иметь в виду, что индекс зависит от улавливаемости и от продолжительности учета. И при вылове, и при мечении, количество пойманных/помеченных за день животных уменьшается на некоторый постоянный процент – улавливаемость (Leslie, Davis, 1939; Moran 1951; Zippin 1956; Смирнов 1964; Коли 1979). Улов транзитных животных (нерезидентов), колеблется вокруг некоторой постоянной величины (Лукиянов, 1991). В частности, при ловле

с изъятием, экспоненциальное убывание величины улова, позволяет при продолжительном отлове оценивать соотношение величины оседлого и “транзитного” населения (Лукиянов, 1989; 1991; Lukyanov 1994; Lukyanov *et al.*, 1994).

Улавливаемость (U) может быть рассчитана, как средняя доля животных изъятых или помеченных в каждый последующий срок отлова относительно улова в предыдущий срок: $U = \sum (C_{n-1} - C_n) / (t-1)$, где C_{n-1} число пойманных/помеченных особей в предыдущий, C_n – в последующий срок отлова, а t – дни отлова или периоды по несколько дней. При мечении, ожидаемое прибавление новых особей (ΔC_t) составляет: $\Delta C_t = U(C_T - \sum C_{t-n})$, C_T – общее количество живущих в зоне облова особей, а $\sum C_{t-n}$ – количество уже помеченных к дню t особей. По нашим данным, величина U существенно различается у разных видов, в разных местообитаниях и в разные годы (рис. 2).

Как и насколько влияет различие в улавливаемости на I_{TC} ? В наших исследованиях U изменялась от 0.2 до 0.7, а продолжительность сессии отлова составляла 14 дней. Даже при минимальной улавливаемости, $U = 0.2$, за двухнедельный период

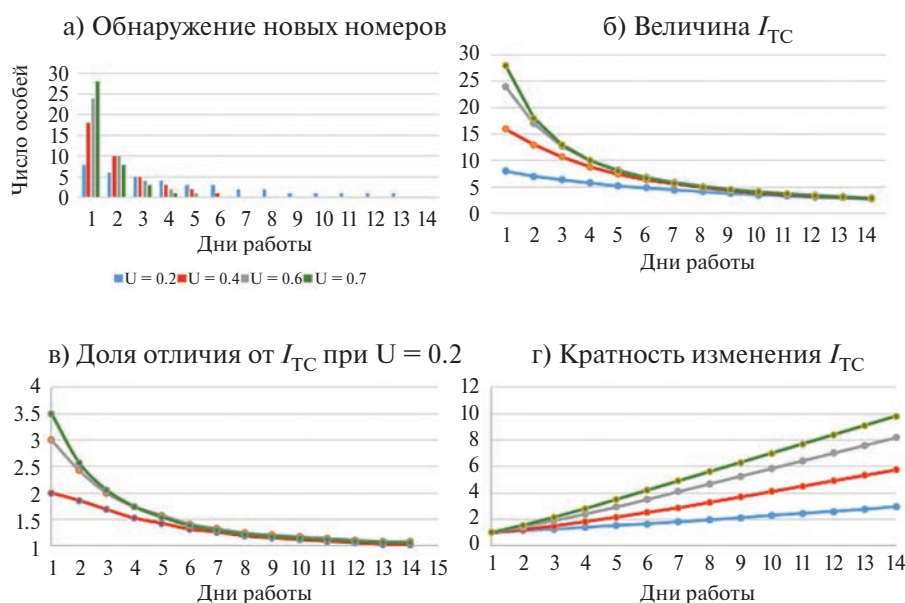


Рис. 3. Изменение оценок обилия на основе общего улова – I_{TC} в зависимости от продолжительности учета и величины коэффициента улавливаемости (U). Симуляция для 40 оседлых особей, живущих в зоне отлова. Синий цвет – $U=0.2$, красный – $U=0.4$, серый – $U=0.6$, зеленый – $U=0.7$.

а – изменение числа вновь помеченных за день, для 40 обитающих в зоне отлова особей. Улов в первый день (C_1) составляет $40U$, улов в последующие дни рассчитан как $C_2 = U(40 - C_1)$, $C_3 = U(40 - C_1 - C_2)$, и т.д.; б – изменение I_{TC} , рассчитанного для разной продолжительности отлова. I_{TC} рассчитан как сумма пойманных к данному дню (x) учета особей, деленных на число рабочих дней t_x : $(C_1 + C_2 + \dots + C_x) / t_x$;

в – изменение кратности различий I_{TCUx} и $I_{TCU0.2}$: $(I_{TCUx} - I_{TCU0.2}) / I_{TCU0.2}$, где $I_{TCU0.2}$ – величина индекса при $U=0.2$, а I_{TCUx} – величина индекса при $U=0.4$ – красная, $U=0.6$ – серая и $U=0.7$ – зеленая кривая;

г – изменение кратности различий I_{TC} при расчете индекса за разные сроки учета. Кратность различий – I_{TCx} / I_{TC1} , где I_{TC1} – величина индекса в первый день, а I_{TCx} на искомый (x) день отлова. Синяя кривая – $U=0.2$, красная – $U=0.4$, серая – $U=0.6$, зеленая – $U=0.7$.

выявляется все оседлое население (рис. 3а). Различия в оценке обилия, уменьшаются с увеличением срока наблюдений и к 14 дню, когда все оседлые особи оказываются перемечены, практически пропадают (рис. 3—б-в). Величина I_{TC} зависит от периода, за который он рассчитан. Причем кратность различий с уловом в первый день, растет с величиной U (рис. 3г), соответственно, при разной улавливаемости учеты за разные сроки дадут различные оценки I_{TC} . Заметим, что при оценке относительного обилия, также возникают искажения, связанные с тем, что животные по-разному относятся к ловушкам и используемой приманке (Шефтель 2018).

Эти искажения нивелируются при использовании в качестве характеристики обилия популяционной плотности оседлых (D_{res}): $D_{res} = N_{res}/ha$, где N_{res} — число оседлых особей на одном гектаре (ha). Оседлыми считаются зверьки, имеющие определенную вероятность повторного обнаружения. Улавливаемость, в том числе и в зависимости от привлекательности приманки, не влияет на количество обнаруженных оседлых особей (подробнее ниже).

Учет нерезидентов представляет специальную методическую задачу. Оценка их абсолютной численности получена в отдельных случаях (Калинин, 2023, Щипанов 2021) и требует дальнейшей разработки. Тем не менее, учитывая, что поток нерезидентов в относительно небольшой период учетных сессий довольно постоянный, мы оцениваем его величину индексом нерезидентности (I_{nr}), как улов нерезидентов на единицу ловчего усилия: $I_{nr} = 100 \sum N_{nr}/nT$, где N_{nr} — число обнаруженных нерезидентов (Калинин 2012). Влияние на оценки, разнообразия на основе I_{TC} мы учитываем с помощью индекса вклада нерезидентов в общий улов (C_{nr}): $C_{nr} = I_{nr}/I_{TC}$.

Протокол отлова, мечение

Одной из важных задач при проведении наблюдений является минимизация усилий, затраченных на получение выборки. Мечение с повторным отловом — трудоемкая методика, любое уменьшение трудозатрат при ее использовании актуально. Мы приводим описание нашего способа сбора данных, который позволяет охватить обследованием относительно большую территорию при снижении уровня трудозатрат, для сбора исходных данных.

Протокол отлова был разработан для землероек-бурозубок (*Sorex*). Он предусматривает использование оригинальной ловушки (см. сообщение 1), в качестве приманки — геркулеса, смоченного нерафинированным подсолнечным маслом, 1.5 часовой интервала между проверками, сокращение числа проверок до 1–2 в сутки (Щипанов и др., 2000). Ловушки располагаются на постоянных местах, настораживаются ежедневно, в утренние или

вечерние часы. После одной или двух последовательных проверок проводится через 1.5 часа после настораживания/предыдущей проверки, ловушки оставляем открытыми (доступными для посещения) в нерабочем положении. В результате животные могут свободно перемещаться более 80% времени суток. При таком режиме проверок, гибель землероек (наиболее чувствительных к отлову зверьков) составляет менее 1%. Помимо прочего сокращенное время экспозиции (работа занимает 3–4.5 часа в сутки) позволяет минимизировать время, затраченное исследователем, на обследование одного местообитания и, благодаря этому, охватывать наблюдением больше местообитаний. Для получения репрезентативной выборки из местообитания, ловушки выставляются линией (не менее 50 ловушек) с интервалом 7.5 м (этот интервал оптимален для оценки участка землероек). Общая длина линии из 50 ловушек составляет 375 м, и линия случайным образом пересекает почти все разнообразие микростанций, свойственных локальному местообитанию. В монотонных местообитаниях используем линию из 100 ловушек длиной 750 м. Было показано, что точность определения плотности оседлого населения и нерезидентной активности зависит от длины линий, при этом линия из 100 ловушек достаточно хорошо характеризует население мелких млекопитающих в масштабах лесного массива (Калинин и др., 2018). При необходимости (ограниченное доступное пространство) ловушки могут быть выставлены площадкой. Сопоставимость данных, полученных на линии и площадке, обсуждается ниже.

Продолжительность сессии отлова составляет 10–14 дней, что позволяет, даже при одной суточной проверке, набрать достаточное число регистраций для репрезентативной характеристики размеров посещаемой оседлой особью территории, даже при низкой улавливаемости. Зверьков метим ампутацией когтевых фаланг, используя переходящую межгодовую нумерацию. Было показано, что такое мечение не влияет на выживание землероек (Shchipanov *et al.*, 2005).

В ходе проверки мы фиксируем пол, возраст, участие в размножении, вес и координату (номера линии и ловушки). Полученные данные вносим в стандартную базу данных (ACCESS), что позволяет быстро формировать выборки для дальнейших расчетов.

Оценка размеров домашнего участка и плотности

Оценка размеров посещаемой оседлыми зверьками территории занимает ключевое положение в определении оседлости и при расчетах количества оседлых особей в выборке. Заметим, что количественные характеристики размеров домашнего участка представляют интерес, как с точки зрения фундаментальных, так и с точки зрения прикладных

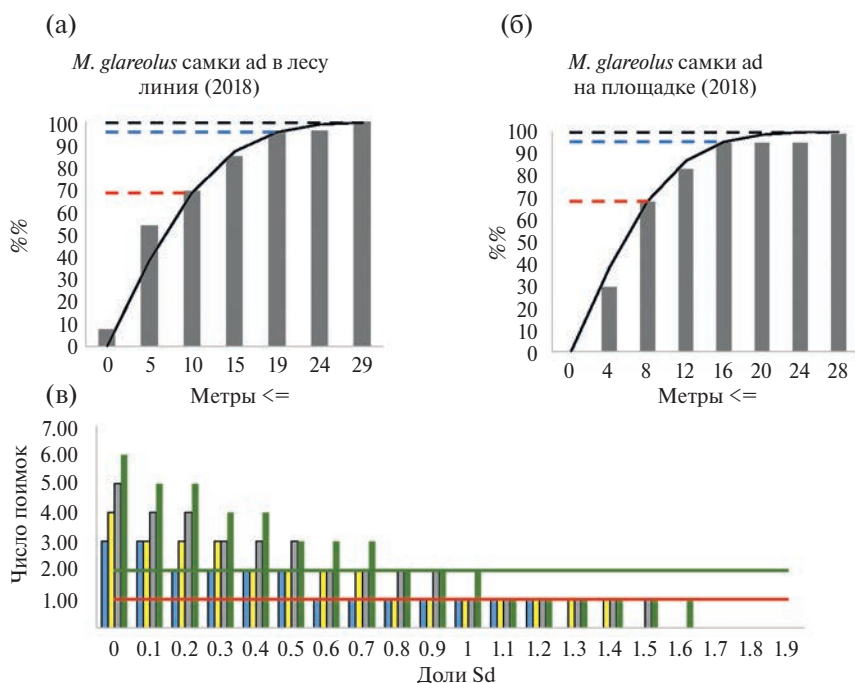


Рис. 4. Пространственная активность оседлых особей.

а, б — доля (%) особей рыжей полевки (*Myodes glareolus*), обнаруженных при удалении от центральной координаты (дистанции в метрах). Черная кривая — ожидаемая вероятность обнаружения при нормальном распределении на дистанции пропорциональной Sd всех отклонений от центральной координаты (на рис. а — $S_d = 9.74$ м, на рис. б $S_d = 8.01$); красный пунктир — S_d , синий — $2S_d$, черный — $3S_d$.

в — Ожидаемое число поимок особи с максимально возможным числом поимок: 3 — синий, 4 — желтый, 5 — серый и 6 — зеленый столбик, при удалении от центральной координаты (дистанции в долях Sd). Красная линия — уровень “радиуса обнаружения — R_d ” (возможна хотя бы одна поимка): у особей с 3 поимками одна поимка возможна до дистанции 1.2 Sd, с 4 — до 1.4 Sd, с 5 — до 1.5 Sd, с 6 — до 1.6 Sd. Зеленая линия — уровень двух поимок (повторные ловы): особи с 3 поимками будут повторно пойманы до дистанции 0.5 Sd, с 4 — до 0.7 Sd, с 5 — до 0.9 Sd, и с 6 — до 1.0 Sd.

аспектов экологии (Fleming et al., 2014, 2015). Размеры участка зависят от метаболизма, поведенческих особенностей и возможностей локомоции, плотности и распределения ресурсов в пространстве (Taitt, 1981; Taitt, Krebs, 1981; Кряжковский, 1988), обилия собственного и конкурирующих видов (Erling et al., 1990; Ostfield, Canham, 1995; Ribble, Stanley, 1998; Kelt, Van Vuren, 2001; Koshev et al., 2005).

Любые оценки размеров участка основаны на данных о распределении координат регистрации особи в пространстве, независимо от того каким способом собраны эти данные, как выражены координаты, и могут быть получены с применением двух групп методов: “геометрических” и “статистических” (Fleming et al., 2015). Из геометрических методов в настоящее время наиболее распространены различные способы оконтуривания квадратов (Карасева и др., 2008) и построение “минимального выпуклого многоугольника” (minimal convex polygon) (Mohr, 1947; Bekoff, Mech, 1984). Эти оценки позволяют сравнивать общий размер используемой площади, однако не учитывают частоту присутствия особи в разных частях участка. При использовании любых вариантов геометрических

оценок возникает проблема с включением крайних точек регистраций особи (Jennrich, Turner, 1969; Schoener, 1981). Из статистических методов наиболее распространен непараметрический “кERNEL” (kernel) — метод, основанный на оценке частоты присутствия особи (Worton, 1989). Этот метод хорошо выявляет локализацию центров активности, но чувствителен к объему используемых данных и может приводить к существенной недооценке площади (Fleming et al., 2014). Предложенная ранее оценка размеров участка, основанная на аппроксимации активности бивариантным нормальным распределением — метод r^2 , средний квадрат отклонений координат всех точек регистрации (Calhoun, Casby, 1958; Jennrich, Turner, 1969; Koepfel et al., 1975), в настоящее время почти не используется. Критика метода связана с тем, что форма одиночного участка далека от круга и не стремится к идеальному кругу. Тем не менее, r^2 удобная метрика, для оценки посещаемого пространства. Было показано, что r^2 хорошо коррелирует с геометрическими и непараметрическими оценками площади домашнего участка (Schoener, 1981; Slade, Swihard, 1983; Swihard, 1992).

Мы используем метрику аналогичную r^2 — среднее квадратичное отклонение дистанций всех особей от центральной координаты (S_d), для определенного вида и демографической группы, в выборке, взятой из одного местообитания. Как показано на рис. 4а, б. распределение частоты встречаемости дистанций от центральной координаты в объединенной выборке всех особей близко к сумме частот нормального распределения на дистанции $\pm kS_d$ от математического ожидания (средней). Соответственно, дистанция, равная S_d охватывает около 68%, $2S_d$ — 95% и $3S_d$ — 99% пространственной активности среднестатистической особи. Ожидаемая частота встречи убывает как $1-f$, где f — вероятность (частота) присутствия, аккумулированная на соответствующем расстоянии от центра. Исходя из максимального количества поимок, можно рассчитать дистанцию (радиус обнаружения — R), на которой особь может быть поймана хотя бы один раз (рис. 4в).

На основе оценки S_d размеров посещаемого оседлой особью пространства — участка обитания предложены способы расчета плотности для данных, полученных на линии (Калинин, 2012;

Щипанов, 2020). Один из вариантов расчета выглядит следующим образом. Проводится сравнение фактического и ожидаемого (для особей с разным ожидаемым максимальным числом поимок на участке, центр которого попадает на линию) распределения частоты попаданий на разной дистанции от центральной координаты (таблица распределений приведена в публикации Щипанова, 2020). По минимальному квадрату суммы различий ожидаемого и фактического числа особей с определенным числом поимок, выбирается наиболее совпадающее распределение (рис. 5). Избыток особей с одной поимкой соответствует количеству нерезидентов (см. рис. 5). Было показано, что динамика числа выявленных таким образом нерезидентов совпадает с динамикой расселения, изученного другими способами (Калинин, 2012; Щипанов, 2021). После вычитания из общего улова числа нерезидентов, получаем число оседлых в зоне облова линии. Заметим, что при таком расчете в число оседлых попадают и особи с единичными поимками.

Площадь зоны облова линии определяется, как $2R_d S_d L$, где R_d — радиус обнаружения (см. рис. 4), а S_d — стандартное отклонение дистанций

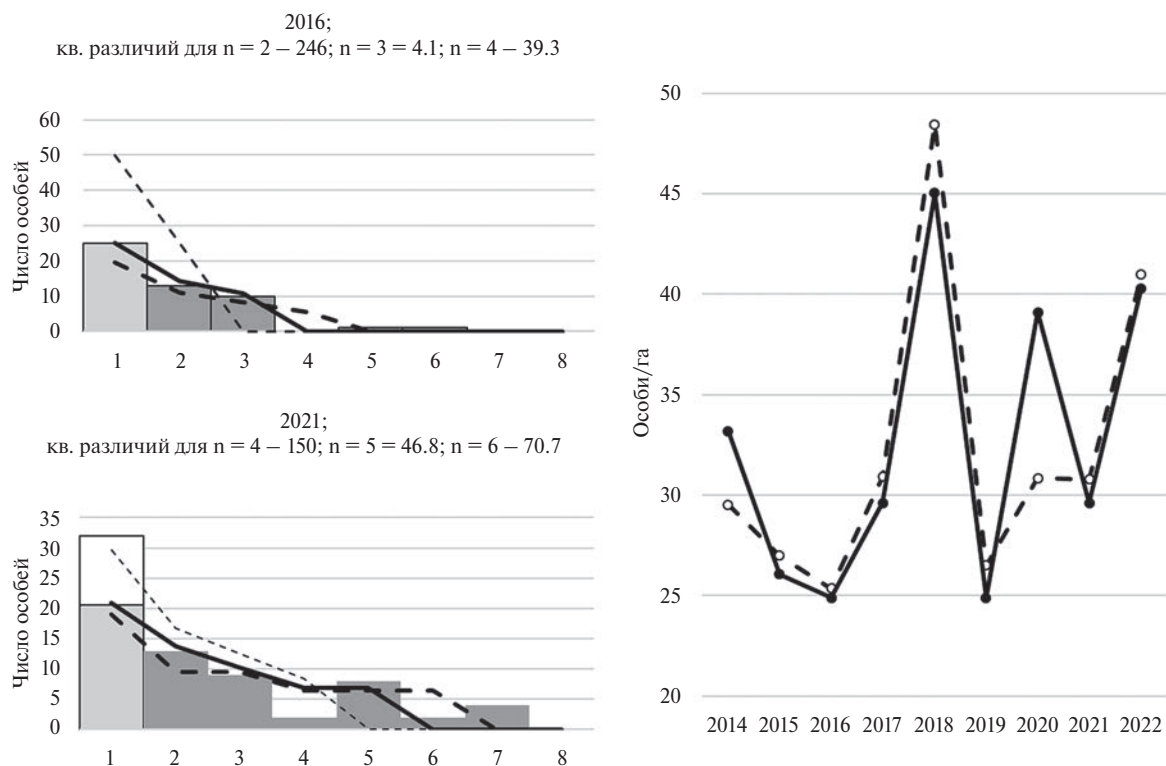


Рис. 5. Пример подгонки распределений для ожидаемого максимального числа поимок (n). Тонкий пунктир — для n минус 1, жирный — для n плюс 1, сплошная — для n с наибольшим совпадением. Серая часть столбиков — оседлые, белая — нерезиденты, темно-серые столбики использованы для расчета суммы квадратов отклонений. Общее число оседлых — сумма величин серых столбиков. Расчет сделан для *S. araneus* на линиях, пересекающих площадку мечения. В 2016 г нерезиденты на линиях не определяются (на площадке — 1), в 2021 на линиях определено 11 нерезидентов (на площадке — 11). На правом графике эмпирическая (сплошная линия) и рассчитанная для пересекающих ее линий (пунктир) плотность на площадке.

от центральной координаты в анализируемой выборке. Для получения такой же оценки плотности на площадке необходимо исключить краевой эффект. Для этого, на основании разброса активности, мы вычисляли дистанцию, на которой сохранялась вероятность поймать особь повторно (см. рис. 4 ниже зеленой линии на гистограмме). В нашем случае расстояние между ловушками превышает эту дистанцию, и достаточно вычесть половину особей, пойманных более одного раза, в ловушки на периметре площадки, так как центр активности равновероятно находится в ее пределах и за ее пределами. При сопоставлении плотностей, рассчитанных обоими способами для площадки и пересекающих ее линий, среднее отклонение расчетных и эмпирических данных составило менее 1% и плотности были хорошо скоррелированы (см. рис. 5).

Видовое богатство и видовое разнообразие

При проведении мониторинговых исследований с использованием индивидуального мечения ловушки целесообразно располагать на постоянных местах, при этом количество обследуемых вариантов местообитаний ограничено. Вместе с тем, мелкие млекопитающие на большей части территории России характеризуются значительными межгодовыми колебаниями обилия, при этом изменяется и спектр заселяемых или просто посещаемых ими биотопов и можно ожидать, что при достаточной длительности наблюдений удастся выявить весь спектр, связанных с местообитанием видов. Показателем полноты выявления является отсутствие обнаружения новых для участка видов продолжительное время, или при увеличении охвата территории (Chao *et al.*, 2009).

Мы попробовали определить за какой период видовое богатство выявляется достаточно полно. Исходными для модели являлось предположение, что 1) вероятность обнаружения пропорциональна частоте встречаемости в улове за весь срок наблюдений ($I_{\text{ТСМ}}$), 2) чем больше число лет наблюдений (число проверок), тем больше вероятность обнаружить вид, причем, 3) начиная наблюдения мы не знаем в какой фазе численности находится популяции изучаемых видов. Используя встроенный в Excel генератор случайных чисел рассчитали ожидаемое количество особей вида (X), которые мы можем поймать в первый год: $X_1 = \text{Rnd } I_{\text{ТСМ}} n_1 T/100$, где Rnd – случайное число от 0 до 1, $I_{\text{ТСМ}}$ – средний индекс полного улова за весь период наблюдений: $\sum ID/\sum n_y$, где n_y – общее число проверок за сессию наблюдений в текущем году, n_1 – число проверок в первый год, а T – число ловушек в изучаемом местообитании, которое в нашем случае постоянно. Считали, что при $X > 0.5$ вид может быть обнаружен. На второй и последующие годы проведен такой же расчет, но уже для суммарного

числа проверок: за два года – $X_2 = \text{Rnd } I_{\text{ТСМ}} (n_1 + n_2) T/100$, и т.д. Эту процедуру проводили для каждого из видов, обнаруженных за все годы наблюдений. Сумма видов, с $X > 0.5$ в каждом последующем году показывает ожидаемое число видов, которое может быть выявлено при реальном $I_{\text{ТСМ}}$. После 100 итераций вычисляли среднее число видов, которое может быть выявлено к определенному году и 95% доверительный интервал. В результате, и ожидаемая и фактическая стабилизация выявляемого видового богатства наблюдалась после седьмого года наблюдений (рис. 6). За исключением особых лет (каждый из которых требует специального пояснения) изменение числа выявляемых видов укладывалось в пределы доверительного интервала для случайного обнаружения видов с такой улавливаемостью (см. рис. 6). Обратим внимание на то, что ежегодно выявляемое фактическое число видов заметно колеблется. Учитывая, что в разные годы в улове проявляются различные редкие виды, можно заключить, что для надежного сравнения выборок, как в пространстве, так и во времени целесообразно использовать для анализа разнообразия многолетние данные.

Интересно, что в условиях монотонной тайги республики Коми, основной вклад в видовое богатство вносят оседлые особи (см. рис. 6). Нерезидентное население здесь представлено теми же видами, что и оседлое, однако, из-за меньшей улавливаемости, выявление видового богатства нерезидентов идет медленнее. В гетерогенной среде, на измененной хозяйственной деятельностью территории, с соседствующими контрастными местообитаниями, напротив, прирост видового богатства определялся нерезидентами, которые заходят из разных, иногда сильно отличающихся местообитаний.

Различие оценок с использованием разных характеристик обилия

Различные характеристики обилия позволяют увидеть разные процессы. Проиллюстрируем это на примере постагрогенной сукцессии в Тверской области. После кризиса 1990-х, посевные площади сильно сократились и на заброшенных пахотных землях прошло быстрое восстановление лесной растительности (Андреева и др., 2021). Нам удалось проследить изменения на одном из бывших полей. В 2006, когда были начаты наблюдения, на бывшем картофельном поле сформировалась луговая растительность с единичным подростом березы, ольхи и ивняков, а к 2022 г. – молодой лес: в древостое представлены березы, молодые сосны с диаметром ствола 10–20 см, и еловый подрост (фото на рис. 7). До 2011 г. в улове значительную часть составляли серые полевки (*Microtus arvalis*, *M. oeconomus*, *M. agrestis*), которые практически исчезли с 2012 г., их место заняла рыжая полевка (*Myodes glareolus*).

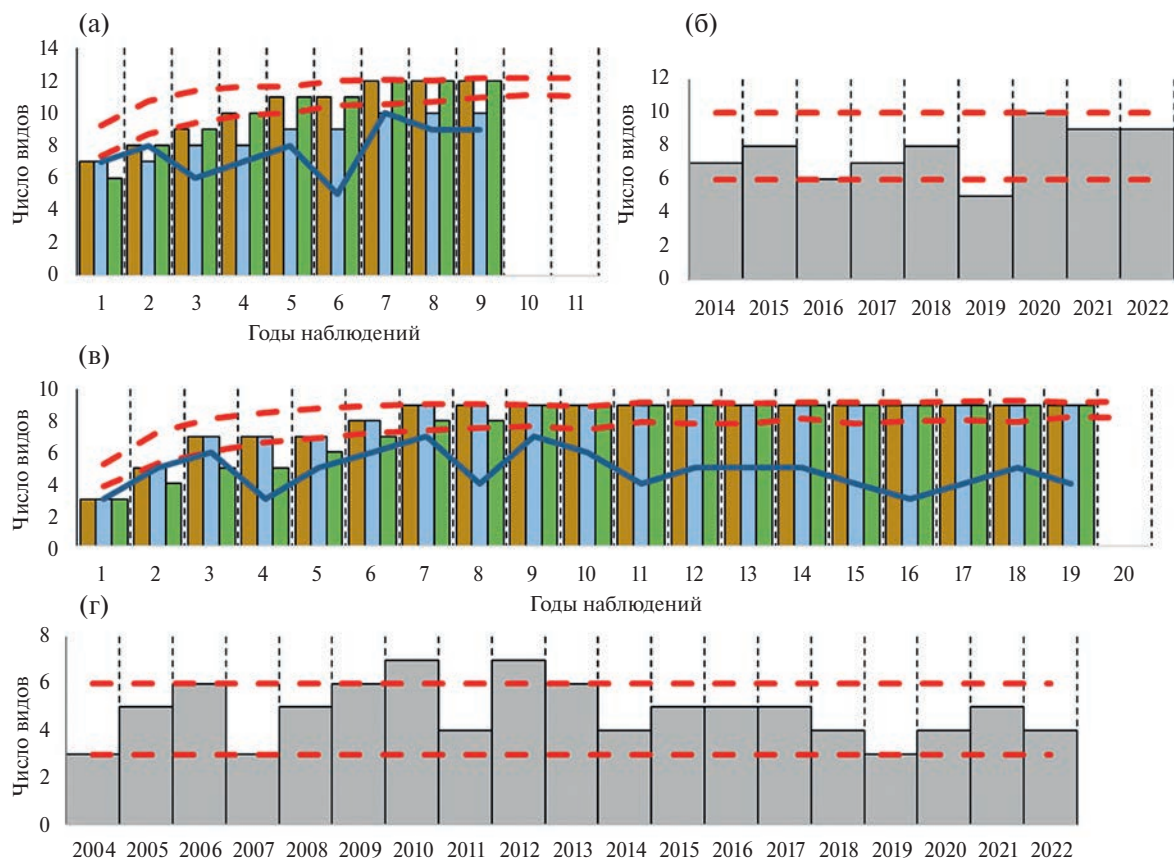


Рис. 6. Накопление видового богатства при длительном наблюдении на постоянном месте (а, в) и межгодовые колебания числа видов в улове (б, г): а, б — заброшенная территория деревни в Тверской области; в, г — северная тайга в верховьях р. Илыч (Коми). Коричневые столбики — в обобщенном улове, синие — в выборке резидентов, зеленые — в выборке нерезидентов. Красный пунктир — границы доверительного интервала для случайного колебания числа видов в улове (пояснения в тексте). Синяя кривая (а, в) — изменение числа ежегодно выявляемых видов. Серые столбики (б, г) — число видов, выявленных в текущем году.

Среди насекомоядных заметно понизилась доля малой бурозубки (*Sorex minutus*), но обыкновенная бурозубка (*S. araneus*) сохранилась в прежней численности (Shchipanov *et al.*, submitted). Таким образом, структура ресурсных потоков изменилась коренным образом (рис. 7а).

Сравним структуру разнообразия до 2011 г. и в последующий период, с использованием разных характеристик обилия, рассмотренных в сообщении 1. В качестве показателя различия мы выбрали индекс несходства Брея-Кёртиса (BC): $BC = 1 - 2C_{ij} / (S_i + S_j)$, где C_{ij} — сумма наименьших показателей обилия общих (встречающихся в обоих выборках) видов, а $S_i + S_j$ — сумма количественных показателей обилия видов в обоих выборках. Нулевая гипотеза предполагает, что матрица межгодовых индексов несходства сообщества в пределах сравниваемых периодов: 2006–2011 и 2012–2022 не отличается от матрицы индексов несходства между любым годом в период 2006–2010 и любым годом в период 2011–2023. Доверительные интервалы получены на основе матрицы межгодовых различий методом “складного ножа” в 100 итерациях.

Несмотря на явные изменения местообитания (см. рис. 7а), достоверных различий между выборками по индексу обилия, рассчитанный для улова в целом (I_{TC}) не выявлено, индекс нерезидентности (I_{nr}) не обнаруживает никаких различий, и только плотность оседлых (D_{res}) указывает на высоко значимые изменения в структуре населения мелких млекопитающих (рис. 7б). Отсутствие значимых различий в общем улове связано с тем, что в данном случае, в выборку вносит довольно большой вклад нерезидентная составляющая, в среднем $C_{nr} = 0.26$, а состав нерезидентов мало зависит от изменений на изучаемом участке (существенных изменений в региональном масштабе не произошло). Однако, если анализировать несходство на основе индекса биомассы, рассчитанного на основе I_{TC} , как сумма произведений I_{TC} вида j на средний вес его особей в выборке (P): $P_j I_{TCj}$, мы увидим значимые изменения. В рассмотренном случае, основную часть нерезидентов составляли относительно легкие бурозубки, поэтому, при оценке различий с использованием индекса биомассы на основе I_{TC} нерезидентное население не влияет на значимость

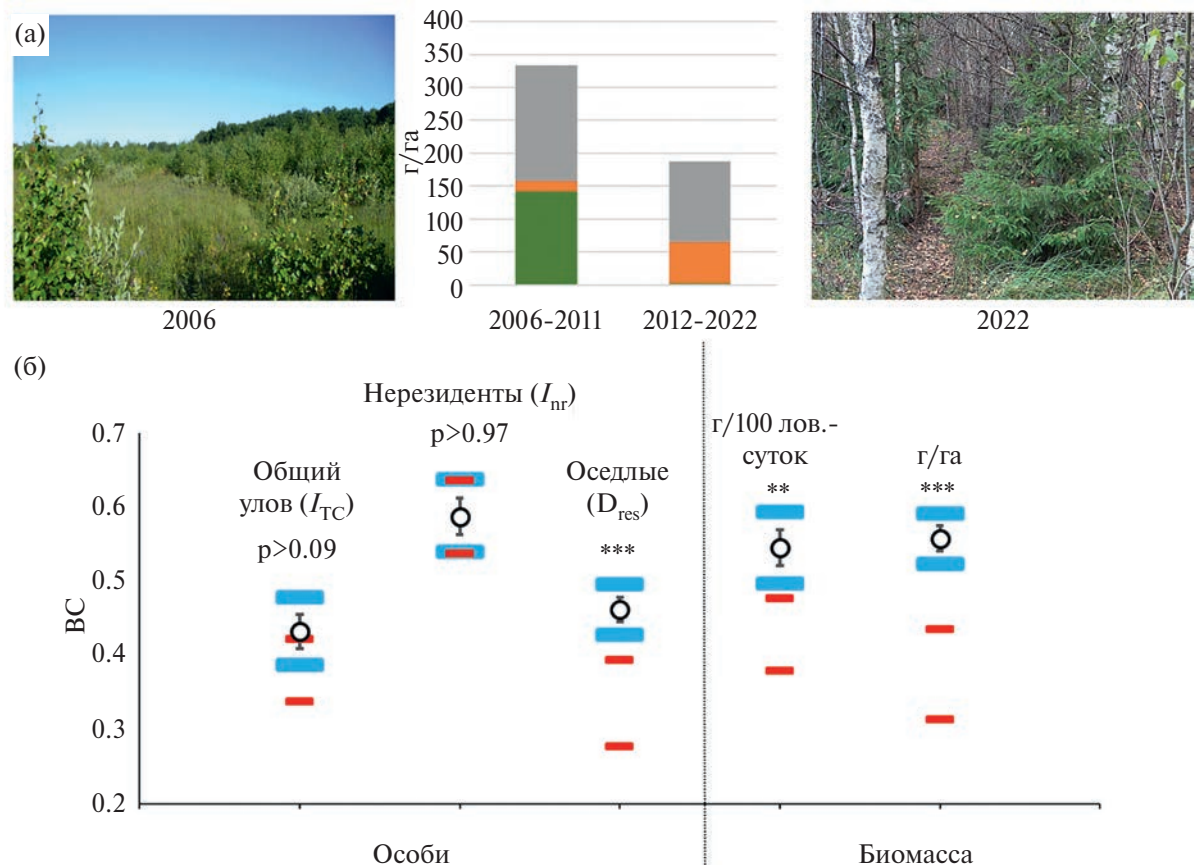


Рис. 7. Изменения в сообществе мелких млекопитающих на зарастающем поле в Тверской области. а — соотношение биомассы видов с различными пищевыми стратегиями: зеленым цветом показаны зеленоядные, рыжим — зерноядные, серым — насекомоядные виды (см. ниже); б — индекс несходства Брея-Кёртиса (BC -индекс) для разных показателей обилия и биомассы; среднее значение $\pm$ SE, красные штрихи — доверительный интервал (95%) для межгодовых колебаний BC -индекса в выборках, полученный методом “складного ножа” (100 итераций) в пределах сравниваемых периодов: 2006–2011 и 2012–2022, синие — доверительный интервал (95%) для межгодовых колебаний BC -индекса между годами в периоды до 2011 и после 2012 (например, 2006 vs. 2012, 2006 vs. 2013, 2006 vs. 2014, ..., 2006 vs. 2023; 2007 vs. 2012, 2007 vs. 2013, 2007 vs. 2014, ..., 2007 vs. 2023, и т.д.).

различий, так же сильно, как при оценке обилия. Однако это частный случай. Если бы нерезидентное население было представлено особями со сравнимой массой тела, мы бы не увидели различий и по индексу биомассы, рассчитанному по I_{TC} . Более надежным показателем функционального состояния локальной экосистемы является оценка биомассы на основе плотности оседлых. Действительно, когда биомасса была рассчитана на основе плотности оседлых, $P_j D_{resj}$, значимость различий, заметно увеличилась (см. рис. 7б).

Итак, значимые изменения в структуре биомассы, рассчитанной на основе плотности локального оседлого населения ($P_j D_{resj}$), указывают на то, что ресурсные потоки в данном местообитании, изменились. В данном случае, индекс биомассы, рассчитанный на основе I_{TC} также выявил различия, но это частный случай, и при изменении, связанном с другими видами, могло бы быть по-другому. При этом, на основе изучения только индекса улова для объединенной выборки (I_{TC}) мы не

обнаруживаем значимых различий в структуре сообщества, хотя различия в структуре оседлого населения (D_{res}) высоко достоверны. Отсутствие изменений в структуре нерезидентного потока (I_{nr}), позволяет предполагать, что в масштабе “ландшафта” существенных изменений не произошло. Мы считаем, что более надежно использовать суммарную биомассу на 1 га, рассчитанную на основе плотности оседлого населения, так как связанные с локальным местообитанием потоки ресурса более корректно отражаются в выборке оседлых зверьков, благополучие которых прямо зависит от качества местообитания. С другой стороны, анализ структуры потока нерезидентов дает нам информацию об изменениях в экосистеме в масштабе “ландшафта”.

Новые и исторические экосистемы

На большей части земной поверхности в исторический период экосистемы в той или иной степени испытывали влияние человека (Kueffer,

Kaiser-Bunbury, 2014). Наряду с воздействиями на природные экосистемы, с целью их эксплуатации (охота, получение древесины и т.п.), человек осуществлял трансформацию природных ландшафтов, необходимых для удовлетворения его хозяйственных потребностей. При этом возникали экосистемы, не свойственные местности ранее, а исторические экосистемы подвергались постоянному прессу деятельности человека (Jackson, Hobbs, 2009). В результате можно говорить об условно “исторических”, полностью измененных — “новых”, и “гибридных” экосистемах, сочетающих в себе свойства “исторических” и “новых” экосистем (Hobbs, *et al.*, 2009; Маркова и др., 2008).

Можно проиллюстрировать возможности оценки различий на примере наших долгосрочных наблюдений на юго-востоке Тверской области. В лесной зоне Центральной России в качестве “исторических” экосистем, логично рассматривать разные варианты леса. Бореальные леса — молодые экосистемы, которые начали формироваться после отступления ледника 12–8 тыс. лет назад (Маркова и др., 2008). Биологическое разнообразие на этой территории формировалось за счет встречного заселения видами из рефугиумов Восточной и Западной Палеарктики. В частности, в лесах Тверской области, фауна мелких млекопитающих представлена в основном восточно- и западно-палеарктическими

бореальными лесными видами с примесью немногочисленных представителей неморальных лесных и лесостепных видов на нарушенных участках (Емельянова, Сидорова, 2014). Из ожидаемой в бореальных лесах фауны на нашей территории отсутствует красная полевка (*Myodes rutilus*), но мы находимся на юго-западном краю ареала этого вида. Лесные мыши *Sylvemus uralensis* and *S. flavicolis*, характерные для сильно нарушенных, осветленных участков, в наших лесах (фото на рис. 8) встречаются единично (Щипанов и др. 2010). Довольно полно представлены землеройки, отмечено обитание четырех видов: обыкновенной (*Sorex araneus*), средней (*S. caecutiens*), малой (*S. minutus*) и равнозубой (*S. isodon*) бурозубок (Shchipanov *et al.*, 2005).

Экосистему можно считать новой, если потоки ресурса (функциональная структура) в ней кардинально изменены (Hobbs *et al.*, 2009, 2013, 2014), в частности, за счет “неслучайной элиминации видов” (Mori *et al.*, 2017). Зброшенны пастбища можно рассматривать как пример “новой” экосистемы, возникшей вследствие такой “неслучайной элиминации”. Для выпаса домашнего скота обширные (порядка 10 га) пространства были расчищены (элиминирована исходная древесная растительность) и скот здесь выпасался многие десятилетия и даже столетия. За время выпаса сформировались открытые пространства с плотной

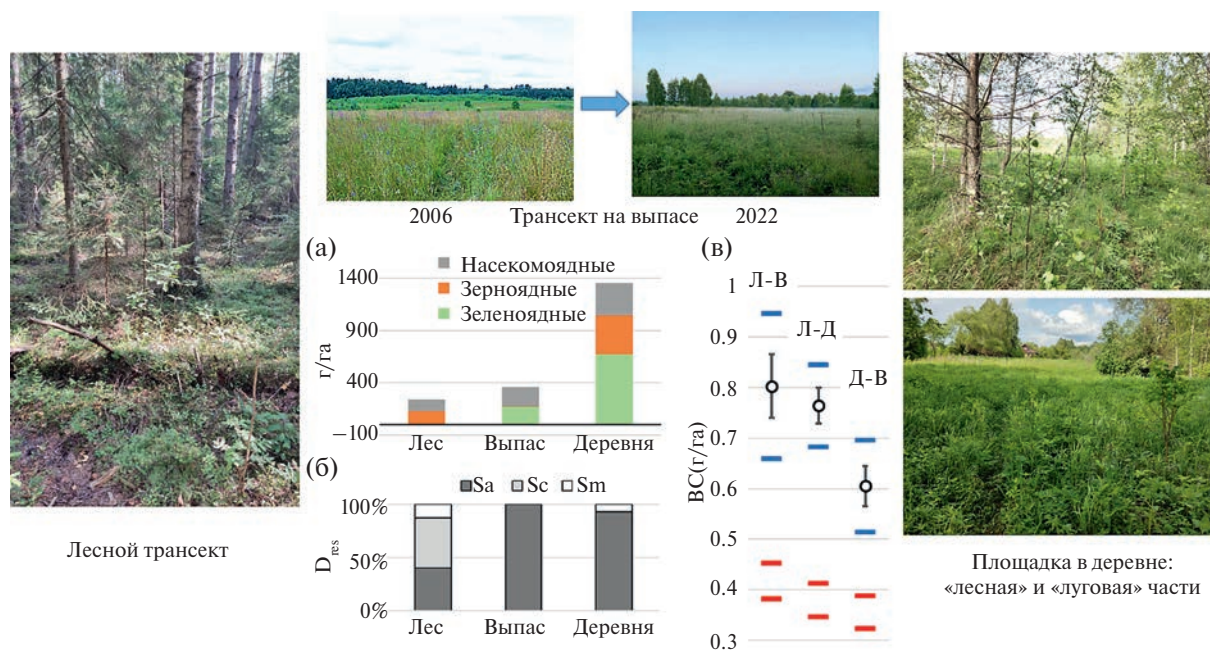


Рис. 8. Ресурсные потоки в “исторической” (лес), “новой” (зброшенный выпас) и “гибридно” (зброшенная территория деревни) экосистемах: а — общая характеристика структуры потоков ресурса, оцененная по биомассе оседлых особей с разной трофической стратегией; б — структура разнообразия оседлого населения землероек: Sa — *S. araneus*, Sc — *S. caecutiens*, Sm — *S. minutus*; в — попарное сравнение структуры ресурсных потоков в разных экосистемах на основе биомассы оседлого населения (BC — несходство Брея-Кёртиса): среднее, усы — SE, синие штрихи — CI межгодовых колебаний BC — индекса при попарном сравнении выборок (100 итераций), красные штрихи CI для ожидаемого отсутствия различий (межгодовые колебания BC внутри выборок, 100 итераций).

дерновиной из местных злаков. Такие участки не зарастают лесом, по крайней мере, в течение десятилетий. За 17 лет наших наблюдений на заброшенном выпасе изменения были связаны только с ростом отдельных берез (фото на рис. 8). Мелкие млекопитающие представлены убиквидами — обыкновенной (*S. araneus*), и малой (*S. minutus*) бурозубками, и интразональными серыми полевками *Microtus oeconomus*, *M. agrestis*, *M. arvalis* (редко).

“Гибридные” экосистемы не имеют четкого определения и, часто рассматриваются вместе с “новыми” (Mori *et al.*, 2017). Тем не менее, эти системы удобно выделять, так как в них сочетаются потоки ресурсов, возникшие в “новых” и сложившиеся в “исторических” экосистемах (Hobbs *et al.*, 2014). Можно ожидать, что именно в “гибридных” экосистемах будет наблюдаться наибольшая продуктивность и наибольшее разнообразие. На территории заброшенных в 1990-х годах деревенских приусадебных участков (в нашем районе это около 3% территории) сформировались своеобразные местообитания, сочетающие свойства лесных (исторических) и пастбищных (новых) экосистем. На местах бывших строений и огородов выросла молодая древесная растительность (ольха, береза, единичные сосны и ели), обильно — рудеральная флора, возникли пятна разнотравных и злаковых лугов (фото на рис. 8). Мы склонны квалифицировать эту систему как “гибридную”, так как она сформировалась за счет сочетания элементов “исторической” и “новой” экосистем.

Для того, чтобы оценить основные потоки ресурса, мы классифицировали виды по основным пищевым стратегиям. Полевки рода *Microtus* основную часть диеты которых составляют вегетативные части растений (Hansson, Larsson, 1978; Wiczorek *et al.*, 2015), считали “зеленоядными”. Несмотря на то, что диета рыжей полевки разнообразна, в питание вида, помимо семян, входят разнообразные плоды и вегетативные части растений (Hansson, 1985), ее считали “зерноядной”, так как для этого вида критически важны семена деревьев (Abt, Bock, 1998). Основу питания землероек-бурозубок составляют беспозвоночные более полутора десятка различных таксонов: насекомые, паукообразные, многоножки, моллюски, дождевые черви (Ивантер и др., 1973; Churchfield, 1990, 1994; Churchfield *et al.*, 1997; Ивантер, Макаров, 2001; Бобрецов, 2004). Основу питания большинства видов (частота встречаемости в желудках более 90%) составляют личинки, куколки и имаго насекомых. Исходя из этого, землероек, по выражению С. Чёрчфильда (Churchfield, 1990) “прожорливых хищников беспозвоночных” мы обозначили как “насекомоядных”.

На рис. 8а показаны ресурсные потоки в трех сравниваемых местообитаниях. В лесу — “исторической” экосистеме, поток, связанный с потребителями вегетативных частей наземных растений,

отсутствует, а поток, связанный с “насекомоядными” видами, диверсифицирован (рис. 8б) В “новой” экосистеме появляется мощный поток ресурса для “зеленоядных” видов, но полностью исчезает поток, связанный с потребителями древесных семян, а ресурсный поток “насекомоядных” целиком занят единственным видом — обыкновенной бурозубкой. На заброшенной территории деревни — в “гибридной” экосистеме представлены все три потока, причем с заметно большей мощностью. Последнее, по-видимому, объясняется более высоким качеством почвы, которая ранее культивировалась. Вместе с тем, поток ресурсов для “насекомоядных” слабо структурирован: основная часть его занята обыкновенной бурозубкой, на территории присутствует малая, но полностью отсутствует средняя бурозубка. Структура ресурсных потоков, оцененная с учетом видового разнообразия (ВС индекс для биомассы), во всех местообитаниях высокодостоверно ($p < 0.0001$) различается (рис. 8 в).

Наиболее интересна структура ресурсных потоков у насекомоядных. Рассмотрим подробнее эту группу мелких млекопитающих. Несмотря на то, что пищевые ниши разных видов бурозубок широко перекрываются, размеры предпочитаемых жертв связаны с размерами землероек (Kirkland, 1991; Churchfield, 1994; Churchfield, Sheftel, 1994). У бурозубок известен самый высокий среди наземных млекопитающих уровень метаболизма (Taylor, 1998; Ochosińska, Taylor, 2005) и они должны постоянно питаться, причем количество потребляемого корма примерно равно массе их тела (Churchfield, 1990). Время голодания не превышает нескольких часов (Gębskiński, 1971; Hanski, 1994). Землеройки не специализируются на определенных видах жертв, но чувствительны к их дефициту. С учетом того, что доминирующие виды беспозвоночных быстро сменяются в течение летнего сезона, а землеройки могут существовать только в условиях изобилия кормов, можно заключить, что бурозубки тесно связаны с локальным разнообразием беспозвоночных животных. Таким образом, благополучие землероек в общем виде свидетельствует о состоянии разнообразия беспозвоночных, связанных с местообитанием. Более мелкие виды бурозубок, находятся в большей зоне риска (Hanski, 1994). Соответственно, присутствие разных видов может характеризовать несколько разные ресурсные потоки. Наиболее выгодное положение занимает обыкновенная бурозубка, которая может переключаться на доминирующие виды жертв в самом широком размерном диапазоне (Hanski, 1994). Средняя бурозубка, связана с лесными беспозвоночными. Этот вид предложено рассматривать, как индикатор благополучия бореальных лесов Тверской области (Викторов, Истомин, 2002; Истомин, 2014). Малая бурозубка находится в наибольшей зоне риска, и, как и для других маленьких видов бурозубок И. Хански (Hanski, 1994) предполагает,

что ее устойчивость связана с широким и интенсивным расселением.

В лесу, сообщество землероек наиболее сбалансированно: причем средняя бурозубка доминирует, составляя 47% среди оседлых землероек. Это позволяет предполагать благополучие лесной экосистемы. На заброшенный выпас выходит только обыкновенная бурозубка, что может свидетельствовать об уменьшении разнообразия беспозвоночных животных и исчезновение устойчивых ресурсных потоков. Учитывая способность обыкновенной бурозубки переключаться на доминирующие виды жертв разных размерных групп (Hanski, 1994), можно предполагать, что при обеднении разнообразия беспозвоночных, у землероек усиливается фактор межвидовой конкуренции. В частности, известно, что в обедненных горных местообитаниях пищевые ниши обыкновенной и малой бурозубок полностью перекрываются (Klenovšek *et al.*, 2013). Малая бурозубка, как самый чувствительный к доступным кормам вид, удерживается в среде благодаря способности к быстрой колонизации эпизодически пригодных местообитаний. Этот вид, как оседлый, постоянно присутствует в лесу, на бывшем выпасе отмечены только нереидентные зверьки, а на заброшенной территории деревни малая бурозубка появляется в небольшом количестве. Таким образом, можно предполагать, что только в “исторической” экосистеме разнообразие беспозвоночных животных достаточно для обеспечения ресурсных потоков бурозубок всех трех размерных категорий.

В этой статье мы ограничились лишь самым поверхностным сравнением, наблюдаемых местообитаний, так как детальный анализ представляет объемную самостоятельную работу.

Упругость экосистемы, точка перелома

Как мы отмечали выше (сообщение 1), способность системы сохранять основные функции — ее упругость, или сопротивляемость, определяется реакциями составляющих систему видов и включает три уровня: реакции особей, реакции популяций и реакцию самой системы (Falk, 2017; Falk *et al.*, 2019; 2022).

Несмотря на кажущуюся нам значимость внешнего фактора, виды могут оказаться нечувствительными к нему, популяционная система позволяет виду быстро компенсировать воздействие, или воздействие вызывает значимые изменения популяционной структуры, приводящие к реорганизации экосистемы. Триггером резкого изменения состояния экосистемы может, в частности, являться погодная аномалия — “климатический эпизод” (Ruthrof *et al.* 2018, Falk *et al.*, 2022). Вместе с тем, эффект климатического воздействия может различаться у разных видов и по-разному проявляться в разных экосистемах (Ims *et al.*, 2008). Разные

виды могут быть по-разному восприимчивы к действию внешнего фактора и существенно различаются по популяционным возможностям восстановления (Щипанов, 2002; Shchipanov, 2019).

Различные реакции видов можно проиллюстрировать на примере популяций рыжей полевки, полевки-экономки и обыкновенной бурозубки в ответ на катастрофическую засуху. В 2010 г. на европейской территории России сочетание значительного снижения осадков и высоких температур (до 39°C) вызвали самую большую за последние 100 лет засуху, сопровождавшуюся последующим снижением уровня грунтовых вод в течение нескольких последующих лет (Сидоренков, Сумерова, 2011). Рыжая полевка появилась на зарастающем лесом поле в 2009 г и с этого времени продолжает циклически увеличивать свою численность без заметных изменений траектории (рис. 9а). Обыкновенная бурозубка в 2010 г. попадает в глубокую депрессию, но уже на следующий год популяция восстанавливается и возвращается к прежнему режиму функционирования (рис. 9б). Полевка экономка после 2010 года пытается восстановить численность, но с 2011 г., на всей наблюдаемой территории, последовательно снижает обилие, о чем можно судить по направленному движению аттрактора (рис. 9в). На зарастающем поле этот вид исчез после 2011 г.

Изменение структуры местообитания (см. фото на рис. 7) и потоков ресурсов на зарастающем поле (9 г) по времени совпадают с изменением популяционного режима полевки-экономки на территории в целом. Менялось ли сообщество в зарастающем лесу постепенно, или можно обнаружить точку перелома? Мы оценили различия (*BC* — индекс) между сообществами, в каждом текущем году с сообществами, наблюдаемыми во все остальные годы: 2006 с 2007, 2008, ... 2023; 2007 с 2008, 2009, ..., 2023, и т.д. В результате, различия в матрице сообществ, наблюдавшихся до 2010 г. (2006–2010) с сообществами в период 2006–2010 оказались меньше, чем с сообществами, наблюдавшимися в период с 2011 по 2022 гг. Различия в матрице сообществ, наблюдавшихся с 2011 г. (2012–2023), напротив, меньше с сообществами в период 2012–2022. Сообщество в 2011 году, сильно отличается и от сообществ до 2010, и от сообществ после 2011 г (рис. 9 д, е). Таким образом, 2011 г. можно считать точкой перелома. Для оценки значимости изменений мы сравнили *BC* в матрице сообществ до 2010 г. (2006–2010) и в период 2012–2022 годы. То же самое сравнение провели и для матрицы *BC*-индексов сообществ после 2011 г. (2012–2022) с матрицей в периоды 2006–2010 годы. Различия *BC* индексов в обоих случаях оказались высокодостоверны ($p < 0.0001$). Таким образом, мы можем говорить о значимом изменении ресурсных потоков в экосистеме, резко произошедших в 2011 г. Триггером этого изменения

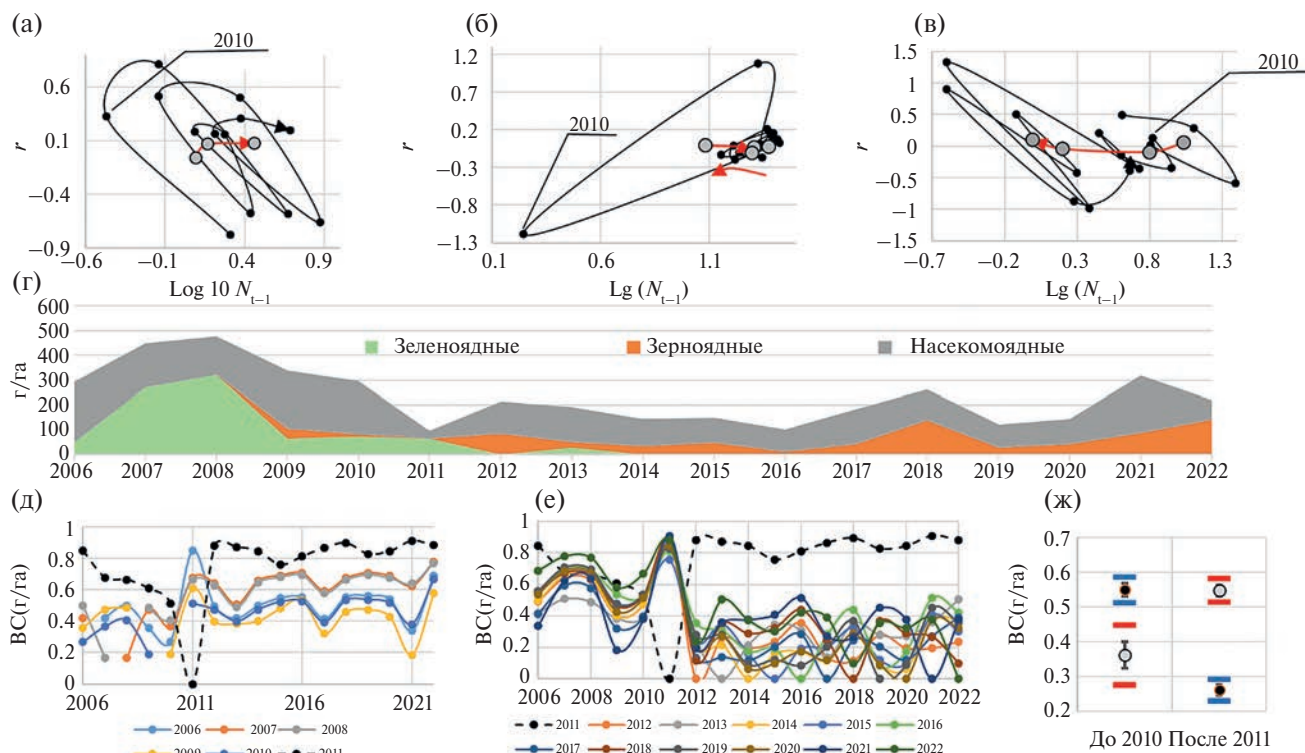


Рис. 9. Изменения в динамике видов и структуре сообщества на зарастающем лесном поле.

а, б, в-траектории популяционной динамики *M. glareolus* (а); *S. araneus* (б); *M. oeconomus* (в) в районе работ в целом. r – прирост популяции, рассчитанный как $\log_{10} (N_t/N_{t-1})$, где N_t – плотность популяции в год t , а N_{t-1} – плотность популяции в предыдущем году; $г$ – структура основных потоков ресурсов, оцененная по биомассе оседлых особей с разной трофической стратегией на зарастающем поле; д, е – несходство сообществ на зарастающем поле, оцененное по биомассе оседлого населения (BC – несходство Брея-Кёртиса). Сообщества в период 2006–2011 (д) и в период 2011–2022 (е) с сообществами в другие годы; ж – средний уровень колебаний BC -индекса (усы – SE) в матрице сообществ 2006–2010 гг. (серый маркер, красные штрихи – границы 95% доверительного интервала) и сообществ 2012–2024 гг. (черный маркер, синие штрихи) с сообществами до 2010 и после 2011 г. Доверительный интервал получен в 100 итерациях методом “складного ножа”.

явилось “климатическое событие” 2010 г., которое вызвало смену режима популяции полевки-экономки. Важно подчеркнуть, что этот вид больше связан с другими местообитаниями. Таким образом, реорганизация сообщества на зарастающем поле была вызвана изменениями в популяционном режиме вида, в основном, обитающем за пределами рассматриваемого местообитания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы переживаем период расцвета краткосрочных грантов, а долгосрочные исследовательские программы, при этом, остаются в тени. В частности, редки публикации о долгосрочных изменениях в состоянии наземных экосистем, основанные на анализе популяционных структур, входящих в них видов. Вместе с тем, как мы постарались показать в первом сообщении, ясное понимание состояния и динамики экосистем, оценка их реакции на управляющее или непреднамеренное

воздействие является основой для выработки решений по сохранению/созданию благоприятной среды обитания человека. В настоящее время в мире интенсивно разрабатывается теоретическая основа мониторинговых исследований. Однако публикации, посвященные оценкам устойчивости и динамики экосистем, в основном представлены теоретическими разработками. Эмпирические данные представлены краткосрочными оценками видового разнообразия богатых видами таксонов легко доступных для наблюдения. Исследования, основанные на долгосрочных наблюдениях динамики обилия и структуры популяций, являются единичными. Вместе с тем, в последнее время все большее внимание уделяется оценке функциональной значимости изменений разнообразия, и, с этой точки зрения привлекают, довольно скромные по видовому богатству, сообщества мелких млекопитающих. Преимуществом этих животных является относительно короткий жизненный цикл и сравнительно небольшая площадь участка обитания особи, что

определяет их реактивность и тесную связь с конкретным местообитанием. При использовании методов индивидуального мечения может быть получена информация, позволяющая отдельно оценивать потоки ресурсов, связанных с локальным участком (оседлое население) и зависящие от состояния популяции в целом (нерезиденты). С учетом того, что питание многих видов довольно полно изучено, на основе оценок изменения биомассы, возможна обоснованная интерпретация изменений в структуре потоков трофических ресурсов — функциональном состоянии экосистемы. В данном сообщении мы попытались показать, что долгосрочные наблюдения за сообществом мелких млекопитающих с помощью индивидуального мечения дают возможность анализировать основные актуальные, теоретически разработанные, аспекты оценки динамики экосистем, рассмотренные нами в первом сообщении.

Работа выполнена в рамках государственного задания № АААА-А18-118042490060-1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андреева Е. А., Зуева Л. В., Богданова Л. А. Проблемы экологии и природопользования постагрогенные леса в ландшафтах Тверской области // Татищевские чтения: актуальные проблемы науки и практики: Материалы XVIII Международной научно-практической конференции. Тольятти, 23–24 апреля 2021 года. — Тольятти: Волжский ун-в. им. В. Н. Татищева, 2021. Т. 2. С. 228–231.
- Бобрецов А. В. Обыкновенная бурозубка // Млекопитающие Печоро-Илычского заповедника. Сыктывкар: Коми Книж. Изд-во, 2004. С. 46–64.
- Большаков В. Н., Бойков В. Н., Бойкова Ф. И., Гашиев Н. С., Евдокимов Н. Г., Шарова Л. П. Влияние локального истребления на население и структуру популяций грызунов лесных биоценозов // Экология. 1973. № 6. С. 57–65.
- Викторов Л. В., Истомин А. В. Млекопитающие — Mammalia // Красная Книга Тверской области. Тверь, 2002. С. 154–161.
- Емельянова А. А., Сидорова О. В. Сравнительная характеристика видового состава мелких млекопитающих естественных и антропогенно изменённых биотопов Дарвинского и Центрально-Лесного заповедников в период 2005–2009 гг. // Вестн. ТвГУ. Сер.: Биология и экология, 2014. № 2. С. 48–62.
- Ивантер Э. В., Ивантер Т. В., Лобкова М. П. Питание бурозубок в Карелии // Труды гос. Заповедника “Кивач”. Петрозаводск, 1973. Т. 2. С. 148–163.
- Ивантер Э. В., Макаров А. М. Территориальная экология землероек-бурозубок (Insectivora, Sorex). Петрозаводск: Петр.ГУ., 2001. 272 с.
- Истомин А. В. Сообщества мелких млекопитающих в биоиндикации экосистем Центрально-Лесного заповедника // Современные тенденции развития особо охраняемых природных территорий. Государственный природный заповедник “Полюстровский”, 2014. С. 215–222.
- Калинин А. А. Оседлая и нерезидентная составляющая численности массовых видов мелких млекопитающих по данным учета на линиях живоловок // Зоол. журн. 2012. Т. 91. № 6. С. 759–768.
- Калинин А. А. Плотность оседлого и нерезидентного населения мелких лесных млекопитающих // Зоол. журн. 2023. Т. 102. № 1. С. 106–114. doi: 10.31857/S0044513422120054
- Калинин А. А. Последствия учетов мелких млекопитающих методом безвозвратного изъятия // Экология. 2019. № 3. С. 211–216. doi: 10.1134/S0367059719030053
- Калинин А. А., Куприянова И. Ф., Александров Д. Ю. Вклад плотности оседлого населения и нерезидентной активности мелких млекопитающих в результаты учетов методом безвозвратного изъятия // Сиб. экол. журн. 2020. № 2. С. 233–242. doi: 10.15372/SEJ20200209
- Калинин А. А., Олейниченко В. Ю., Купцов А. В., Александров Д. Ю., Демидова Т. Б. Пространственная изменчивость оседлого и нерезидентного населения мелких млекопитающих в лесном массиве // Зоол. журн. 2018. Т. 97. № 4. С. 474–485. doi: 10.7868/S0044513418040098
- Карасева Е. В., А. Ю. Телицына. Методы изучения грызунов в полевых условиях. М.: Наука, 1996. 227 с.
- Карасева Е. В., Телицына А. Ю., Жигальский О. А. Методы изучения грызунов в полевых условиях. М.: ЛКИ, 2008. 416 с.
- Коли Г. Анализ популяций позвоночных. М.: Мир, 1979. 362 с.
- Кряжмский Ф. В. Факторы среды и оптимальная регуляция бюджетов времени и энергии у гомотермных животных // Экологическая энергетика животных. Свердловск: УрО АН СССР, 1988. С. 5–33.
- Кучерук В. В. Количественный учет важнейших видов вредных грызунов и землероек // Методы учета численности и географического распределения наземных позвоночных. М.: АН СССР, 1952. С. 9–46.
- Кучерук В. В. Новое в методике количественного учета вредных грызунов и землероек // Организация и методы учета птиц и вредных грызунов. М.: АН СССР, 1963. С. 159–184.
- Лукьянов О. А. Изучение плотности оседлых и потока мигрирующих особей в популяциях мелких млекопитающих методом безвозвратного изъятия // Экология. 1991. № 6. С. 36–47.
- Лукьянов О. А. Оценивание численности оседлых и потока транзитных особей в популяциях мелких млекопитающих методом многосуточного безвозвратного изъятия в односторонние ловушки // Экология. 1989. № 2. С. 32–41.
- Маркова А. К., ван Кольфсхотен Т., Бохнке Ш., Косинцев П. А., Мол И., Пузаченко А. Ю., Симакова А. Н.,

- Смирнов Н. Г., Верпоорте А., Головачев И. Б. Эволюция экосистем Европы при переходе от плейстоцена к голоцену (24–8 тыс. л. н.). М.: КМК, 2008. 556 с.
- Попов С. В., Чабовский А. В., Шилова С. А., Щипанов Н. А. Механизмы формирования пространственно-этологической структуры поселений полуденной песчанки в норме и при искусственном понижении численности // Фауна и экол. Грызунов. М.: МГУ, 1989. Т. 17. С 5–58.
- Сидоренков Н. С., Сумерова К. А. Причины аномально жаркого лета 2010 года на европейской территории России // Тр. Гидрометцентра России. 2011. № 346. С. 191–205.
- Смирнов В. С. Методы учета численности млекопитающих. // Труды Ин-та биологии Уральского филиала АН СССР. Свердловск, 1964. Т. 39. 88 с.
- Хански И. Ускользящий мир. Экологические последствия утраты местообитаний. Litres, 2022. 344 с.
- Шефтель Б. И. Методы учета численности мелких млекопитающих // Rus. J. of Ecosyst. Ecol. 2018. Т. 3. № 3. С. 1–21. doi: 10.21685/2500-0578-2018-3-4
- Шилова С. А. Популяционная экология как основа контроля численности мелких млекопитающих. М.: Наука, 1993. 201 с.
- Шмидт-Ниельсон К. Размеры животных: почему они так важны? М.: Мир, 1987. 259 с.
- Щипанов Н. А. Определение популяционной плотности мелких млекопитающих путем мечения на линиях живоловок // Зоол. журн. 2020. Т. 99. № 9. С. 1062–1076. doi: 10.31857/S0044513420090159
- Щипанов Н. А. К экологии малой белозубки (*Crociodura suaveolens*) // Зоол. журн. 1986. Т. 66. № 7. С. 1051–1060.
- Щипанов Н. А. Количественная оценка величины нерезидентной составляющей в локальных популяциях обыкновенных бурозубок (*Sorex araneus*) // Зоол. журн. 2021. Т. 100. № 8. С. 938–946. doi: 10.31857/S0044513421080110
- Щипанов Н. А. Расселение обыкновенных бурозубок *Sorex araneus* L. мечта и “несчастливая случайность” // Экология. 2023. № 2. С. 121–131. <https://doi.org/10.31857/S0367059723020117>
- Щипанов Н. А. Функциональная организация популяции-возможный подход к изучению популяционной устойчивости: прикладной аспект (на примере мелких млекопитающих) // Зоол. журн. 2002. Т. 81. № 9. С. 1048–1077.
- Щипанов Н. А. Функциональная структура популяции и видовое разнообразие. Мелкие млекопитающие // Аспекты биоразнообразия: сб. тр. Зоол. муз. МГУ. М.: КМК, 2016. Т. 54. С. 478–513.
- Щипанов Н. А., Александров Д. Ю., Александрова А. В. Распространение спор микроскопических грибов мелкими млекопитающими // Зоол. журн. 2006. Т. 85. № 1. С. 101–113.
- Щипанов Н. А., Артамонов А. В., Титов С. В., Павлова С. В. Пространственно-генетическое структурирование популяции у обыкновенной бурозубки *Sorex araneus* (Lipotyphla, Mammalia): изменчивость микросателлитных маркеров // Генетика. 2020. Т. 56. № 8. С. 922–932. doi: 10.31857/S0016675820080135
- Щипанов Н. А., Калинин А. А., Олейниченко В. Ю., Демидова Т. Б., Гончарова О. Б., Нагорнев Ф. В. К методике изучения использования пространства землеройками-бурозубками // Зоол. журн. 2000. Т. 79. № 3. С. 362–371.
- Щипанов Н. А., Касаткин М. В. Разногодичные изменения пространственной структуры популяции полевки-экономки в зоне тундры // Бюлл. МОИП. Отд. биол. 1992. Т. 97. № 4. С. 14–27.
- Щипанов Н. А., Купцов А. В. Нерезидентность у мелких млекопитающих и ее роль в функционировании популяции // Успехи совр. биол. 2004. Т. 124. № 1. С. 28–43.
- Щипанов Н. А., Купцов А. В., Демидова Т. Б., Калинин А. А., Александров Д. Ю., Павлова С. В. Нерезидентность и расселение у обыкновенных бурозубок (*Sorex araneus*, Insectivora) // Зоол. журн. 2008а. Т. 87. № 3. С. 331–343.
- Щипанов Н. А., Купцов А. В., Калинин А. А., Демидова Т. Б., Олейниченко В. Ю., Ляпина М. Г., Александров Д. Ю., Распопова А. А., Павлова С. В., Тумасьян Ф. А. Мелкие млекопитающие юго-востока Тверской области. Сообщение 1. Фауна и биотопическое распределение // Сиб. экол. журн. 2010. Т. 17. № 5. С. 799–806.
- Щипанов Н. А., Купцов А. В., Калинин А. А., Олейниченко В. Ю. Конуса и живоловки ловят разных землероек-бурозубок (Insectivora, Soricidae) // Зоол. журн. 2003. Т. 82. № 10. С. 1258–1265.
- Щипанов Н. А., Литвинов Ю. Н., Шефтель Б. И. Экспресс-метод оценки локального биологического разнообразия сообщества мелких млекопитающих // Сиб. экол. журн. 2008б. Т. 15. № 5. С. 783–791.
- Щипанов Н. А., Ляпина М. Г. Участок и проявление нерезидентности рыжими полевками (*Clethrionomys glareolus*), интерпретация данных мечения на линиях живоловок // Экология. 2008. № 5. С. 379–384.
- Щипанов Н. А., Шилова С. А., Смирин Ю. М. Структура и функции различных поселений лесной мыши (*Apodemus uralensis*) // Успехи совр. биол. 1997. Т. 117. № 5. С. 624–639.
- Abt K. F., Bock W. F. Seasonal variations of diet composition in farmland field mice *Apodemus* spp. and bank voles *Clethrionomys glareolus* // Acta Theriol. 1998. V. 43. № 4. P. 379–389.
- Anthony N. M., Ribic C. A., Bautz R., Garland Jr, T. Comparative effectiveness of Longworth and Sherman live traps // Wildlife Society Bull. 2005. V. 33. № 3. P. 1018–1026.

- [https://doi.org/10.2193/0091-7648\(2005\)33\[1018:CEOLAS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2193/0091-7648(2005)33[1018:CEOLAS]2.0.CO;2)
- Bekoff M., Mech L. D. Simulation analyses of space use: home range estimates, variability, and sample size // Behavior Research Methods, Instruments, and Computers. 1984. V. 16. P. 32–37.
<https://doi.org/10.3758/BF03201046>
- Burt W. H. Territoriality and home range concepts as applied to mammals // J. Mammal. 1943. V. 24. № 3. P. 346–352.
<https://doi.org/10.2307/1374834>
- Calhoun J. B., Casby J. U. Calculation of home range and density of small mammals // Public Health Monograph. 1958. V. 55. P. 1–24.
- Cayuela H., Rougemont Q., Prunier J. G., Moore J. S., Clobert J., Besnard A., Bernatchez L. Demographic and genetic approaches to study dispersal in wild animal populations: A methodological review // Molecular ecol. 2018. V. 27. № 20. P. 3976–4010.
<https://doi.org/10.1111/mec.14848>
- Chao A., Colwell R. K., Lin C. W., Gotelli N. J. Sufficient sampling for asymptotic minimum species richness estimators // Ecology. 2009. V. 90. № 4. P. 1125–1133.
<https://doi.org/10.1890/07-2147.1>
- Churchfield S. Foraging strategies of shrews and the evidence from field studies // Advances in the Biology of Shrews. Pittsburgh, PA: Carnegie Museum of Natural History. Spec. Publ. 1994. V. 18. P. 77–88.
- Churchfield S. The Natural History of Shrews. London: Christopher Helm, 1990. 198 p.
- Churchfield S., Hollier J., Brown V. K. Population dynamics and survivorship patterns in the common shrew *Sorex araneus* in southern England // Acta Theriol. 1995. V. 40. P. 53–68
- Churchfield S., Sheftel B. I. Food niche overlap and ecological separation in a multi-species community of shrews in the Siberian taiga // J. Zool. 1994. V. 234. № 1. P. 105–124.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1994.tb06059.x>
- Churchfield S., Sheftel B. I., Moraleva N. V., Shvarts E. A. Habitat occurrence and prey distribution of a multi-species community of shrews in the Syberian taiga // J. Zool. 1997. V. 241. P. 55–71.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1997.tb05499.x>
- Cramer M. J., Willig M. R. Habitat heterogeneity, species diversity and null models // Oikos. 2005. V. 108. № 2. P. 209–218.
<https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2005.12944.x>
- Dickman C. R. Rodent-ecosystem relationships: a review. Ecologically-based Management of Rodent Pests // Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR). Canberra, 1999. V. 59. P. 113–133.
- Erlinge S., Hoogenboom J., Agrell J., Nelson J., Sandell M. Density-related home range size and overlap in adult field voles (*Microtus agrestis*) in southern Sweden // J. Mammal. 1990. V. 71. P. 597–603.
<https://doi.org/10.2307/1381799>
- Falk D. A. Restoration ecology, resilience, and the axes of change 1 // Ann. Missouri Bot. Gard. 2017. V. 102. № 2. P. 201–216.
<https://doi.org/10.3417/2017006>
- Falk D. A., van Mantgem P. J., Keeley J. E., Gregg R. M., Guiterman C. H., Tepley A. J., Young D. J. N., Marshall L. A. Mechanisms of forest resilience // For. Ecol. Manag. 2022. V. 512. P. 120129.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2022.120129>
- Falk D. A., Watts A. C., Thode A. E. Scaling ecological resilience // Front. Ecol. Evol. 2019. P. 275.
<https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00275>
- Fleming C. H., Calabrese J. M., Mueller T., Olson K. A., Leimgruber P., Fagan W. F. From fine-scale foraging to home range doi.org/10.1007/978-94-009-5772-5_1 es: a semi-variance approach to identifying movement modes across spatiotemporal scales // Am. Nat. 2014. V. 183. P. 154–167.
- Fleming C. H., Fagan W. F., Mueller T., Olson K. A., Leimgruber P., Calabrese J. M. Rigorous home range estimation with movement data: a new autocorrelated kernel density estimator // Ecology. 2015. V. 96. № 5. P. 1182–1188. <https://doi.org/10.1890/14-2010.1>
- Fleming T. H. Life-history strategies // Ecology of small mammals / Eds Stoddart D. M. London: Chapman and Hall, 1979. P. 1–61.
https://doi.org/10.1007/978-94-009-5772-5_1
- Flowerdew J. R., Shore R. F., Poulton S. M., Sparks T. H. Live trapping to monitor small mammals in Britain // Mammal rev. 2004. V. 34. № 1–2. P. 31–50.
<https://doi.org/10.1046/j.0305-1838.2003.00025.x>
- Fontúrbel F. E. A methodological approach to assess the small mammal community diversity in the temperate rainforest of Patagonia // Mammal. Biology. 2010. V. 75 № 4. P. 294–301.
<https://doi.org/10.1016/j.mambio.2009.03.012>
- Gębsiński M. Oxygen consumption in starving shrews // Acta Theriol. 1971. V. 16. P. 288–292.
- Gurnell J., Flowerdew J. R. Live trapping small mammals. Mammal Society. London. UK, 2006. 48 p.
- Hanski I. Metapopulation ecology. Oxford University Press, 1999. 313 p.
- Hanski I. Population biological consequence of body size in *Sorex* // Advances in the Biology of Shrews. Pittsburgh, PA: Carnegie Museum of Natural History. Spec. Publ. 1994. V. 18. P. 15–26.
- Hansson L. The food of bank voles, wood mice and yellow-necked mice // Symp Zool Soc London, 1985. V. 55. 41–168.
- Hansson L., Larsson T. B. Vole diet on experimentally managed reforestation areas in northern Sweden. Ecography, 1978. V. 1. № 1. P. 16–26.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.1978.tb00934.x>
- Hobbs R. J., Higgs E., Hall C. M., Bridgewater P., Chapin III F. S., Ellis E. C., Ewe J. J., Hallett L. M., Harris J., Hulvey K. B., Jackson S. T., Kennedy P. L., Kueffer C., Lach L., Lantz T. C., Lugo A. E., Mascaro J., Murphy S. D., Nelson C. R., Perring M. P., Richardson D. M., Seastedt T. R., Standish R. J., Starzomski B. M.,

- Suding K. N., Tognetti P. M., Yakob L., Yung L.* Managing the whole landscape: historical, hybrid, and novel ecosystems // *Front. Ecol. Environ.* 2014. V. 12. № 10. P. 557–564.
<https://doi.org/10.1890/130300>
- Hobbs R. J., Higgs E., Harris J. A.* Novel ecosystems: implications for conservation and restoration // *Trends Ecol. Evol.* 2009. V. 24. № 11. P. 599–605.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.05.012>
- Hobbs R. J., Higgs E. S., Hall C.* (eds.). *Novel ecosystems: intervening in the new ecological world order.* Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2013. 368 p.
- Hopkins H. L., Kennedy M. L.* An assessment of indices of relative and absolute abundance for monitoring populations of small mammals // *Wildlife Society Bul.* 2004. V. 32. № 4. P. 1289–1296.
[https://doi.org/10.2193/0091-7648\(2004\)032\[1289:AAOIOR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2193/0091-7648(2004)032[1289:AAOIOR]2.0.CO;2)
- Howard W. E.* Innate and environmental dispersal of individual vertebrates // *Am. Midland Nat.* 1960. V. 63. P. 152–161.
<https://doi.org/10.2307/2422936>
- Ims R. A., Henden J. A., Killengreen S. T.* Collapsing population cycles // *Trends Ecol. Evol.* 2008. V. 23. № 2. P. 79–86.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.10.010>
- Jackson S. T., Hobbs R. J.* Ecological restoration in the light of ecological history // *Science.* 2009. V. 325. № 5940. P. 567–569.
<https://doi.org/10.1126/science.1172977>
- Jennrich R. L., Turner F. B.* Measurement of noncircular home range // *J. Theoretical Biol.* 1969. V. 22. P. 227–237.
[https://doi.org/10.1016/0022-5193\(69\)90002-2](https://doi.org/10.1016/0022-5193(69)90002-2)
- Kelt D. A., Van Vuren D.* The ecology and macroecology of mammalian home range area // *Am. Nat.* 2001. V. 157. P. 637–635.
- Kirkland G. L. Jr.* Competition and coexistence in shrews (Insectivora, Soricidae). Eds. Findley J. S., Yates. *The biology of soricinae.* Special Publication. Albuquerque: The Museum of Southwestern Biology, University of New Mexico, 1991. P. 15–22.
- Klenovšek T., Novak T., Čas M., Trilar T., Janžekovič F.* Feeding ecology of three sympatric *Sorex* shrew species in montane forests of Slovenia // *Folia Zool.* 2013. V. 62. № 3. P. 193–199.
<https://doi.org/10.25225/fozo.v62.i3.a4.2013>
- Koepfel J. W., Slade N. A., Hofman R. S.* A bivariate home range model with possible application to ethological data analyses // *J. Mammal.* 1975. V. 56. P. 81–90.
<https://doi.org/10.2307/1379608>
- Koshev Y., Atanassov N., Kocheva M.* Relation between body mass and home range size of small mammals // *Proceedings of the Balkan Scientific Conference of Biology in Plovdiv (Bulgaria),* 2005. P. 437–444.
- Kueffer C., Kaiser-Bunbury C. N.* Reconciling conflicting perspectives for biodiversity conservation in the Anthropocene // *Frontiers in Ecology and the Environment.* 2014. V. 12. № 2. P. 131–137.
<https://doi.org/10.1890/120201>
- Le Borgne H., Hébert C., Dupuch A., Bichet O., Pinaud D., Fortin D.* Temporal dynamics in animal community assembly during post-logging succession in boreal forest. *PloS one*, 2018. V. 13 № 9. P. e0204445.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204445>
- Leslie P. H., Davis D. H. S.* An attempt to determine the absolute number of rats on a given area // *J. Anim. Ecol.* 1939. № 8. P. 94–113.
- Lidicker W. Z.* Dispersal // *The American Society of Mammalogists. Special publication,* 1985. № 8. P. 420–454.
- Lidicker W. Z., Stenseth N. C.* To disperse or not to disperse: who does it and why? // *Animal dispersal: small mammals as a model* / eds Stenseth N. C., Lidicker W. Z.; London: Chapman & Hall, 1992. P. 21–36.
- Lukyanov O.* Analysis of dispersal in small mammal population // *Polish Ecological Studies.* 1994. V. 20. № 3–4. P. 237–242.
- Lukyanov O., Walkowa W., Adamczyk K.* Analysis of mortality and emigration in a house mouse population // *Pol. Ecol. Stud.* 1994. V. 20. № 3–4. P. 243–247.
- Mohr C. O.* Table of equivalent populations North American small mammal populations // *Am. Midland Nat.* 1947. V. 37. P. 223–249.
- Moran P. A. P.* A mathematical theory of animal trapping // *Biometrika.* 1951. V. 38. № 3/4. P. 307–311.
<https://doi.org/10.2307/2332576>
- Mori A. S., Lertzman K. P., Gustafsson L.* Biodiversity and ecosystem services in forest ecosystems: a research agenda for applied forest ecology // *J. App. Ecol.* 2017. V. 54. № 1. P. 12–27.
<https://doi.org/10.1111/1365-2664.12669>
- Nichols H. J., Jordan N. R., Jamie G. A., Cant M. A., Hoffman J. I.* Fine-scale spatiotemporal patterns of genetic variation reflect budding dispersal coupled with strong natal philopatry in a cooperatively breeding mammal // *Molecular ecology.* 2012. V. 21. № 21. P. 5348–5362.
<https://doi.org/10.1111/mec.12015>
- Ochośńska D., Taylor J. R. E.* Living at the physiological limits: Field and maximum metabolic rates of the common shrew (*Sorex araneus*) // *Physiol. Biochem. Zool.* 2005. V. 78. P. 808–818.
- Ostfeld R. S., Canham C. D.* Density-dependent process in meadow voles: an experimental approach // *Ecology.* 1995. V. 76. № 2. P. 521–532.
<https://doi.org/10.2307/1941210>
- Peakall R., Ruibal M., Lindenmayer D. B.* Spatial autocorrelation analysis offers new insights into gene flow in the Australian bush rat, *Rattus fuscipes* // *Evolution.* 2003. V. 57. № 5. P. 1182–1195.
<https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00327.x>
- Pearce J., Venier L.* Small mammals as bioindicators of sustainable boreal forest management // *For. Ecol. Manag.* 2005. V. 208. № 1–3. P. 153–175.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.11.024>
- Pinotti B. T., Pagotto C. P., Pardini R.* Wildlife recovery during tropical forest succession: assessing ecological drivers of community change // *Biotropica.* 2015. V. 47. № 6. P. 765–774.
<https://doi.org/10.1111/btp.12255>

- Ribble D. O., Stainely S. Home ranges and social organization of syntopic *Peromyscus boytlii* and *P. truei* // J. Mammal. 1998. V. 79. P. 932–941.
<https://doi.org/10.2307/1383101>
- Ronce O. How does it feel to be like a rolling stone? Ten questions about dispersal evolution // Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 2007. V. 38. P. 231–253.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095611>
- Ruthrof K. X., Breshears D. D., Fontaine J. B., Froend R. H., Matusick G., Kala J., Miller B. P., Mitchell P. J., Wilson S. K., van Keulen M. Subcontinental heat wave triggers terrestrial and marine, multi-taxa responses // Sci. Rep. 2018. V. 8. № 1. P. 13094.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-31236-5>
- Schoener T. W. An empirically based estimate of home range // Theoretical Population Biol. 1981. V. 20. P. 281–325.
[https://doi.org/10.1016/0040-5809\(81\)90049-6](https://doi.org/10.1016/0040-5809(81)90049-6)
- Shchipanov N. A. Population resilience of small mammals. Why it is important and what it depends // Povolzh. J. Ecol. 2019. № 4. P. 503–523.
<https://doi.org/10.35885/1684-7318-2019-4-503-523>
- Shchipanov N. A., Artamonov A. V., Titov S. V., Pavlova, S. V. Fluctuating fine-scale spatial genetic structure in the common shrews (Eulipotyphla, Mammalia) // Integrative Zool. 2023. V. 88. № 3. P. 469–492.
<https://doi.org/10.1111/1749-4877.12681>
- Shchipanov N. A., Demidova T. B., Artamonov A. V., Pavlova S. V. Seasonal and interannual survivorship in the common shrew: the early bird catches the worm // Mammalian Biology. 2022. V. 102. P. 73–85.
<https://doi.org/10.1007/s42991-021-00200-8>
- Shchipanov N. A., Kalinin A. A., Demidova T. B., Oleinichenko V. Yu., Aleksandrov D. Yu., Kouptzov A. V. Population ecology of red-toothed shrews, *Sorex araneus*, *S. caecutiens*, *S. minutus*, and *S. isodon*, in Central Russia // Merrit J., Curchfield S., Hutterer R., Sheftel B. (eds) Advances in the biology of shrews II. Special publication of the international society of shrew biologists, New York, 2005. P. 201–216.
- Shilova S. A., Tchabovsky A. V. Population response of rodents to control with rodenticides // Current Zool. 2009. V. 55. № 2. P. 81–91.
<https://doi.org/10.1093/czoolo/55.2.81>
- Sikes R. S. Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists. (2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education // J. Mammal. 2016. V. 97. № 3. P. 663–688.
<https://doi.org/10.1093/jmammal/gyw078>
- Slade N. A., Swihart R. K. Home range indices for the hispid cotton rat (*Sigmodon hispidus*) in Northern Kansas // J. Mammal. 1983. V. 64. P. 580–590.
<https://doi.org/10.2307/1380513>
- Stenseth N. C., Lidicker W. Z. The study of dispersal: a conceptual guide. // Animal dispersal: small mammals as a model / eds Stenseth N. C., Lidicker W. Z.; London: Chapman & Hall, 1992. P. 5–20.
https://doi.org/10.1007/978-94-011-2338-9_1
- Swihart R. K. Homerange attributes and spatial structure of woodchuck populations // J. Mammal. 1992. V. 73. P. 604–618.
doi.org/10.2307/1382032
- Taitt M. J. The effect of extra food on small rodent population. I. Deermouse (*Peromyscus maniculatus*) // J. Anim. Ecol. 1981. V. 50. P. 111–124.
<https://doi.org/10.2307/4035>
- Taitt M. J., Krebs C. J. The effect of extra food on small rodent population. II. Voles // J. Anim. Ecol. 1981. V. 50. P. 125–137.
<https://doi.org/10.2307/4036>
- Taylor J. R. E. Evolution of energetic strategies in shrews // Evolution of shrews. Białowieża: Mammal Res. Inst., 1998. P. 309–346.
- Torre I., Arrizabalaga A., Flaquer C. Three methods for assessing richness and composition of small mammal communities // J. Mammal. 2004. V. 85. № 3. P. 524–530.
<https://doi.org/10.1644/BJK-112>
- Torre I., Freixas L., Arrizabalaga A., Díaz M. The efficiency of two widely used commercial live-traps to develop monitoring protocols for small mammal biodiversity // Ecol. Indic. 2016. V. 66. P. 481–487.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.02.017>
- Torre I., Ribas A., Puig-Gironès R. Effects of Post-Fire Management on a Mediterranean Small Mammal Community // Fire. 2023. V. 6. № 1. P. 34.
<https://doi.org/10.3390/fire6010034>
- Wieczorek M., Zub K., Szafrńska P. A., Książek A., Konarzewski M. Plant–herbivore interactions: silicon concentration in tussock sedges and population dynamics of root voles // Functional Ecology. 2015. V. 29. № 2. P. 187–194.
<https://doi.org/10.1111/1365-2435.12327>
- Worton B. J. Kernel methods for estimating the utilization distribution in home-range studies // Ecology. 1989. V. 70. № 1. P. 164–168.
<https://doi.org/10.2307/1938423>
- Zippin C. An evaluation of the removal method of estimating animal populations // Biometrics. 1956. V. 12 № 2. P. 163–189.
<https://doi.org/10.2307/3001759>

The role of biodiversity in ensuring the functioning of ecosystems.

Message2. Small mammals in the ecological monitoring system: data obtaining, assessment of diversity, state and dynamics of ecosystems

© 2024 N. A. Shchipanov[#], A. A. Kalinin

*A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution
Leninsky Prospekt, 33, Moscow, 119071 Russia*

[#]E-mail: shchipa@mail.ru

We consider the possibility of assay biodiversity and functional diversity of the ecosystem, as well as interpretation of the results obtained based on our work experience and previously obtained data. The prospects for studying of small mammals without removal from wild is discussed. We discuss distinguishing in a sample the resident component, which makes it possible to characterize local resource flows, and non-resident component, dependent on the state of the territory as a whole. A description of the capture-mark-recapture protocol, methods for assessing spatial activity, calculating density of resident population, and the completeness of species richness estimate is provided. The estimates of animal number per unit of trapping effort in pooled sample, the population density of residents, and the index of the non-residents flow are compared. The possibility of analysing of the resource flows in “historical”, “novel” and “hybrid” ecosystems, as well as using data to analyse the resilience of the ecosystem and detect the threshold point is considered.

Key words: small mammals, capture-mark-recapture, spatial activity, residents' density, resource flows, ecosystem resilience

ДЕПРЕССИЯ ЧИСЛЕННОСТИ СВЕТЛОГО ХОРЯ (*MUSTELA EVERSMANII*) НА ЮЖНОМ УРАЛЕ

© 2024 г. Н. В. Киселева

Ильменский государственный заповедник Южно-Уральского федерального научного центра минералогии и геоэкологии УрО РАН, г. Миасс, Челябинская обл., 456317 Россия

E-mail: natakis17@gmail.com

Поступила в редакцию 21.11.2022 г.

После доработки 26.05.2023 г.

Принята к публикации 31.05.2023 г.

Рассмотрена многолетняя динамика численности светлого хоря (*Mustela eversmanii* Lesson, 1827) на территории Челябинской области. Анализ динамики численности куньих проведен на основе данных мониторинга методом зимнего маршрутного учета (ЗМУ) проводимого ежегодно. В течение последних нескольких лет светлый хорь не регистрируется при проведении учетных работ в горных лесах, т.е. его численность либо крайне низкая, либо он совсем исчез. В лесостепных территориях за 12 лет, с 2008 г. по 2020 г. численность хоря снизилась почти в 90 раз, с 3058 ос. до 34 ос. Приводятся данные о численности основных видов добычи хоря — двух видов сусликов (*Spermophilus major* и *S. pygmaeus*) и обыкновенного сурка (*Marmota bobak*). Рассматривается гипотеза о возможном влиянии американской норки на численность светлого хоря.

Ключевые слова: светлый хорь (*Mustela eversmanii*), Челябинская область, динамика численности

DOI: 10.31857/S1026347024020105, **EDN:** WBIVKG

На территории Челябинской области обитают 6 видов мелких хищников семейства куньи (*Mustelidae*): горностаи (*Mustela erminea* Linnaeus, 1758), ласка (*Mustela nivalis* Linnaeus, 1766), лесная куница (*Martes martes* Linnaeus, 1758), колонок (*Mustela sibirica* Pallas, 1773), степной или светлый хорь (*Mustela eversmanii* Lesson, 1827) и американская норка (*Neovison vison* Schreber, 1777). Сведений об обитании на Южном Урале лесного или темного хоря (*Mustela putorius* Linnaeus, 1758) нет, хотя считается, что этот вид присутствует в смешанных и лиственных лесах, но избегает настоящей тайги (Большаков, 1977). Среди архивных материалов о заготовках пушнины в 30-е — 60-е годы XX в. и в различных материалах о численности пушных зверей в Челябинской области темный хорь характеризуется как вид, совсем не имеющий промыслового значения. Шкурки его отсутствовали в заготовках (Отчет..., 1941). Относительно территории Уральского региона в целом, есть современные данные о том, что лесной хорь обнаружен в горной темнохвойной тайге на 230–270 км северней от ранее известной границы своего ареала, т.е. лесной хорь предположительно расселяется к северу (Поляков, Мещерягина, 2016).

Светлый хорь предпочитает селиться в степи и лесостепи, но встречается и в горных лесах. В лесных территориях он чаще выбирает берега рек и озер, где численность его основной

пищи — грызунов выше. Встречается он на полях и около населенных пунктов (Большаков, 1977). По данным архивных материалов наибольшая плотность светлого хоря наблюдалась в лесостепи, но встречался по всей области, большого экономического значения не имел (Устинов, 1956), например, в 1941–1946 гг. ежегодно добывалось всего около 600 шкурок (Отчет..., 1941).

В Ильменском заповеднике в первой половине XX в. светлый хорь встречался по всей территории, но численность его была низкая. Часто он встречался по берегам озер, в долинах горных рек, в елово-пихтовых лесах, вблизи селений за границами заповедника (Ушков, 1993). В фондовой коллекции музея Ильменского заповедника хранятся три черепа степного хоря, добытые на территории заповедника в 1941 и 1951 гг. В 80-е годы XX в. на территории заповедника степной хорь очень часто встречался и отлавливался в прибрежных биотопах оз. Аргаяш (личное сообщение П. Чашина).

Считается, что в Западной Сибири распространение светлого хоря тесно связано с распространением обыкновенного хомяка (*Cricetus cricetus* Linnaeus, 1758) и большого суслика (*Spermophilus major* Pallas, 1779) (Терновский, Данилов, 1965; Терновская, Терновский, 1975). О связи распространения обыкновенного хомяка и светлого хоря на Южном Урале данных нет. До середины XX в. на

территории Ильменского заповедника обыкновенный хомяк был обычным, но немногочисленным видом, встречался даже в лесных массивах в горах (Ушков, 1993), за последние двадцать пять лет хомяк на территории заповедника отмечен только дважды (Киселева, 2021).

В степных и лесостепных территориях Челябинской области обитают два вида сусликов большой (*Spermophilus major* Pallas, 1779) и малый (*Spermophilus pygmaeus* Pallas, 1778). Около восточной границы Ильменского заповедника встречаются немногочисленные поселения суслика большого (Киселева, 2021).

За последнее столетие популяция светлого хоря значительно сократилась на территории Европы, но из-за отсутствия систематических исследований мало что известно о его статусе и распространении, также в последние несколько десятилетий отмечается значительное сокращение численности лесного хоря, в связи с чем он оказался во многих регионах на грани исчезновения (Файбич, 2012; Šálek *et al.*, 2013).

Исследования светлого хоря в пределах Южного Урала ранее не проводились. Предлагаемая работа представляет собой попытку систематизировать данные, имеющиеся о виде, оценить современное состояние вида в регионе, тенденции изменения его населения, рассмотреть факторы, влияющие на его численность.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Челябинская область расположена в центре материка Евразии, в двух частях света — Европе и Азии, ее площадь составляет 87,9 тыс. км², протяженность с севера на юг — около 490 км (от 51°57' с.ш. до 56°22' с.ш.), с запада на восток — около 400 км (от 57°05' в.д. до 63°25' в.д.), граничит с Республикой Башкортостан, на севере — со Свердловской областью. Через Челябинскую область проходит южная граница лесной и северная — степной зоны, между которыми имеется переходная полоса лесостепи. Северо-западная часть области представлена горными хребтами высотой от 400–600 до 1000–1400 м над ур. м., покрытыми хвойными, лиственными (березовыми, осиновыми, ольховыми) и смешанными лесами. Горы Южного Урала — система меридиональных хребтов разной высоты от 400–600 до 1000–1400 м над ур. м., разделенные широкими межгорными понижениями. Горная тайга занимает около одной четверти территории области. В западной части области в лесную тайгу вклиниваются два участка лесостепи Предуралья. В центральной горной части встречаются участки с петрофитно-степной растительностью (Куликов, 2005).

В Ильменском заповеднике значительно остепнены березняки, на южных склонах

распространены степные сообщества — кустарниковые, лугово-степные и петрофитно-степные. Под пологом разреженных лиственнично-сосновых лесов часто встречаются степные кустарники (*Spiraea crenata*, *Cotoneaster melanocarpus*, *Cerasus fruticosa*) и лугово-степные виды травянистых растений. Лугово-степные комплексы занимают около 16% территории заповедника (Колесников, 1961; Куликов, 2005).

Представленные в этом исследовании данные о численности светлого хоря и американской норки основаны на результатах ежегодных зимних маршрутных учетов численности (ЗМУ) за период с 2002 г. по 2020 г. (Комплексный..., 2008; Государственный..., 2021), проводимых ежегодно по всей территории России в соответствии «Методическими указаниями по осуществлению государственного мониторинга охотничьих ресурсов и среды их обитания методом зимнего маршрутного учета» (Методические ..., 2012). Ежегодный зимний учет охотничьих животных в Челябинской области включает охотничьи хозяйства и особо охраняемые территории (национальные парки, заповедник, охотничьи заказники).

Кроме сведений, полученных при проведении ЗМУ, в данной работе использованы результаты многолетних полевых работ с 2007 по 2020 гг., во время которых собирали экскременты кунных, часть из них (42 образца) была проанализирована с помощью ПЦР анализа митохондриальной ДНК для определения видовой принадлежности (Киселева, Сорокин, 2013). Всего обследовано 68 рек и ручьев, 15 озер и разрезов (карьеров), в том числе на территории Ильменского заповедника, национальных парков «Таганай» и «Зюраткуль», Аршинского государственного природного зоологического заказника.

При обнаружении следов и экскрементов кунных для определения видовой принадлежности в горнолесном поясе и лесостепи, расставляли камеры-фотоловушки в период с июня по октябрь с 2010 по 2017 гг. Камеры устанавливали по берегам рек, на их притоках и ручьях, озерах и разрезах. Около водоемов всегда наблюдается повышенная активность диких животных, поэтому размещение по берегам камер-фотоловушек более результативно, чем на других участках. Особенно высока активность животных в местах пересечения водотоков с дорогами. Как правило, фотоловушки устанавливали в скрытых местах на расстоянии 0,5–2 метра от уреза воды, не выше 20–40 см от поверхности земли с учетом рабочих параметров каждого типа камер. Длительность экспозиции камеры в одной точке составляла от 6 до 12 суток, затем следовала перестановка на другое место. Для привлечения хищников к фотоловушкам была использована запаховая приманка — экскременты домашних хорьков (*Mustela putorius furo*) (Киселева, 2020б). Всего отработано около 3500

ловушко-суток, сделано более 1000 результативных фотоснимков.

В дополнение к вышеперечисленным методам проводили опросы охотников, егерей, местных жителей о встречах хорей или их следов. Следы хоря на влажном субстрате и пыли довольно хорошо отличаются от следов других видов куньих (Сидорович, 2006), поэтому полученные сведения могли быть весьма достоверными. Межвидовые агрессивные отношения наблюдали при содержании куньих разных видов и разного происхождения (диких и клеточных) в вольерных условиях питомника в Ильменском заповеднике (Kiseleva, 2016).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Численность светлого хоря на всей территории Челябинской области в период с 1970 по 1990 г. составляла 900–2390 особей (табл. 1) (Матвеев, Бакунин, 1994). За восемнадцать лет, с 2002 г. по 2020 г. она выросла от 3114 в 2002 г. до 3598 ос. в 2014 г. и снизилась до 300 ос. в 2020 г. (рис. 1; табл. 2) (Комплексный..., 2008; Государственный..., 2021).

Территория Челябинской области отличается большим разнообразием физико-географических условий, поэтому динамика численности светлого хоря в разных ландшафтно-географических условиях не одинакова. За последние десятилетия особенно быстрое снижение численности хоря произошло в горных лесах. Если в 2008 г. в горных лесах насчитывалось 284 ос., начиная с 2009 г. его численность катастрофически резко сократилась (табл. 3). В 2013–2014 гг. в двух горных районах (Саткинский и Миасский) хори еще встречались, но за последние пять лет при проведении ЗМУ хоря в горных лесах не регистрируется (табл. 3).

Таблица 1. Численность светлого хоря и американской норки на территории Челябинской области за период с 1970 по 1990 гг. (кол-во особей) (Матвеев, Бакунин, 1994)

Вид	Годы				
	1970	1980	1987	1988	1990
Светлый хорь	900	1280	2380	2290	2390
Американская норка	1500	* _	2860	3760	3640

* Примечание. * нет данных.

При определении видовой принадлежности экскрементов с помощью ПЦР анализа митохондриальной ДНК хорь также не был обнаружен, из 42 образцов, которые были подвергнуты анализу, 66.6% образцов принадлежали американской норке, 28.6% лесной кунице, 4.8% речной выдре (Киселева, Сорокин, 2013). На фотоснимках камер-фотоловушек зарегистрировано 7 видов хищных млекопитающих: лисица рыжая, енотовидная собака и 5 видов, относящихся к мустелидам (выдра, колонок, американская норка, горноста́й, лесная куница). Светлый хорь отсутствовал на снимках (Киселева, 2020).

В лесостепных и степных территориях области светлый хорь в настоящее время еще встречается, но численность его за период с 2008 г. по 2020 г. также сократилась, особенно существенно в лесостепи и несколько меньше в степи (рис. 2). Например, в Троицком районе (лесостепь) в 2008 г. по данным ЗМУ насчитывалось 1230 особей, однако уже в 2014–2020 гг. не было встречено ни одного зверька. В Красноармейском районе (степь) в 2008 г. насчитывалось 2364 ос., за период с 2018 г. по 2020 г. было учтено всего от 14 до 24 ос. (Комплексный ... 2008; Государственный... , 2021). За



Рис. 1. Многолетняя динамика численности светлого хоря (*Mustela erversmanii*) в Челябинской области.

Таблица 2. Численность светлого хоря (*M. eversmanii*) и американской норки (*N. vison*) на территории Челябинской области за период с 2002 г. по 2020 г. (кол-во особей) (Государственный мониторинг..., 2007)

Годы	Хорь светлый	Норка американская
2002	3114	3503
2003	3590	*_
2004	3598	3563
2005	3085	5274
2006	2920	*_
2007	2440	4522
2008	1777	5246
2009	2324	6280
2010	1238	6684
2011	2057	5981
2012	1249	5402
2013	1184	6155
2014	965	5287
2015	282	6072
2016	307	6081
2017	632	12401
2018	391	7542
2019	677	7673
2020	300	7629

Примечание. * нет данных.

двенадцать лет, с 2008 г. по 2020 г., численность светлого хоря в лесостепных районах снизилась почти в 90 раз, с 3058 ос. в 2008 г. до 26–34 ос. в 2019–2020 г. (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Численность степного хоря за последнее столетие значительно сократилась во многих европейских странах, сокращение численности и фрагментация его населения продолжились и в начале XXI в. Вид оценивается как быстро исчезающий в Австрии, Чехии, Молдове, Словакии и Болгарии (Šálek et al., 2013).

В России за период 2012–2021 гг. также прослеживается отрицательная динамика численности хорей (лесного и степного). В 2021 г. общая численность хорей составила 44.0 тыс. ос., против 47.1 тыс. ос. в 2020 г. В общей численности лесной и степной хори имеют примерно равные доли — около 50%. Практически все население лесного хоря (более 90%) обитает в Центральном, Северо-Западном и Приволжском федеральных округах (7.5 тыс. ос. 5.6 и 4.1 тыс. ос.,

соответственно). Значительное снижение показателя (на 55.4%) в 2021 г. по сравнению с 2020 г. отмечено в Северо-Западном федеральном округе. Численность степного хоря осталась на уровне близком к 2020 г. Основное поголовье степного хоря обитает в Южном и Сибирском федеральных округах (10.6 тыс. ос. и 6.5 тыс. ос. соответственно), что составляет порядка 70% от его общей численности. Возможно, как и по другим мелким кунным (горностаи, солонгой, ласка), снижение численности является результатом недоучета (Характеристика..., 2021).

Основными причинами снижения численности степного хоря в Европе считаются утрата местобитаний, фрагментация степных и лугопастбищных местобитаний, интенсивное сельское хозяйство, истощение основной добычи — европейского суслика (*Spermophilus citellus* Linnaeus, 1766) и обыкновенного хомяка (*C. cricetus* Linnaeus, 1758) (Matějů et al., 2008), расширение транспортной инфраструктуры (Šálek et al., 2013), охота (Enzinger et al., 2006).

В Челябинской области эти факторы в разной степени, конечно, присутствуют особенно в лесостепи и степи. Однако следует отметить, что в этих зонах довольно большие площади заняты охотничьими хозяйствами, заказниками и другими особо охраняемыми территориями, на которых хозяйственная деятельность не ведется или в значительной степени ограничена. Так, площадь ООПТ в лесостепной зоне составляет 219.2 тыс. га, в степной — 145.4 тыс. га (Природное ..., 2012).

Охота на степного хоря в последние десятилетия не практикуется в связи с развитием

Таблица 3. Численность светлого хоря (*M. eversmanii*) и американской норки (*N. vison*) в горнолесном поясе на территории Челябинской области за период с 2008 г. по 2020 г. (кол-во особей)

Годы	Хорь светлый	Норка американская
2008	284	2079
2009	14	3534
2010	0	3741
2011	0	2875
2012	0	2740
2013	21	2467
2014	106	2665
2015	9	2490
2016	0	2559
2017	0	2542
2018	0	2648
2019	0	2561
2020	0	2595

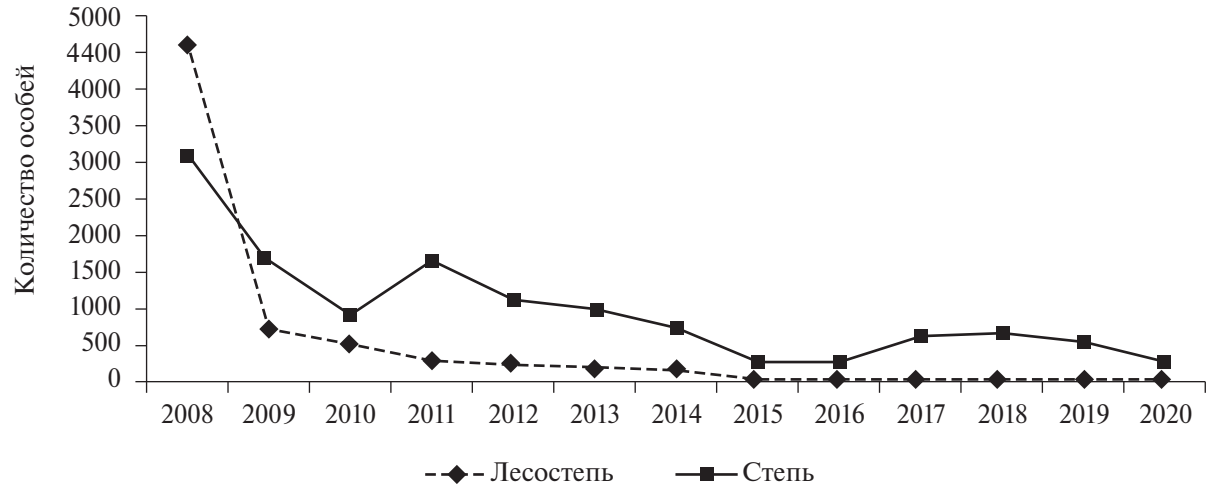


Рис. 2. Многолетняя динамика численности светлого хоря (*Mustela eversmanii*) в лесостепной и степной зонах Челябинской области.

клеточного звероводства и невостребованностью его шкурок. Для горнолесного пояса эти факторы имеют гораздо меньшее значение, т.к. здесь хозяйственная деятельность связана в основном с лесозаготовками.

Возможность гибели хорей на дорогах, конечно, существует особенно в степной и лесостепной зонах, но вряд ли она имеет катастрофический характер, в горах дорожная сеть развита слабо.

В степных и лесостепных территориях Челябинской области основной добычей светлого хоря служат суслики (большой и малый) и сурок (*Marvota bobac* Müller, 1776). За последние годы сурок стал довольно многочисленным благодаря организации Троицкого государственного природного заказника. Так, в 2010 г. численность сурка составляла 13806 ос., в 2020 г. — 22227 ос., при этом в отдельные годы, например, в период с 2015 г. по 2017 г. численность сурка возрастала до 33796–35279 ос. Численность сусликов на территории области за период с 2017 г. по 2020 г. составляла: суслик большой — от 2055 ос. в 2017 г. до 3029 ос. в 2020 г., суслик малый — от 19343 ос. в 2017 г. до 12541 ос. в 2020 г. (Государственный мониторинг, ...2021). Численность этих видов в двух районах Челябинской области — Красноармейском (лесостепь) и Троицком (степь), в которых в последние годы

зафиксировано резкое падение численности светлого хоря (см. выше), за последние годы колебалась по годам, но не испытывала катастрофических падений (табл. 4) и значит не может служить причиной исчезновения светлого хоря.

В горнолесном поясе суслики отсутствовали всегда, численность хомяка была изначально низкой и поэтому эти виды вряд ли могли определять уровень численности и распространение хоря. Опросы местных жителей, егерей и охотников проводимые нами и охотоведом заповедника П. Чашиным (личное сообщение) показали, что светлый хорь в настоящее время не встречается в горнолесном поясе.

Тенденция к снижению численности светлого хоря прослеживается в Башкирии. По данным ЗМУ численность хоря в Башкирии в 2019 г. составляла 584 ос., в 2020 г. — 411, в 2021 г. — 315 ос. Следует отметить, что наибольшая численность хоря в Башкирии зарегистрирована в районах с остепененными территориями (Благоварский, Баймакский, Ермекеевский), и регистрируется он чаще в биотопе “поле”. В горнолесном Белорецком районе Башкирии по данным ЗМУ также как в горной тайге Челябинской области светлый хорь в последние годы не встречается (Результаты зимнего..., 2019; Ведомость расчета..., 2020, 2021).

Таблица 4. Изменение численности большого суслика (*Spermophilus major*) и малого суслика (*Spermophilus pygmaeus*) в Красноармейском (лесостепь) и Троицком (степь) районах Челябинской области за период с 2017 по 2020 гг.

	Красноармейский район				Троицкий район			
	2017	2018	2019	2020	2017	2018	2019	2020
Суслик большой	56	164	901	166	131	181	143	496
Суслик малый	987	1143	575	1664	0	5	0	77

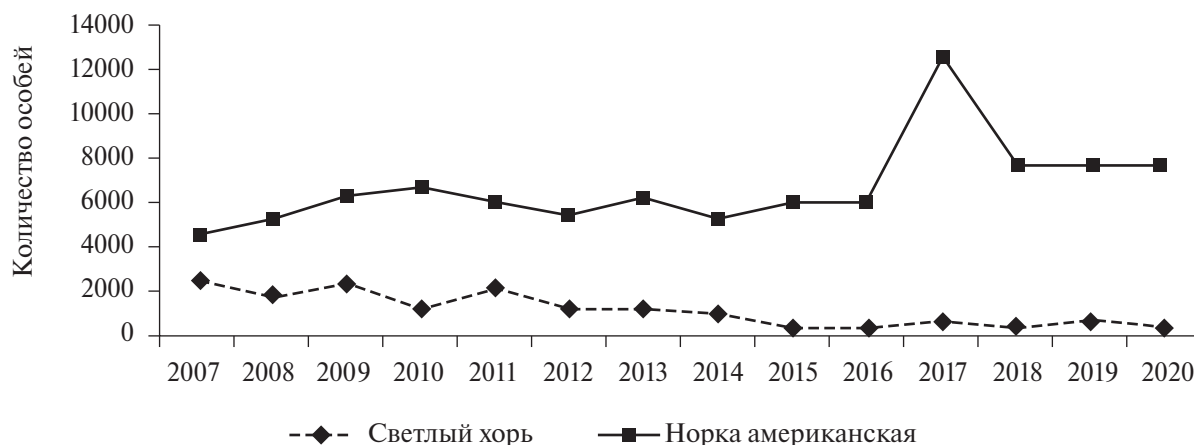


Рис. 3. Многолетняя динамика численности светлого хоря (*M. eversmanii*) и американской норки (*N. vison*) в Челябинской области.

В европейских странах среди причин, приводящих к исчезновению светлого хоря, называют возможную интрогрессивную гибридизацию с европейским хорем или свободно живущими домашними хорями *Mustela cf. furo* (Davison *et al.*, 1999; Vallo *et al.*, 2007). На Южном Урале такая возможность исключена, т.к. хорьков фуру нет в дикой природе, лесной хорь отсутствует в регионе.

Возможной причиной депрессии численности светлого хоря в регионе может служить появление и широкое распространение инвазивного вида — американской норки (*Neovison vison* Schreber, 1777). В Челябинской области проводили выпуски американской норки в 1960 г. В горнолесной части области за шесть лет, с 1960 по 1966 г., было выпущено 478 зверьков. Через 22 года после выпусков американская норка составляла 83.3% среди добытых норок (Матвеев, Бакунин, 1994). В настоящее время она заселила самые различные водоемы, проникла в лесостепные и степные районы (Киселева, Сорокин, 2013).

Все эти годы численность американской норки нарастала (рис. 3). Так, если в 1970 г. ее численность на всей территории области составляла всего 1500 ос., то в 1990 г. — уже 3640 ос. (табл. 1). К 2019–2020 гг. численность американской норки в области увеличилась по сравнению с 90-ми годами в 2 раза, достигнув более чем 7629 ос., в отдельные годы ее численность превышала 12400 ос. (табл. 2). В лесостепных районах численность американской норки возросла с 810 ос. в 2008 г. до 2147 ос. в 2020 г., т.е. почти в 2.7 раза. Выпуски американской норки в лесостепи и степи не проводилось, произошло ее саморасселение из горной тайги.

Для гор Южного Урала характерен мозаичный тип распределения грызунов (Садыков и др., 1984) и значительный диапазон колебания их численности (Киселева, 2020а). Самыми благоприятными биотопами для мышевидных грызунов, являются

долины лесных ручьев и речек, низины с обильным подлеском и валежником.

Американские норки в природных условиях имеют индивидуальные участки, которые располагаются линейно вдоль береговой линии водоема. Территория одного зверька тянется узкой полосой вдоль берега водоема, и ресурсы ограничены этой полосой. Светлый хорь в лесных территориях чаще выбирает берега рек и озер, где численность его основной пищи — грызунов выше (Большаков, 1977). Принимая во внимание особенности пространственного размещения грызунов в горных лесах, их приуроченность к прибрежным местообитаниям и биотопические предпочтения светлого хоря представляется весьма обоснованным допущение, что в прибрежных биотопах степной хорь может сталкиваться с американской норкой. Оба вида — облигатные хищники, но норка — универсал в еде, светлый хорь более специализирован (Jędrzejewska *et al.*, 2001; Zalewski *et al.*, 2021). Используя сходные пищевые ресурсы, куньи тяготеют к участкам со сходными ресурсами, что может приводить к частичному перекрытию их экологических ниш (Sidorovich *et al.*, 2000; Zalewski *et al.*, 2021). Хорошо известно, что везде, где американская норка поселилась, она воздействует как на свои жертвы, так и на своих конкурентов (Macdonald, Harrington, 2003). В Западной Сибири появление американской норки вызвало сокращение численности горностая и колонка (Колонок..., 1977; Силин, 1992). На северо-востоке европейской части России увеличение плотности американской норки вызвало сокращение численности горностая (Соколовский, 1998). В Беларуси распространение американской норки привело к уменьшению почти вдвое плотности лесного хорька (Данилов и др., 1976; Куньи в Беларуси, 1997). В настоящее время происходит активное проникновение американской норки в прибрежные местообитания Казахстана и исследователи считают,

что из-за этого *M. eversmanii* может столкнуться с проблемами (Maran et al., 2016).

Многими исследованиями показано, что интродуцированные чужеродные виды могут негативно влиять на местных конкурентов, сокращая их популяции или устраняя их из экосистем (Sax et al., 2007). Распространение американской норки привело к полному исчезновению европейской норки (*Mustela lutreola* Linnaeus, 1761) на протяжении почти всего ее ареала (Sidorovich, Macdonald, 2001; Maran, 2007; Kiseleva, 2016). На территории Челябинской области европейская норка, кроме горной тайги, встречалась на северо-востоке области в лесостепной и степной зоне на реке Синара. Отдельные особи встречались до конца XX в. при этом численность светлого хоря сохранялась достаточно высокой (Матвеев, Бакунин, 1994). После проникновения в этот район американской норки и после нарастания ее численности европейская норка исчезла. Численность хоря в этом районе в 2008 г. составляла 737 ос., но уже через 9 лет — в 2017 г. численность составила — 80 ос., в 2020 г. только 51 ос. (Государственный..., 2021).

По нашему мнению, важным и даже ключевым фактором, влияющим на численность видов обитающих совместно с американской норкой, является ее агрессивность. Агрессивные взаимодействия между взрослыми американскими норками и другими видами кунных отмечались в дикой природе (Maran et al., 1998; Sidorovich et al., 1999, 2000). Нападения агрессивных самцов американской норки не раз наблюдали по отношению к самцам и самкам европейской норки. Самцы американской норки по следам искали европейских норок и прогоняли их (Maran et al., 1998; Sidorovich et al., 2000).

В природных условиях, как правило, при использовании видами одного и того же местообитания существует разделение активности по времени. Разделение во времени активности между разными видами мы наблюдали при установке камер-фотоловушек на разных реках в горной тайге (Киселева, 2020б). Harrington и Macdonald (2008) также описали разделение ниш во времени между американской норкой и темным хорем.

Однако в случае с американской норкой ее негативное влияние обусловлено не столько конкуренцией и агрессивными взаимоотношениями со взрослыми животными, сколько уничтожением щенков разного возраста разных видов кунных. В питомнике норок в Ильменском заповеднике зарегистрировано несколько случаев, когда самцам американской норки удавалось выбраться из своих вольер. В одном случае самец американской норки совместно с самкой, с которой он спаривался, уничтожили помет из 9 щенков хорьков фуру, возраст которых был 75 дней. Американские норки прорывались в вольер с хорьками целенаправленно, делая подкоп и разрывая сетку. В другом случае самец американской норки уничтожил молодого

трехмесячного самца своего вида (Kiseleva, 2016). Молодые хори в природе в первые месяцы своей жизни, как правило, держатся вместе и для агрессивного самца американской норки представляют легкую добычу. Инфантицид трудно наблюдать в естественной среде, и поэтому очень мало фактов его регистрации и описания, однако есть случаи наблюдения его в природных условиях (García-Díaz, Lizana, 2013).

Прямое уничтожение (убийство) щенков хоря или щенков других видов кунных, например, европейской норки, на наш взгляд, убедительно объясняет быстрое исчезновение аборигенных видов при вторжении инвазивной американской норки. Дополнительным косвенным свидетельством негативного влияния агрессивности американской норки на численность хоря могут служить данные по смещению соотношения полов в сторону самцов у лесного хоря в присутствии американской норки в природных прибрежных биотопах (Zalewski et al., 2021). Самки хорей намного меньше самцов американской норки и вряд ли могут противостоять их агрессии, в отличие от крупных самцов-хорей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использованные нами данные о современном распространении степного хоря в Челябинской области затронули территории с разными ландшафтными условиями и разным охранным статусом (охотничьи хозяйства, заповедник, заказники, национальные парки), сельскохозяйственные территории и сельские поселения. Проведенный анализ многолетней динамики численности светлого хоря, видовая идентификация экскрементов кунных с помощью ПЦР анализа митохондриальной ДНК, наблюдения с помощью камер-фотоловушек и опросы показали, что во всех природных зонах Южного Урала произошло резкое значительное снижение численности светлого хоря. В горных таежных районах этот вид исчез, в степной и лесостепной зоне встречается фрагментировано и численность его низкая. Численность основной добычи светлого хоря: сусликов и сурка в лесостепной и степной зонах не испытывала катастрофического падения, наоборот, в некоторые годы существенно повышалась и поэтому не могла вызвать депрессию численности хоря. В процесс сокращения численности светлого хоря могли внести свой вклад природные катастрофы (пожары и засуха). Однако постепенный и многолетний характер снижения численности светлого хоря не указывает в пользу этих факторов.

Вполне возможно, что основной причиной депрессии светлого хорька явилось вторжение и распространение инвазивной американской норки, которая заселила все ландшафтные зоны региона.

Особенности ее поведения — крайняя агрессивность и инфантицид, могут обуславливать физическое уничтожение щенков, молодых животных и самок, что быстро приведет к падению численности аборигенного вида. Исследования в природе не всегда дают прямые доказательства характера взаимодействий между видами и поэтому трудно найти четкие причины изменений, происходящих с видами. Необходимы дальнейшие исследования как экологических особенностей светлого хоря, так и его взаимоотношений с инвазивным видом, чтобы выявить причины наблюдаемой депрессии его численности.

Эта работа поддерживалась постоянным институциональным финансированием. Никаких дополнительных грантов для осуществления или направления этого конкретного исследования не были получены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Большаков В. Н. Звери Урала. Свердловск, 1977. 136 с.
- Ведомость расчета численности копытных животных и пушных животных по ЗМУ 2020 год (Министерство природопользования и экологии Республики Башкортостан: <https://ecology.bashkortostan.ru/activity/1018/> (дата обращения: 12.09.2022)
- Ведомость расчета численности копытных животных и пушных животных по ЗМУ 2021 год (Министерство природопользования и экологии Республики Башкортостан: <https://ecology.bashkortostan.ru/documents/active/354318/> (дата обращения: 12.09.2022)
- Государственный мониторинг охотничьих ресурсов и среды их обитания, 2021. <http://old.mineco.gov74.ru> (дата обращения: 19.02.2022)
- Данилов П. И., Туманов И. Л., 1976. Куньи Северо-Запада СССР. Л.: Наука, Ленингр. отд-ние. 256 с.
- Киселева Н. В., Сорокин П. А. Изучение распространения куньих на Южном Урале с помощью неинвазивных методов // Сиб. экол. журн., 2013. № 3. С. 391–398.
- Киселева Н. В. Многолетняя динамика населения рысей полевки в Ильменском заповеднике // Экология, 2020а. № 2. С. 149–155. DOI: 10.31857/S0367059720020079
- Киселева Н. В. Использование фотоловушек для мониторинга хищников сем. *Mustelidae* // Вестник охотоведения, 2020б. Т. 17. № 1. С. 55–59.
- Киселева Н. В. Современное состояние фауны млекопитающих Ильменского заповедника // Вестник Башкирского университета, 2021. Т. 26. № 1. С. 106–110. DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2021.1.17
- Колесников Б. П. Лесорастительные условия и лесохозяйственное районирование Челябинской области // Вопросы восстановления и повышения продуктивности лесов Челябинской области. Тр. Ин-та биологии УФАН СССР. Вып. 25. Свердловск, 1961. С. 3–44.
- Колонок, горностай, выдра. Размещение запасов, экология, использ. и охрана. М.: Наука, 1977. 216 с.
- Комплексный государственный доклад “О состоянии окружающей среды Челябинской области в 2008 году”, раздел 5.1. Состояние и разнообразие животного мира // <https://old.mineco.gov74.ru/htmlpages/Show/protectingthepublic/51Sostoyanieiraznoobraziezhi> (дата обращения: 09.01.2021)
- Куликов П. В. Конспект флоры Челябинской области (сосудистые растения). Екатеринбург — Миасс, 2005. 537 с.
- Куньи в Беларуси. Эволюционная биология, демография и биоценотические связи. Минск: Золотой улей, 1997. 279 с.
- Матвеев А. С., Бакунин В. А. Промысловые звери и птицы Челябинской области. Челябинск, 1994. 383 с.
- Методические указания по осуществлению государственного мониторинга охотничьих ресурсов и среды их обитания методом зимнего маршрутного учета, 2012; <https://docs.cntd.ru/document/608547410> (дата обращения: 09.01.2021)
- Отчет о движении пушмехсырья Челябинской конторы “Заготживсырье” за 1941 и 1946 гг. Челябинск. Госархив.
- Поляков В. Е., Мещерягина С. Г. Находки лесного хорька к северу от известной границы ареала на Урале // Фауна Урала и Сибири, 2016. № 1. С. 192–193.
- Природное наследие Урала. Разработка концепции регионального атласа. Екатеринбург: РИА УрО РАН, 2012. 480 с.
- Результаты зимнего маршрутного учета численности охотничьих ресурсов в 2019 году. Министерство природопользования и экологии Республики Башкортостан: <https://ecology.bashkortostan.ru/documents/active/219508/> (дата обращения: 12.09.2022)
- Садыков О. Ф., Большаков В. Н., Баженов А. В. Пространственная структура популяций лесных полевок // Экология, 1984. № 4. С. 58–64.
- Сидорович В. Е. Атлас-определитель следов деятельности охотничьих животных. Минск, 2006. С. 76–77.
- Синицын А. А. Особенности питания американской норки (*Mustela vison Schreb.*), акклиматизированной в равнинной части Западной Сибири // Экология, 1992. № 5. С. 55–58.
- Сокольский С. М. *Mustela (Lutreola) vison*, американская норка // Фауна европейского Северо-востока России. Млекопитающие. Китообразные. Хищные. Парнопалые. Т. II. Ч. 2. СПб.: Наука, 1998. С. 167–69.

- Терновская Ю. Г., Терновский Д. В. Хорьки // Охота и охотничье хозяйство, 1975. № 6. С. 10–11.
- Терновский Д. В., Данилов О. Н. Материалы по биологии кунных в очагах массового размножения водяной крысы в Барабе // Животный мир Барабы. Новосибирск, 1965. 234 с.
- Устинов Г. Охотничье хозяйство Челябинской области (пояснения к цветной карте “Географическое распространение охотничье-промысловых зверей и птиц в Челябинской области”). Челябинск, 1956. Госархив (рукопись).
- Ушков С. Л. Звери и птицы Ильменского заповедника. Екатеринбург, 1993. 268 с.
- Файбич А. Н. Демографический анализ депрессивной популяции лесного хорька (*Mustella putorius* L.) в Северной Беларуси // Вестник БГУ. Сер. 2. 2012. № 1. С. 43–47.
- Характеристика численности основных видов охотничьих ресурсов в Российской Федерации в 2021 г. // <http://www.ohotcontrol.ru/publication/2021>
- Davison A., Birks J. D. S., Griffiths H. I., Kitchener A. C., Biggins D., Butlin R. K. Hybridization and the phylogenetic relationship between polecats and domestic ferrets in Britain // Biol. Conserv., 1999. V. 87. P. 155–161.
- Enzinger K., Walder C., Gross M., Berg H.-M., Moser D., Herzig B. Vorkommen und Schutz des Ziesels (*Spermophilus citellus*) in Niederösterreich. Wien, 2006. Austria.
- García-Díaz P., Lizana M. Field observation of male infanticide in the American mink (*Neovison vison*) // North-West J. Zool., 2013. V. 9. P. 38–440.
- Harrington L. A., Macdonald D. W. Spatial and temporal relationships between invasive American mink and native European polecats in the Southern United Kingdom // J. Mammal., 2008. V. 89. P. 991–1000. DOI: 10.1644/07-MAMM-A-292.1.
- Jędrzejewska B., Sidorovich V. E., Pikulik M. M., Jędrzejewski W. Feeding habits of the otter and the American mink in Białowieża Primeval Forest (Poland) compared to other European populations // Ecography, 2001. V. 24. P. 165–180.
- Kiseleva N. V. Experimental study of intersexual interactions in the American mink (*Neovison vison*) and intraguild predation // International Journal of Current Research, 2016. V. 8 (10). P. 40722–40725.
- Macdonald D. W., Harrington L. A. The American mink: the triumph and tragedy of adaptation out of context // New Zealand Journal of Zoology, 2003. V. 30. P. 421–441. DOI: 301–4223/03/3004–0421
- Maran T. Conservation biology of the European mink, *Mustela lutreola* (Linnaeus 1761): decline and causes of extinction. Tallinn, 2007. P. 38.
- Macdonald D. W., Kruuk H., Sidorovich V., Rozhnov V. V. The continuing decline of the European mink *Mustela lutreola*: evidence for the intraguild aggression hypothesis // Behavior and ecology of riparian mammals. Cambridge: Cambridge Univ Press, 1998. P. 297–324.
- Maran T., Skumatov D., Abramov A. V. & Kranz A. *Mustela eversmanii*. The IUCN Red List of Threatened Species, 2016: e.T29679A45203762. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016–1.RLTS.T29679A45203762.en>
- Matějů J., Nová P., Uhlíková J., Hulová Š., Cepáková E. Distribution of the European ground squirrel (*Spermophilus citellus*) in the Czech Republic in 2002–2008. Lynx (Praha), 2008. V. 39. № 2. P. 277–294.
- Melero Y., Plaza M., Santulli G., Saavedra D., Gosa'lbez J., Ruiz-Olmo J., Palazo'n S. Evaluating the effect of American mink, an alien invasive species, on the abundance of a native community: is coexistence possible? // Biodivers. Conserv., 2012. V. 21. P. 1795–1809.
- Sax D. F., Stachowicz J. J., Brown J. H., Bruno J. F., Dawson M. N., Gaines S. D., Grosberg R. K., Hastings A., Holt R. D., Mayfield M. M., O'Connor Rice W. R. Ecological and evolutionary insights from species invasions // Trends Ecol Evol., 2007. V. 9. P. 465–471. DOI: 10.1016/j.tree.2007.06.009
- Šálek M., Spassov N., Andera M., Hegyeli Z. Population status, habitat associations, and distribution of the steppe polecat *Mustela eversmanii* in Europe // Acta Theriol., 2013. № 58. C. 233–244. DOI: 10.1007/s13364–013–0134–0
- Sidorovich V. E., Kruuk H., Macdonald D. Body size, and interactions between European and American mink (*Mustela lutreola* and *M. vison*) in Eastern Europe // J. Zool., 1999. V. 248. P. 521–527.
- Sidorovich V. E., Macdonald D., Kruuk H., Krasko D. A. Behavioural interactions between the naturalized American mink *Mustela vison* and the native mustelids, NE Belarus, with implications for population changes // Small Carniv. Conserv., 2000. V. 22. P. 1–5.
- Sidorovich V. E., Macdonald D. W. Density dynamics and changes in habitat use by the European mink and other native mustelids in connection with the American mink expansion in Belarus // Neth. J. Zool., 2001. V. 51. P. 107–126.
- Vallo P., Martínková N., Koubek P. Genetic variability in Moravian polecats: a pilot study using mitochondrial DNA sequences // Proceedings of the 25th Mustelid Colloquium, 4–7 October 2007. Czech Republic, Třeboň. P. 48.
- Zalewski A., Szymura M., Kowalczyk R., Brzeziński M. Low individual diet variation and high trophic niche overlap between the native polecat and invasive American mink // J. Zool., 2021. V. 314. P. 151–161. <https://doi.org/10.1111/jzo.12871>

Depression of the population of the steppe polecat (*Mustela eversmanii*) in the Southern Urals

© 2024 N. V. Kiseleva

*Ilmen State Nature Reserve, South Urals Federal Research Center of Mineralogy and Geoecology, Ural Branch,
Russian Academy of Sciences, Miass, Chelyabinsk oblast, 456317 Russia
e-mail: natakis17@gmail.com*

Long-term monitoring abundance of the steppe polecat (*Mustela eversmanii*) in the Chelyabinsk region are considered. The analysis of the abundance dynamics of *Mustelidae* was carried out on the basis of monitoring data using the method of winter accounting (WA) conducted annually. Over the past few years, the steppe polecat has not been registered during accounting work in the mountain taiga, i.e. its number is either extremely low, or it has completely disappeared. In forest-steppe territories for 12 years, from 2008 to 2020, the abundance of polecats decreased almost 90 times, from 3058. to 34 ind. The data on the number of the main prey species of the steppe polecat – ground squirrel (*Spermophilus major*) and gray ground squirrel (*Spermophilus pygmaeus*) and the groundhog (*Marmota bobak*) are presented. The hypothesis of the influence of the American mink on the number of the steppe polecat is considered.

Keywords: steppe polecat (*Mustela eversmanii*), Chelyabinsk oblast, abundance dynamics

удк 58.009: 582.881

ПРИРОДНЫЕ ПОПУЛЯЦИИ РЕДКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ВИДА *ALANGIUM PLATANIFOLIUM* (ALANGIACEAE) В РОССИИ

© 2024 г. Л. А. Федина, М. В. Маслов@, С. К. Малышева, О. В. Наконечная, Т. О. Маркова

Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН,
просп. 100-летия Владивостока, 159, Владивосток, 690022 Россия

@E-mail: nippon_mvmt@mail.ru

Поступила в редакцию 24.07.2023 г.

После доработки 02.10.2023 г.

Принята к публикации 02.10.2023 г.

В статье приведены данные о состоянии двух известных для Российской Федерации природных популяций редкого лекарственного эндемичного вида *Alangium platanifolium*. Информация об одной из них представлена впервые. Приводятся геоботанические описания фитоценозов. Отмечено, что *A. platanifolium* на юге Приморского края произрастает в кустарниковом ярусе хвойно-широколиственного леса с участием *Pinus koraiensis* и *Abies holophylla*. Установлено, что площадь обнаруженной 20 лет назад популяции расширилась в 10 раз и в настоящее время составляет 10 га. Новое местопроизрастание *A. platanifolium* занимает площадь 0.25 га. Общая численность *A. platanifolium* составляет более 700 разновозрастных растений. Полученные данные дополняют современные представления о распространении и жизненном состоянии *A. platanifolium* и отражают факт разрастания субтропических элементов в фитоценозах на территории Российской Федерации.

Ключевые слова: *Alangium platanifolium*, редкий вид, декоративное растение, восточноазиатский эндемик, Дальний Восток России

DOI: 10.31857/S1026347024020119, **EDN:** WBCEWP

Флора Приморского края России отличается наибольшим разнообразием и включает более 2700 видов сосудистых растений, из которых около 550 отмечены только для данной территории (Кожевников, Кожевникова, 2014; Kozhevnikov *et al.*, 2019). Южные районы российского Дальнего Востока (РДВ) расположены на северной окраине Восточноазиатской флористической области, которая охватывает основную часть территории Восточной Азии (Тахтаджян, 1978). На этой территории произрастают многие эндемичные и реликтовые виды, сохранившиеся здесь с третичного времени из-за отсутствия плейстоценового оледенения (Кожевников, Кожевникова, 2014). Среди них представитель отдела Magnoliophyta, семейства *Alangiaceae* DC. – *Alangium platanifolium* (Siebold & Zucc.) Harms. (алангиум платанолистный). Это единственный в роду листопадный кустарник, восточноазиатский эндемик, субтропический вид (Урусов, 2015; Милоградов, Урусов, 2021).

Ареал *A. platanifolium* охватывает регионы с умеренным и холодно-умеренным континентальным климатом (Shatilova, Kokolashvili, 2014), простирается в умеренных районах Восточного Китая, в Корее и Японии, уходя на север до России (Ohwi, 1965; Feng, 2009; Ohashi, Ohashi, 2009). Растение является реликтом третичной флоры,

представлено в окаменелостях третичных отложений северного полушария (Feng, 2009). Впервые в отечественных гербарных коллекциях *A. platanifolium* появился в 1897 г. (гербарий БИН РАН: LE01007499; LE01007500; LE01007701). Гербарные образцы собраны В. Л. Комаровым на границе Китая и Северной Кореи в бассейне р. Ялуцзян (Комаров, 1950).

Вид внесен в Красную книгу Международного союза охраны природы (МСОП) со статусом “уязвимый” (VU) (Kim *et al.*, 2020). Согласно Приказа Министерства природных ресурсов и экологии Российской Федерации от 23.05.2023 № 320 “Об утверждении Перечня объектов растительного мира, занесенных в Красную книгу Российской Федерации” (Зарегистрирован 21.07.2023 № 74362), *A. platanifolium* находится под охраной на федеральном уровне с категорией статуса редкости 3 (редкие виды с естественной невысокой численностью, встречающиеся на ограниченной территории, для выживания которых необходимо принятие специальных мер охраны).

Как лекарственное растение *A. platanifolium* используют в медицинских целях в Восточной и Юго-Восточной Азии (Jain *et al.*, 2005). Гликозидные соединения из *A. plantanifolium*, представленные салицином, проявляли жаропонижающее

и обезболивающее действие, применялись для лечения лихорадки и артрита (Duan *et al.*, 2012), а терпеноиды обладают противораковой, противовоспалительной, противоаллергической и гипогликемической активностью (Sun *et al.*, 2017). Растение декоративное, культивируется в ботанических садах Америки, Европы (Schulz, 2011).

Изучению *A. platanifolium* посвящен ряд статей. Так, в работах представлены описания ископаемых находок *A. platanifolium* (Eyde *et al.*, 1969; Morley, 1982; Shatilova, Kokolashvili, 2014 и др.); приведены данные о форме листьев (Ohashi, Ohashi, 2009), количестве лепестков и тычинок в цветке (Ohashi *et al.*, 2009), структуре устьиц (Cheng *et al.*, 2021), строении пыльцевых зерен (Reitsma, 1970). Часть работ посвящена филогении и биогеографии (Eyde, 1968; Chandler, Plunkett, 2004; Feng *et al.*, 2009 и др.). Наиболее полно представлены данные о фитохимии и фармакологии

вида (Otsuka *et al.*, 1996; Tamaki *et al.*, 1999; Fraga, 2012; Hu *et al.*, 2020; Lian *et al.*, 2023 и др.). Впервые для флоры России *A. platanifolium* отмечен в 2001 г. (Федина и др., 2002). Однако до настоящего времени исследования состояния обнаруженной популяции не проводилось. Поэтому цель работы — охарактеризовать биологические и фитоценологические особенности редкого лекарственного растения *A. platanifolium* для решения задач по его сохранению.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Алангиум платанолистный — многостебельный кустарник до 3–4 м высоты. Листья простые (рис. 1), цельнокрайние, черешки с редким опушением, 7–10 (15) см длины. Листовая пластинка тонкоперепончатая, 10–15 (20) см длины и почти

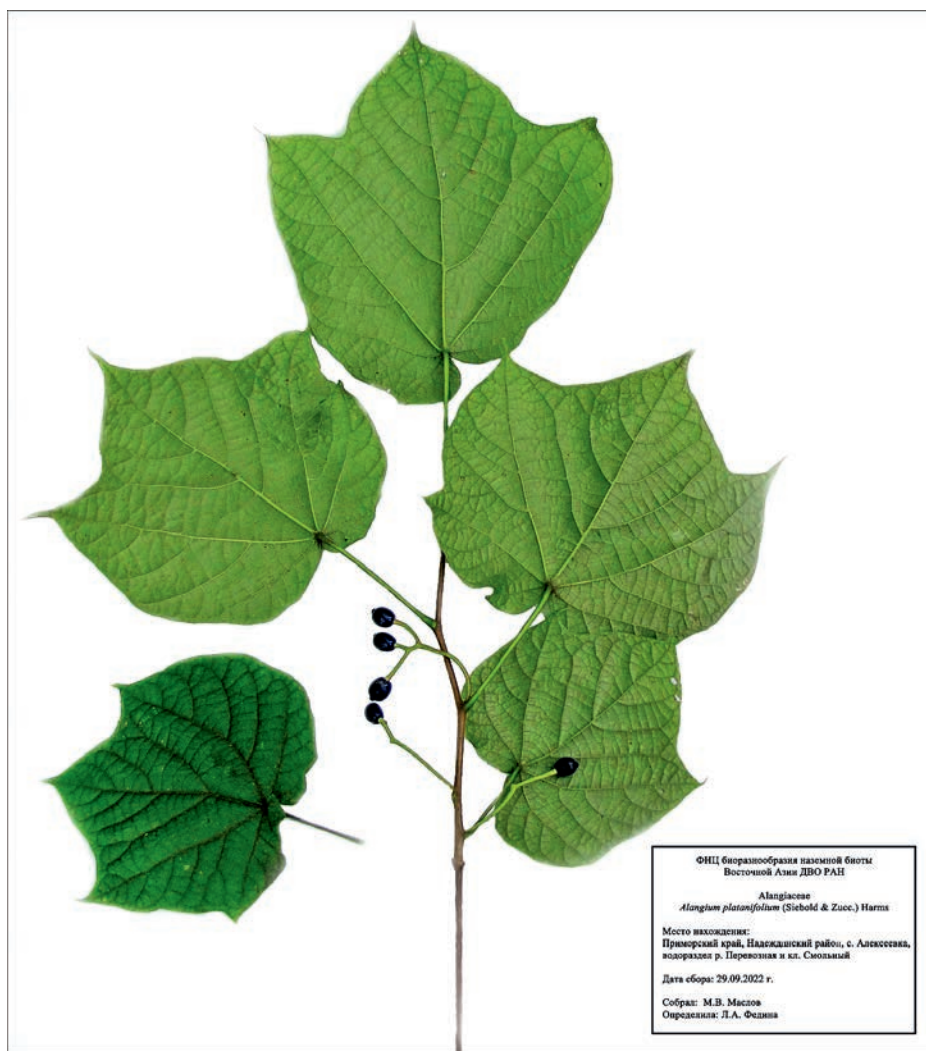


Рис 1. *Alangium platanifolium*: гербарный образец. Фото М. В. Маслова.

такой же ширины, округло-сердцевидная, в основании слегка асимметричная, на верхушке более или менее глубоко раздельная на 3–5 (7) тонко заостренных лопастей. Цветки в пазушных малоцветковых (1–5) соцветиях. Венчик в начале цветения трубчатый, с 8 белыми, узкими ремневидными лепестками, в дальнейшем закручивающимися наружу в четыре спирали. Тычинок 8, до 3 см длины. Завязь нижняя. Плод – односемянная костянка (Федина и др., 2002).

Ранее (Федина и др., 2002) единственная популяция *A. platanifolium* в РФ была обнаружена на территории Приморского края сотрудниками государственного природного заповедника “Уссурийский” имени В.Л. Комарова в летний период 2001 г. Ценопопуляция состояла из разновозрастных растений, в том числе цветущих, а позднее и плодоносящих. Основная масса растений произрастала под пологом коренного смешанного хвойно-широколиственного леса в окрестностях с. Алексеевка Надеждинского района, на водоразделе между р. Перевозная и кл. Смольный. На расстоянии 3 км от первой ценопопуляции на том же водоразделе на платообразной возвышенности в урочище “Ковалевская падь” найдена вторая популяция (Федина и др., 2002).

Данное исследование организовано совместно с представителями некоммерческого природоохранного фонда “Феникс” и центра “Тигр” в июле 2021 г. и Владивостокского филиала КГКУ “Примлес” в сентябре 2022 г.

В 2021 г. в 1 км от описанного ранее первого локалитета *A. platanifolium* на высоте 273 м над ур. м. на восточном каменистом склоне обнаружена третья популяция, в 2022 г. проведена ревизия первой (рис. 2).

Работы по определению размера площадей произрастания ценопопуляций *A. platanifolium* проводили с использованием навигационного прибора GPS60CSX и программного обеспечения MapSours Trip Waypoint Managar. Латинские названия растений и авторы видов проверены в базе данных International Plant Names Index (2012).

Собранные образцы растений хранятся в гербарии ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (VLA).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристики ценопопуляций. Обнаруженная в 2021 г. ценопопуляция *A. platanifolium* занимает площадь 50 × 50 метров (0,25 га) (рис. 2), где в центре этого участка на лесной поляне произрастают три крупных цветущих куста этого растения высотой более 250 см и проекцией кроны до 300 см. Вокруг этой поляны под пологом обнаружены еще 10 экземпляров прегенеративных растений *A. platanifolium* разного возраста высотой до 150 см.

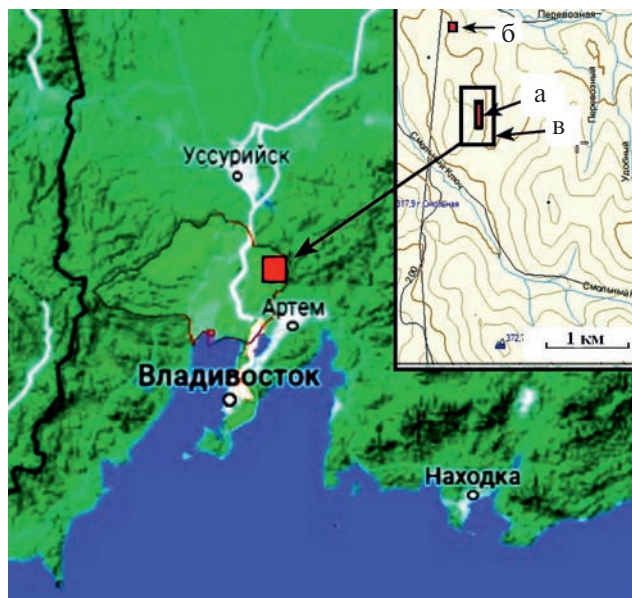


Рис. 2. Карта-схема местонахождений *Alangium platanifolium* в Приморском крае: а – находки *A. platanifolium* в 2001 г. (размер участка 1,2 га.); б – новая находка *A. platanifolium* в 2021 г. (размер участка 0,25 га); в – ревизия популяции *A. platanifolium* в 2022 г. (современный размер участка 10 га).

Данный освещенный участок леса образовался в результате облома верхней части ствола у одной и ветровального выпада другой *Betula costata* Trautv. Эти стволы лежат в центре поляны, которая зарастает лианами *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill., *Actinidia arguta* Miq., *A. kolomikta* (Maxim.) Maxim. и их многочисленной порослью.

Растительность на этом участке представлена малонарушенным кедрово-широколиственным типом леса, формула состава древостоя 3К2Л2Ил2Бх1Бж: *Pinus koraiensis* Siebold et Zucc., *Tilia amurensis* Rupr., *Ulmus laciniata* Mayr, *Phellodendron amurense* Rupr., *Betula costata*.

Кроме вышеперечисленных видов деревьев, в подросте произрастают: *Abies holophylla* Maxim., *Carpinus cordata* Blume, *Micromela alnifolia* Koehne, *Padus maximowiczii* (Rupr.) Sokolov, *Kalopanax septemlobus* Koidz., *Fraxinus mandshurica* Rupr., *Acer mandshuricum* Maxim., *A. mono* Maxim., *A. tegmentosum* Maxim. Кустарниковая растительность состоит из *A. platanifolium*, *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim., *Philadelphus tenuifolius* Rupr. et Maxim., *Deutzia amurensis* (Regel) Airy Shaw, *Sambucus coreana* (Nakai) Kom. et Aliss. и др.

Травянистый ярус представлен папоротниками *Dryopteris crassirhizoma* Nakai, *Gymnocarpium dryopteris* Newman, *Polystichum tripteris* (G. Kunze) C. Presl; из сосудистых растений преобладают *Urtica angustifolia* Fisch. ex Hornem., *Hylomecon vernalis* Maxim., *Paris hexaphylla* Cham., *Paeonia*

obovata Maxim., *Carex appendiculata* (Trautv. et Mey.) Kiik., *C. siderosticta* Hance.

В 2022 г. обследованы ранее обнаруженные популяции *A. platanifolium* (Надеждинский р-н, 10–12 км к востоку от с. Алексеевка, на водоразделе р. Перевозная и кл. Смольного (220 м над ур. м.). Результаты исследования показали, что площадь первой популяции гораздо больше, указанной ранее (Федина и др., 2002) и составляет 10 га (рис. 2). Кусты *A. platanifolium* произрастают на вершине водораздела и частично на обоих склонах (восточной и западной экспозиций) на высоте от 220 до 275 м над ур. м. Общее число разновозрастных особей *A. platanifolium* составляет более 700 экземпляров, из них около половины обильно плодоносит.

Данная ценопопуляция *A. platanifolium* расположена в чернопихтово-широколиственном типе леса с преобладанием высоковозрастных (более 200 лет) хвойных видов деревьев: *Abies holophylla*, *Pinus koraiensis*, *Picea ajanensis* Fisch. ex Carrière и широколиственных: *Acer mono*, *A. pseudosieboldianum* Kom., *A. ukurunduense* Trautv. & C. A. Mey., *Carpinus cordata*, *Quercus mongolica* Fisch. ex Turcz., *Juglans mandshurica* Maxim. В подросте отмечены: *Abies nephrolepis* (Trautv.) Maxim., *Betula costata*, *Kalopanax septemlobus*. Кустарниково-лиановый ярус представлен: *A. platanifolium*, *Lonicera praeflorens* Batalin, *Ligustrina amurensis* Rupr., *Corylus mandshurica* Maxim., *Philadelphus tenuifolius*, *Ribes mandshuricum* (Maxim.) Kom., *R. maximoviczianum* Kom., *Rubus crataegifolius* Bunge и *Vitis amurensis* Rupr. Травянистый ярус сформирован папоротниками: *Adiantum pedatum* L., *Dryopteris crassirhizoma*, *Leptorumohra amurensis* (Christ) Tzvelev, *Polystichum tripterum*, а также сосудистыми растениями: *Mitella nuda* L., *Oxalis acetosella* L., *Thalictrum filamentosum* Maxim., *Urtica angustifolia*, *Paris hexaphylla*, *Paeonia oreogeton* S. Moore, *Milium effusum* L., *Arisaema amurense* Maxim.; преобладают осоки: *Carex campylorhina* V. I. Krecz., *C. siderosticta*, *C. ussuriensis* Kom.

Основной отличительной особенностью популяции, обнаруженной в июле 2021 г., является произрастание растений на открытом, освещенном участке (Федина и др., 2002 г.). Лес представлен в основном широколиственными породами деревьев с густым травянистым покровом. Наличие в составе древостоя *Kalopanax septemlobus*, *Micromeles alnifolia* и крупных лиан *Actinidia arguta* не упоминалось при описании первой популяции *A. platanifolium*.

Строение репродуктивных органов. Детальное изучение цветков позволило дополнить морфологическое описание репродуктивных органов. Показано, что после раскрытия пыльников пестик увеличивается в длину и на 3–4 мм выступает из цветка. Завязь нижняя. Плод (односемянная костянка) овально-яйцевидный. Длина плода от 9.9 до 12.0 мм (11.06 ± 0.21), ширина от 7.0 до 9.0 мм (8.04 ± 0.24). Длина семянки от 7.8 до 10.5 мм (8.82 ± 0.26), ширина семянки от 5.9 до 7.3 мм ($6.84 \pm$

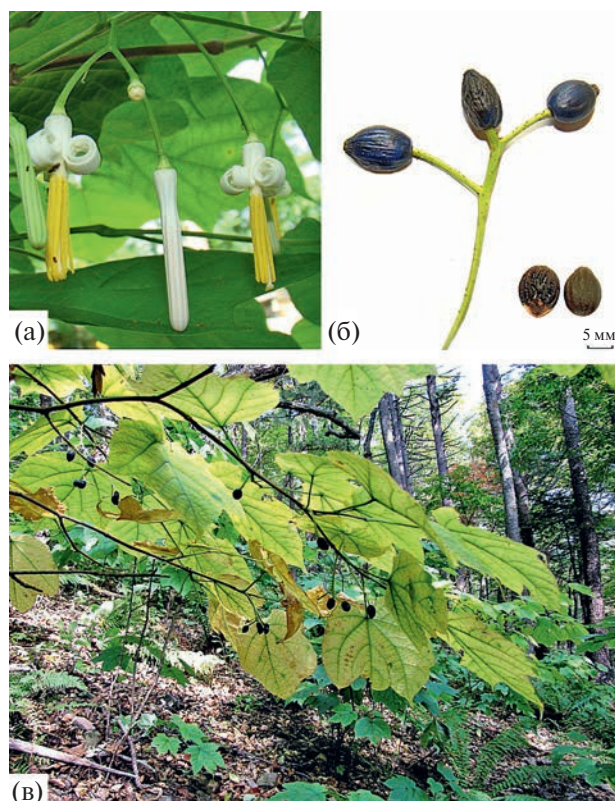


Рис. 3. *Alangium platanifolium*: (а) — цветки, (б) — плоды, (в) — внешний вид куста осенью. Фото М. В. Маслова.

0.17). В начале созревания костянки белые, затем синеют, зрелые плоды (конец сентября) темно-фиолетового цвета, при высыхании черные (рис. 1, 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Относительно происхождения обнаруженных популяций *A. platanifolium* на территории Российской Федерации существует несколько взглядов. По мнению А. Е. Кожевникова и З. В. Кожевниковой (2014), в составе природной флоры Приморского края присутствуют три семейства, представленные здесь аборигенными видами, которые более нигде в России не известны — *Pleurosoriopsidaceae*, с восточноазиатским неморально-лесным *Pleurosoriopsis makinoi* (Maxim.) Fomin, *Alangiaceae*, с восточноазиатским неморально-лесным *A. platanifolium* и *Loganiaceae*, с восточноазиатско-палеотропическим лугово-болотным *Mitrasacme indica* Wight. Авторы также обозначают, что примерно у 200 видов растений северная граница распространения на российском Дальнем Востоке ограничивается территорией Южного Приморья. Многие из этих видов известны на данной территории из немногочисленных или уникальных местонахождений, их основной ареал располагается в умеренно-теплых, субтропических

и тропических областях Восточной и Южной Азии (Кожевников, Кожевникова, 2014).

В то же время существует версия, что растения *A. platanifolium* недавно проникли в Приморский край из Китая или Кореи, как это отмечено для других кустарников, среди которых *Ribes ussuriense* Jancz. (сем. *Grossulariaceae*), *Lonicera monantha* Nakai (сем. *Caprifoliaceae*) (Нечаев, 2015). Автор работы отмечает, что “южные” вселенцы неоднократно проникали на “северные” территории в течение последних десятилетий и столетий, но не все из них закреплялись на новых местах. Агентами расселения таких растений на большие территории являются перелетные птицы-карпофаги (Нечаев, 2015).

Находка первого местообитания и небольшой размер популяции, представленный 20 лет назад в публикации (Федина и др., 2002), могут свидетельствовать о том, что растения недавно проникли в Приморский край из соседних государств. В то же время, характер местообитаний и общий ареал *A. platanifolium* предполагают его естественное произрастание и возможность новых находок этого растения в Южном Приморье. Сходство листовых пластин с кленами и калопанаксом (*Kalopanax septemlobus*), вероятно, маскировало его от исследователей (Федина и др., 2002) и не позволило идентифицировать во флоре ранее.

Выявлено, что площадь первой популяции *A. platanifolium* расширилась почти в 10 раз по сравнению с данными, приведенными ранее (Федина и др., 2002). Число репродуктивных растений возросло примерно в 7 раз (ранее выявлено около 40) (Федина и др., 2002). Наличие семенного возобновления свидетельствует о положительной тенденции к расселению растений в данном местопроизрастании.

Вероятно, на успешное закрепление на новой территории повлияли несколько факторов. Один из них, скорость развития и устойчивость к вредителям, что было отмечено для растений *A. platanifolium*, произрастающих в северо-восточной части США (Barnes, 2004). Длительный жизненный цикл (живет до 200 лет) (Урусов, 2015; Милоградов, Урусов, 2021) способствует успешному существованию вида и расширению популяции.

Другим фактором послужили подходящие условия местообитания — широколиственный лес с постоянным притенением, необходимым для успешного развития растений. Ранее показано, что тень является абсолютным требованием для развития вида, а не адаптивной характеристикой (Barnes, 2004).

Интересно отметить, что *A. platanifolium* в Корее произрастает в фитосоциологической ассоциации *Corylo-Quercetum mongolicae*, которая принадлежит к альянсу *Rhododendro-Quercion mongolicae* и встречается в северных районах умеренно-прохладного пояса (Takeda *et al.*, 1994). Выявленные нами ассоциации являются частью широколиственных и хвойно-широколиственных (тургайских) лесов,

сохранившихся только на самом юге РДВ и прилегающих территориях Китая и Северной Кореи (Кожевников, Кожевникова, 2014).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что в настоящее время общая численность локальной популяции *A. platanifolium*, произрастающей на площади, превышающей 10 га, составляет более 700 разновозрастных особей (из них цветущих и плодоносящих около 40%). Эколого-биологические особенности данного вида (мезофитность, теневыносливость, долговечность) позволяют рекомендовать его для озеленения как освещенных, так и теневых участков ландшафта. Местопроизрастание *A. platanifolium* на юге Приморского края является единственным в Российской Федерации и нуждается в особом охранном статусе. Действенной мерой может стать запрет любой хозяйственной деятельности на данной территории и организация памятника природы в окрестностях с. Алексеевка Надеждинского района Приморского края, на водоразделе между р. Перевозная и кл. Смольный.

Авторы выражают искреннюю благодарность руководителю Межрегиональной общественной организации “Центр Тигр” В. Б. Кузьменко и инженеру по мониторингу за дикими животными С. Н. Наймушину; сотруднику фонда “Феникс” А. Э. Вриш и участковому лесничему Владивостокского филиала КГКУ “Примлес” А. Д. Малык за участие и активную помощь в проведении полевых исследований. Благодарим директора Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН А. А. Гончарова за поддержку и консультации.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (темы № 124012200183–8 и 124012200181–4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Кожевников А. Е., Кожевникова З. В. Таксономический состав и особенности природной флоры Приморского края // Комаровские чтения. 2014. Т. 62. С. 7–62.

- Комаров В. Л. Флора Маньчжурии. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1950. Ч. 2. Т. 4. С. 182–185.
- Милоградов Д. Е., Урусов В. М. К биоадаптациям (тектоника, варианты радиации, радиобиология) // Современные проблемы и перспективные направления инновационного развития науки: сб. статей междунар. научно-практической конф. Уфа, 2021. С. 8–21.
- Нечаев В. А. Редкий случай орнитохории // Русский орнитологический журнал. 2015. Т. 24. № 1103. С. 399–401.
- Тактаджян А. Л. Флористические области Земли. Л.: Наука, 1978. 248 с.
- Урусов В. М. К оптимальным микроклиматам и их растительным маркерам в Приморье // Вестник КрасГАУ. 2015. № 6. Вып. 105. С. 35–40.
- Федина Л. А., Павлова Н. С., Кудрявцева Е. П., Ковалев В. А. *Alangium platanifolium* – вид нового для флоры России семейства *Alangiaceae* // Бот. журн. 2002. Т. 87. № 12. С. 126–129.
- Barnes H. W. Propagation of *Alangium platanifolium* and *Alangium platanifolium* var. *macrophyllum* // Combined Proceedings International Plant Propagators' Society. 2004. V. 54. P. 510–511.
- Chandler G. T., Plunkett G. M. Evolution in *Apiales*: nuclear and chloroplast markers together in (almost) perfect harmony // Bot. J. Linn. Soc. 2004. V. 144. № 2. С. 123–147.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2003.00247.x>
- Cheng J., Ding F., Tan Z., Liao L., Zhou T., Cui Y. Leaf stomatal morphological characteristics and their effects on transpiration for two tree species in Maolan Karst area, Guizhou Province // J. Nanjing For. Univ. 2021. V. 45. № 5. С. 125.
<https://doi.org/10.12302/j.issn.1000-2006.202010005>
- Duan H., Zhai K. F., Gao G. Z., Cao W. G., Xue G. H. Determination of salicin in *Alangium chinense* (Lour.) harms medicinal materials by RP-HPLC // Chin. J. Spectrosc. Lab. 2012. V. 29. P. 1065–1068.
<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104773>
- Eyde R. H. Flowers, fruits, and phylogeny of *Alangiaceae* // J. Arnold Arbor., Harv. Univ. 1968. V. 49. № 2. P. 167–192.
<https://www.jstor.org/stable/43781622>
- Eyde R. H., Bartlett A., Barghoorn E. S. Fossil record of *Alangium* // Bull. Torrey Bot. Club. 1969. P. 288–314.
<https://doi.org/10.2307/2483735>
- Feng C. M., Manchester S. R., Xiang Q.-Y. Phylogeny and biogeography of *Alangiaceae* (Cornales) inferred from DNA sequences, morphology and fossils // Mol. Phylogenet. Evol. 2009. V. 51. № 2. P. 201–214.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.01.017>
- Fraga B. M. Natural sesquiterpenoids // Nat. Prod. Rep. 2012. V. 29. № 11. P. 1334–1366.
<https://doi.org/10.1039/C2NP20074K>
- Hu X. Y., Wei X., Zhou Y. Q., Liu X. W., Li J. X., Zhang W., Wang Ch.-B., Zhang L.-Ya., Zhou Y. Genus *Alangium* – a review on its traditional uses, phytochemistry and pharmacological activities // Fitoterapia. 2020. V. 147. № 104773.
<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104773>
- International Plant Names Index (2012)
<http://www.ipni.org>. Accessed 06.09.2023.
- Jain A., Katewa S. S., Galav P. K., Sharma P. Medicinal plant diversity of Sitamata wildlife sanctuary, Rajasthan, India // J. Ethnopharmacol. 2005. V. 102. P. 143–157.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.047>
- Kim S. Y., Cho S. H., An S. L. Flora characteristics of vascular plants in the Geomun Oreum, UNESCO World Natural Heritage Site in Jeju Island, Korea // Journal of Asia-Pacific Biodiversity. 2020. V. 13. № 4. P. 652–657.
<https://doi.org/10.1016/j.japb.2020.07.004>
- Kozhevnikov A. E., Kozhevnikova Z. V., Kwak M., Lee B. Y. Illustrated flora of the Primorsky Territory (Russian Far East). Incheon: Nat. Inst. Biol. Res. 2019. 1124 p.
- Lian D., Chen T., Yan L., Hou H., Gao S., Hu Q., Zhang G., Li H., Song L., Gao Yu., Pu Yu., Chen Y., Peng B. Protective effect of compatible herbs in Jin-Gu-Lian formula against *Alangium chinense*-induced neurotoxicity via oxidative stress, neurotransmitter metabolisms, and pharmacokinetics // Front. Pharmacol. 2023. V. 14. № 1133982.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1133982>
- Morley R. J. Fossil pollen attributable to *Alangium* Lamarck (*Alangiaceae*) from the Tertiary of Malaysia // Review of Palaeobotany and Palynology. 1982. V. 36. № 1–2. P. 65–94.
[https://doi.org/10.1016/0034-6667\(82\)90014-8](https://doi.org/10.1016/0034-6667(82)90014-8)
- Ohashi H., Ohashi K. Infraspecific taxa of *Alangium platanifolium* (*Alangiaceae*) // Journal of Japanese Botany. 2009. V. 84. № 1. P. 45–48.
- Ohashi H., Ohashi K., Yamaguchi K. 2009. Variation in number of petals and stamens in *Alangium platanifolium* (Siebold & Zucc.) Harms (*Alangiaceae*) // Journal of Japanese Botany. 2009. V. 84. № 1. P. 39–44.
- Ohwi I. Flora of Japan. Washington: Smithsonian Inst., 1965. 1067 p.
- Otsuka H., Kashima N., Nakamoto K. A neolignan glycoside and acylated iridoid glucosides from stem bark of *Alangium platanifolium* // Phytochemistry. 1996. V. 42. № 5. P. 1435–1438.
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(96\)00143-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(96)00143-4)
- Takeda Y., Nakanishi S., Choe D. Phytosociological study on natural summer-green forests in Korea // Ecological research. 1994. V. 9 № 1. P. 21–32.
<https://doi.org/10.1007/BF02347238>
- Reitsma T. Pollen morphology of the *Alangiaceae* // Mededelingen van het Botanisch Museum en Herbarium van de Rijksuniversiteit te Utrecht. 1970. V. 345. № 1. P. 249–332.
- Schulz B. *Alangium* Lam. (*Cornaceae*) species cultivated in central Europe. International Dendrology Society. Yearbook. 2011. P. 72–86.

- Shatilova I., Kokolashvili I.* The pollen of genus *Alangium* in Cenozoic deposits of Georgia // Bull. Georg. Natl. Acad. Sci. 2014. V. 8. № 3. P. 80–86.
- Sun L. C., Li S. Y., Wang F. Z., Xin F. J.* Research progress-
es in the synthetic biology of terpenoids // Biotechnol. Bull. 2017. V. 33. P. 64–75.
- <https://doi.org/10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2017.01.007>
- Tamaki A., Otsuka H., Ide T.* Platanionosides A – C, megastigmane diglycosides from the leaves of *Alangium platanifolium* // J. Nat. Prod. 1999. V. 62. № 7. P. 1074–1076.

Natural populations of the rare medicinal species *Alangium platanifolium* (Alangiaceae) in Russia

© 2024 L. A. Fedina, M. V. Maslov[#], S. K. Malysheva, O. V. Nakonechnaya, T. O. Markova

Federal Scientific Center for Biodiversity of Terrestrial Biota of East Asia, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, prosp. 100th anniversary of Vladivostok, 159, Vladivostok, 690022 Russia

[#]E-mail: nippon_mvm@mail.ru

Data on the status of two natural populations of the rare, endemic medicinal species *Alangium platanifolium* known from the Russian Federation is provided in the article. Information about one of them is reported for the first time. Geobotanical descriptions of phytocenoses are presented. In the south of Primorsky Krai, *A. platanifolium* has been noted to grow in the shrub layer of coniferous/broad-leaved forest with *Pinus koraiensis* and *Abies holophylla*. It has also been found that the area of the population discovered 20 years ago has expanded 10-fold and now amounts to 10 ha. The new locality *A. platanifolium* covers an area of 0.25 ha. The total number of *A. platanifolium* is more than 700 of various-aged plants. The data obtained extends the current knowledge of the distribution and life state of *A. platanifolium* and indicates the fact of the growth of subtropical elements in phytocenoses of the Russian Federation.

Key words: *Alangium platanifolium*, rare species, ornamental plant, East Asian endemic, Russian Far East