СОДЕРЖАНИЕ

Номер 3, 2022

БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ

Развитие и функционирование сетчатой зоны коркового вещества надпочечников крыс, подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию эндокринного дисраптора ДДТ

Н. В. Яглова, С. С. Обернихин, С. В. Назимова, Е. П. Тимохина, Д. А. Цомартова, В. В. Яглов 227

БИОХИМИЯ

Вторичные метаболиты микромицетов в растениях семейства Brassicaceae (Cruciferae)

А. А. Буркин, Г. П. Кононенко 237

Алкилрезорцинолы – новые потенциальные биорегуляторы в системе суперорганизма (человек-микробиота)

А. В. Шестопалов, А. М. Гапонов, А. А. Заболотнева, С. А. Апполонова, П. А. Маркин, О. В. Борисенко, А. В. Тутельян, А. Г. Румянцев, Е. Д. Теплякова, В. Ф. Шин, Д. В. Савчук, Н. И. Волкова, Л. А. Ганенко, В. В. Макаров, С. М. Юдин, С. А. Румянцев 246

ГЕНЕТИКА

Филогеография малой *Crocidura suaveolens* и сибирской *Crocidura sibirica* белозубок: в поисках географической Родины

В. А. Грицышин, И. В. Артюшин, В. О. Бурская, Б. И. Шефтель, В. С. Лебедев, А. А. Банникова 258

БОТАНИКА

Качество и аномалии пыльцы сосны обыкновенной на Центральном Кавказе

М. З. Моллаева, Ф. А. Темботова 272

ЗООЛОГИЯ

Классификация птиц Предалтайской равнины по сходству летнего распределения

А. В. Макаров, Е. А. Беликова, Е. Н. Бочкарева, З. М. Сергазинова 279

ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

Стимулирование роста молоди африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*) с помощью модификации окислительно-восстановительного потенциала воды

Д. В. Шумейко, С. А. Лоза, А. Н. Коржов, В. К. Ромашов, В. В. Малышко, А. А. Елкина, А. В. Моисеев 289

ЭКОЛОГИЯ

Распределение бактерий, пикофитопланктона и флагеллят в устьевой области р. Меконг

Д. Б. Косолапов, Н. Г. Косолапова, А. И. Цветков, Динь Нгуен Ку 300

Структура сообществ паразитов окуня (*Perca fluviatilis* L.) В начальный период формирования Богучанского водохранилища

Ю. К. Чугунова, Е. П. Иешко 312

Влияние трофической роли популяции лося (*Alces alces* L.) на циклы азота и углерода в елово-березовом лесу южной тайги

С. М. Разгулин 322

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Влияние дальности миграции на годовые циклы пеночек (*Phyllscopus*) Северо-Западной Сибири

В. Н. Рыжановский 332

Contents

No. 3, 2022

Developmental Biology

Development and Function of Adrenal Zona Reticularis in Rats Prenatally and Postnatally Exposed to Endocrine Disruptor DDT

N. V. Yaglova, S. S. Obernikhin, S. V. Nazimova, E. P. Timokhina, D. A. Tsomartova, and V. V. Yaglov 227

Biochemistry

Secondary Metabolites of Micromycetes in Plants of the Family Brassicaceae (Cruciferae)

A. A. Burkin and G. P. Kononenko 237

Alkylresorcinols – New Potential Bioregulators in the Superorganism System (Human-microbiota)

A. V. Shestopalov, A. M. Gaponov, A. A. Zabolotneva, S. A. Appolonova, P. A. Markin, O. V. Borisenko, A. V. Tutelyan, A. G. Rumyantsev, E. D. Teplyakova, V. F. Shin, D. V. Savchuk, N. I. Volkova, L. A. Ganenko, V. V. Makarov, S. M. Yudin, and S. A. Rumyantsev 246

Genetics

Phylogeography of the white-Toothed Shrews *Crocidura suaveolens* and *Crocidura sibirica*: Searching for Geographical Homeland

V. A. Gritsyshin, I. V. Artyushin, V. O. Burskaya, B. I. Sheftel, V. S. Lebedev, and A. A. Bannikova 258

Botany

The Pollen Quality and Anomalies of the Scots Pine in the Central Caucasus

M. Z. Mollaeva and F. A. Tembotova 272

Zoology

Classification of Birds of the Prealtay Plain According to the Similarity of the Summer Distribution

A. V. Makarov, E. A. Belikov, E. N. Bochkareva, and Z. M. Sergazinova 279

Animal and Human Physiology

Stimulating the Growth of African *Clarias gariepinus* Youth by Modification of the Reducing Oxidation Potential of Water

D. V. Shumeiko, S. A. Loza, A. N. Korzhov, V. K. Romashov, V. V. Malyshko, A. A. Elkina, and A. V. Moiseev 289

Ecology

Distribution of Bacteria, Picophytoplankton and Flagellates in the Mecong Delta

D. B. Kosolapov, N. G. Kosolapova, A. I. Tsvetkov, and Dinh Nguyen Ku 300

The Structure of Parasite Communities in Perch (*Perca fluviatilis* L.) in Early Stages of Boguchanskoye Storage Reservoir Impoundment

Yu. K. Chugunova and E. P. Ieshko 312

Influence of the Trophic Role of the Moose Population (*Alces alces* L.) on Nitrogen and Carbon Cycles in the Spruce-Birch Forest of the Southern Taiga

S. M. Razgulin 322

Short Communications

The Effect of Range Migration on the Annual Cycles of Leaf Warblers (*Phylloscopus*) in North-Western Siberia

V. N. Ryzhanovskiy 332

EDN: WFCGYC
ИЗВЕСТИЯ РАН. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ, 2022, № 3, с. 227–236

БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ

УДК 611.453:547.636.2

РАЗВИТИЕ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СЕТЧАТОЙ ЗОНЫ КОРКОВОГО ВЕЩЕСТВА НАДПОЧЕЧНИКОВ КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ПРЕНАТАЛЬНОМУ И ПОСТНАТАЛЬНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ЭНДОКРИННОГО ДИСРАПТОРА ДДТ

© 2022 г. Н. В. Яглова*, @, С. С. Обернихин*, С. В. Назимова*, Е. П. Тимохина*, Д. А. Цомартова*, В. В. Яглов*

**НИИ морфологии человека, ул. Цюрупы, 3, Москва, 117418 Россия*
@E-mail: yaglova@mail.ru

Поступила в редакцию 28.12.2020 г.
После доработки 30.04.2021 г.
Принята к публикации 25.11.2021 г.

Исследованы параметры постнатального развития и его транскрипционной регуляции, а также функционирования сетчатой зоны коркового вещества надпочечников крыс, подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ). Установлено, что развитие организма в условиях воздействия эндокринного дисраптора замедляет темпы развития и функционального становления сетчатой зоны. Установлены механизмы дисморфогенетического действия ДДТ, заключающиеся в изменении экспрессии транскрипционных факторов PRH, Oct4, лиганда Shh и активации канонического Wnt-сигналинга. Полученные данные также демонстрируют важную роль факторов плюрипотентности в обеспечении нормального рос

Ключевые слова: надпочечник, сетчатая зона, развитие, Oct4, Shh, PRH, эндокринный дисраптор, ДДТ
DOI: 10.31857/S1026347022030179

Сетчатая зона коркового вещества надпочечников играет ключевую роль в процессе полового созревания, поскольку его первый этап – адренархе начинается с активации синтеза половых стероидов именно в ней. Адренархе является многофакторным событием, однако регулирующие механизмы этого процесса представляют одну из самых малоизученных областей в функциональной дифференцировке надпочечников. Нарушение функционирования сетчатой зоны может негативно повлиять на половое созревание, а в дальнейшем и на репродуктивную функцию. Одной из ведущих причин нарушения развития желез внутренней секреции является действие антропогенных факторов, и в первую очередь, эндокринных дисрапторов (Xu *et al.*, 2014; Bellanger *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2019; Papalou *et al.*, 2019). В последние годы отмечается значительное увеличение случаев врожденных аномалий развития и нарушений функционирования мужской и женской репродуктивной системы, что обусловливает значительный интерес исследователей к этой проблеме (Ozen, Darcan, 2011; Gore *et al.*, 2015). Эндокринные дисрапторы – химические соединения антропогенного происхождения, которые обладают способностью нарушать различные стадии синтеза гормонов и их взаимодействия с клетками-мишенями. В настоящее время самым распространенным эндокринным дисраптором является дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) (World..., 2012). Являясь стойким загрязнителем с длительным периодом полураспада, он персистирует во всех экосистемах планеты и при попадании в организм депонируется в клетках за счет высокой липофильности и способности проникать через гистогематические барьеры. Как эндокринный дисраптор он обладает антиандрогенными свойствами, реализуемыми благодаря способности связываться с рецепторами андрогенов (Ouyang *et al.*, 2005; Aneck-Hahn *et al.*, 2007), а также нарушает йод-аккумулирующую функцию щитовидной железы (Yaglova, Yaglov, 2015). Многочисленные мониторинговые исследования населения различных стран и континентов показывают, что низкодозовое воздействие ДДТ, вызывает разнообразные структурные и функциональные нарушения ре-

продуктивной системы мужчин и женщин, однако изменения в сетчатой зоне надпочечников и связанные с ними эндокринные заболевания и нарушения репродуктивного здоровья практически не изучены.

Цель работы – установить изменения в развитии и функционировании сетчатой зоны коркового вещества надпочечников крыс и выявить особенности регуляции этих процессов при развитии организма в условиях непрерывного пренатального и постнатального воздействия эндокринного дисраптора ДДТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на самцах крыс Вистар (n = 48) (филиал "Столбовая" Научного центра биомедицинских технологий). За животными, которые содержались в виварии, осуществляли уход по нормам и правилам обращения с лабораторными животными в соответствии с Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985 г.), правилами лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г. № 267) и законом "О защите животных от жестокого обращения" (гл. V, ст. 10, 4679-ГД от 01.12.1999 г.).

Крысы опытной группы (n = 24) были получены от самок, которые с первого дня ссаживания с самцами в течение всей беременности и периода лактации, длящегося 21 сутки, вместо воды получали раствор *o,n*-ДДТ (концентрация 20 мкг/л). С 22-х сут потомство самостоятельно потребляло аналогичный раствор ДДТ до 42-х сут постнатального развития, т.е. до достижения ими пубертатного периода (группа ДДТ E0-P42) и постпубертатного периода, а именно 70-х сут (группа ДДТ E0-P70), когда развитие надпочечников у крыс достигает максимума (Pignatelli *et al.*, 2006). Потребляемые дозы ДДТ учитывали ежедневно. Самостоятельное потребление ДДТ крысами составило 2.90 ± 0.12 мкг/(кг · сут). Это кинетически обоснованная доза, соответствующая потреблению ДДТ человеком с продуктами питания в развитых странах (Yamazaki *et al.*, 2010). Потребляемую дозу ДДТ рассчитывали с учетом требований к определению низких доз (Vandenberg *et al.*, 2012) и нормативов содержания ДДТ в продуктах питания в Российской Федерации (Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011, 2015). Крысы контрольной группы потребляли водопроводную воду. Отсутствие ДДТ и его метаболитов, а также родственных хлорорганических соединений в лабораторном корме и водопроводной воде было установлено методом газожидкостной хроматографии. Животных опытной и контрольной групп выводили из эксперимента передозировкой золетила.

Надпочечники фиксировали в жидкости Буэна. Изготавливали гистологические препараты экваториальных срезов надпочечников, которые окрашивали гематоксилином и эозином ("Биовитрум", Россия). Препараты изучали методом световой микроскопии с использованием микроскопа Leica DM2500 ("Leica Microsystems, Gmbh, "Германия).

Морфометрическое исследование препаратов надпочечников проводили с помощью программы ImageScope ("Leica Microsystems"). Определяли общую площадь коркового вещества, а также площадь сетчатой зоны, вычисляли долю площади сетчатой зоны. В сетчатой зоне подсчитывали число кортикостероцитов в 1 мм^2 среза и их размеры.

Пролиферативную активность кортикостероцитов коркового вещества надпочечников определяли методом иммуногистохимии в парафиновых срезах с помощью поликлональных антител к Ki-67 ("Cell Marque", США). Число Ki-67-позитивных клеток выражали в процентах.

Экспрессию транскрипционных факторов Proline-rich homeodomen (PRH) и Oct4, а также лиганда Sonic Hedgehog (Shh) определяли иммуногистохимическим методом с использованием поликлональных антител ("Abcam", США). Подсчитывали процент иммунопозитивных клеток. Иммуногистохимическое выявление β-катенина в кортикостероцитах сетчатой зоны надпочечников проводили с помощью моноклональных антител ("Cell Marque"). Подсчитывали по отдельности число клеток с мембранной, цитоплазматической и ядерной локализациями β-катенина и выражали в виде процентов от общего числа клеток. Активацию канонического Wnt/β-катенин-сигналинга оценивали по накоплению β-катенина в цитоплазме и транслокации его в ядро (Berthon *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2013). Для проявления иммунопероксидазной реакции использовали набор реактивов UltraVision LP detection system ("ThermoFisher Scientific", США). Срезы докрашивали гематоксилином Майера.

Для изучения функциональной активности сетчатой зоны определяли концентрации надпочечниковых половых стероидов андростендиона и эстрона в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческих наборов ("Cusabio", Китай).

Полученные данные подвергали статистическому анализу с помощью программы Statistica 7.0 ("Statsoft Inc.", США). Для описания количествен-

Таблица 1. Морфологические характеристики сетчатой зоны коркового вещества надпочечников крыс, подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию низких доз ДДТ, и контрольной группы в различных возрастных периодах ($M \pm m$)

Параметр	Контрольная группа	Подвергавшиеся пренатальному и постнатальному воздействию ДДТ
Пубертатный период:		
Площадь сетчатой зоны, мм^2	2.02 ± 0.09	1.75 ± 0.69*
Доля площади сетчатой зоны в корковом веществе, %	41.36 ± 2.36	37.16 ± 1.32*
Количество клеток в 1мм^2 сетчатой зоны	6983.75 ± 197.15	5653.00 ± 192.85*
Площадь кортикостероцита сетчатой зоны, мкм^2	66.70 ± 3.07	94.45 ± 4.72*
Площадь среза ядра кортикостероцита сетчатой зоны, мкм^2	22.00 ± 0.51	24.51 ± 0.46*
Постпубертатный период:		
Площадь сетчатой зоны, мм^2	1.91 ± 0.26	2.39 ± 0.15*#
Доля площади сетчатой зоны в корковом веществе, %	31.91 ± 0.56#	36.58 ± 0.98*
Количество клеток в 1мм^2 сетчатой зоны	7585.00 ± 330.81	5982.00 ± 154.64*
Площадь кортикостероцита сетчатой зоны, мкм^2	58.91 ± 1.42#	70.77 ± 1.87*#
Площадь среза ядра кортикостероцита сетчатой зоны, мкм^2	21.60 ± 0.29	22.93 ± 0.47*#

Примечание. * – статистически значимые отличия от значений контрольной группы, # – от соответствующих значений в пубертатном периоде.

ных признаков проводили анализ соответствия вида распределения признака закону нормального распределения с использованием критериев Колмогорова–Смирнова, Лиллиефорса, Шапиро–Уилка. Для описания центральных тенденций и рассеяния количественных признаков, имеющих приближенно нормальное распределение, использовали среднее значение и стандартную ошибку среднего значения ($M \pm m$). Сравнение независимых групп по количественному признаку проводили с помощью t-критерия Стьюдента с учетом значений критерия Левена о равенстве дисперсий, по качественному признаку – с помощью χ^2. Статистически значимыми различия считались при $p < 0.01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Морфологическая характеристика сетчатой зоны надпочечников крыс. При гистологическом исследовании надпочечников крыс пубертатного возраста сетчатая зона коркового вещества надпочечников была хорошо выражена и представляла собой сеть кортикостероцитов, разделенных синусоидными капиллярами. Ее доля составляла примерно менее половины площади коркового вещества. В наружной части сетчатой зоны клетки имели кубическую форму и округлые ядра. При переходе к внутренней части зоны, клетки становились меньше, приобретали полигональную форму. Их ядра уменьшались и становились гиперхромными (табл. 1, рис. 1а).

У крыс, развивавшихся в условиях воздействия эндокринного дисраптора ДДТ, сетчатая зоны была менее развита, её площадь и количество клеток в единице площади среза было значительно меньше, чем у животных контрольной группы. Кортикостероциты были крупнее и имели ядра больших размеров, чем в контрольной группе (табл. 1, рис. 1б).

После достижения половой зрелости, а именно на 70-е сутки, когда надпочечник достигает

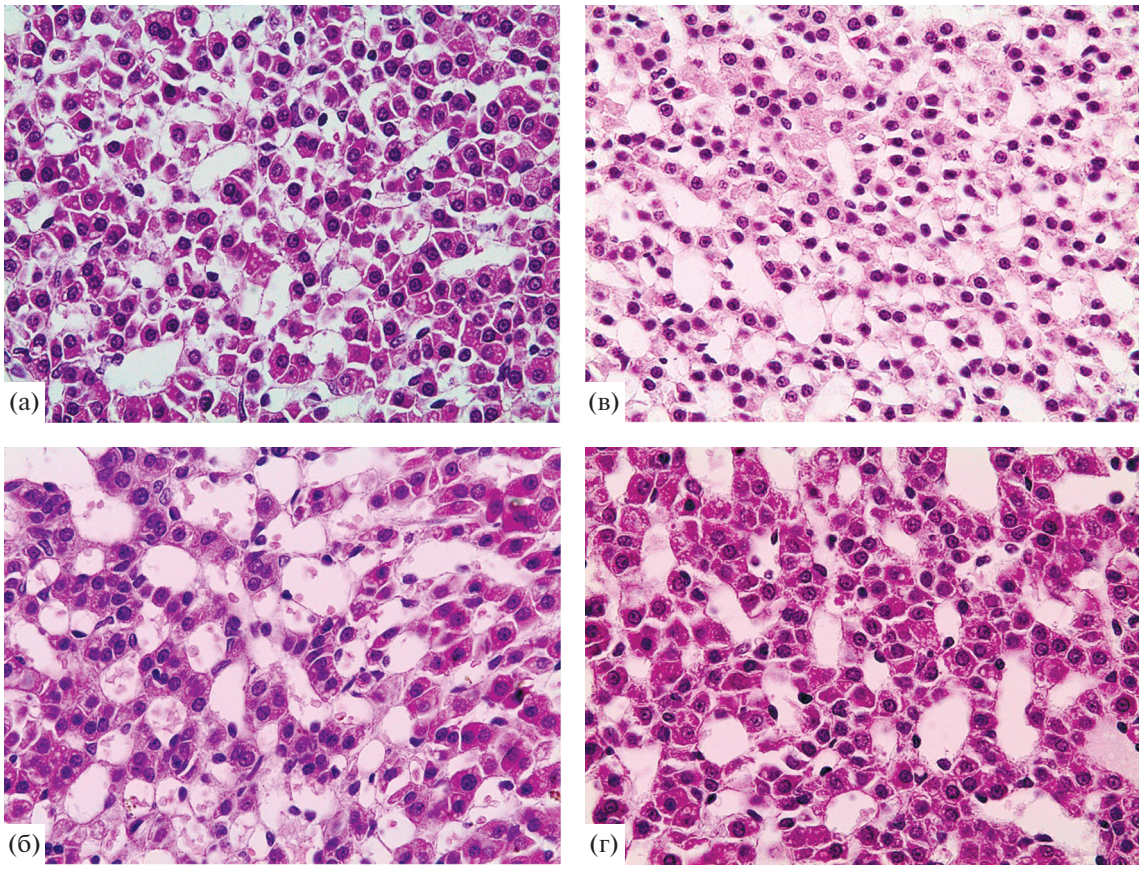

Рис. 1. Структура сетчатой зоны надпочечников крыс контрольной группы в пубертатном (а) и постпубертатном (в) периодах и крыс, подвергавшихся пре- и постнатальному воздействию низких доз ДДТ (б, г) в соответствующих возрастных периодах. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×400.

своей наивысшей точки своего развития, сетчатая зона у крыс контрольной группы не претерпела существенных морфологических изменений. Ее доля незначительно снизилась и составила примерно треть площади коркового вещества. Размеры кортикостероцитов сетчатой зоны также незначительно уменьшились (табл. 1, рис. 1в).

У крыс, развивавшихся в условиях непрерывного воздействия ДДТ, в аналогичном возрасте сетчатая зона была развита сильнее и превышала как абсолютные, так и относительные размеры сетчатой зоны крыс контрольной группы. Кортикостероциты и их ядра имели большие размеры, по сравнению с контрольными животными, но их количество в единице площади среза сетчатой зоны было меньшим, как и в предыдущем сроке исследования. Однако за счет большего размера сетчатой зоны общее количество клеток в ней в экваториальном срезе надпочечников не отличалось от значений контрольной группы (табл. 1, рис. 1г).

Пролиферативная активность кортикостероцитов сетчатой зоны надпочечников. У крыс контрольной группы Ki-67-положительные клетки выявлялись в сетчатой зоне как в пубертатном, так и постпубертатном периодах. Но активность пролиферативных процессов после достижения половой зрелости была значительно меньшей, чем в периоде полового созревания (рис. 2).

У крыс, развивавшихся в условиях воздействия эндокринного дисраптора ДДТ, пролиферативная активность кортикостероцитов сетчатой зоны в пубертатном периоде была статистически значимо меньше значений контрольной группы, а после достижения половой зрелости также уменьшилась и не отличалась от контрольных значений (рис. 2).

Экспрессия транскрипционного фактора PRH в сетчатой зоне надпочечников. У крыс контрольной группы пубертатного возраста PRH-положительные кортикостероциты не были выявлены. После наступления половой зрелости обнаружено небольшое число PRH-экспрессирующих клеток в

сетчатой зоне (рис. 3). У крыс, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ, в периоде полового созревания PRH-положительные кортикостероциты также не выявляли, а в постпубертатном периоде их процент был вдвое меньше значений контрольной группы (рис. 3).

Экспрессия транскрипционного фактора Oct4 в сетчатой зоне надпочечников. У крыс контрольной группы численность Oct4-положительных кортикостероцитов уменьшалась после достижения животными половой зрелости (рис. 4). У крыс, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ, показатели экспрессии Oct4 отличались от контрольных в обеих возрастных периодах. В пубертатном возрасте процент Oct4-положительных клеток был меньше, чем в контрольной группе, а после достижения половой зрелости значительно увеличился, существенно превысив значения возрастного контроля (рис. 4).

Экспрессия Shh в сетчатой зоне надпочечников. Численность кортикостероцитов, экспрессирующих Shh, в сетчатой зоне крыс контрольной группы была больше, чем экспрессирующих транскрипционный фактор Oct4, но в отличие от Oct4, она не изменялась в процессе полового созревания (рис. 5). У крыс, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ, в пубертатном периоде процент Shh-положительных клеток соответствовал значениям контрольной группы, а после достижения половой зрелости уменьшился (рис. 5).

Экспрессия β-катенина и активация канонического Wnt-сигналинга в кортикостероцитах сетчатой зоны надпочечников. У крыс контрольной группы пубертатного возраста экспрессия β-катенина обнаруживалась в каждом четвертом кортикостероците. Абсолютное большинство β-катенин-положительных клеток характеризовалось содержанием β-катенина в составе наружных цитоплазматических мембран. Цитоплазматическая и ядерная локализации β-катенина встречались значительно реже. После достижения половой зрелости доля β-катенин-экспрессирующих клеток значительно уменьшилась, причем в основном за счет уменьшения числа клеток с мембранной локализацией белка. Численность клеток с ядерным содержанием β-катенина, свидетельствующий об активации канонического Wnt-сигналинга, не изменялась с возрастом и составляла ~2% (рис. 6).

У крыс, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ, в пубертатном периоде выявлен значительно больший процент β-катенин-положительных кортикостероцитов. Это было обусловлено увеличением числа клеток с

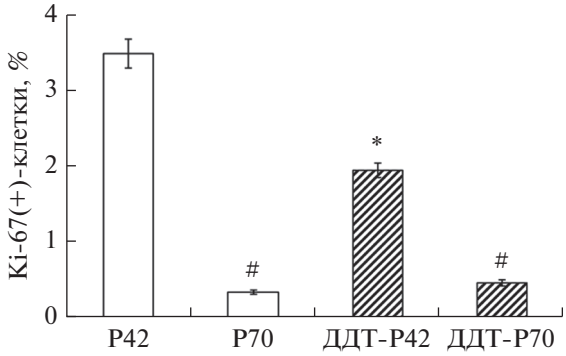

Рис. 2. Соотношение Ki-67-позитивных кортикостероцитов в сетчатой зоне коркового вещества надпочечников крыс контрольной группы в пубертатном (P42) и постпубертатном (P70) периодах и крыс, подвергавшихся пре- и постнатальному воздействию низких доз ДДТ ($M \pm m$). * – статистически значимые отличия от значений контрольной группы, # – от соответствующих значений в пубертатном периоде ($p < 0.01$); для рис. 1–6.

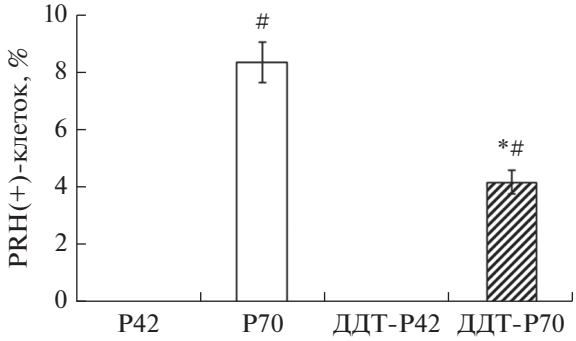

Рис. 3. Соотношение PRH-позитивных кортикостероцитов в сетчатой зоне коркового вещества надпочечников крыс контрольной группы в пубертатном (P42) и постпубертатном (P70) периодах и крыс, подвергавшихся пре- и постнатальному воздействию низких доз ДДТ ($M \pm m$).

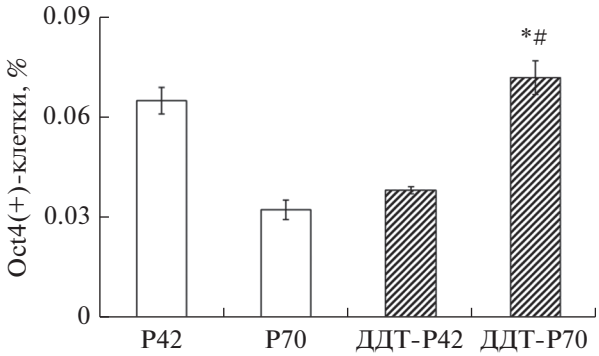

Рис. 4. Соотношение Oct4-позитивных кортикостероцитов в сетчатой зоне коркового вещества надпочечников крыс контрольной группы в пубертатном (P42) и постпубертатном (P70) периодах и крыс, подвергавшихся пре- и постнатальному воздействию низких доз ДДТ ($M \pm m$).

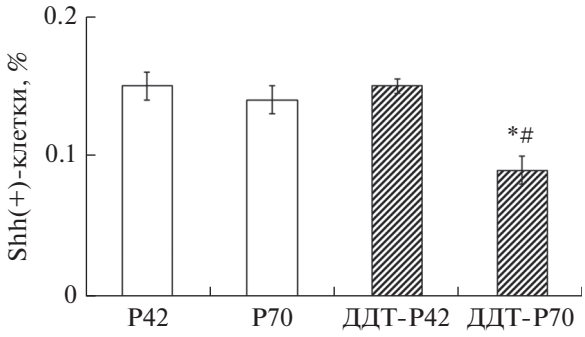

Рис. 5. Соотношение Shh-позитивных кортикостероцитов в сетчатой зоне коркового вещества надпочечников крыс контрольной группы в пубертатном (P42) и постпубертатном (P70) периодах и крыс, подвергавшихся пре- и постнатальному воздействию низких доз ДДТ ($M \pm m$).

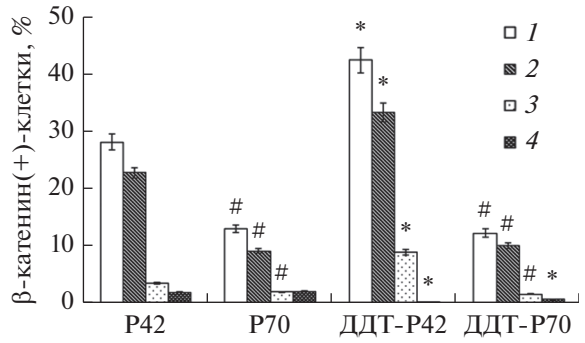

Рис. 6. Соотношение кортикостероцитов с различной внутриклеточной локализацией β-катенина в сетчатой зоне коркового вещества надпочечников крыс контрольной группы в пубертатном (P42) и постпубертатном (P70) периодах и крыс, подвергавшихся пре- и постнатальному воздействию низких доз ДДТ ($M \pm m$). *1–4* – всего, мембрана, цитоплазма и ядро соответственно.

мембранной и цитоплазматической локализацией белка. Процент клеток с ядерным расположением β-катенина был меньше контрольных значений. После достижения половой зрелости процент экспрессирующих β-катенин кортикостероцитов также уменьшился и отличался от значений контрольной группы соответствующего возраста только меньшим содержанием клеток с транслокацией β-катенина в ядро. Статистически значимых изменений в относительном содержании кортикостероцитов с ядерной локализацией β-катенина при переходе от полового созревания к половой зрелости не было обнаружено (рис. 6).

Продукция половых стероидов в сетчатой зоне. Определение концентрации половых стероидов андростендиона и эстрона в системном кровотоке выявило закономерное уменьшение их продукции после достижения половой зрелости у крыс контрольной группы (рис. 7). У крыс, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ, концентрация андростендиона также уменьшалась после достижения половой зрелости, но и в пубертатном и постпубертатном периодах она была ниже контрольных значений (рис. 7а). Концентрация эстрона не уменьшалась с возрастом и была статистически значимо меньшей и в периоде полового созревания и после его завершения (рис. 7б).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Гистологическое исследование показало, что у животных, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора, и контрольной группы показатели постнатального развития сетчатой зоны отличались. Выявленные особенности структуры в сочетании с пониженной пролиферативной активностью клеток в пубертатном возрасте указывают на отставание в развитии сетчатой зоны. Известно, что у крыс в период адренархе сетчатая зона является основным продуцентом половых гормонов андростендиона и эстрона (Pignatelli *et al.*, 2006). Обнаруженное снижение продукции этих гормонов у животных, развивавшихся в условиях воздействия эндокринного дисраптора, свидетельствует о пониженной функциональной активности клеток сетчатой зоны и подтверждает данные о замедлении ее развития, выявленные при гистологическом исследовании, что в свою очередь указывает и на изменение темпов полового созревания организма. Изучение экспрессии факторов, контролирующих морфогенетические процессы, показывает, что воздействие эндокринного дисраптора на развивающийся организм с начала пренатального этапа онтогенеза изменяет транскрипционную регуляцию процессов пролиферации и дифференцировки клеток. Известно, что в корковом веществе надпочечников существует сложная система обновления клеток, в которой адаптивное структурное ремоделирование достигается не только путем баланса между пролиферацией клеток и апоптозом (Yaglova *et al.*, 2019a, 2019b).

Согласно теории центростремительной миграции, обновление кортикостероцитов всех зон происходит фактически из одного предшественника – камбиальных клеток, которые локализуются под капсулой или в промежуточной зоне, а затем мигрируют в направлении мозгового вещества, изменяя при этом свой фенотип (Bird, 2012). Вторым механизмом пополнения пула адренокортикальных клеток является клеточная пластичность – способ-

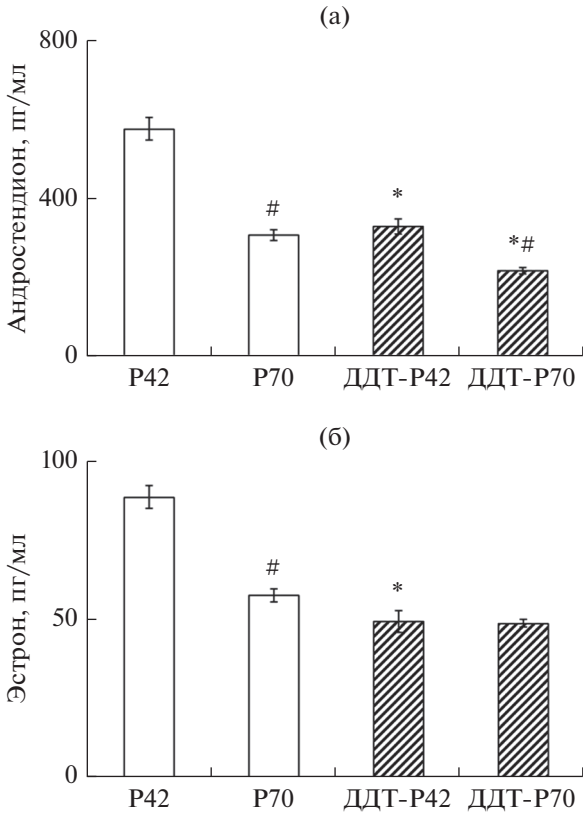

Рис. 7. Возрастные изменения концентрации андростендиона (а) и эстрона (б) в сыворотке крови крыс контрольной группы и крыс, подвергавшихся пре- и постнатальному воздействию низких доз ДДТ ($M \pm m$).

ность клеток принимать альтернативную функциональную идентичность в ответ на гормональные сигналы и сигналы клеточного микроокружения. Одной из форм пластичности является дедифференцировка, при которой дифференцированная клетка превращается в менее дифференцированную клетку в пределах одной и той же линии ткани (Tetteh *et al.*, 2015). Такое преобразование дифференцированных клеток путем *транс*- или дедифференцировки обеспечивает альтернативу регенерации путем мобилизации стволовых клеток-предшественников. Эта функциональная избыточность поддерживает гомеостаз и обеспечивает оптимальную адаптацию к стрессу (Bielinska *et al.*, 2006). Дифференцировка, обновление и функционирование адренокортикальных клеток стимулируются различными эндокринными/паракринными факторами, включая адренокортикотропин, ангиотензин II, инсулинсвязывающие факторы роста, лютеинизирующий гормон, активин и ингибин (Bielinska *et al.*, 2006; Laufer *et al.*, 2012). Следовательно, эндокринные дисрапторы могут влиять на морфогенетические процессы, нарушая их регуляцию. Oct4 – один из ключевых факторов, обеспечивающих поддержание эмбриональных клеток в плюрипотентном состоянии и способных вызывать дедифференцировку дифференцированных клеток во взрослом организме в ответ на вышеуказанные стимулы (Yu *et al.*, 2007). Кроме того, показано, что зонирование и регенерация коры надпочечников контролируются сигнальными путями развития, такими как Shh и WNT/β-катенин-сигналинг (Halder *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2008; Ching *et al.*, 2009). Обнаруженное нами в сетчатой зоне крыс контрольной группы небольшое количество Oct4- и Shh-позитивных клеток может свидетельствовать о наличии собственного пула клеток с менее высокой степенью дифференцировки или готовых к изменению дифференцировки для обеспечения физиологической регенерации зоны (Penny *et al.*, 2017; Finco *et al.*, 2018; Yaglova *et al.*, 2020). Завершение процессов окончательного формирования сетчатой зоны к 70-м суткам, характеризуется, кроме того, появлением не выявляемого ранее транскрипционного фактора PRH, который обладает ингибирующим действием на процессы пролиферации кортикостероцитов и хромаффиноцитов в постнатальном развитии надпочечника (Yaglova *et al.*, 2018; Yaglova *et al.*, 2019a). Оценка экспрессии β-катенина кортикостероцитами выявила значительные отличия, свидетельствующие об изменениях постнатального морфогенеза сетчатой зоны. β-катенин обнаруживался в кортикостероцитах в трех своих типичных субклеточных локализациях: в мембране, цитоплазме и ядре. Мембранный β-катенин, как известно, образует комплекс с Е-кадгерином в составе плотных контактов, цитоплазматический образуется при активации Wnt-сигналинга и транслоцируется в ядро, активируя транскрипцию Wnt-зависимых (Brembeck *et al.*, 2006; Yates *et al.*, 2013). Усиленная экспрессия β-катенина и повышенное его содержание в наружных цитоплазматических мембранах в пубертатном периоде у крыс, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора, может указывать на то, что сетчатая зона находится в более ранней стадии развития – формирования структуры, так как размеры зоны меньше, чем у контрольных животных, клетки характеризуются пониженной пролиферацией, а также усиленным формированием межклеточных контактов, что, в свою очередь, препятствует увеличению пролиферативной активности клеток (Shraiman *et al.*, 2004; Ribatti, 2017). В норме такие характеристики сетчатой зоны должны наблюдаться ранее, до периода адренархе. Увеличение численности Oct4-

экспрессирующих клеток после достижения половой зрелости также свидетельствует о задержке в формировании пула клеток, необходимых для формирования зон пролиферации. Активация экспрессии Oct4 в сетчатой зоне после достижения половой зрелости у подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ крыс происходила на фоне снижения активности Shh пути, обеспечивающего поддержания низкодифференцированного статуса клеток, и меньшей экспрессии антипролиферативного фактора PRH, что создает условия и для дедифференцировки и для пролиферации (Goodings *et al.*, 2015; Gaston *et al.*, 2016; Simandi *et al.*, 2016). Таким образом, воздействие эндокринного дисраптора вызывало нарушения в системе транскрипционной регуляции роста сетчатой зоны и приводило к изменению формирования ее структуры, при котором необходимая численность клеток достигалась за счет увеличения площади зоны, а не увеличения числа клеток в единице площади. То есть нарушение дисраптором экспрессии транскрипционных факторов приводило к изменению и темпов, и способа формирования структуры. Эти данные указывают не только на механизмы дисморфогенетического действия эндокринного дисраптора, но и свидетельствуют о роли факторов плюрипотентности в формировании источников пролиферации клеток сетчатой зоны коркового вещества надпочечников.

* * *

Воздействие низких доз эндокринного дисраптора ДДТ на развивающийся организм в течение пренатального и постнатального периодов онтогенеза приводит к изменению темпов морфогенеза и снижению функциональной активности сетчатой зоны коркового вещества надпочечников. Выявленные изменения включают нарушения транскрипционной регуляции морфогенетических процессов, обусловленные изменением активации канонического Wnt-сигналинга, а также экспрессии факторов PRH, Oct4, и Shh, обеспечивающих транскрипционный контроль процессов пролиферации, дифференцировки и плюрипотентности клеток. Полученные данные указывают на важную роль факторов плюрипотентности в обеспечении роста и физиологической регенерации сетчатой зоны, а также на механизмы дисрапторного действия ДДТ. Они заключаются не только в нарушении взаимодействия мужских половых гормонов с их рецепторами, но и изменении транскрипционного контроля развития структур, обеспечивающих продукцию этих гормонов в процессе полового созревания.

Финансирование. Работа выполнена по государственному заданию (рег. номер АААА-А17-117013050048-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 “о безопасности пищевой продукции”. СПб.: ГИОРД, 2015. 176 с.

Aneck-Hahn N.H., Schulenburg G.W., Bornman M.S., Farias P., de Jager C. Impaired semen quality associated with environmental DDT exposure in young men living in a malaria area in the Limpopo Province, South Africa // J. Androl. 2007. V. 28. P. 423–434.

Bellanger M., Demeneix B., Grandjean P., Zoeller R.T., Trasande L. Neurobehavioral deficits, diseases, and associated costs of exposure to endocrine-disrupting chemicals in the European Union // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2015. V. 100. P. 1256–1266.

Berthon A., Martinez A., Bertherat J., Val P. Wnt/b-catenin signalling in adrenal physiology and tumour development // Mol. Cell. Endocrinology. 2012. V. 351. P. 87–95.

Bielinska M., Kiiveri S., Parviainen H., Mannisto S., Heikinheimo M., Wilson D.B. Gonadectomy-induced adrenocortical neoplasia in the domestic ferret (*Mustela putorius furo*) and laboratory mouse // Vet. Pathol. 2006. V. 43. № 2. P. 97–117.

Bird I.M. In the zone: understanding zona reticularis function and its transformation by adrenarche // J. Endocrinol. 2012. V. 214. № 2. P. 109–111.

Brembeck F., Rosario M., Birchmeier W. Balancing cell adhesion and Wnt signaling, the key role of b-catenin // Curr. Opin. Gen. Dev. 2006. V. 16. P. 51–59.

Ching S., Vilain E. Targeted disruption of Sonic hedgehog in the mouse adrenal leads to adrenocortical hypoplasia // Genesis. 2009. V. 47. № 9. P. 628–637.

Finco I., Lerario A., Hammer G. Sonic hedgehog and Wnt signaling promote adrenal gland regeneration in male mice // Endocrinology. 2018. V. 159. P. 579–596.

Gaston K., Tsitsilianos M.-A., Wadey K., Jayaraman P.-S. Misregulation of the proline rich homeodomain (PRH/HHEX) protein in cancer cells and its consequences for tumour growth and invasion // Cell. Biosci. 2016. V. 6. P. 12.

Goodings C., Smith E., Mathias E., Elliott N., Cleveland S.M., Tripathi R.M., Layer J.H., Chen X., Guo Y., Shyr Y., Hamid R., Du Y., Dave U.P. Hhex is required at multiple stages of adult hematopoietic stem and progenitor cell differentiation // Stem Cells. 2015. V. 33. P. 2628–2641.

Gore A., Chapell V., Fenton S., Flaws J., Nadal A., Prins J., Toppari J., Zoeller J. EDC-2: the endocrine society’s second scientific statement on endocrine disrupting chemicals // Endocrine Rev. 2015. V. 36. № 6. P. E1–E150.

Halder S.K., Takemori H., Hatano O., Nonaka Y., Wada A., Okamoto M. Cloning of a membrane-spanning protein with epidermal growth factor-like repeat motifs from

adrenal glomerulosa cells // Endocrinology. 1998. V. 139. № 7. P. 3316–3328.

Kim A.C., Reuter A.L., Zubair M., Else T., Serecky K., Bingham N.C., Lavery G.G., Parker K.L., Hammer G.D. Targeted disruption of beta-catenin in Sf1-expressing cells impairs development and maintenance of the adrenal cortex // Development. 2008. V. 135. № 15. P. 2593–2602.

Kim W., Kim M., Jho E.-H. Wnt/β-catenin signaling: from membrane to nucleus // Biochem. J. 2013. V. 450. P. 9–21.

Laufer E., Kesper D., Vortkamp A., King P. Sonic hedgehog signaling during adrenal development // Mol. Cell. Endocrinol. 2012. V. 351. № 1. P. 19–27.

Oliveira K.J., Chiamolera M.I., Giannocco G., Pazos-Moura C.C., Ortiga-Carvalho T.M. Thyroid function disruptors: from nature to chemicals // J. Mol. Endocrinol. 2019. V. 62. № 1. P. R1–R19.

Ouyang F., Perry M.J, Venners S.A., Chen C., Wang B., Yang F., Fang Z., Zang T., Wang L., Xu X., Wang X. Serum DDT, age at menarche, and abnormal menstrual cycle length // Occup. Environ. Med. 2005. V. 62. P. 878–884.

Ozen S., Darcan S. Effects of environmental endocrine disruptors on pubertal development // J. Clin. Res. Ped. Endo. 2011. V. 3. № 1. P. 1–6.

Papalou O., Kandaraki E.A., Papadakis G., Diamanti-Kandarakis E. Endocrine disrupting chemicals: an occult mediator of metabolic disease // Front. Endocrinol. (Lausanne). 2019. V. 10. Art. 112.

Penny M., Finco I., Hammer G. Cell signaling pathways in the adrenal cortex: links to stem/progenitor biology and neoplasia // Mol. Cell. Endocrinol. 2017. V. 445. P. 42–54.

Pignatelli D., Xiao F., Gouvtia A., Ferreira J., Vinson G. Adrenarche in the rat // J. Endocrinol. 2006. V. 191. № 1. P. 301–308.

Ribatti D. A revised concept: contact inhibition of growth. from cell biology to malignancy // Exp. Cell Res. 2017. V. 359. P. 17–19.

Shraiman B. Mechanical feedback as a possible regulator of tissue growth // Proc. Natl. Acad. Sci. 2004. V. 102. P. 3318–3323.

Simandi Z., Horvath A., Wright L., Cuaranta-Monroy I., De Luca I., Karolyi K., Sauer S., Deleuze J.-F., Gudas L., Cowley S., Nagy L. OCT4 Acts as an integrator of pluripotency and signal-induced differentiation // Mol. Cell. 2016. V. 63. P. 647–661.

Tetteh P.W., Farin H.F., Clevers H. Plasticity within stem cell hierarchies in mammalian epithelia // Trends Cell. Biol. 2015. V. 25. № 2. P. 100–108.

Vandenberg L., Colborn T., Hayes T., Heindel J., Jacobs Jr. D., Lee D., Shioda T., Soto A., vom Saal F., Welshons W., Zoeller R., Myers J. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses // Endocrine Rev. 2012. V. 33. P. 378–455.

World Health Organization. State of the Science of Endocrine-Disrupting Chemicals. Geneva: Intern. Program. on Chem. Safety, 2012. 180 p.

Xu X.B., He Y., Song C., Ke H., Fan S.-J., Peng W.-J., Tan R., Kawata M., Matsuda K.-I., Pan B.-X., Kato N. Bisphenol A regulates the estrogen receptor _ signaling in developing hippocampus of male rats through estrogen receptor // Hippocampus. 2014. V. 24. № 12. P.1570–1580.

Yaglova N.V., Obernikhin S.S., Nazimova S.V., Yaglov V.V. Role of transcription factor Oct4 in postnatal development and function of the adrenal cortex // Bull. Exp. Biol. 2019. V. 167. № 4. P. 568–573.

Yaglova N.V., Obernikhin S.S., Nazimova S.V., Yaglov V.V., Kosmachevskaya O.V., Topunov A.F. Changes in transcriptional regulation of postnatal morphogenesis of the adrenal zona fasciculata caused by endocrine disruptor dichlorodiphenyltrichloroethane // Bull. Exp. Biol. 2020. V. 168, № 6. P. 797–801.

Yaglova N.V., Obernikhin S.S., Tsomartova D.A., Nazimova S.V., Yaglov V.V. Expression of transcription factor PRH/Hhex in adrenal chromaffin cells in the postnatal development and its role in the regulation of proliferative processes // Bull. Exp. Biol. Med. 2018. V. 165. № 4. P. 508–511.

Yaglova N.V., Tsomartova D.A., Obernikhin S.S., Nazimova S.V., Yaglov V.V. Regulation of proliferative processes in rat adrenal cortex by transcriptional factor PRH under conditions of developmental exposure to endocrine disruptor DDT // Bull. Exp. Biol. 2019. V. 167. № 3. P. 404–407.

Yaglova N.V., Yaglov V.V. Mechanisms of disruptive action of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) on the function of thyroid follicular epitheliocytes // Bull. Exp. Biol. 2015. V. 160. № 2. P. 231–233.

Yamazaki H., Takano R., Shimizu M., Muruayama N., Kitajima M., Shono F. Human blood concentrations of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) extrapolated from metabolism in rats and humans and physiologically based pharmacokinetic modeling // J. Health Sci. 2010. V. 56. № 5. P. 566–575.

Yates R., Katugampola H., Cavlan D., Cogger K., Meimaridou E., Hughes C., Metherell L., Guasti L., King P. Adrenocortical development, maintenance, and disease // Curr. Top. Dev. Biol. 2013. V. 106. P. 239–312.

Yu J., Vodyanik M.A., Smuga-Otto K., Antosiewicz-Bourget J., Frane J.L., Tian S., Nie J., Jonsdottir G.A., Ruotti V., Stewart R., Slukvin I.I., Thomson J.A. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cell // Science. 2007. V. 318. № 5858. P. 1917–1920.

Development and Function of Adrenal Zona Reticularis in Rats Prenatally and Postnatally Exposed to Endocrine Disruptor DDT

N. V. Yaglova[1, #], S. S. Obernikhin[1], S. V. Nazimova[1], E. P. Timokhina[1], D. A. Tsomartova[1], and V. V. Yaglov[1]

[1] *Research Institute of Human Morphology, ul. Tsurupa, 3, Moscow, 117418 Russia*
[#]*e-mail: yaglova@mail.ru*

Parameters of postnatal development and its transcriptional control as well as functioning of adrenal zona reticularis in rats prenatally and postnatally exposed to endocrine disruptor dichlorodiphenyltrichloroetane (DDT) were studied. It was found that developmental exposure to the endocrine disruptor affects both rates of growth and functional maturation of zona reticularis. The investigation revealed some mechanisms of dysmorphogenetic action of DDT, which consist in altered expression of transcription factors PRH, Oct4, Shh ligand and activation of canonical Wnt signaling. The data obtained also demonstrate the important role of pluripotency factors in ensuring normal growth and physiological regeneration of the zona reticularis.

Keywords: adrenal, mest area, development, Oct4, Shh, PRH, endocrine disruptor, DDT

EDN: QCUJBB
ИЗВЕСТИЯ РАН. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ, 2022, № 3, с. 237–245

БИОХИМИЯ

УДК 619.611.573.616:092.632.636.578:582.29

ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ МИКРОМИЦЕТОВ В РАСТЕНИЯХ СЕМЕЙСТВА Brassicaceae (Cruciferae)

© 2022 г. А. А. Буркин*, Г. П. Кононенко*, @

**ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, Звенигородское ш., 5, Москва, 123022 Россия*

@E-mail: kononenkogp@mail.ru

Поступила в редакцию 23.07.2020 г.
После доработки 21.01.2021 г.
Принята к публикации 21.01.2021 г.

Методом непрямого конкурентного иммуноферментного анализа изучена встречаемость 16 микотоксинов в дикорастущих травах семейства Капустные (Крестоцветные), типичных для биоценозов Центральной России. Альтернариол, циклопиазоновая кислота и сумма эргоалкалоидов у всех растений, представляющих 13 родов, обнаружены с частотой от 52 до 100%, тогда как остальные анализированные вещества – фузариотоксины и метаболиты, свойственные микромицетам других таксонов (охратоксин А, цитринин, стеригматоцистин, афлатоксин B_1, микофеноловая кислота, эмодин, PR-токсин, роридин А) – либо отсутствовали, либо были детектированы реже в количествах, близких к пределу определения метода. У отдельных растений наблюдалась повышенная частота выявления Т-2 токсина, дезоксиниваленола, диацетоксисцирпенола и других минорных компонентов. Установлены особенности распределения микотоксинов по вегетативным и генеративным органам капусты полевой (*Brassica campestris* L.), сурепицы дуговидной (*Barbarea arcuata* (Opiz ex J. et C. Presl) Reichenb.) и свербиги восточной (*Bunias orientalis* L.), при этом отчетливой сезонной динамики накопления микотоксинов у этих растений не выявлено.

Ключевые слова: дикорастущие крестоцветные травы, микотоксины, иммуноферментный анализ
DOI: 10.31857/S1026347022030052

Травянистые сосудистые растения относятся к уникальным биологическим объектам, наделенным совершенными механизмами адаптации к многообразию факторов окружающей среды, в том числе, к грибным сообществам как извне, так и изнутри (Zhang *et al.*, 2006; Rodriguez *et. al.*, 2009). Растения и микроскопические грибы способны реализовывать широкий спектр контактов и отношений – от простых конкурентных реакций до многообразных форм совместного существования (Zabalgogeazcoa, 2008). Для многих ассоциированных микроскопических грибов известна способность к биосинтезу токсичных метаболитов (Weidenbörner, 2001), однако их вклад и степень участия в жизнедеятельности организма-хозяина долгое время оставались неясными. Постановка такой задачи стала возможной благодаря разработке унифицированной методологии иммунохимического анализа, позволяющей избирательно и с необходимой чувствительностью детектировать микотоксины разной структурной принадлежности (Кононенко, Буркин, 2002). В ходе обследования растений сем. Fabaceae нескольких таксономических групп были получены первые сведения о видовых особенностях и сезонных изменениях в накоплении токсичных метаболитов ассоциированных микромицетов (Буркин, Кононенко, 2018; Кононенко, Буркин, 2018, 2019). Изучение крестоцветных растений, как непременной составляющей луговых экосистем в Центральной России, стало продолжением этого направления.

Цель работы – изучить встречаемость и содержание микотоксинов у крестоцветных травянистых растений разной родовой принадлежности и изменчивость метаболического профиля по срокам вегетации и отдельным органам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были 289 образцов дикорастущих трав, представляющие 13 родов семейства – Brassicaceae (Cruciferae) – чесночница черешковая (*Alliaria petiolata* (Bieb.) Cavara et Grande), бурачок шершавый (*Alyssum hirsutum* Bieb.), хрен обыкновенный (*Armoracia rusticana* Gaertn., Mey. et Scherb.), сурепица дуговидная (*Barbarea arcuata* (Opiz ex J. et C. Presl) Reichenb.), капуста полевая (*Brassica campestris* L.), свербига восточная (*Bunias orientalis* L.)., сумочник пастуший (*Capcella bursa-pastoris* (L.) Medik.), желтуш-

ник золотистый (*Erysimum aureum* Bieb.), редька полевая (*Raphanus raphanistrum* L.), жерушник болотный (*Rorippa palustris* (L.) Bess.), гулявники (*Sisymbrium* spp.), горчица белая (*Sinapis alba* L.), ярутка полевая (*Thiaspi arvense* L.). Видовую идентификацию растений проводили по определителям (Губанов и др., 2003; Скворцов, 2004).

Наземные части цельных растений, срезанных на высоте 3–5 см от поверхности почвы, отбирали регулярно с недельным интервалом в мае-июле 2017–2019 гг. на трех участках луговин в Московской и Тверской областях, выбранных с учетом наибольшего разнообразия видов крестоцветных растений. После краткосрочной транспортировки часть образцов разделяли на фрагменты (стебли, листья, цветки, стручки и стручочки с семенами). Далее их выдерживали в проветриваемом помещении при комнатной температуре до воздушно-сухого состояния и перед началом анализа измельчали в лабораторной мельнице. Для экстракции применяли смесь ацетонитрила и воды в объемном соотношении 84:16 при расходе 10 мл на 1 г навески. Экстракты после 10-кратного разбавления буферным раствором использовали для непрямого конкурентного иммуноферментного анализа. Микотоксины – Т-2-токсин (Т-2), диацетоксисцирпенол (ДАС), дезоксиниваленол (ДОН), зеараленон (ЗЕН), фумонизины (ФУМ), эргоалкалоиды (ЭА), альтернариол (АОЛ), роридин А (РОА), афлатоксин B_1 (AB_1), стеригматоцистин (СТЕ), циклопиазоновую кислоту (ЦПК), эмодин (ЭМО), охратоксин А (ОА), цитринин (ЦИТ), микофеноловую кислоту (МФК), PR-токсин (PR) – анализировали с помощью аттестованных иммуноферментных тест-систем (Kononenko *et al.*, 2015). Нижний предел количественных измерений составил 2 (Т-2, ЭА, AB_1), 4 (ОА, СТЕ, РОА), 15 (АОЛ, ЗЕН, ЭМО), 20 (ЦИТ, МФК), 50 (ДОН), 60 (ФУМ, ЦПК), 100 (ДАС, PR) мкг/кг и соответствовал 85%-ному уровню связывания антител. Стандартные отклонения повторяемости и промежуточной прецизионности соответствовали принятым значениям этих показателей (ГОСТ 31653–2012).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для всех обследованных растений отчетливо проявлялся общий признак в виде устойчиво высокой встречаемости АОЛ, ЦПК, ЭА с частотой от 52 до 100% (табл. 1, 2). По уровням накопления эти метаболиты образовывали ряд ЦПК > АОЛ > ЭА, в котором содержание АОЛ, известного метаболита грибов *Alternaria*, соответствовало десяткам мкг/кг с наибольшим значением 75 мкг/кг у хрена обыкновенного. Для ЦПК и ЭА, синтезируемых грибами других таксонов, этот показатель варьировал от сотен до десятков и единиц мкг/кг (у ярутки полевой и бурачка шершавого). Как и в предварительном исследовании (Кононенко, Зотова, 2019), ни в одном из растений не был найден РОА, к продуцированию которого способны отдельные виды грибов рода *Myrothecium*.

У однолетних крестоцветных контаминация токсинами грибов рода *Fusarium* отсутствовала или сводилась к детектированию только Т-2 или ДАС (табл. 1), и в единственном доступном для анализа образце редьке полевой эти токсины также обнаружить не удалось. Напротив, у всех многолетних трав с продолжительным и прерываемым циклом развития было представлено сочетание Т-2 и ФУМ, которое дополняли ДОН у сурепицы дуговидной, ДАС у жерушника болотного, ЗЕН у чесночницы черешковой и эти же три метаболита совместно у свербиги восточной (табл. 2). Судя по присутствию всех фузариотоксинов у 4-х неидентифицированных представителей рода *Sisymbrium* spp., они также принадлежали многолетникам, и действительно один из них был определен как гулявник волжский *S. volgense* Bieb. Ex Fourn. Разные комбинации фузариотоксинов у таких растений могут быть связаны со своеобразием видового состава группы ассоциированных грибов, а более частое обнаружение и расширение диапазона содержаний в сторону увеличения количеств по Т-2 (жерушник болотный), Т-2, ДОН (сурепица дуговидная) и ДАС (свербига восточная) – с интенсивностью их заселения. В связи с этим уместно отметить недавнее исследование луговых трав семейства Leguminosae, в котором показано, что содержание ДНК грибов *Fusarium* у многолетних растений достоверно выше, чем у однолетних (Orina *et al.*, 2017; Орина и др., 2018).

В обследованных растениях было выявлено совместное присутствие метаболитов, для которых известно совмещение биосинтеза у грибов – ОА и ЦИТ (*Penicillium viridicatum* Westling), СТЕ и AB_1 (*Aspergillus flavus* Link, *A. parasiticus* Speare), МФК и PR (*P. roqueforti* Thom), и соотношения количеств ЦИТ, ОА и МФК, PR соответствовали найденным в культурах (Weidenbörner, 2001). Такой тип контаминации был свойственен всем многолетникам, но редко встречался среди однолетников – только у сумочника пастушьего и ярутки полевой (табл. 1, 2). В дальнейшем, возможно, будет дана сравнительная оценка зараженности этих растений продуцирующими видами с помощью количественной ПЦР.

Происхождение метаболита антрахинонового ряда ЭМО в растительных объектах пока остается предметом дискуссии (Izhaki, 2002). У крестоцветных он выявлен в гулявниках в количествах от 40 до 98 мкг/кг и у всех других растений, кроме редьки полевой, бурачка шершавого, хрена обыкновенного и чесночницы черешковой, на уровнях 18–29 мкг/кг (табл. 1, 2).

Таблица 1. Встречаемость (%) и содержание микотоксинов в наземных частях однолетних крестоцветных растений

Микотоксин	Капуста полевая *n* = 17	Ярутка полевая *n* = 21	Сумочник пастуший *n* = 39	Желтушник золотистый *n* = 14	Бурачок шершавый *n* = 17
Т-2	–	5 5	21 2–**9**–34	21 3–**5**–6	–
ДОН	–	–	–	–	–
ДАС	– (*n* = 13)	– (*n* = 16)	– (*n* = 32)	–	6 130
ЗЕН	–	–	–	–	–
ФУМ	–	–	–	–	–
АОЛ	71 12–**34**–59	91 24–**41**–105	77 19–**43**–150	64 16–**31**–40	53 18–**36**–84
ОА	–	33 4–**8**–12	23 5–**7**–10	7 **8**	59 4–**6**–10
ЦИТ	6 40	–	8 21–**28**–32	–	–
СТЕ	6 13	14 12–**14**–17	8 6–**11**–15	64 15–**21**–28	24 6–**25**–83
AB_1	–	38 2–**3**–5	13 2–2–3	–	–
ЦПК	76 32–**150**–300	62 98–**175**–315	97 32–**200**–610	93 100–**140**–205	100 100–**145**–200
МФК	–	10 24, 33	31 9–**30**–100	7 33	–
ЭА	88 2–**20**–190	52 2–**9**–30	100 2–**15**–54	100 2–**20**–105	100 2–**7**–15
ЭМО	29 12–**18**–30	29 12–**29**–69	21 15–**21**–30	21 15–**17**–20	–
PR	–	–	5 390, 400	–	–

Примечание. Верхние строчки – % положительных образцов; нижние – содержание микотоксина, мкг/кг, минимальное–**среднее**–максимальное; “–” – отсутствие микотоксина; *n* – число исследованных образцов; для табл. 1, 2.

Сравнение данных табл. 1, 2 показывает, что по компонентному составу микотоксинов среди крестоцветных лидируют сумочник пастуший и свербига восточная, что позволяет рассматривать их в числе наиболее перспективных объектов для углубленного изучения роли этих соединений. В последние годы поиск растений, которые могут служить удобными моделями для общего метаболомного анализа при решении биохимических, физиологических, экологических и таксономических задач становится все более актуальным (Котлова и др., 2016).

В целом, судя по малым уровням накопления, нагрузку микотоксинами у обследованных луговых крестоцветных в сравнении с бобовыми следует признать низкой. Однако такой вывод, безусловно, нельзя считать окончательным, учитывая их значительное разнообразие, представленное только в Средней России более чем 75 видами (Губанов и др., 2003; Скворцов, 2004). В семействе Бобовые, растения, контрастные по микотоксикологическому статусу, были выявлены даже в пределах одного рода, например, у *Trifolium* L. (Кононенко, Буркин, 2018) и *Lathyrus* L. (Кононенко, Буркин, 2019).

Известно, что культурные крестоцветные легко дичают и успешно адаптируются в естественные сообщества (Губанов и др., 2003; Скворцов, 2004). К сожалению, степень влияния условий обитания на профиль метаболитов грибов остается недостаточно изученной. Однако, судя по результатам анализа 11 образцов одичавшей горчицы белой (*Sinapis alba* L.), по общей слабой нагрузке мико-

Таблица 2. Встречаемость (%) и содержание микотоксинов в наземных частях многолетних крестоцветных растений

Микотоксин	Сурепица дуговидная $n = 62$	Свербига восточная $n = 30$	Хрен обыкновенный $n = 8$	Чесночница черешковая $n = 32$	Жерушник болотный $n = 33$
Т-2	16 2–**7**–49	27 2–**3**–4	25 3, 5	6 3, 4	30 2–**6**–25
ДОН	48 46–**81**–130	7 50, 76	–	–	–
ДАС	– ($n = 54$)	42 100–**200**–400 ($n = 24$)	–	– ($n = 22$)	9 100–**110**–125
ЗЕН	–	13 24–**33**–49	–	3 17	–
ФУМ	2 89	3 129	13 73	3 105	12 60–**67**–81
АОЛ	60 15–**30**–42	67 19–**35**–59	100 63–**75**–100	91 19–**36**–92	85 18–**33**–52
ОА	3 8, 8	10 8–**8**–9	–	34 4–**8**–13	15 4–**6**–11
ЦИТ	29 26–**34**–42	3 50	25 30, 33	25 25–**33**–47	9 33–**41**–45
СТЕ	5 11–**13**–15	20 6–**11**–25	50 7–**8**–9	16 6–**14**–21	45 8–**12**–16
$АВ_1$	–	17 2–**2**–2	63 2–**3**–3	38 2–**4**–5	18 2–**2**–2
ЦПК	95 63–**285**–645	93 82–**220**–515	100 130–**225**–300	75 63–**145**–250	91 76–**205**–470
МФК	3 19, 24	23 12–**27**–47	–	9 12–**13**–15	39 17–**23**–31
ЭА	86 2–**13**–160	83 2–**25**–95	100 6–**35**–63	75 4–**17**–56	100 3–**28**–125
ЭМО	–	27 10–**20**–30	–	53 16–**28**–77	18 14–**22**–32
PR	3 400, 415	3 205	–	–	6 270, 300

токсинами, регулярной встречаемости АОЛ, ЦПК и ЭА, а также по редкому детектированию $АВ_1$, СТЕ, ЭМО, МФК и единичным случаям обнаружения ОА, ЦИТ, Т-2, ФУМ наблюдалось ее отчетливое сходство с посевной (Буркин и др., 2019).

Сезонные вариации концентраций эндогенных вторичных метаболитов у сосудистых растений и неоднородность распределения по органам относят к признакам, указывающим на их участие в механизмах адаптации к внешним воздействиям (Arbona *et al.*, 2013; Kushalappa, Gunnaian, 2013; Hong *et al.*, 2016). У бобовых трав колебания в содержании микотоксинов от начала роста до цветения описаны для клевера лугового, клевера ползучего (Кононенко, Буркин, 2018), люцерны, донников (Буркин, Кононенко, 2018), чины луговой, горошка мышиного (Кононенко, Буркин, 2019). У посевной горчицы белой в процессе вегетации состав микотоксинов и количественные соотношения между ними в целом сохранялись, но по мере ее созревания происходило снижение содержания АОЛ и ЦПК (Буркин и др., 2019). У луговых крестоцветных трав существенных и закономерных сезонных смещений встречаемости и содержания микотоксинов выявить не удалось,

Таблица 3. Встречаемость (n^+) и содержание микотоксинов в вегетативных и генеративных органах однолетних крестоцветных растений

Микотоксин	Капуста полевая				Ярутка полевая	Сумочник пастуший
	стебли $n = 2$	листья $n = 2$	цветки $n = 4$	Стручки $n = 5$	стручочки $n = 6$	стручочки $n = 6$
Т-2	–	–	–	–	–	–
ДОН	–	–	3 79–**81**–86	–	–	–
ДАС	–	–	4 195–**240**–295	не опр.	не опр.	не опр.
ЗЕН	–	–	4 25–**29**–39	–	–	–
ФУМ	–	–	4 120–**145**–170	–	–	–
АОЛ	1 19	2 26, 28	4 38–**50**–63	2 12, 17	5 16–**37**–78	3 35–**36**–37
ОА	–	–	–	–	6 5–**8**–10	2 6, 10
ЦИТ	–	1 25	–	–	–	–
СТЕ	–	1 8	–	–	3 15–**16**–19	3 12–**16**–23
$АВ_1$	–	–	–	–	3 2–**2**–2	1 2
ЦПК	2 85, 195	2 300, 350	4 110–**140**–160	3 30–**37**–40	3 115–**140**–165	5 97–**145**–175
МФК	–	–	4 16–**21**–26	1 20	–	–
ЭА	2 2, 3	2 21, 43	2 2, 3	5 1–**3**–6	3 3–**6**–10	5 2–**5**–10
ЭМО	–	–	4 22–**25**–26	4 10–**14**–16	–	2 19, 24
PR	–	–	2 350, 515	–	–	–

Примечание. Верхние строчки – n^+– число положительных образцов; нижние – содержание микотоксина, мкг/кг, минимальное–**среднее**–максимальное; “–” – отсутствие микотоксина; *n* – число исследованных образцов; “не опр.” – микотоксин не определяли; для табл. 3–5.

однако в распределении по вегетативным и генеративным органам прослеживались как общие черты, так и особенности (табл. 3–5).

Комплекс типичных метаболитов – АОЛ, ЦПК и ЭА – присутствовал как в вегетативных, так и в генеративных органах, что указывает на однородное распределение ассоциированных грибов, обеспечивающих их биосинтез. Среди особенностей контаминации листьев по сравнению со стеблями следует отметить тенденцию к большему накоплению АОЛ, ЦПК и ЭА и выявлению токсинов, отсутствующих в стеблях (табл. 3–5). Интересно, что для листьев хрена обыкновенного и сурепицы дуговидной из верхних и нижних ярусов, отличающихся по форме, каких-либо различий выявлено не было (Кононенко и др., 2019). Повышенное содержание микотоксинов в листьях с расширением компонентного состава ранее уже было описано для посевной горчицы белой (Буркин и др., 2019) и одного

Таблица 4. Встречаемость (n^+) и содержание микотоксинов в вегетативных и генеративных органах сурепицы дуговидной и свербиги восточной

Микотоксин	Сурепица дуговидная				Свербига восточная			
	стебли $n = 7$	листья $n = 7$	цветки $n = 8$	стручки $n = 7$	стебли $n = 10$	листья $n = 12$	цветки $n = 14$	стручочки $n = 11$
Т-2	4 2–**3**–5	2 2, 2	–	–	4 4–**7**–9	8 2–**4**–7	2 2, 5	1 2
ДОН	1 64	4 60–**81**–97	4 89–**99**–105	–	–	1 49	1 66	2 52, 53
ДАС	–	–	–	не опр.	1 150	6 325–**400**–600	3 125–**165**–210 $n = 8$	2 200, 225 $n = 2$
ЗЕН	–	–	–	–	1 46	6 25–**40**–51	6 24–**29**–43	5 15–**43**–98
ФУМ	–	–	–	–	5 50–**105**–150	2 49, 49	–	1 47
АОЛ	7 25–**34**–51	6 25–**54**–160	4 24–**57**–130	1 38	7 13–**72**–315	9 20–**35**–59	5 13–**30**–67	4 10–**33**–53
ОА	1 5	1 5	–	1 6	–	–	1 4	2 4, 5
ЦИТ	–	–	–	2 26, 26	3 34–**38**–42	6 38–**48**–52	–	–
СТЕ	–	1 15	–	2 13, 13	1 7	2 7, 8	–	1 19
AB_1	1 8	4 2–**6**–18	2 2; 16	–	–	3 2–**2**–2	1 2	–
ЦПК	7 155–**205**–305	7 295–**480**–760	8 200–**255**–385	5 65–**200**–365	7 97–**205**–365	12 155–**320**–630	9 63–**115**–185	3 38–**110**–250
МФК	2 20, 43	3 20–**35**–63	3 32–**40**–56	1 19	–	1 19	6 15–**20**–40	–
ЭА	7 3–**11**–32	7 2–**17**–76	5 2–**12**–48	4 2–**11**–20	7 3–**17**–42	12 2–**15**–47	5 2–**4**–5	1 8
ЭМО	2 19, 37	1 40	1 50	–	1 16	5 16–**26**–40	7 10–**30**–83	–
PR	–	2 265, 355	–	–	1 115	5 125–**160**–215	–	–

Таблица 5. Встречаемость (n^+) и содержание микотоксинов в вегетативных органах, цветках хрена обыкновенного и в стручках чесночницы черешковой

Микотоксин	Хрен обыкновенный			Чесночница черешковая
	стебли $n = 9$	листья $n = 7$	цветки $n = 4$	стручки $n = 10$
Т-2	–	–	–	3 2–**3**–4
ДОН	–	–	–	3 83–**120**–155
ДАС	–	–	–	не опр.
ЗЕН	–	–	–	2 25, 32
ФУМ	–	–	–	–
АОЛ	3 12–**13**–14	7 19–**20**–22	3 13–1**4**–14	10 24–**61**–105
ОА	–	–	–	9 4–**16**–50
ЦИТ	–	–	–	5 24–**30**–38
СТЕ	–	–	–	4 12–**19**–27
AB_1	–	1 5	2 4, 4	8 2–**4**–4
ЦПК	1 100	7 97–**160**–205	–	7 78–**120**–160
МФК	–	2 25, 25	–	3 13–**15**–17
ЭА	–	7 4–**5**–7	–	8 8–**13**–20
ЭМО	–	–	–	6 14–**26**–54
PR	–	–	–	2 310, 330

из представителей семейства Астровые – подсолнечника однолетнего (Зотова и др., 2017). Это вполне объяснимо сосредоточением в листовых пластинках многих динамичных функций организма.

Феномен обогащения состава грибных метаболитов в цветках по сравнению с листьями, ранее установленный для посевной горчицы белой (Буркин и др., 2019), повторился у однолетника капусты полевой как пополнение профиля фузариотоксинами (за исключением Т-2), а также МФК, ЭМО и PR (табл. 3). В цветках многолетников – хрене обыкновенном, сурепице дуговидной и свербиге восточной – набор микотоксинов отличался от листьев обратным эффектом – обеднением состава метаболитов в сравнении с вегетативными частями растения (табл. 4, 5). Эти особые черты, прослеженные на немногих растениях, несомненно, заслуживают продолжения наблюдений и сбора сведений по более объемным выборкам однолетних и многолетних трав.

Для плодов (стручков и стручочков разной степени зрелости) выявлен ряд особенностей в сравнении с цветками (капуста полевая, сурепица дуговидная, свербига восточная) и общей фитомассой. У однолетников (капуста полевая, ярутка полевая, сумочник пастуший) фузариотоксины отсутствовали (табл. 3), и тот же эффект наблю-

дался у сурепицы дуговидной (табл. 4). Напротив, у двух других многолетников – свербиги восточной и чесночницы черешковой – они оставались в числе контаминантов (табл. 4, 5). Тенденция к понижению уровней накопления АОЛ и ЦПК прослеживалась у капусты полевой (табл. 3) и сурепицы дуговидной, а у свербиги восточной была более отчетливой по ЦПК и ЭА (табл. 4). Из компонентов, найденных в наземных частях растений с частотой более 20%, в стручочках ярутки полевой отсутствовал ЭМО, у сумочника – МФК (ср. табл. 1 и 3), у свербиги восточной – ЭМО, МФК, а также AB_1 (ср. табл. 2 и 4). Понижение метаболического фона в плодах крестоцветных, впервые обнаруженное у горчицы белой (Буркин и др., 2019), по-видимому, связано с общим вектором процессов созревания этих растений. К сожалению, объем сведений о распределении вторичных метаболитов по органам растений этого семейства до сих пор остается крайне ограниченным. Показано, что в семенах и створках стручочков ярутки полевой содержание фенольных соединений значительно ниже, чем в целом растении (Тартынская, 2013), а у свербиги восточной накопление флавонолов в листьях, бутонах и цветках превышает найденное в стеблях (Михович и др. 2018).

Как известно, во взаимовыгодный симбиоз с растениями вовлечены грибы из групп конститутивного и индуцируемого мутуализма, заселяющие аэрируемые части организма, которые в течение долгого времени могут оставаться метаболически неактивными с относительно малой грибной биомассой, но при определенных обстоятельствах способны заметно активизировать рост (Carroll, 1988). Судя по тому, что у растений этого сообщества выявлены, хотя и с разной частотой, все анализированные микотоксины, кроме РОА, комплекс ассоциированных микромицетов представлен у них многообразием продуцирующих видов. Наблюдаемые случаи повышенных уровней накопления отдельных метаболитов могут означать формирование в организме-хозяине условий, благоприятных для роста этих грибов или наиболее полной реализации генетически детерминированной способности к биосинтезу.

В последние годы биологической наукой предпринимаются настойчивые усилия по всестороннему изучению крестоцветных европейской России, охватывающему их географическое распространение, флористическое разнообразие, типофикацию таксонов различных рангов (Дорофеев, 2002) и инвазионную активность в роли агриофитов (Григорьевская и др., 2013). Оценка этого сообщества как объекта контаминации микотоксинами, появление которых связано с заселением специфическими эндофитами, а также патогенными и паразитирующими грибами, еще только начинается и сохраняет высокую актуальность в связи со все возрастающим применением этих растений в пищевых, лечебных и кормовых целях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Буркин А.А., Кононенко Г.П. Вторичные метаболиты микромицетов в растениях семейства Fabaceae родов *Galega, Glycyrrhiza, Lupinus, Medicago, Melilotus* // Изв. РАН. Сер. биол. 2018. № 3. С. 267–274.

Буркин А.А., Кононенко Г.П., Мосина Л.В. Первое микотоксикологическое исследование горчицы белой (*Sinapis alba*) // Сельскохоз. биология. 2019. Т. 54. № 1. С. 186–194.

Григорьевская А.Я., Лепешкина Л.А., Владимиров Д.Р., Сергеев Д.Ю. К созданию Черной книги Воронежской области // Рос. журнал биологических инвазий. 2013. № 1. С. 8–26.

Губанов И.А., Киселева К.В., Новиков В.С., Тихомиров В.Н. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Т. 2. М.: КМК, Ин-т технол. исследований, 2003. 665 с.

Дорофеев В.И. Крестоцветные (Cruciferae Juss.) Европейской России. Turczaninowia. 2002. Т. 5. № 3. С. 5–114.

Зотова Е.В., Кононенко Г.П., Буркин А.А. Микотоксины в подсолнечнике (*Helianthus annuus* L.): компонентный состав и распределение по растению // Современная микология в России. 2017. Т. 7. С. 202–204.

Кононенко Г.П., Буркин А.А. Развитие и современное состояние аналитических исследований микотоксинов // Лабораторный журн. 2002. № 1(1). С. 50–55.

Кононенко Г.П., Буркин А.А. Вторичные метаболиты микромицетов в растениях семейства Fabaceae рода *Trifolium* // Изв. РАН. Сер. биол. 2018. № 2. С. 150–157.

Кононенко Г.П., Буркин А.А. Вторичные метаболиты микромицетов в растениях семейства Fabaceae родов *Lathyrus, Vicia* // Известия РАН. Сер. Биол. 2019. № 3. С. 229–235.

Кононенко Г.П., Зотова Е.В. Метаболический профиль токсинообразующих микромицетов у луговых растений семейства крестоцветные // Успехи медицинской микологии. 2019. Т. 20. С. 639–643.

Кононенко Г.П., Зотова Е.В., Устюжанина М.И. Распределение микотоксинов по органам у бобовых и крестоцветных растений // Успехи медицинской микологии. 2019. Т. 20. С. 649–653.

Котлова Е.Р., Пузанский Р.К., Данчул Е.Ю., Шагова Л.И., Паутова И.А., Шаварда А.Л. Agastache mexicana (Lamiaceae) как модель для изучения вторичного метаболизма растений методами метаболомики // Растительные ресурсы. 2016. Т. 52. Вып. 4. С. 591–609.

Орина А.С., Гаврилова О.П., Гагкаева Т.Ю. Выявление зараженности грибами однолетних и многолетних трав семейства Leguminosae методом количественной ПЦР // Вестник защиты растений. 2018. № 2(96). С. 35–41.

Скворцов В.Э. Иллюстрированное руководство для ботанических практик и экскурсий в Средней России. М.: КМК, 2004. 506 с.

Михович Ж.Э., Пунетов В.В., Зайнуллина К.С., Рубан Г.А. Распределение пула флавонолов в надземной массе свербиги восточной (*Bunias orientalis* L.) при выращивании на Севере // Самарский научный вестник. 2018. Т. 7. № 2(23). С. 87–90.

Тартынская А.С. Определение количественного содержания фенольных соединений в семенах, траве и створках стручочков ярутки полевой // Украинский журн. клинической и лабораторной медицины. 2013. Т. 8. № 4. С. 89–91.

Arbona V., Manzi M., Ollas C., Gymez-Cadenas A. Metabolomics as a tool to investigate abiotic stress tolerance in plants // Intern. J. Mol. Sci. 2013. V. 14. P. 4885–4911.

Carroll G. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont // Ecology. 1988. V. 69. P. 2–9.

Hong J., Yang L., Zhang D., Shi J. Plant metabolomics: an indispensable system biology tool for plant science // Intern. J. Mol. Sci. 2016. V. 17. P. 767.

Izhaki I. Emodin – a secondary metabolite with multiple ecological functions in higher plants // New Phytologist. 2002. V. 55. P. 205–217.

Kononenko G.P., Burkin A.A., Gavrilova O.P., Gagkaeva T.Yu. Fungal species and multiple mycotoxin contamination of European cultivated grasses and legumes crops // Agricult. and Food Science. 2015. V. 24. P. 323–330.

Kushalappa A., Gunnaiah R. Metabolo-proteomics to discover plant biotic stress resistance genes // Trends Plant Sci. 2013. V. 18. P. 522–531.

Orina A.S., Gavrilova O.P., Gagkaeva T.Yu., Burkin A.A., Kononenko G.P. Fungi and mycotoxins in annual and perennial grasses of Leguminosae. In "Deepen knowledge in plant pathology for innovative agro-ecology". 12th European Foundation for Plant Pathology & 10th French Society for Plant Pathology Conference, May 29–June 2, 2017, Dunkerque–Malo-les-Bains, France. Book of abstracts, p. 95.

Rodriguez R.J., White J.F.J., Arnold A.E., Redman R.S. Fungal endophytes: diversity and functional roles // New Phytol. 2009. V. 182. P. 314–330.

Weidenbörner M. Encyclopedia of food mycotoxins. Berlin: Springer, 2001. 294 p.

Zabalgogeazcoa I. Review. Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens // Spanish J. Agricul. Res. 2008. V. 6. P. 138–146.

Zhang H.W., Song Y.C., Tan R.X. Biology and chemistry of endophytes // Nat. Prod. Rep. 2006. V. 23. P. 753–771.

Secondary Metabolites of Micromycetes in Plants of the Family Brassicaceae (Cruciferae)

A. A. Burkin[1] and G. P. Kononenko[1, #]

[1] *All-Russian Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene, and Ecology – Skryabin and Kovalenko Federal Scientific Center, All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Zvenigorodskoe sh., 5, Moscow, 123022 Russia*

[#] *e-mail: kononenkogp@mail.ru*

Indirect competitive enzyme immunoassay was used to study the occurrence of 16 mycotoxins in wild herbaceous plants of the Brassicaceae (Cruciferae) family, typical of the biocenoses of Central Russia. Alternariol, cyclopiazonic acid, and the sum of ergot alkaloids in all 12 plant species were detected with a frequency of 52 to 100%, while the remaining analyzed substances – fusariotoxins and metabolites peculiar to micromycetes of other taxa (ochratoxin A, citrinin, sterigmatocystin, aflatoxin B_1, mycophenolic acid, emodin, PR toxin, roridin A) – were either absent or were detected less frequently in quantities close to the limit of the method definition. In some plants, an increased frequency of detection of T-2 toxin, deoxynivalenol, diacetoxyscirpenol, and other minor components was observed. The peculiarities of the distribution of mycotoxins in the vegetative and generative organs of bird rape (*Brassica campestris* L.), wintercress (*Barbarea arcuata* (Opiz ex J. et C. Presl) Reichenb.), and hill mustard (*Bunias orientalis* L.) have been established while no distinct seasonal dynamics of mycotoxin accumulation in these plants has been revealed.

Keywords: wild cruciferous herbs, mycotoxins, ELISA

EDN: AYZTJQ
ИЗВЕСТИЯ РАН. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ, 2022, № 3, с. 246–257

БИОХИМИЯ

УДК 577.12:612.067/616.34:616-098

АЛКИЛРЕЗОРЦИНОЛЫ – НОВЫЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ БИОРЕГУЛЯТОРЫ В СИСТЕМЕ СУПЕРОРГАНИЗМА (ЧЕЛОВЕК-МИКРОБИОТА)

© 2022 г. А. В. Шестопалов*, **, @, А. М. Гапонов*, А. А. Заболотнева*, С. А. Апполонова****, П. А. Маркин****, О. В. Борисенко***, А. В. Тутельян*, А. Г. Румянцев*, Е. Д. Теплякова**, *****, В. Ф. Шин**, *****, Д. В. Савчук**, ******, Н. И. Волкова*****, Л. А. Ганенко*****, В. В. Макаров*******, С. М. Юдин*******, С. А. Румянцев**, ***

**ФГБУ НМИЦ "Детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева" Минздрава РФ, ул. Саморы Машела, д. 1, Москва 117997 Россия*

***Институт цифровой и трансляционной биомедицины ООО "Центр молекулярного здоровья", Нахимовский проспект, д. 32, Москва, 117218 Россия*

****ФГАОУ ВО РНИУ им. Н.И. Пирогова, Минздрава РФ, ул. Островитянова, д. 1, Москва, 117997 Россия*

*****ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, ул. Большая Пироговская, д. 2, Москва, 119991 Россия*

******Ростовский государственный медицинский университет, пер. Нахичеванский, д. 29, Ростов-на-Дону, 344022 Россия*

*******МБУЗ "Детская городская больница № 1", ул. Верхненольная, д. 6, Ростов-на-Дону, 344019 Россия*

********Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью, Погодинская, 10, Москва, 119121 Россия*

@E-mail: Al-shest@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.09.2020 г.
После доработки 27.04.2021 г.
Принята к публикации 27.04.2021 г.

На основании результатов качественного и количественного состава кишечного и кровяного пулов алкилрезорцинолов, а также их корреляции с уровнем метаболитов триптофана в кале, показателями разнообразия микробиоты кишечника и клинико-лабораторными данными, предложена новая концепция значения алкилрезорцинолов как медиаторов в регуляторной оси "микробиота–жировая ткань". Показано изменение содержания изучаемых алкилрезорцинолов при ожирении, что, вероятно, отражает взаимосвязь состояния микробиоты и метаболических особенностей макроорганизма.

Ключевые слова: алкилрезорцинолы, ожирение, микробиота

DOI: 10.31857/S1026347022030155

В настоящее время человеческий организм принято рассматривать как результат длительного взаимодействия в ходе эволюции макроорганизма и микробиоты, его населяющей, вследствие чего метаболические процессы симбионтов становятся неразрывно связанными (Salvucci, 2019). Микробиота имеет решающее значение для функционирования пищеварительной, иммунной, нервной и других систем человека, поэтому ее дисбаланс или частичная потеря ассоциированы со многими инфекционными, аутоиммунными, нервными и различными хроническими метаболическими расстройствами (Sidhu *et al.*, 2017; Schmidt *et al.*, 2018). Существование человеческого организма и его полноценное функционирование невозможно представить без участия симбиотических микроорганизмов, в связи с чем появился термин "сверхорганизм" ("superorganism"), описывающий интеграцию клеток эукариотов с микробиомом и виромом (Goodacre *et al.*, 2007).

Более того, в последние годы начала формироваться концепция существования филогенетического ядра микробиоты кишечника, представленного доминирующими микроорганизмами и встречающимися у большинства индивидуумов (не менее, чем в 50%) (Sitkin *et al.*, 2015). Филогенетическое ядро микробиоты на видовом уровне может быть представлено, по разным данным, всего лишь 40–80 видами микроорганизмов (из более чем тысячи выявленных), которые, тем не

менее количественно могут составлять большинство (>75%) микробного сообщества кишечника (Jalanka-Tuovinen *et al.*, 2011). При этом в зависимости от патологических процессов, происходящих в организме, ядро микробиоты кишечника может значительно меняться: например, при избыточном весе и ожирении, наблюдается уменьшение доли филума *Bacteroidetes* и увеличение доли *Actinobacteria* (Turnbaugh *et al.*, 2009). С другой стороны, присутствие бактерий *Akkermansia muciniphila* и *Lactobacillus plantarum* обратно коррелирует с массой тела как у человека, так и у мышей (Million *et al.*, 2012; Depommier *et al.*, 2019).

В системе сверхорганизма описано существование нескольких регуляторных осей: "микробиота – иммунная система" (Lambring *et al.*, 2019), "микробиота – мозг" (Galland , 2014), "микробиота – жировая ткань" (Lundgren, Thaiss, 2020) и т.д. Медиаторами взаимодействия этих систем являются, прежде всего, метаболиты бактериального происхождения. Например, известно, что метаболит триптофана (индол-3-ацетат), образуемый кишечной микробиотой, попадает в системный кровоток и ингибирует экспрессию микроРНК-181 в адипоцитах, что увеличивает расход энергии и сенситивность адипоцитов к инсулину (Lundgren, Thaiss, 2020). При этом у больных с ожирением наблюдается повышение экспрессии микроРНК-181, что связывают с иным составом микробиоты. Другими примерами регуляторов системы "микробиота–макроорганизм", осуществляющими "молекулярный диалог" между ее участниками, являются кинуренины, индолы, вторичные желчные кислоты, короткоцепочечные органические кислоты, полифенолы, пропионат (van Duynhoven *et al.*, 2011; Cani *et al.*, 2019; Tirosh *et al.*, 2019). Также на роль потенциальных регуляторных сигнальных молекул претендуют алкилрезорцинолы.

Алкилрезорцинолы (АР) – группа фенольных липидов растительного и микробного происхождения, обладающих биологической активностью (Ross *et al.*, 2004). Они обнаружены у высших растений, грибов, водорослей, слизевых грибов, мхов и бактерий и выполняют структурную функцию, а также проявляют разнообразную биологическую активность – антиоксидантную, бактерицидную, цитотоксическую, генотоксическую, сигнальную и противовоспалительную (Bartłomiej *et al.*, 2012). Человек не способен продуцировать АР, поэтому в организме они появляются, поступая с пищей (прежде всего, из пшеницы, ржи и ячменя) (Ross *et al.*, 2004) или как метаболиты кишечной микробиоты –цианобактерий, актинобактерий, галобактерий (Martins *et al.*, 2019). Синтез АР происходит из ацил-КоА и малонил-КоА под действием ферментативного комплекса поликетидсинтазы III типа (алкилрезорцинолсинтазы ARSs) в несколько стадий: путем конденсации и циклизации до 5-(2-гидрокси)-алкилрезорцинолов (Martins *et al.*, 2019, Sun *et al.*, 2020).

Известно, что АР являются микробными ауторегуляторами перехода метаболически активных вегетативных форм в метаболически неактивные дормантные формы (Ильинская и др., 2002). Было показано, что усиление синтеза гексилрезорцина (ГР) у спорообразующих бактерий способствовало их переходу в гипометаболическое состояние и образованию спор. В то же время у неспорообразующих грамположительных бактерий не было выявлено синтеза ГР, однако добавление экзогенного ГР также вызывало их переход в дормантное состояние, что позволяет считать ГР универсальной сигнальной молекулой, способствующей переходу бактерий в метаболически неактивное состояние (Маргулис и др., 2005).

Исследования содержания АР у человека и их влияние на организм крайне фрагментарны. В частности, показано, что комбинация АР С21 и бутирата подавляет рост и индуцирует апоптоз и аутофагию клеток колоректального рака (Zhao *et al.*, 2019). Найдена обратная корреляция между риском развития ишемического инсульта и уровнем 3-(3,5-дигидроксифенил)-1-пропионата, маркера цельнозерновой пшеницы и ржи (Sun T. *et al.*, 2019). Установлено, что АР накапливаются в жировой ткани в зависимости от пола и содержания в диете продуктов из цельнозерновой ржи (Wu *et al.*, 2018). Была найдена ассоциация между уровнем АР и снижением окружности груди у женщин (Kyrø *et al.*, 2017).

В исследованиях на мышах было показано, что АР повышают толерантность к глюкозе и сенситивность к инсулину за счет подавления накопления липидов в печени и снижении абсорбции холестерола энтероцитами, что впоследствии подавляло развитие ожирения, ассоциированного с диетой (Oishi *et al.*, 2015).

Однако складывается впечатление, что качественный и количественный состав АР зависит не только от характера питания, но и от метаболического состояния микробиоты. В последнее время в развитии ожирения большое значение уделяют нарушению регуляторной оси "микробиота – жировая ткань". Учитывая способность АР накапливаться в жировой ткани (Ross *et al.*, 2004) и, вместе с тем, выступать ауторегуляторами бактерий, можно предположить, что они являются одними из медиаторов системы "микробиота – адипоцит". В связи с этим, целью данной работы явилось исследование уровня АР в сыворотке крови у детей и взрослых при ожирении, а также выявление корреляционных связей с диапазоном разнообразия микробиоты кишечника и клинико-лабораторными показателями пациентов для определения возможных физиологических функций АР.

Таблица 1. Характеристика когорт исследованных пациентов

Показатели	Дети		Взрослые	
	Группа 1 (без ожирения)	Группа 2 (с ожирением)	Группа 3 (без ожирения)	Группа 4 (с ожирением)
Пол женский	39 (39%)	52 (52%)	124 (88.6%)	109 (79.6%)
Пол мужской	61 (61%)	48 (48%)	16 (11.4%)	29 (20.4%)
Возраст, лет	13 ± 4.6	12 ± 5.3	47.1 ± 4.8	54.6 ± 4.7
ИМТ, кг/м^2	20.3 ± 2.6	27.7 ± 6.3	20.8 ± 2.1	33.8 ± 3.36

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор пациентов для исследования. Количественный состав АР был исследован в нескольких группах пациентов.

Первую группу составили здоровые дети без метаболических нарушений (n = 100), во вторую группу вошли дети с экзогенно-конституциональным ожирением I–III степени (n = 100), в третью группу – здоровые взрослые без ожирения и метаболических нарушений (n = 140), в четвертую группу – взрослые с ожирением и метаболическими нарушениями (n = 137). Характеристика когорт исследуемых пациентов приведена в табл. 1.

Критериями включения пациентов в исследование было отсутствие приема антибиотиков, пре- и пробиотических препаратов в течение 3 мес. до начала исследования и подписанное информированное согласие на участие в обследовании. Критериями исключения для всех участников явились тяжелые соматические заболевания, любые заболевания желудочно-кишечного тракта, любые острые состояния, депрессия, алкоголизм, беременность. Всем включенным в исследование был проведен клинический опрос и осмотр, оценены антропометрические показатели, проведено анкетирование, взяты образцы крови и кала для проведения лабораторных исследований.

Определение количественного состава АР. Количественный состав АР в сыворотке крови и в кале определяли методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС). Для количественного определения соединений строили калибровочную зависимость с использованием искусственной матрицы, содержащей бычий сывороточный альбумин и натрия хлорид, в которую добавляли известные количества анализируемых соединений. Построение калибровочной зависимости основывалось на отклике внутреннего стандарта (4-(бензилокси)-фенол), вводимого в исследуемые образцы с целью нормализации процессов дериватизации и сглаживания погрешности определения концентраций исследуемых веществ. Исследование проводили с использованием газового хроматографа Agilent 6890 (Agilent Inc., США) с системой автоматического ввода образцов, сопряженного с масс-спектрометрическим детектором Agilent 5850 (Agilent Inc., США) с ионизацией электронным ударом. Параметры хроматографии: колонка Restek Rtx5Sil-MS (Restek Corporation, Беллефонте, США); параметры колонки: длина – 30 м, диаметр сечения – 250 мкм, размер частиц неподвижной фазы – 0.25 мкм; параметры хроматографии: введение пробы с делением потока 5 : 1, газ-носитель – гелий, режим подачи газа – постоянный поток, скорость потока – 1 мл/мин, температура узла ввода – 290°С; установки параметров термостата: начальная температура – 80°С, время выдержки – 1 мин, далее – подъем температуры до 320°С со скоростью 25°С/мин, время выдержки – 4 мин.

Пробоподготовка. Для подготовки проб сыворотки крови к 100 мкл сыворотки добавляли внутренний стандарт (4-(бензилокси)-фенол) и 200 мкл диэтилового эфира, смесь перемешивали на встряхивателе и затем центрифугировали при 2000 об./мин. Органический слой переносили в одноразовые пробирки (жидкость-жидкостную экстракцию повторяли дважды) и упаривали досуха в токе азота, после чего проводили стадию дериватизации силилирующим агентом – метил-силил-трифторацетамидом (МТСФА) в течение 30 мин при 60°С.

Пробы кала лиофилизировали до сухого остатка, далее к навескам ~5 мг добавляли внутренний стандарт (4-(бензилокси)-фенол) и 300 мкл диэтилового эфира, смесь перемешивали на встряхивателе и затем центрифугировали при 2000 об./мин. Органический слой переносили в одноразовые пробирки (жидкость-жидкостную экстракцию повторяли дважды) и упаривали досуха в токе азота, после чего проводили стадию дериватизации силилирующим агентом – метил-силил-трифторацетамидом (МТСФА) в течение 30 мин при 60°С. После процедуры дериватизации образец анализировали методом ГХ-МС.

Методика была валидирована по показателям селективности, линейности, точности, воспроизводимости, матричному эффекту и стабильности аналита. Валидаци. проводили в соответствии с руководством по валидации биоаналитических методик FDA.

Таблица 2. Ген-специфичные праймеры на v3-v4 регион 16S рРНК

Название праймера	Последовательность (дополнительная последовательность адаптера выделена курсивом)
337F	5'-***TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG***CCTACGGGNGGCWGCAG-3'
805R	*5'-**GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG***GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'

Количественный анализ метаболитов обмена триптофана. Количественный анализ метаболитов обмена триптофана в сыворотке крови и кале проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). Анализ проводили при помощи жидкостного хроматографа Agilent 1200 (Agilent inc., США) с системой автоматического ввода образцов, термостатом колонки и дегазатором. Хроматографическое разделение проводили с использованием аналитической колонки Discovery PFP HS F5 (2.1 * 150 мм; 3 мкм). Для детектирования использован масс-спектрометрический детектор на основе тройного квадруполя Agilent 6460 (Agilent inc., США) MRM и электрораспылительной ионизацией. Характеристические для каждого соединения родительские и дочерние ионы для режима MRM, а также параметры ионизации и диссоциации оптимизированы с использованием стандартов исследуемых метаболитов. Полученный сигнал обрабатывали с помощью программного обеспечения Masshunter (Agilent inc., США).

Расчет концентраций метаболитов проводили методом внутреннего стандарта (2-гидроксиникотиновая кислота). Стандарты определяемых соединений готовили с использованием искусственной матрицы, содержащей бычий сывороточный альбумин и хлорид натрия. В матрицу добавляли исследуемые метаболиты и проводили подготовку согласно методике анализа.

Для подготовки пробы сыворотки крови, к 100 мкл сыворотки добавляли внутренний стандарт (2-гидроксиникотиновую кислоту), осаждали белки ацетонитрилом, супернатант упаривали и перерастворяли в 10%-ном метаноле в воде с добавлением аскорбиновой кислоты для предотвращения окисления аналитов.

Для подготовки пробы кала, его лиофилизировали до сухого остатка, далее навеску ~5 мг экстрагировали 50%-ном метанолом в воде с добавлением внутреннего стандарта и аскорбиновой кислоты. После центрифугирования образец анализировали методом ВЭЖХ-МС/МС.

Секвенирование 16S РНК для определения разнообразия микробиоты. Выделение ДНК микробиоты из кала и крови проводилось в соответствии с разработанными стандартными процедурами. Подготовку библиотек для секвенирования проводили согласно протоколу производителя “16S Metagenomic Sequencing Library Preparation” (Part #15044223 Rev. B).

ПЦР на v3-v4 регион 16S рРНК проводили с помощью ген-специфичных праймеров с дополнительной последовательностью адаптера (табл. 2)

Амплификацию осуществляли с помощью набора с высокоточной полимеразой Q5® High-Fidelity DNA Polymerase (NEB) при следующем режиме:

1) 98°C– 30 с; 2) 25 циклов: 98°C– 30 с; 55°C – 20 с; 72°C – 20 с;

3) 72°C – 2 мин; 4) удержание при 4°C.

ПЦР-продукты детектировали в 1%-ном агарозном геле, после чего проводили очистку реакционных смесей с помощью магнитных частиц AMPure XP beads (Beckman Coulter) согласно протоколу подготовки библиотек. Далее осуществляли индексирование полученных ПЦР-продуктов путем амплификации с помощью полимеразы Q5® High-Fidelity DNA Polymerase (NEB) и уникальных индекс-праймеров из коммерческого набора Nextera XT Index Kit при следующем режиме: 1) 98°C – 30 с; 2) 8 циклов: 98°C – 15 с; 55°C – 30 с; 72° C –30 с; 3) 72°C – 2 мин; 4) удержание при 4°C.

По окончании амплификации ПЦР-смеси очищали с помощью магнитных частиц AMPure XP beads согласно протоколу. Концентрации очищенных библиотек оценивали с помощью наборов Qubit HS Assay Kit на флуориметре Qubit 2.0 (Invitrogen). Библиотеки смешивали в эквимолярном соотношении и проводили оценку качества и размера полученного пула с помощью прибора 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies). При необходимости проводили дополнительную очистку с помощью магнитных частиц AMPure XP beads согласно рекомендациям производителя. Готовый пул библиотек разводили и денатурировали с помощью реагентов набора MiSeq Reagent kit v3 и секвенировали на приборе MiSeq (Illumina) согласно протоколу производителя.

По результатам секвенирования для полученных ридов был проведен контроль качества с помощью программы fastQC по следующим критериям:

1) распределение качества оснований – минимум 90% с качеством >25;

2) распределение длины ридов– минимум 90% прочтений достигают длины в 300 нуклеотидов;

3) максимальный процент неопределенных оснований – 1.

Определение показателей крови. Биохимические показатели (глюкоза плазмы крови натощак (ммоль/л), ЛПВП (ммоль/л), ЛПНП (ммоль/л), ТГ (ммоль/л), общий холестерин (ммоль/л)) исследовали фотометрическим методом на спектрофотометре Hitachi U-2900 (Япония) наборами реагентов "Ольвекс Диагностикум" (Россия). Количественный анализ адипонектина (нг/мл), лептина (нг/мл), резистина нг/мл), аспрасина (нг/мл), VEGF (нг/мл), ирисина (нг/мл), миостатина (нг/мл), FGF21 (нг/мл), остеокрина (нг/мл) и инсулина (нг/мл) выполняли методом мультиплексного ИФА на анализаторе Magpix ("BioRad", США), согласно рекомендациям фирмы производителя с использованием наборов фирмы "Milliplex": Human Adipokine Magnetic Bead Panel 1, содержащей аналиты: Adiponectin, Resistin; набором Human Adipokine Magnetic Bead Panel 2, содержащей аналиты: VEGF, Insulin, Leptin; и набором Human Myokine Magnetic Bead Panel 3, имеющей аналиты Irisin, Myostatin, FGF21, Osteocrin. Концентрацию аспрасина определяли методом ИФА с помощью тест-системы ELISA KitForAsprosin ("Cloud-Clone", США). Количественный анализ зонулина (нг/мл), липополисахаридов крови (нг/мл) выполняли методом мультиплексного ИФА с использованием тест-систем Cloud CLone. Общий белок крови, АЛТ и АСТ определяли общепринятыми методами.

Атерогенность сыворотки крови оценивалась согласно рекомендациям Национальной программы по холестерину NCEP ATPIII.

Статистический анализ данных. Статистическую обработку данных проводили методами непараметрической статистики с использованием пакета программы STATISTICA 12.0. Статистическую значимость различий средних величин независимых выборок оценивали с помощью параметрического анализа после проверки распределения данных на нормальность. Корреляционный анализ по Спирмену проведен с оценкой статистической значимости коэффициента корреляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ разнообразия микробиоты кишечника взрослых и детей с ожирением и без метаболических нарушений. В результате проведенного метагеномного секвенирования микробиоты кишечника от здоровых и с нарушением метаболизма (с ожирением) доноров были обнаружены определенные закономерности в представленности филометаболического ядра микробиоты у детей и взрослых, а также изменения относительной представленности АР-продуцирующих бактерий при ожирении. Так, ядро микробиоты (~80% относительно всех исследованных бактерий) составили представители бактериальных типов *Firmicutes* и *Bacteroidetes* (рис. 1, 2), что хорошо согласуется с литературными данными, указывающими на доминирование этих бактерий в микробиоме и представленности у 100% индивидуумов (Tap *et al.*, 2009). Среди представителей микробиоты, продуцирующих АР, нами были обнаружены Actinobacteria (их представленность составила ~0.5% от всех исследованных бактерий) и Cyanobacteria (представленность, в среднем, ~0.3%). В то же время представителей типа Halobacteria обнаружено не было. Важно отметить, что состав микробиоты, являющейся продуцентами АР, статистически значимо различался как в группах детей с метаболическими нарушениями и без них, так и в группах взрослых. Так, у детей с ожирением происходит снижение содержания представителей типа Cyanobacteria (порядок YS2) на 58.016 ± 27.17% по сравнению со здоровыми детьми (рис. 3) и представителей типа Actinobacteria (порядка Coriobacteriales) на 37.58 ± 22.7% (рис. 4). Среди взрослых с ожирением наблюдалось увеличение числа бактерий типа Actinobacteria (порядка Actinomycetales) на 41.28 ± 13.24% по сравнению со взрослыми без ожирения (рис. 5). Данные наблюдения указывают на наличие качественного и количественного изменения состава микробиоты у детей и взрослых при ожирении, в том числе микроорганизмов, участвующих в продукции АР.

Исследование содержания АР в кале и крови пациентов. Результаты исследования содержания АР представлены в табл. 3. В сыворотке крови здоровых взрослых добровольцев содержание отдельных представителей гомологического ряда резорцинола варьировало в диапазоне 0.39–5.1 нмоль/л, в наименьшей концентрации был обнаружен пентадецилрезорцинол (0.396 ± 0.047 нмоль/л), в максимальной – метилрезорцинол (5.043 ± 0.842 нмоль/л). В сыворотке крови здоровых детей уровни АР были несколько ниже по сравнению с группой здоровых взрослых (концентрация метилрезорцинола была на 23.5% меньше и составила 3.860 ± 0.32 нмоль/л), однако различия не носили статистически значимого характера.

В сыворотке крови взрослых пациентов, страдающих ожирением, отмечается статистически значимое возрастание на 36.8% содержания короткоцепочечного гомолога резорцинола – пропилрезорцинола. Уровни других представителей гомологического ряда АР не претерпевали значимых изменений относительно группы здоровых взрослых (табл. 3).

В группе детей с ожирением не отмечено статистически значимых изменений в содержании исследуемых аналитов.

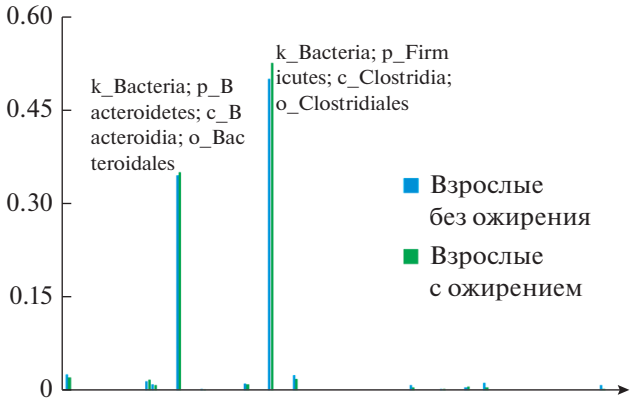

Рис. 1. Относительная частота встречаемости представителей различных порядков бактерий, относящихся к микробиоте кала взрослых пациентов с ожирением и без метаболических нарушений, исследованная с помощью методов метагеномного секвенирования с последующей нормализацией и статистической обработкой данных. На гистограмме распределения видно доминирование представителей порядков Clostridiales и Bacteroidales, составляющих филометаболическое ядро микробиоты изучаемой выборки.

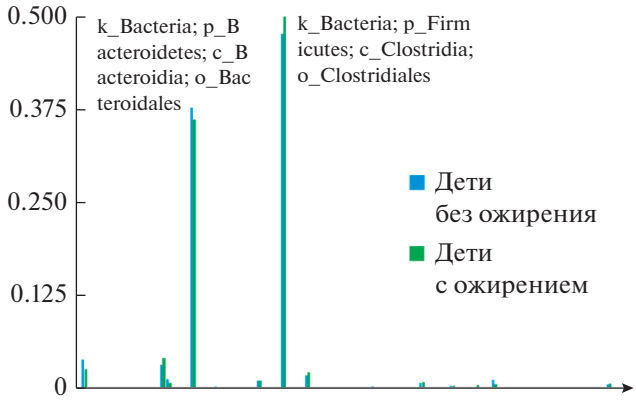

Рис. 2. Относительная частота встречаемости представителей различных порядков бактерий, относящихся к микробиоте кала детей с ожирением и без метаболических нарушений, исследованная с помощью методов метагеномного секвенирования с последующей нормализацией и статистической обработкой данных. На гистограмме распределения видно доминирование представителей порядков Clostridiales и Bacteroidales, составляющих филометаболическое ядро микробиоты изучаемой выборки.

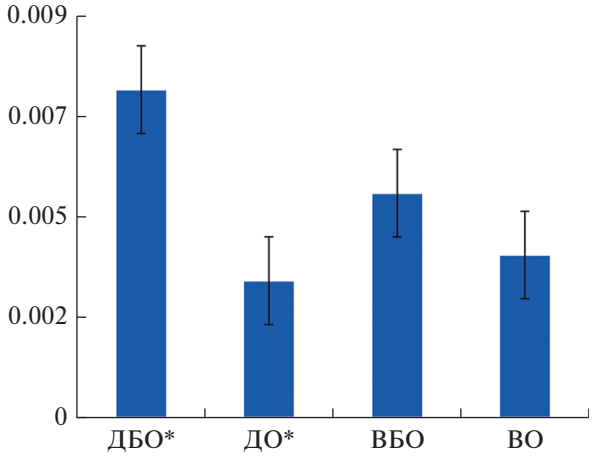

Рис. 3. Относительная частота встречаемости бактерий типа *Cyanobacteria* (порядок YS2) в микробиоме кала исследованных когорт пациентов. ДБО – дети без ожирения, ДО – дети с ожирением ВБО – взрослые без ожирения, ВО – взрослые с ожирением, * достоверные различия между группами пациентов (снижение содержания представителей типа *Cyanobacteria* (порядок YS2) на 58.016 ± 27.17% по сравнению с ДБО).

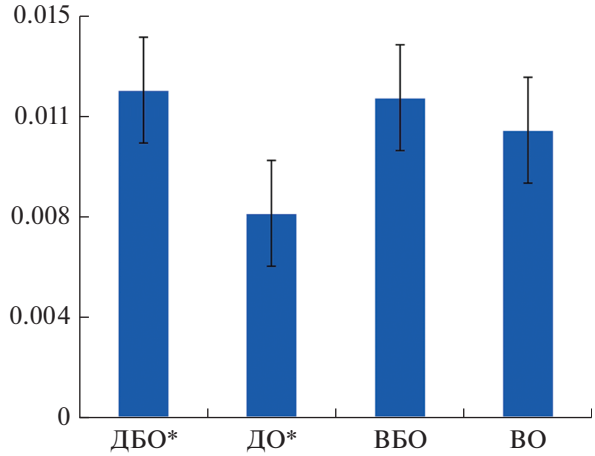

Рис. 4. Относительная частота встречаемости бактерий типа Actinobacteria (порядка Coriobacteriales) в микробиоме кала исследованных когорт пациентов. ДБО – дети без ожирения, ДО – дети с ожирением ВБО – взрослые без ожирения, ВО – взрослые с ожирением, * достоверные различия между группами пациентов (снижение содержания представителей типа Actinobacteria (порядка Coriobacteriales) на 37.58 ± ± 22.7% по сравнению с группой ДБО).

Таким образом, ожирение у взрослых сопровождается увеличением содержания коротко- и среднецепочечных резорцинолов в сыворотке крови.

Результаты исследования содержания АР в кале представлены в табл. 4.

Содержание различных гомологов АР в кале варьирует в широком диапазоне – от 1 до 503 нмоль/г. В максимальной концентрации содержатся короткоцепочечные гомологи – резорцинол и метилрезорцинол, в минимальном – среднецепочечные гомологи – пентил- и гексилрезорцинол.

В группе взрослых с ожирением статистически значимых изменений в содержании АР не обнаружено. В группе детей с ожирением отмечается статистически значимое возрастание содержания пентил- и додецилрезорцинола.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Дать однозначную интерпретацию данных изменений не представляется возможным. С одной стороны, содержание АР может быть связано с потреблением пищевых продуктов из цельнозерновых злаков (рожь, пшеница). Однако в доступных источниках отсутствуют данные о количестве алкилрезорцинолов в кале, а об их содержании в сыворотке крови судят по их общему содержанию или по концентрации только одного метаболита резорцинола – 3-(3,5-дигидроксифенил)-1-пропановой кислоты (DHPPA), в то время как сведения об уровне отдельных гомологов алкилрезорцинолов отсутствуют (Choung *et al.*, 2017; Kyrø *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2019). Поэтому сложно соотнести полученные нами результаты с данными литературы. И даже одно исследование китайских коллег (Sun *et al.*, 2019), установившее статистически значимое снижение содержания 3-(3,5-дигидроксифенил)-1-пропановой кислоты (DHPPA) в сыворотке крови больных сахарным диабетом 2 типа и нарушением углеводного обмена, которое авторы связывают с ограничением потребления цельнозерновых злаковых, не позволяет нам объяснить разнонаправленные изменения концентраций коротко- и длинноцепочечных гомологов резорцинола в группе детей с ожирением.

На наш взгляд, данное обстоятельство свидетельствует о высокой метаболической активности кишечной микробиоты, избыточной продукции ауторегуляторов, поддерживающих вегетативное состояние бактериальных клеток, и дефиците ауторегуляторных молекул, индуцирующих дормантное состояние микробиоты.

Обращает внимание отсутствие корреляции и согласованности изменений в содержании АР в сыворотке крови и кале у пациентов с ожирением. Во-первых, диапазон концентраций отдельных АР в сыворотке крови на несколько порядков меньше, чем в кале, а содержание коротко- средне- и длинноцепочечных резорцинолов находится примерно на одном уровне. Совершенно иное распределение наблюдалось в образцах кала: содержание короткоцепочечных гомологов в 3–5 раз превышало таковое для среднецепочечных и в 20–100 раз – для длинноцепочечных гомологов.

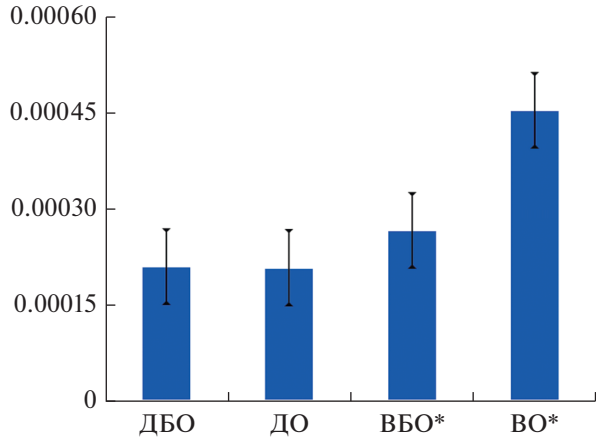

Рис. 5. Относительная частота встречаемости бактерий типа Actinobacteria (порядка Actinomycetales) в микробиоме кала исследованных когорт пациентов. ДБО – дети без ожирения, ДО – дети с ожирением ВБО – взрослые без ожирения, ВО – взрослые с ожирением. * достоверные различия между группами пациентов (увеличение числа бактерий типа *Actinobacteria* (порядка Actinomycetales) на 41.28 ± 13.24% по сравнению с группой ВБО).

Во-вторых, при ожирении происходят статистически значимые изменения в содержании разных гомологов в сыворотке крови и кале. В группе взрослых с ожирением в сыворотке крови значимо повышается уровень пропилрезорцинола, в то время как в кале этих больных уровень этого аналита не изменяется. У детей с ожирением в сыво-

Таблица 3. Содержание алкилрезорцинолов в сыворотке крови ($M \pm m$)

Группа Метаболиты:	Здоровые взрослые (n = 131)	Взрослые с ожирением (n = 120)	Здоровые дети (n = 79)	Дети с ожирением (n = 80)
Резорцинол, нмоль/л	4.087 ± 0.489	3.834 ± 0.298	3.467 ± 0.379	3.503 ± 0.298
Метилрезорцинол, нмоль/л	5.043 ± 0.842	4.329 ± 0.263	3.860 ± 0.321	4.04 ± 0.368
Этилрезорцинол, нмоль/л	3.102 ± 1.261	2.61 ± 0.228	2.367 ± 0.409	1.944 ± 0.264
Пропилрезорцинол, нмоль/л	3.864 ± 0.313	5.287 ± 0.436 $p_1 < 0.01$	3.328 ± 0.269	3.483 ± 0.349
Пентилрезорцинол, нмоль/л	0.396 ± 0.047	0.363 ± 0.043	0.350 ± 0.041	0.405 ± 0.047
Гексилрезорцинол, нмоль/л	1.778 ± 0.27	1.758 ± 0.087	1.769 ± 0.096	1.861 ± 0.116
Додецилрезорцинол, нмоль/л	3.498 ± 0.254	3.581 ± 0.19	3.338 ± 0.275	3.589 ± 0.294
Пентадецилрезорцинол, нмоль/л	3.931 ± 0.518	3.234 ± 0.223	3.307 ± 0.386	3.248 ± 0.290

Примечание. p_1 – в сравнении с группой здоровых соответствующей возрастной группы.

Таблица 4. Содержание алкилрезорцинолов в кале ($M \pm m$)

Группа Метаболиты	Здоровые взрослые (n = 104)	Взрослые с ожирением (n = 108)	Здоровые дети (n = 99)	Дети с ожирением (n = 90)
Резорцинол, нмоль/г	502.122 ± 70.87	363.94 ± 55.46	428.64 ± 47.39	361.59 ± 36.86
Метилрезорцинол, нмоль/г	102.09 ± 10.29	80.04 ± 7.07	116.59 ± 14.16	123.48 ± 11.72 $p_2 < 0.05$
Этилрезорцинол, нмоль/г	40.25 ± 5.50	37.31 ± 5.29	42.01 ± 4.82	40.44 ± 4.98
Пропилрезорцинол, нмоль/г	47.87 ± 4.27	40.77 ± 4.58	57.58 ± 4.37	55.87 ± 6.65
Пентилрезорцинол, нмоль/г	1.22 ± 0.09	1.30 ± 0.11	1.33 ± 0.17	3.12 ± 1.03 $p_1 < 0.05$
Гексилрезорцинол, нмоль/г	2.72 ± 0.19	2.31 ± 0.17	2.32 ± 0.24	3.55 ± 0.69
Додецилрезорцинол, нмоль/г	6.33 ± 0.47	5.41 ± 0.42	5.18 ± 0.49	7.0 ± 0.63 $p_1 < 0.05$ $p_2 < 0/05$
Пентадецилрезорцинол, нмоль/г	7.37 ± 1.03	7.57 ± 0.89	7.59 ± 0.93	10.51 ± 1.70

Примечание. p_1 – в сравнении с группой здоровых соответствующей возрастной гAlkylresorcinols – new potential bioregulators in the superorganism system (human-microbiota).

ротке крови значимых изменений в содержании АР не наблюдается, в то время как в кале регистрируется значительное снижение количества резорцинола и метилрезорцинола и увеличение додецилрезорцинола.

В-третьих, это можно объяснить барьерной ролью печени, которая осуществляет биотрансформацию АР, тем самым нивелируя различия в содержании отдельных представителей резорцинолов.

Наконец, вероятно, резорцинолы в сыворотке крови и в кале принадлежат к разным пулам алкилрезорцинолов и имеют разное происхождение. В исследованиях по фармакокинетике с радиоактивно мечеными АР у животных (свиней) и людей с илеостомой было показано, что АР, поступающие из пищи, всасываются преимущественно в верхних отделах кишечника, при этом длинноцепочечные АР (C23-C25) всасываются хуже короткоцепочечных (Ross *et al.*, 2004). Можно предположить, что сывороточные алкилрезорцинолы поступают в организм в составе пищи или же являются продуктами жизнедеятельности микробиоты заселяющей проксимальные отделы кишечника, в то время как алкилрезорцинолы кала, по-видимому, являются продуктами микробиоты дистальных отделов кишечника. Однако исследований, подтверждающих различное происхождение АР и их соотношение в разных источниках, по имеющимся у нас данным, нет.

Анализ корреляционных связей содержания алкилрезорцинолов с уровнем метаболитов триптофана в кале, показателями разнообразия микробиоты кишечника и клинико-лабораторными данными выявил некоторые зависимости. В группе здоровых детей АР в кале положительно коррелировали с показателями разнообразия его микробиоты. Так, гексилрезорцинол кала положительно коррелировал с индексами разнообразия микробиоты кала Chao1 ($r = 0.225$; $p < 0.05$) и observed otus ($r = 0.208$; $p < 0.05$); пентадецилрезорцинол – с индексами разнообразия микробиоты кала Chao1($r = 0.208$; $p < 0.05$), observed otus ($r = 0.208$; $p < 0.05$), Шеннона ($r = 0.215$; $p < 0.05$), Симпсона ($r = 0.212$; $p < 0.05$).

В этой же группе здоровых детей АР кала положительно коррелировали с содержанием в нем индола, индоллактата, индолпропионата и антраниловой кислоты, но отрицательно с уровнем хинолиновой кислоты. Так, с содержанием индола в кале коррелировали резорцинол ($r = 0.446$; $p < 0.001$), метилрезорцинол ($r = 0.392$; $p < 0.001$), пропилрезорцинол ($r = 0.294$; $p < 0.005$), гексилрезорцинол ($r = 0.342$; $p < 0.001$). С содержанием индоллактата в кале коррелировали резорцинол ($r = 0.225$; $p < 0.05$), метилрезорцинол ($r = 0.215$; $p < 0.05$). С содержанием индолпропионата коррелировали резорцинол ($r = 0.299$; $p < 0.005$), метилрезорцинол ($r = 0.287$; $p < 0.005$), пропилрезорцинол ($r = 0.225$; $p < 0.05$). С содержанием антраниловой кислоты коррелировал пропилрезорцинол ($r =$

= 0.232; $p < 0.05$). Отрицательная корреляция с содержанием хинолиновой кислоты в кале была выявлена для гексилрезорцинола ($r = -0.227$; $p < 0.05$) и пентадецилрезорцинола ($r = -0.213$; $p < 0.05$).

Учитывая, что и антраниловая кислота, и перечисленные индолы не синтезируются в энтероцитах, а имеют микробиотическое происхождение, эти корреляции позволяют предположить, что АР выполняют роль регуляторов разнообразия микробиоты кишечника и ее метаболической активности, повышая продукцию индолов и снижая уровень хинолиновой кислоты – предшественника хинолиновых регуляторов QS.

Уровень АР в крови у здоровых детей положительно коррелировал с уровнем адипокинов: апелином (резорцинол $r = 0.248$; $p < 0.05$), лептином (метилрезорцинол $r = 0.244$; $p < 0.05$), резистином (гексилрезорцинол $r = 0.370$; $p < 0.005$, пентадецилрезорцинол $r = 0.259$; $p < 0.05$), с общим белком крови (пентилрезорцинол $r = 0.234$; $p < 0.05$, пентадецилрезорцинол $r = 0.258$; $p < 0.05$) и отрицательно с АЛТ и АСТ (резорцинол $r = -0.232$; $p < 0.05$), ИМТ (пропилрезорцинол ($r = -0.294$; $p < 0.05$), индексом атерогенности (этилрезорцинол $r = -0.235$; $p < 0.05$, пропилрезорцинол $r = -0.243$; $p < 0.05$).

Также у здоровых детей наблюдалась положительная корреляция уровня резорцинолов в крови с показателями кишечной проницаемости – липополисахаридом крови (пропилрезорцинол $r = 0.295$; $p < 0.05$, додецилрезорцинол $r = 0.293$; $p < 0.05$, пентадецилрезорцинол $r = 0.243$; $p < 0.05$) и зонулином (метилрезорцинол $r = 0.234$; $p < 0.05$), что свидетельствует об их кишечном происхождении и их возможной регуляторной роли эндокринной функции жировой ткани и инсулиносенситивности и, как следствие, ассоциация с низким ИМТ и индексом атерогенности.

Таким образом, у детей без ожирения микробиота кишечника характеризуется определенным состоянием метаболической активности, которая сопровождается продукцией АР, поскольку их уровень ассоциирован с микробным разнообразием и активностью индольного метаболизма. Вероятно, всасываясь в кровь, бактериальные АР выполняют роль медиаторов регуляторных осей “микробиота – кишечник – жировая ткань”.

У детей с ожирением обращает внимание исчезновение положительных корреляций содержания гексил- и пентадецилалкилрезорцинолов в кале с индексами разнообразия микробиоты, но сохранение положительных корреляции с содержанием индола (резорцинол $r = 0.227$; $p < 0.05$, метилрезорцинол $r = 0.265$; $p < 0.05$, пентилрецорцинол $r = 0.242$; $p < 0.05$) при их отсутствии с индоллактатом и индолпропионатом. Примечательно, что гексил- и пентадецилрезорцинолы утрачивают свои многочисленные корреляционные связи с показателями метаболизма триптофана и индексами разнообразия микробиоты кишечника, в то время как у додецилрезорцинола появляется положительная связь с хинолиновой кислотой ($r = 0.218$; $p < 0.05$).

Вероятно, эти изменения тесно ассоциированы с развитием ожирения и, возможно, являются одним из его патогенетических звеньев, так как наблюдается положительная корреляция массы тела с резорцинолом (r = 0.234; $p<0.05$), метилрезорцинолом ($r = 0.241$; $p < 0.05$), пентадецилрезорцинолом ($r = 0.210$; $p < 0.05$); ИМТ с метилрезорцинолом ($r = 0.217$; $p < 0.05$); уровня лептина с этилрезорцинолом ($r = 0.224$; $p < 0.05$); концентрации глюкозы ($r = 0.277$; $p < 0.05$), триацилглицеридов ($r = 0.230$; $p < 0.05$), холестерина и ЛПОНП крови ($r = 0.228$; $p < 0.05$) с резорцинолом. Вместе с тем, содержание пропил- и пентилрезорцинолов в кале отрицательно коррелирует с показателями общего холестерина крови ($r = -0.249$; $p < 0.05$ и $r = -0.309$; $p < 0.005$ соответственно).

Также при ожирении у детей кардинальным образом меняются корреляционные связи АР крови. Исчезают характерные для здоровых детей положительные связи с адипокинами (лептин, апелин, резистин), положительная связь с общим белком крови меняется на отрицательную (резорцинол $r = -0.230$; $p < 0.05$, метилрезорцинол $r = -0.250$; $p < 0.05$).

Наблюдается отрицательная корреляция пропилрезорцинола с холестерином ЛПНП крови ($r = -0.221$; $p < 0.05$) и коэффициентом атерогенности ($r = -0.253$; $p < 0.05$), а пентилрезорцинола с уровнем глюкозы ($r = -0.224$; $p < 0.05$) и ФНО в крови ($r = -0.276$; $p < 005$).

Таким образом, вследствие изменение таксономического состава микробиоты, и, возможно, ее филометаболического ядра происходит разобщение сочетанности метаболизма АР и триптофана кишечной микробиоты, что сопровождается нарушениями в регуляторной оси “микробиота-кишечник-жировая ткань”.

Обращает внимание, что у здоровых взрослых, в отличие от здоровых детей, отсутствует положительная корреляция содержания АР в кале с индексами разнообразия его микробиоты, но сохраняются положительные корреляции с индолами. В группе здоровых взрослых в кале резорцинол коррелировал с содержанием индола ($r = 0.229$; $p < 0.05$), пропилрезорцинол коррелировал с содержанием индоллактата ($r = 0.218$; $p < 0.05$). С содержанием индолпропионата коррелировали резорцинол ($r = 0.477$; $p < 0.001$), метилрезорцинол

($r = 0.418$; $p < 0.001$), этилрезорцинол ($r = 0.311$; $p < 0.005$), пропилрезорцинол ($r = 0.339$; $p < 0.001$) и гексилрезорцинол ($r = 0.230$; $p < 0.05$). Вместе с тем, появляются отрицательные корреляции с уровнем VEGF и TFF3 в крови (резорцинол: VEGF ($r = -0.297$; $p < 0.005$), TFF3 ($r = -0.219$; $p < 0.05$), метилрезорцинол: VEGF ($r = -0.308$; $p < 0.005$), TFF3 ($r = -0.198$; $p < 0.05$)) не характерные для детей.

Также в отличие от детей, для здоровых взрослых характерно отсутствие корреляции уровня АР крови с адипокинами, но бросается в глаза наличие отрицательной корреляции с уровнем серотонина (резорцинол ($r = -0.236$; $p < 0.05$), этилрезорцинол ($r = -0.173$; $p < 0.05$), пропилрезорцинол ($r = -0.224$; $p < 0.05$), пентилрезорцинол ($r = -0.262$; $p < 0.005$), пентадецилрезорцинол ($r = -0.178$; $p < 0.05$)). Вероятно, филометаболическое ядро микробиоты у взрослых несколько отличается от детей и характеризуется отсутствием сочетанности метаболизма индолов и АР и разными метаболическими эффектами оси “микробиота–кишечник–жировая ткань”.

У взрослых с ожирением обращает внимание наличие отрицательной корреляции содержания АР в кале с индексами разнообразия микробиоты кишечника, которая характерна для пропилрезорцинола (для кала: observed_otus ($r = -0.239$; $p < 0.05$), Chao1 ($r = -0.248$; $p < 0.05$), Simpson ($r = -0.205$; $p < 0.05$), Shannon ($r = -0.289$; $p < 0.005$)), пентилрезорцинола (для кала: observed_otus ($r = -0.292$; $p < 0.005$), Chao1 ($r = -0.302$; $p < 0.005$)) и додецилрезорцинола (для кала: observed_otus ($r = -0.353$; $p < 0.001$), Chao1 ($r = -0.326$; $p < 0.005$), Shannon ($r = -0.229$; $p < 0.05$)). Кроме того, для этой группы пациентов характерна положительная корреляция алкилрезорцинолов с хинолиновой кислотой (резорцинол $r = 0.222$; $p < 0.05$, метил- $r = 0.275$; $p < 0.005$, пропил- $r = 0.213$; $p < 0.05$, додецилрезорцинолы $r = 0.221$; $p < 0.05$). Появляется положительная связь с лептином (метилрезорцинол $r = 0.251$; $p < 0.05$, этилрезорцинол $r = 0.336$; $p < 0.005$, додецилрезорцинол $r = 0.321$; $p < 0.05$), с ФНО у пропилрезорцинола ($r = 0.252$; $p < 0.05$) и отрицательная с аспросином у пентилрезорцинола ($r = -0.247$; $p < 0.05$) и с адипонектином у гексилрезорцинола ($r = -0.277$; $p < 0.05$).

У взрослых при ожирении появляется отрицательная корреляция алкилрезорцинолов крови с апелином (резорцинол $r = -0.330$; $p < 0.05$, метилрезорцинол – $r = 0.269$; $p < 0.05$, этилрезорцинол $r = -0.275$; $p < 0.05$, пропилрезорцинол $r = -0.277$; $p < 0.05$, пентилрезорцинол $r = -0.278$; $p < 0.05$, гексилрезорцинол $r = -0.272$; $p < 0.05$), ряд резорцинолов отрицательно коррелирует с VEGF (резорцинол $r = -0.240$; $p < 0.05$, пентилрезорцинол $r = -0.303$; $p < 0.05$, гексилрезорцинол $r = -0.274$; $p < 0.05$, додецилрезорцинол $r = -0.286$; $p < 0.05$) и с ФНО (гексилрезорцинол $r = -0.347$; $p < 0.005$, додецилрезорцинол $r = -0.285$; $p < 0.05$). По-видимому, у взрослых вследствие значительных изменений таксономического состава при ожирении происходит и изменение филометаболического ядра микробиоты, что сопровождается нарушениями функционирования регуляторной оси “микробиота-кишечник-жировая ткань”.

Таким образом, содержание АР изменяется при ожирении и коррелирует с изменением ряда метаболических показателей. Изменение содержания АР при ожирении также согласуется с изменением состава микробиоты их продуцирующей. Результаты, полученные в данном исследовании, позволяют рассматривать АР как кандидатные регуляторные молекулы в оси “микробиота-макроорганизм”.

Финансирование. Работа выполнена в рамках договора (0373100122119000041) по проекту “Создание банка биообразцов сыворотки крови и фекалий от здоровых доноров и пациентов с ожирением, метаболическим синдромом, сахарным диабетом 2 типа, нарушением мукозального барьера желудочно-кишечного тракта с целью выявления кандидатных видонеспецифических медиаторов систем quorum sensing микробиоты человека, модулирующих эндокринную и метаболическую функцию жировой ткани”.

Соблюдение этических стандартов. Исследование одобрено Локальным независимым этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. Все больные подписали информированное добровольное согласие на использование биологического материала в научных целях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ильинская О.Н., Колпаков А.И., Зеленихин П.В., Круглова З.Ф., Чойдаш Б., Дорошенко Е.В., Мулюкин А.Л., Эль-Регистан Г.И. Влияние аутоиндукторов анабиоза бактерий на геном микробной клетки // Микробиология. 2002. Т. 71. № 2. С. 164–168.

Маргулис А.Б., Ильинская О.Н., Колпаков А.И., Муфер К. Индукция гипометаболических форм у неспорообразующих грамположительных бактерий // Уч. зап. Казан. ун-та. Сер. Естест. Науки. 2005. Т. 147. Кн. 2. С. 108–114.

Bartłomiej S., Justyna R.K., Ewa N. Bioactive compounds in cereal grains – occurrence, structure, technological significance and nutritional benefits – a review // Food Sci Technol. Int. 2012. V. 18(6). P. 559–568.

Cani P.D., Van Hul M., Lefort C., Depommier C., Rastelli M., Everard A. Microbial regulation of organismal energy homeostasis // Nat. Metab. 2019. V. 1(1). P. 34–46.

Choung R.S., Murray J.A., Marietta E.V., Van Dyke C.T., Ross A.B. Serum alkylresorcinols as biomarkers of de-

tary gluten exposure in coeliac disease // Aliment. Pharmacol. Ther. 2017. V. 45(5). P. 643–652.

Depommier C., Everard A., Druart C., Plovier H., Van Hul M., Vieira-Silva S., Falony G., Raes J., 419 Maiter D., Delzenne N.M., de Barsy M., Loumaye A., Hermans M.P., Thissen J.-P., de Vos W.M., Cani P.D. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study // Nat. Med. 2019. V. 25. P. 1096–1103.

van Duynhoven J., Vaughan E.E., Jacobs D.M., A. Kemperman R., van Velzen E.J.J., Gross G., Roger L.C., Possemiers S., Smilde A.K., Doré J., Westerhuis J.A., Van de Wiele T. Metabolic fate of polyphenols in the human superorganism // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011. V. 108. P. 4531–4538.

Galland L. The gut microbiome and the brain // J. Med. Food. 2014. V. 17(12).P. 1261–1272.

Goodacre R. Metabolomics of a superorganism // J. Nutr. 2007. V. 137(1 Suppl). P. 259–266.

Jalanka-Tuovinen J., Salonen A., Nikkilä J., Immonen O., Kekkonen R., Lahti L., Palva A., de Vos W.M. Intestinal microbiota in healthy adults: temporal analysis reveals individual and common core and relation to intestinal symptoms // PLoS One. 2011. V. 6(7). P. 23035.

Kyrø C., Kristensen M., Jakobsen M.U., Halkjær J., Landberg R., Bueno-de-Mesquita H.A., Christensen J., Romieu I., Tjønneland A., Olsen A. Dietary intake of whole grains and plasma alkylresorcinol concentrations in relation to changes in anthropometry: the Danish diet, cancer and health cohort study // Comp.Study Eur. J. Clin. Nutr. 2017. V. 71(8). P. 944–952.

Lambring C.B., Siraj S., Patel K., Sankpal U.T., Mathew S., Basha R. Impact of the microbiome on the immune system // Crit. Rev. Immunol. 2019. V. 39(5). P. 313–328.

Lundgren P., Thaiss C.A. The microbiome-adipose tissue axis in systemic metabolism // Am. J. Physiol. Gastroin. Liver Physiol. 2020. V. 318(4). P. 717–724.

Martins T.P., Rouger C., Glasser N.R., Freitas S., de Fraissinette N.B., Balskus E.P., Tasdemir D., Leão P.N. Chemistry, bioactivity and biosynthesis of cyanobacterial alkylresorcinols // Nat. Product Rep. 2019. V. 36(10) P. 1437–1461.

Million M., Angelakis E., Paul M., Armougom F., Leibovici L., Raoult D. Comparative meta-analysis of the effect of *Lactobacillus* species on weight gain in humans and animals // Microb. Pathog. 2012. V. 53. P. 100–108.

Oishi K., Yamamoto S., Itoh N., Nakao R., Yasumoto Y., Tanaka K., Kikuchi Y., Fukudome S., Okita K., Takano-Ishikawa Y. Wheat alkylresorcinols suppress high-fat, high-sucrose diet-induced obesity and glucose intolerance by increasing insulin sensitivity and cholesterol excretion in male mice // J. Nutr. 2015. V. 145(2). P. 199–206.

Ross A.B., Aman P., Andersson R., Kamal-Eldin A. Chromatographic analysis of alkylresorcinols and their metabolites // J. Chromatogr. A. 2004. V. 1054. P. 157–164.

Salvucci E. The human-microbiome superorganism and its modulation to restore health // Intern. J. Food Scie. Nutrit. 2019. V. 70(7). P. 781–795.

Schmidt T.S.B., Raes J., Bork P. The human gut microbiome: from association to modulation // Cell. 2018. V. 172(6). P. 1198–1215.

Sidhu M, van der Poorten D. The gut microbiome // Aust. Fam. Physician. 2017. V. 46(4). P. 206–211.

Sitkin S., Tkachenko E.I. Vakhitov T. Phylometabolic core of intestinal microbiota //Alm. Clin. Med. 2015. V. 12. P. 34.

Sun T., Zhang Y., Huang H., Wang X., Zhou Li, Li Sh., Huang S., Xie Ch., Wen Y., Zhu Y., Hu X., Chen L., Li P., Chen S., Yang W., Bao W., Hu F.B., Cheng J., Sun L.L. Plasma alkylresorcinol metabolite, a biomarker of whole-grain wheat and rye intake, and risk of ischemic stroke: a case-control study // Amer. J. Clin. Nutrition. 2019. V. 109(2). P. 1–7.

Sun Y., Yao R., Ji X., Wu H., Luna A., Zhonghua Wang Zh., Jetter R. Characterization of an alkylresorcinol synthase that forms phenolics accumulating in the cuticular wax on various organs of rye (*Secale cereale*) // The plant J. 2020. V. 102(6). P. 1294–1312.

Tap J., Mondot S., Levenez F., Pelletier E., Caron C., Furet J.P., Ugarte E., Muñoz-Tamayo R., Paslier D.L., Nalin R., Dore J., Leclerc M. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core // Env. Microbiol. 2009. V. 11(10). P. 2574–2584.

Tirosh A., Calay E.S., Tuncman G., Claiborn K.C., Inouye K.E., Eguchi K., Alcala M., Rathaus M., Hollander K.S., Ron I., Livne R., Heianza Y., Qi L., Shai I., Garg R., Hotamisligil G.S. The short-chain fatty acid propionate increases glucagon and FABP4 production, impairing insulin action in mice and humans // Sci. Transl. Med. 2019. V. 11. P.120.

Turnbaugh P.J., Hamady M., Yatsunenko T., Cantarel B.L., Duncan A., Ley R.E., Sogin M.L., Jones W.J., Roe B.A., Affourtit J.P., Egholm M., Henrissat B., Heath A.C., Knight R., Gordon J.I. A core gut microbiome in obese and lean twins // Nature. 2009. V. 457(7228). P. 480–484.

Wu H., Omar N.A.M., Håkansson N., Wolk A., Michaëlsson K., Landberg R. Evaluation of alkylresorcinols in adipose tissue biopsies as a long-term biomarker of whole-grain wheat and rye intake in free-living swedish men and women // Public Health Nutr. 2018. V. 21(10). P. 1933–1942.

Zhao Y., Shi L., Hu Ch., Sang Sh. Wheat bran for colon cancer prevention: the synergy between phytochemical alkylresorcinol C21 and intestinal microbial metabolite Butyrate // J Agric Food Chem. 2019. V. 67(46). P. 12761–12769.

Alkylresorcinols – New Potential Bioregulators in the Superorganism System (Human-microbiota)

A. V. Shestopalov[1, 2, #], A. M. Gaponov[1], A. A. Zabolotneva[3], S. A. Appolonova[4], P. A. Markin[4], O. V. Borisenko[3], A. V. Tutelyan[1], A. G. Rumyantsev[1], E. D. Teplyakova[2, 5], V. F. Shin[2, 5], D. V. Savchuk[2, 6], N. I. Volkova[5], L. A. Ganenko[5], V. V. Makarov[7], S. M. Yudin[7], and S. A. Rumyantsev[2, 3]

[1] *Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Samory Mashela str., 1, Moscow, 117997 Russia*

[2] *Center of Digital and Translational Biomedicine, LLC "Center for Molecular Health", Nakhimovsky prospect, 32, Moscow, 117218 Russia*

[3] *Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovityanova str., 1, Moscow, 117997 Russia*

[4] *Sechenov First Moscow State Medical University, Trubetskaya str., 8-2, Moscow, 119991 Russia*

[5] *Rostov State Medical University, Nakhichevanskiy per., 29, Rostov-on-Don, 344022 Russia*

[6] *Municipal Children's Hospital No. 1, Verhnenolnaya str., 6, Rostov-on-Don, 344019 Russia*

[7] *Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia, Pogodinskaya str., 10, Moscow, 119121 Russia*

[#] *e-mail: Al-shest@yandex.ru*

Based on the results of the qualitative and quantitative analysis of alkylresorcinols pools in the intestine and in the blood, as well as their correlations with the level of tryptophan metabolites in feces, indicators of the intestinal microbiota diversity, and clinical and laboratory data, the role of alkylresorcinols as regulatory mediators in the axis "microbiota – adipose tissue" was proposed. Changes in the content of alkylresorcinols in obesity have been shown, which probably reflects the relationship between the state of the microbiota and the metabolic characteristics of the macroorganism.

Keywords: alkylresorcinols, obesity, microbiota

EDN: FZFKVK
ИЗВЕСТИЯ РАН. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ, 2022, № 3, с. 258–271

ГЕНЕТИКА

УДК 575.174.015.3:599.363

ФИЛОГЕОГРАФИЯ МАЛОЙ *Crocidura suaveolens* И СИБИРСКОЙ *Crocidura sibirica* БЕЛОЗУБОК: В ПОИСКАХ ГЕОГРАФИЧЕСКОЙ РОДИНЫ

© 2022 г. В. А. Грицышин*, @, И. В. Артюшин*, В. О. Бурская, Б. И. Шефтель***, В. С. Лебедев****, А. А. Банникова*, @@**

**Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия*
***Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Большой Каретный пер., д. 19 стр. 1, Москва, 127051 Россия*
****Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Ленинский пр-т, 33, Москва, 119071 Россия*
*****Зоологический музей МГУ им. М.В. Ломоносова, ул. Большая Никитская, 2, Москва, 125009 Россия*
@E-mail: vladimir.sokol.gritsyshin@gmail.com
@@E-mail: hylomys@mail.ru

Поступила в редакцию 29.11.2020 г.
После доработки 23.06.2021 г.
Принята к публикации 23.06.2021 г.

Изучен полиморфизм гена *cytb* двух форм видового комплекса “малая белозубка”: *Crocidura suaveolens* (s. stricto) и *C. sibirica*. Гаплотипы сибирской белозубки крайне близки к таковым малой и не образуют самостоятельной гаплогруппы. Генетическое разнообразие популяций азиатской части ареала выше, чем в Восточной Европе. Для совокупных выборок из Азии и Европы выявлен достоверный рост эффективной численности. Анализ времен экспансии показал, что азиатская территория была заселена раньше (до последнего ледникового максимума), чем восточно-европейская (в конце позднего плейстоцена–начале голоцена). Результаты реконструкции предкового ареала согласуются с гипотезой происхождения малой белозубки в Средней Азии и более поздним проникновение в Центральную Азию, а затем в Восточную Европу.

Ключевые слова. *Crocidura suaveolens*, *Crocidura sibirica*, митохондриальная филогеография, анцестральный ареал

DOI: 10.31857/S1026347022020093

Малая белозубка в широком понимании (*Crocidura suaveolens* sensu lato) – это крупный видовой комплекс, состав которого еще обсуждается. На огромном ареале, простирающемся через всю Евразию от Пиренейского п-ва до о. Цусима через несколько природных зон, все формы “малой белозубки”, кроме *C. sibirica*, имеют идентичный кариотип (Графодатский и др., 1988) и многие авторы полагают, что в пределах этой территории все популяции с $2n = 40$ должны быть объединены в одном виде *C. suaveolens* (Catzeflis *et al.*, 1985; Vogel *et al.*, 1986; Hutterer, 1993). Но имеются также свидетельства морфологического (Зайцев, 1991; Темботова, 1999; Банникова и др., 2001; Jiang, Hoffmann, 2001) и высокого молекулярного (Vogel *et al.*, 2003; Ohdachi *et al.*, 2004; Bannikova *et al.*, 2006; Dubey *et al.*, 2006, 2007a, 2007b) разнообразия этой группы. В настоящее время в составе видовой группы “малая белозубка” по морфологическим данным и митохондриальной ДНК (мтДНК) различают не менее семи форм, однако точка зрения на их видовой статус варьируют у разных авторов. Обычно распознают собственно малую белозубку *C. suaveolens* (Pallas, 1811), сибирскую *C. sibirica* (Dukelsky, 1930), кавказскую длиннохвостую *C. gueldenstaedtii* (Pallas 1811), каспийскую *C. caspica* (Thomas, 1907), манчжурскую *C. shantungensis* (Miller 1901) и белозубку Зарудного *C. zarudnyi* (Ognev, 1928) (Зайцев, 1991; Зайцев и др., 2014; Bannikova *et al.*, 2006; Burgin *et al.*, 2018). Но некоторые авторы придают видовой статус также и *C. mimula* (Miller 1901) из Западной Европы (Bannikova *et al.*, 2006) или *C. aleksandrisi* (Vesmanis, 1977) из Киренаики средиземноморского побережья Северной Африки (Burgin *et al.*, 2018). По митохондриальным данным в составе видовой группы “малая белозубка” обозначаются и другие формы: образцы с Пиренейского п-ва, юга и запада Франции и юга Италии образуют кладу, включающую в себя подвиды *cantabra* и *iculisma*; самостоятельные филогруппы формируют белозубки Кипра (*cypria*), образцы с островов Лесбос и Вукарикисилка и Западной Турции, белозубки Центрального и юго-восточного Ирана и

Ливии (Dubey *et al.*, 2007a). Таксономический статус этих форм остается не ясным.

Малая белозубка в узком понимании (*Crocidura suaveolens* s.str.) (типовая территория Крым, Херсонес) имеет самый обширный ареал из всех палеарктических видов и отличается разнообразием занимаемых ландшафтов, обитая, главным образом, в интрозональных биотопах пустынной, степной и лесной зон, а также в антропогенных местообитаниях. В пустынях Средней и Центральной Азии населяет сайры и оазисы, в лесной зоне европейской части ареала особенно тяготеет к синантропии, встречаясь в разнообразных жилых постройках (Зайцев и др., 2014).

Малая белозубка демонстрирует широкую амплитуду изменчивости окраски и размеров, что объясняет выделение разными авторами нескольких форм: *C. lignicolor* (Miller 1900) из Синьцзян, *C. ilensis* (Miller 1901) из восточного Казахстана, *C. lar* (Allen 1928) из Монголии, и *C. mordeni* (Goodwin 1934) из центрального Казахстана. В ряде работ к форме *suaveolens* s.str. ошибочно отнесли название *C. gmelini* (Hoffmann, 1996; Jiang, Hoffmann, 2001).

Филогеографическая структура и демографическая история *C. suaveolens* s.str. плохо изучены из-за ограниченности анализируемых ранее выборок. Огромный ареал малой белозубки требует репрезентативной выборки, покрывающей всю географическую изменчивость вида. Здесь надо заметить, что генетически собственно малая белозубка четко отличается от остальных форм видового комплекса, кроме сибирской белозубки. При этом сибирская белозубка наиболее определенно из всех форм диагностируется по морфологии (Зайцев, 1991) и кариотипу (Графодатский и др., 1988), но не отличается от *C. suaveolens* s.str. по гаплотипам мтДНК (Bannikova *et al.*, 2006). В отсутствие возможности простой генетической диагностики *C. sibirica* большую проблему составляет существование разных взглядов на ее ареал (Зайцев, 1991; Зайцев и др., 2014). В том числе, по мнению И.И. Стогова, в правобережной части Восточно-Казахстанской области встречается только сибирская белозубка, а в дельте Черного Иртыша, оба вида обитают совместно (Бекенов и др., 1985). Однако на основе морфологического определения мы не обнаружили образцов *C. sibirica* в нашей выборке из этого последнего локалитета (Зайсанская котловина). Стоит также отметить, что белозубки из Средней и Центральной Азии в некоторых работах были ошибочно отнесены к *C. sibirica* вместо *C. suaveolens*, без данных из *terra typica* последней и без учета морфологии (Jiang, Hoffmann, 2001; Ohdachi *et al.*, 2004; Dubey *et al.*, 2006, 2007a). В связи с проблемой генетической диагностики по мтДНК, в анализируемую выборку включены также материалы по образцам, географическое происхождение и морфологическая характеристика которых соответствуют форме *C. sibirica*.

В настоящей работе впервые исследована филогеографическая структура малой и сибирской белозубок на обширной географической выборке. Цель работы состояла в изучении внутривидовой генетической изменчивости, выявлении потенциальных филогеографических разрывов и установления центра генетического разнообразия и направления расселения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объем материала. В анализируемую выборку вошли последовательности митохондриального гена цитохрома *b* (*cytb*) 160 особей малой белозубки и 14 особей сибирской белозубки, из которых 109 образцов *C. suaveolens* и 3 образца *C. sibirica* представляют собой новый материал, впервые представленный в данной работе. Остальные последовательности (76 сиквенсов), включая внешнюю группу, взяты из базы ГенБанка (AB077076, AB077078, AB077080, AB077083–AB077089, AB077278, AB077279, AY843462–AY843486, AY994368, AY994370, AY994377, AY994386, AY994387, AY994389, DQ630062, DQ630063, EU742583, EU742593, EU742609–EU742614, HM586991–HM586996, KX354172–KX354175, KX354177, KX354178, KX354180, KX354181, MN690930–MN690935, MN690937–MN690939), 28 из них получены нами в рамках предшествующих работ (Bannikova *et al.*, 2006, 2011; Банникова и др., 2009; Sheftel *et al.*, 2018), 48 – другими авторами (Vogel *et al.*, 2003; Ohdachi *et al.*, 2004; Dubey *et al.*, 2006, 2007a; Chen *et al.*, 2020). Общая выборка включает образцы из 90 локалитетов и охватывает основную часть ареала изучаемых видов (рис. 1).

Выделение, амплификация и секвенирование. Выделение ДНК осуществляли стандартным фенол-хлороформным методом (Sambrook *et al.*, 1989). Для амплификации использовали наружные праймеры из предшествующих публикаций (Bannikova *et al.*, 2006, 2011), для секвенирования – внутренние праймеры L15136 (Bannikova *et al.*, 2006) и Cro_H481su (5'-ACAGAGAATCCTCCT-CAGATTCACTCTAC-3'), специально разработанные для группы “suaveolens”. Секвенирование осуществляли на коммерческой основе с помощью набора реактивов ABIPRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1 с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer в ЗАО “Евроген”. Номера последовательностей, депонированных в ГенБанк: MW297680–MW297791.

Филогенетический и филогеографический анализ. Филогенетический анализ проводили с помощью методов максимального правдоподобия

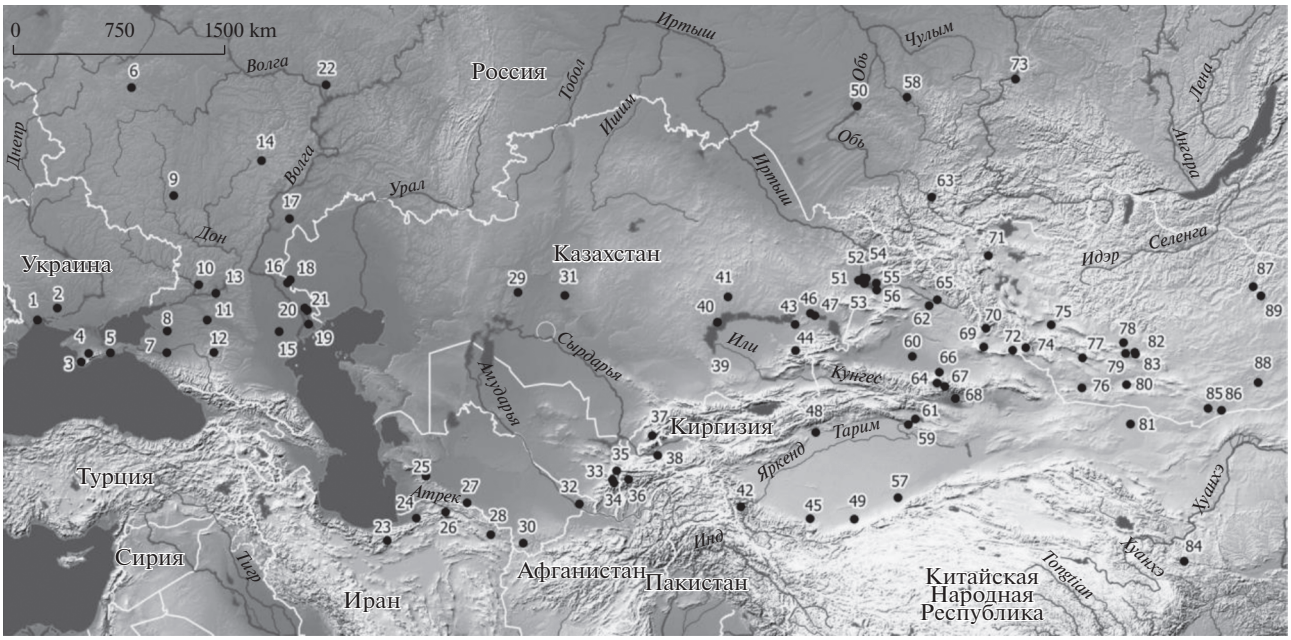

Рис. 1. Характеристика образцов, использованных в работе: локалитет/размер выборки/гаплотипы по рис. 3/номера доступа для последовательностей из ГенБанка (последовательности, полученные авторами ранее, отмечены звездочкой). **1** – Украина, Одесса/2/h1/HM586992*, HM586991; **2** – Украина, Николаев/3/h14; **3** – Крым, Севастополь/h4/AY843475; **4** – Крым/8/h8, h10, h15; **5** – Крым, Феодосия/1/h10/AY994377; **6** –Московская обл./2/h2; **7** – Краснодарский край/1/h7/AY843476; **8** – Ростовская обл., Азов/1/h7; **9** –Воронежская обл./2/h2/EU742609*, EU742610*; **10** – Ростовская обл./1/h14; **11** –Ростовская обл., Сальск/1/h10; **12** – Ставрополь/1/h5/AY843467; **13** – Ростовская обл., Цимлянск/2/h13; **14** –Пензенская обл./1/h1; **15** –Калмыкия/7/h10, h9, h13, h14; **16** –Астраханская обл., пески Шкили/2/h17, h12; **17** –Саратовская обл., с. Дьяковка/2/h16; **18** –оз. Баскунчак/1/h17/AY994386*; **19** – Астраханская обл./1/h74/AY843477; **20** – Астраханская обл./8/h11, h12, h7, h6, h10, h26, h3; **21** –Астраханская обл., Досанг/2/h10/EU742613*; **22** – респ. Татарстан, Казань/1/h14/AY843483; **23** – Иран, Мазандаран/1/h24/DQ630063; **24** – Иран, Голестан/1/h44; **25** – Туркменистан/h39/AY843466; **26** – Иран, сев. Хорасан, п. Даркаш/1/h43; **27** – Туркменистан, Фирюза/1/h40/AY843481; **28** – Иран, Мешхед/1/h41/DQ630062; **29** – Казахстан, Кызылординская обл./1/h18; **30** – Туркменистан, Бадхыз/1/AY843479; **31** – Казахстан, Карагандинская обл./1/h19; **32** – Туркменистан, Керки/1/h37/AY843480; **33** – Таджикистан, р. Сарытаг/h34, h36; **34** – Узбекистан, Гиссарский хр./2/h31/EU742612*; **35** – Таджикистан, Пенджикент/1/h31/AY843478; **36** – Таджикистан, оз. Искандеркуль /1/h35/AY843482; **37** – Узбекистан, Чаткальский хр./2/h29, h30/EU742611*; **38** – Таджикистан, Похтапор/1/ h33; **39** – Казахстан, Чу-Илийские горы/2/h21, h20; **40** – Казахстан, сев.-зап. Балхаш/3/h23, h22; **41** – Казахстан, сев. Балхаш/1/h28; **42** – Китай, Синцзянь, Ташкурган (Кашгария)/h45, h46/MN690939; **43** – Казахстан, Алма-Атинская обл./1/h24; **44** – Казахстан, Аксуйский р-н/1/h23; **45** – Китай, Синцзянь, Хотан (Кашгария)/1/h52/AY84347; **46** – Казахстан, Алма-Атинская обл./2/h25, h27; **47** – Казахстан, Алма-Атинская обл./1/h12; **48** – Китай, Синцзянь, Аксу (Кашгария)/1/h51/AY843463; **49** – Китай, Синцзянь, Миньфен (Кашгария)/1/h47; **50** – Новосибирск/6/h69, h68, h66, h67/AY843484–AY843486; AB077279, AB077089; **51** – Казахстан, Зайсан, Тассай/3/h17, h69; **52 –** Казахстан, Зайсан, Тассай/3/h17, h59; **53** – Казахстан, Зайсан, бугор Айгыркум/3/h17; **54** – Казахстан, Зайсан, Аксуат, /2/h19; **55** – Казахстан, Зайсан, Шакельмес/1/h63; **56** – Казахстан, Зайсан, Тугыл/2/h60; **57** – Китай, Синцзянь, Черчен/3/h48, h50, h49/AY843470, AB077083, AB077084; **58** – Кемерово/1/h64/ AY994389*; **59** – Китай, Синцзянь, Корла (Джунгария)/1/h55/AB077085; **60** – Китай, Синцзянь, Мосован (Джунгария)/2/h58/h62/AB077086, AB077086; **61** – Китай, Синцзянь, Баграш (Джунгария)/1/h56/AY843469; **62** – Китай, Синцзянь, Фухай (Джунгария) /1/h59/AY843464; **63** – респ. Алтай, Телецкое оз./5/h65, h72, h73/EU742583, HM586994, HM586996, HM586995; **64** – Китай, Синцзянь, Дабаньчэн (Джунгария)/1/h63/AY843462; **65** – Китай, Синцзянь, уезд Алтай (Джунгария)/7/h21, h53, h60, h63, h59/MN690935, MN690931, MN690932, AY843462, MN690930, MN690933, MN690934; **66** – Китай, Синцзянь, Фукан (Джунгария)/1/h57/ AY843473; **67** – Китай, Синцзянь, Богдо-Ола (Джунгария)/1/h61/AY843472; **68** – Китай, Синцзянь, Турфан (Джунгария)/1/h54/AY843465; **69** – Монголия, Байтаг-Богд-Уул/1/h10; **70** – Монголия, р. Булган-гол/2/h69, h10; **71** – Монголия, оз. Шаазгай-нуур/1/h71; Монголия, Такин-Шара-нуруу/1/h63; **73** –Красноярский край/2/h69; **74** – Монголия, окр. Гун-Тамга-булаг/7/h70, h71, h63, h69; **75** – Монголия, Говь-Алтай аймак, Шарга/1/h76/AB077088; **76** – Монголия, Барун-Шаргын-Гол/4/h69, h79; **77** – Монголия, Их-Дзармаг/1/h10; **78** – Монголия, Баянхонгор а-л., р. Цаган-Гол, Ба-Цаган/2/h69; **79** – Монголия, Баянхонгор а-к, ю.скл. Баги-Богд-уул/1; **80** – Монголия, оазис Дзулганай/1/h79; **81** – Китай, Алашань, Эдзин/1/h70/AY843474; Монголия, оз. Орог-нуур/1/h10; **83** – Монголия, Их-Богд-Уул/1/h69/AY994387*; **84** – Китай, Гансу, Лианхуашань/1/KX354181*; **85** – Монголия, Гоби, Гашуун-булаг/10/h10, h69, h70, h77, h79; **86** – Монголия, Таван-Алдын Худун/1/h69; **87** – Монголия, Баян-Овоо, Хар-Ямат/1/h70; **88** – Монголия, окр. Хатан-булаг/1/h70; **89** – Монголия, В. Хантэй, Баян Уул/1/h75.

(ML) в программе IQ-TREE (Nguyen *et al.*, 2015; Hoang *et al.*, 2017), ближайшего соседа (NJ) и максимальной экономии (MP) в программе MEGA 10 (Kumar *et al.*, 2018), а также Байесовым методом (BI) в BEAST v. 1.10.4 (Drummond, Rambaut, 2007). В последнем случае длина цепи составила 3×10^8 поколений; для построения ультраметрического дерева использовали разделение на две партиции по положениям в кодоне 1 + 2 и 3 и модели молекулярной эволюции для партиций HKY и GTR + G4 соответственно. В ML, NJ и MP анализах проверку надежности топологии осуществляли бутстрэп-тестом с 1000 репликаций.

При построении деревьев в качестве внешней группы были взяты последовательности *C. shantungensis* (AB077076, AB077078, AB077080, AB077278, EU742593), *C. caspica* (AY994368, AY994370) и *Crocidura* aff. *suaveolens* (KX354172–KX354175, KX354177, KX354178, KX354180) из ГенБанка. Помимо внешней группы итоговое выравнивание включило 174 последовательности в анализах ML, MP и NJ, и 146 последовательностей в анализе BI.

Медианную сеть гаплотипов строили в программе NETWORK 5.0 (Bandelt *et al.*, 1999) и редактировали средствами стандартного пакета Paint в Microsoft Windows 10. Генетические дистанции между выборками (*p*- и *K2P* дистанции) рассчитывали в программе MEGA 10. Анализ *p*-дистанций между крупными географическими выборками был проведен с целью определения их генетической близости и определения числа групп в последующих анализах генетического разнообразия и демографических показателей.

Показатели генетического разнообразия (нуклеотидное и гаплотипическое разнообразие), параметры распределения попарных дистанций (mismatch distribution), время экспансии (τ), значения F_{st} между выборками, тесты на нейтральность (Tajima, 1989) и (Fu, 1996) рассчитывали в программе Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier *et al.*, 2005) для выборок с $n \geq 10$. Для описания общего характера демографической истории использовали метод Bayesian Skyline Plot (BSP) (Drummond *et al.*, 2005), позволяющий оценить изменение эффективной численности во времени. Демографический анализ производили в BEAST v. 1.10.4. Использовали модель строгих часов и модель Bayesian Skyline с 10 группами для формы дерева. Возможность применения более простой демографической модели – модели экспоненциального роста исключили, используя метод Marginal Likelihood Estimator.

Оценка скорости эволюции *cytb*. Оценка возраста недавних событий дивергенции (<1–2 млн лет) содержит серьезную проблему, которая заключается в потенциальной возможности искажения времен дивергенции вследствие изменения видимой скорости замен с течением времени (rate decay) (Ho *et al.*, 2005). Вследствие этого филогенетические скорости, полученные для оценки межвидовых событий дивергенции, могут быть неприменимы к датированию внутривидовых (популяционных) событий.

Для определения времени экспансии использовали скорость дивергенции по всем позициям *cytb* равную 16% за млн лет, которая была получена следующим образом. Во-первых, было принято допущение, что изменение скорости замен со временем по трансверсиям 3-его положения кодона (tv3) *cytb* незначительно и tv3 происходят со скоростью близкой к филогенетической. Эта скорость (substitution rate) была получена для *Crocidura* ранее (Лавренченко и др., 2009) и составляет 1.87% за млн лет. Во-вторых, исходя из соотношения разных типов замен в *cytb* в каждом из видов группы *C. suaveolens* s.lato, было оценено, что скорость tv3 составляет 23.4% от скорости всех замен по всем позициям. Из этого следует, что скорость (substitution rate) всех замен в *cytb* видов группы *C. suaveolens* s.lato, пригодная для оценки недавних времен (<100 тыс. лет назад), равна 8%, скорость дивергенции гаплотипов (divergence rate), следовательно, – 16%.

Реконструкция центра происхождения. Для реконструкции возможного центра происхождения предкового митотипа был использован принцип максимальной экономии (парсимонии), как было предложено в аналогичной работе по обыкновенной бурозубке (Raspopova *et al.*, 2020). Цель анализа – используя связь между географическим распространением митотипов и их филогенетическими отношениями, определить такое географическое положение предкового митотипа, при котором сценарий распространения митохондриальных линий по ареалу будет максимально экономным. Для решения задачи использовался парсимониальный алгоритм, адаптированный для координатных данных (landmark data) и реализованный в программе TNT версии v. 1.5 Sept. 2020 (Catalano *et al.* 2010; Goloboff, Catalano 2016). Поскольку географические координаты не могут использоваться напрямую для описания положения точек в двумерном пространстве, их предварительно преобразовывали в условные декартовы координаты, используя линейное многомерное шкалирование матрицы дистанций между точками сбора проб с помощью cmdscale в R. Допустимое распространение предковых митотипов было ограничено набором точек сбора материала и узлами координатной сетки 12 × 12, покрывающей современный ареал. Кроме того, необходимо было учесть неопределенность филогенетических отношений между гаплотипическими линиями. Для этого анализ повторяли 100 раз используя выборку деревьев, полученную в результате анализа в BEAST (BSP), затем анализировали распределение в пространстве реконструированных для предкового узла локалитетов.

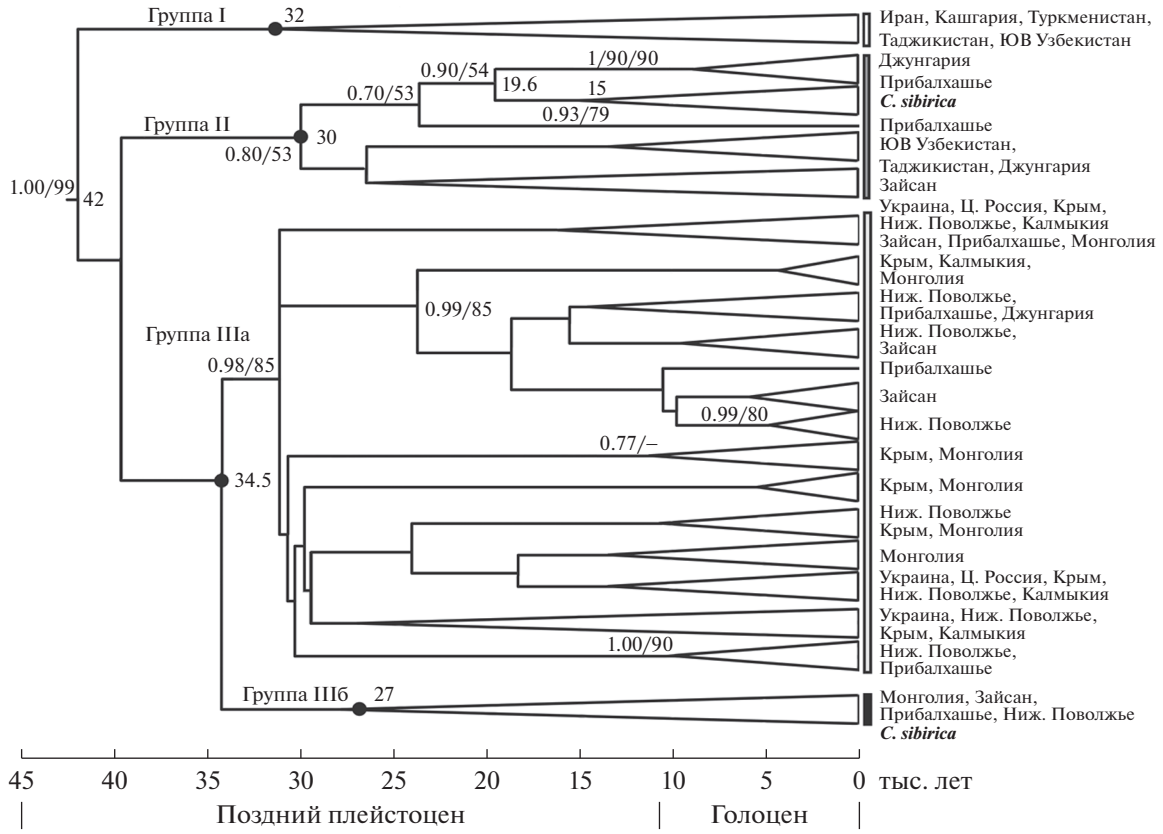

Рис. 2. Филогенетическое дерево *Crocidura suaveolens* s.str. и *C. sibirica* по результатам Байесова анализа 1140 п.н. 146 последовательностей и хронограмма основных событий дивергенции. Слева от узлов дерева указаны значимые апостериорные вероятности (>0.7) в BI и бутстрэп-поддержки (>50%) в ML анализах. Справа от узлов приведены времена важных событий дивергенции. Внешняя группа не показана.

Для перевода полученных декартовых координат в широту/долготу использовали оригинальный скрипт, доступный от одного из авторов (И. Артюшин). Плотность распределения реконструировали с помощью ядерной оценки плотности (kde – kernel density estimation), используя распределение фон Мизеса–Фишера с параметром kappa = 200 в качестве ядра. Расчеты проводили в среде R v3.6.1 с использованием функций nls{stats}, distGeo{geosphere} и пакета raster для визуализации.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Филогенетический и филогеографический анализ. Ни один из проведенных филогенетических анализов (BI, ML, MP, NJ) не позволил получить разрешенного дерева гаплотипов, однако несколько потенциальных группировок можно вычленить. На рис. 2 приведено Байесово дерево, реконструированное в программе Beast, которое является также хронограммой основных эволюционных событий в изучаемой группе. Медианная сеть (рис. 3) включает 79 гаплотипов, из них 71 найдено у малой белозубки, 7 – у сибирской белозубки и один гаплотип для них общий. Сеть имеет звездообразную структуру, в которой, тем не менее, можно обнаружить те же, что на дереве, группировки гаплотипов.

Группировка I наиболее гетерогенна, в ней отсутствует центральный, наиболее распространенный гаплотип, а гаплотипы отличаются между собой бо́льшим числом замен. Эту группу составляют гаплотипы из Средней Азии, Ирана, Кашгарии. В группу II входит основная часть гаплотипов из Сибири, гаплотипы из Прибалхашья, Зайсанской котловины, Джунгарии, а также три единичных гаплотипа из Средней Азии. Гаплотипы сибирской белозубки своеобразны и формируют единую гаплогруппу внутри группы II. Группа Ш включает два широкоареальных гаплотипа (h10, h69) и гаплотипы, производные от них, и может быть подразделена на две подгруппы: IIIа и IIIб. Подгруппа IIIа образована преимущественно гаплотипами восточной Европы и включает также часть гаплотипов Монголии, Джунгарии, Зайсанской котловины и Прибалхашья. Подгруппа IIIб содержит большую часть гаплотипов Монголии и Джунгарии, зайсанские и прибалхашские гаплотипы, один гаплотип из Астрахани, а также часть сибирских гаплотипов, причем образцы *C. sibirica*

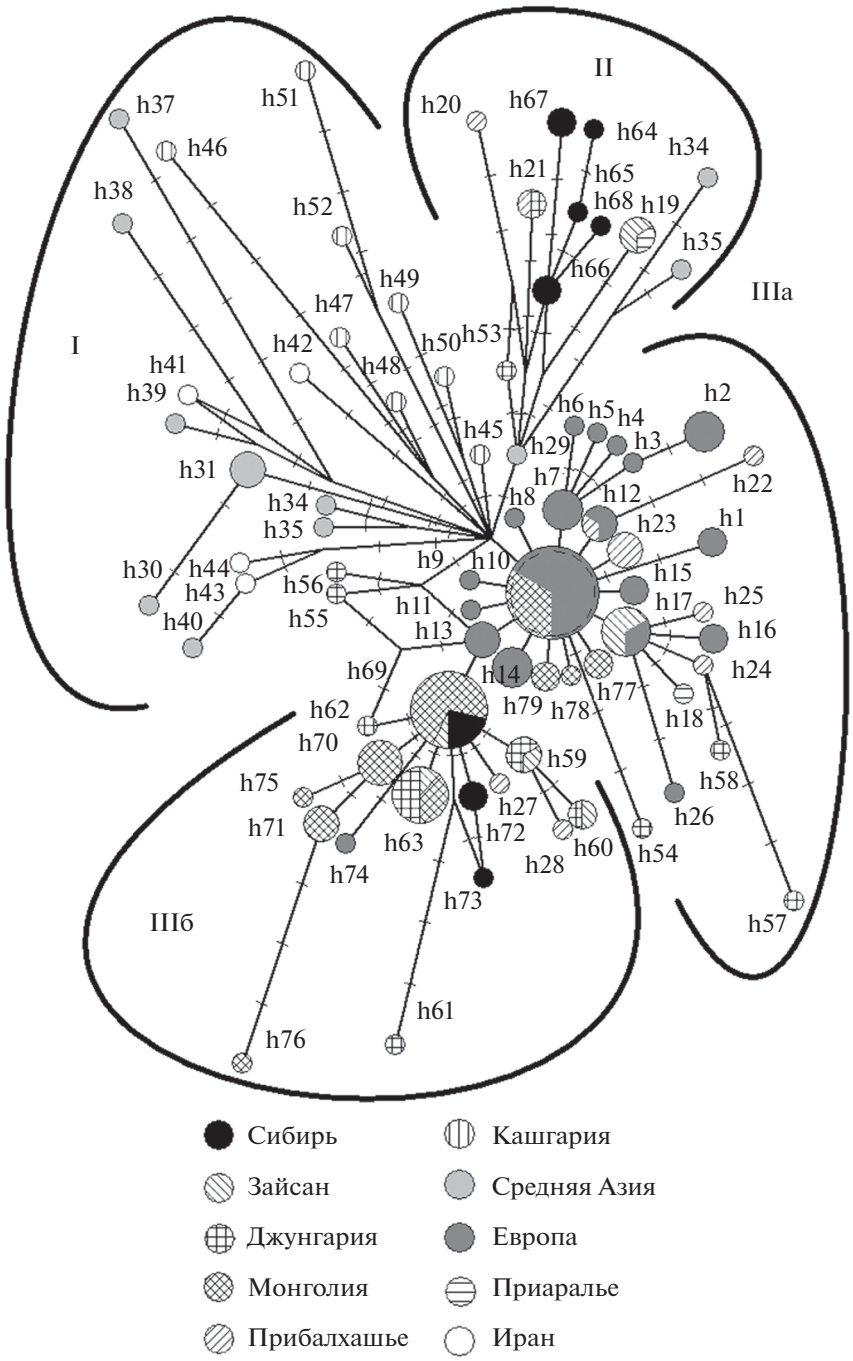

Рис. 3. Медианная сеть гаплотипов *cytb* малой белозубки, включающая 160 последовательностей длиной 998 п.н. Размеры кружков соответствуют числу особей с данным гаплотипом, число замен между гаплотипами обозначено поперечными штрихами на соединяющих гаплотипы линиях, группы гаплотипов пронумерованы римскими цифрами.

из Красноярска и один образец из Новосибирска несут гаплотип h69, широко распространенный среди образцов из других локалитетов, в том числе, Гоби.

В целом, образцы из Средней Азии наиболее разобщены между собой и удалены от образцов других географических регионов. Гаплотипы, общие с самой северной и самой южной частью ареала обнаруживаются только в Прибалхашье и Зайсанской котловине. В выборке из Восточной Европы общие с азиатскими гаплотипы (в первую очередь из Прибалхашья) обнаруживаются к востоку от левобережья Волги и отсутствуют на правобережье и далее в западной части ареала.

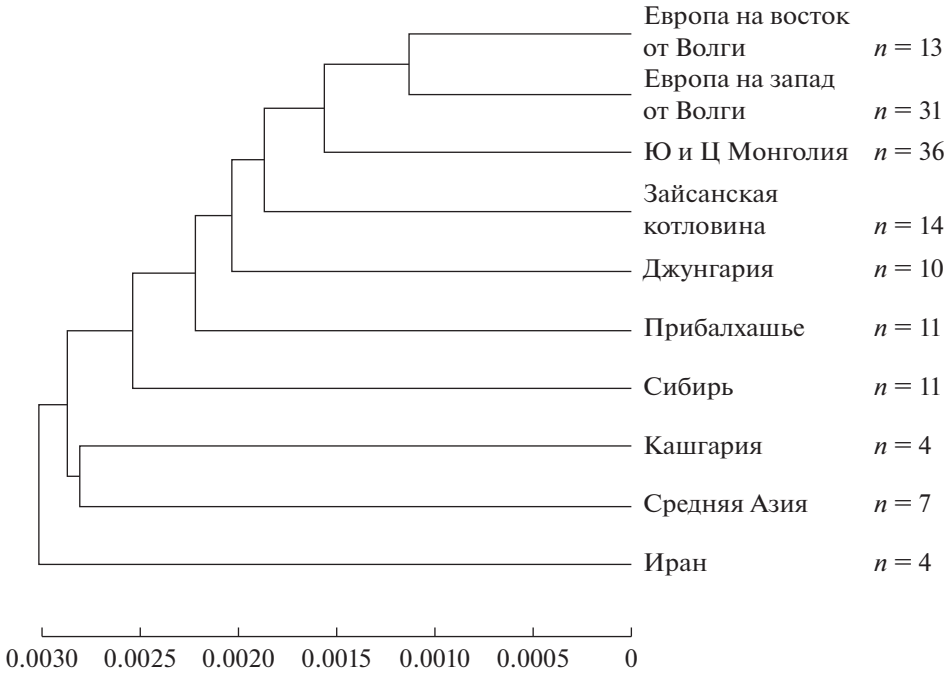

Рис. 4. UPGMA-дендрограмма средних попарных *p*-дистанций между основными выборками. По шкале отложены *p*-дистанции, количество образцов в выборках указано рядом с соответствующей ветвью дендрограммы.

Как видно из приведенных данных, гаплотипы из ареала *C. sibirica* очень близки к таковым *C. suaveolens* s.str., не образуют единой монофилетической группы, и малая белозубка оказывается по мтДНК парафилетической относительно сибирской. На этом основании мы далее анализируем и обсуждаем выборку образцов двух видов (*C. suaveolens*/*C. sibirica*) как единое целое.

Времена основных событий дивергенции. На рис. 2 показаны времена основных событий дивергенции в группе *C. suaveolens*/*C. sibirica*. С учетом принятой скорости дивергенции ~16% за млн лет, последний общий предок всех линий *C. suaveolens* s.str./*C. sibirica* существовал 42 тыс. лет назад. Линия *C. sibirica*, которая обнаруживается внутри группировки II, обособилась 19.6 тыс. лет назад, а ее радиация произошла 15 тыс. лет назад.

Генетическое разнообразие географических популяций. Исходя из географических и генетических дистанций (*p*-дистанции 0.22–0.72%) между образцами из локальных популяций были скомпанованы 10 основных выборок ($n \geq 4$) (рис. 4), 7 из которых ($n \geq 10$) включены в анализ генетического разнообразия и демографии: *C. suaveolens* – (1) Европа 1: к западу от правобережья Волги, (2) Европа 2: от левобережья Волги до Урала, (3) Прибалхашье, (4) Зайсанская котловина, (5) Южная и Центральная Монголия (Гоби), (6) Джунгария, (7) *C. sibirica* – Алтай, Красноярск, Кемерово, Новосибирск (Сибирь). Для анализа суммарной выборки по Азии использовали все имеющиеся данные ($n = 97$). Моделирование изменения эффективной численности во времени было произведено только для выборок размером более 25 экз.

В табл. 1 и 2 приведены показатели молекулярного разнообразия и демографические параметры для выборок размером не менее 10 экз. Статистические показатели разнообразия *cytb* в географических выборках из общей восточно-европейской и нескольких азиатских популяций выявили низкое гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие популяции Восточной Европы по сравнению с отдельными азиатскими популяциями и азиатской выборкой в целом (табл. 1). Среди крупных выборок наибольшее гаплотипическое разнообразие отличает популяцию Зайсанской котловины, наибольшее нуклеотидное разнообразие обнаружено в Прибалхашье. Высокие показатели h и π в Сибири объясняются существованием в составе *C. sibirica* двух симпатричных гаплогрупп (*p*-дистанция 0.76%); внутри этих группировок разнообразие низкое. Несмотря на маленький размер выборок из Средней Азии ($n = 7$) и Кашгарии ($n = 4$), отметим, что гаплотипное и нуклеотидное разнообразие в них очень высокое ($\pi = 0.0046 \pm 0.0029$ в Средней Азии и $\pi = 0.0050 \pm 0.0036$ в Кашгарии) при $h = 1$ в обоих случаях.

Демографический анализ. Тесты на нейтральность Таджимы и Фу имеют достоверно отрицательное значение только в случае европейской популяции, что указывает на ее недавнюю экспансию. В случае совокупной выборки по всей

Таблица 1. Показатели разнообразия *cytb* в географических популяциях белозубок и результаты тестов на нейтральность: размер выборки (*n*), гаплотипическое разнообразие (*h*), нуклеотидное разнообразие (π), Tajima's D, Fu's Fs и *p*-values. Достоверные показатели нейтральности выделены полужирным шрифтом

Выборки	*N*	*H*	π	Tajima's D	Tajima's D *p*-value	Fu's Fs	Fu's Fs *p*-value
Сибирь	11	0.9455 ± 0.0535	0.0045 ± 0.0026	0.6434	0.7730	–0.3012	0.4130
Джунгария	10	0.9333 ± 0.0773	0.0041 ± 0.0025	–0.2817	0.4190	–2.1931	0.0840
Ю. и Ц. Монголия (Гоби)	35	0.9647 ± 0.0201	0.0026 ± 0.0015	–1.2325	0.1120	–1.9485	0.1660
Зайсан	14	0.9890 ± 0.0314	0.0038 ± 0.0022	0.1945	0.6280	1.0705	0.7300
Балхаш	11	0.9455 ± 0.0659	0.0052 ± 0.0030	–1.2674	0.1090	–2.2619	0.1040
В. Казахстан (Балхаш + Зайсан)	25	0.9867 ± 0.0167	0.0045 ± 0.0025	–1.3985	0.0720	–4.3467	0.0390
вся Азия	97	0.9888 ± 0.0052	0.0043 ± 0.0024	**–2.1728**	**0.0010**	**–25.500**	**0.0000**
Европа 1: от Волги до Урала	15	0.9524 ± 0.0344	0.0024 ± 0.0015	–1.06072	0.1440	–3.242	0.0300
Европа 2: к западу от Волги	31	0.9075 ± 0.0419	0.0017 ± 0.0011	–1.4555	0.0610	**–5.4720**	**0.0030**
вся Европа	46	0.9362 ± 0.0271	0.0020 ± 0.0012	**–1.9196**	**0.0070**	**–12.233**	**0.0000**

Таблица 2. Оценка демографических параметров малой белозубки на основе модели внезапной экспансии: *tau* и относительное *tau* – время в заменах на ген и на сайт соответственно; SSD – сумма квадратов отклонений (sum of squared deviations) от модели, Rg – индекс неравномерности (raggedness index) распределения попарных рзличий в выборке

Выборки	*n*	*tau* and 90% CI	Relative *tau* (substitutions per site)	SSD	SSD *p*-value	Rg	Rg *p*-value
Сибирь	11	10.736 (4.645–99.736)	0.009 (0.004–0.088)	0.0285	0.5940	0.0499	0.8060
Джунгария	10	4.141 (2.469–10.053)	0.004 (0.002–0.0090)	0.2390	0.1370	0.1630	0.2390
Ю. и Ц. Монголия (Гоби)	35	3.473 (1.889–5.563)	0.003 (0.002–0.005)	0.0016	0.8520	0.0147	0.9250
Зайсан	14	6.022 (2.986–9.793)	0.005 (0.003–0.009)	0.0062	0.9150	0.0167	0.9720
Балхаш	11	4.000 (2.910–11.811)	0.004 (0.003–0.010)	0.0171	0.2700	0.0433	0.5180
В Казахстан (Балхаш + Зайсан)	25	6.107 (3.332–8.994)	0.005 (0.003–0.008)	0.0021	0.9200	0.0095	0.9660
Вся Азия	97	3.758 (2.521–10.352)	0.003 (0.002–0.009)	0.0013	0.7330	0.0060	0.9230
Европа 1: от Волги до Урала	15	2.041 (1.764–5.494)	0.002 (0.002–0.005)	0.0052	0.6740	0.0373	0.7540
Европа 2: к западу от Волги	31	2.027 (1.041–3.137)	0.002 (0.001–0.003)	0.0031	0.5360	0.0453	0.5730
Вся Европа	46	1.937 (1.320–3.586)	0.002 (0.001–0.003)	0.0009	0.4470	0.0364	0.2760

Азии также отмечается достоверный рост, однако для отдельных географических популяций рост не достоверен (табл. 1). Показатели Rg и SSD не противоречат модели внезапной экспансии ни для одной из выборок (табл. 2).

Моделирование изменения эффективной численности во времени (BSP) для группы *C. suaveolens* s.str./*C. sibirica* в целом показало на слабый рост, точное время которого по полученной картине установить сложно (рис. 5). Результаты ана-

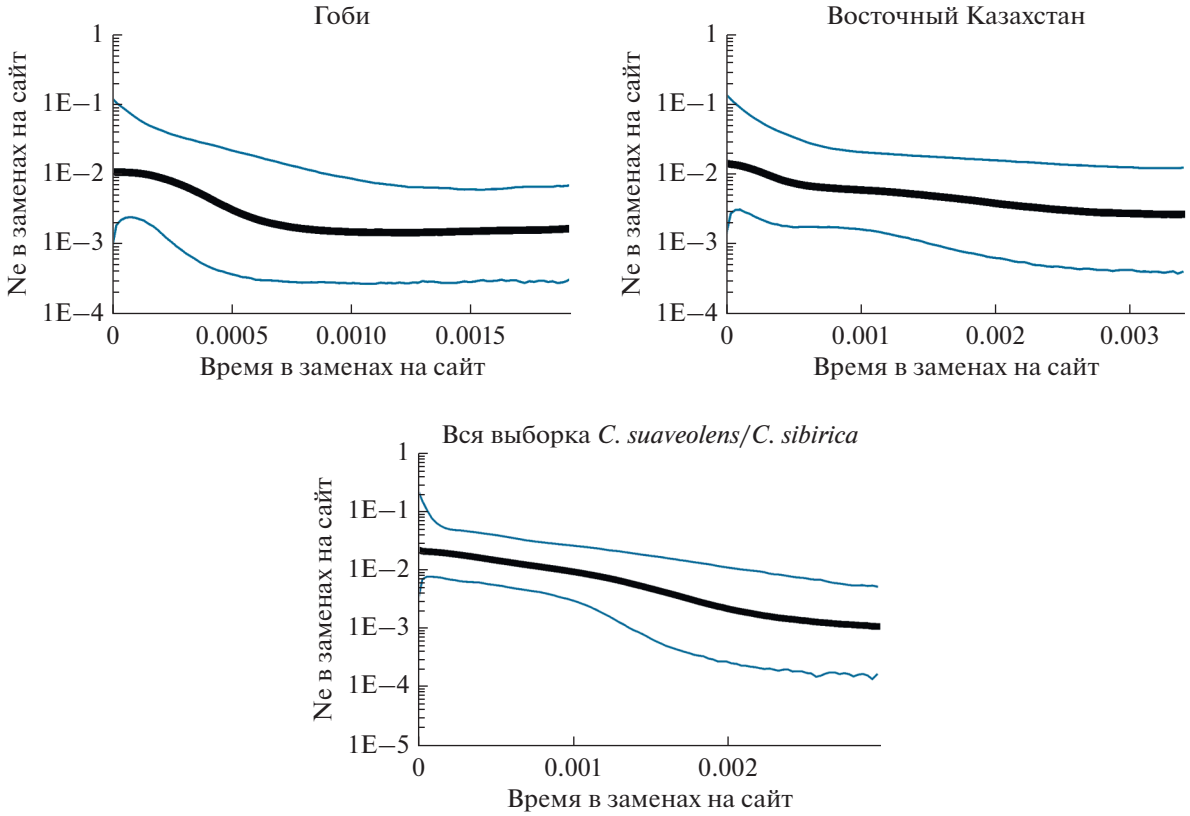

Рис. 5. Реконструкция общего характера демографической истории методом BSP для популяций малой белозубки из Гоби Монголии (слева), Восточного Казахстана (справа) и общей выборке по *C. suaveolens*.

лиза BSP для выборок Гоби и Восточного Казахстана указывают на относительно недавний рост для популяции Гоби и заметно более плавный и существенно более ранний рост в Восточном Казахстане. Получить результаты анализа BSP для выборки из Европы не удалось из-за слишком низкой нуклеотидной и гаплотипической изменчивости. Однако двукратное отличие *tau* (время в нуклеотидных заменах, табл. 2) в выборках из Центральной Азии и Казахстана по сравнению с Восточной Европой косвенным образом указывает на их больший возраст. Если пересчитать показатель *tau* в абсолютное время при скорости дивергенции *cytb* 16% за млн. лет для двух выборок с достоверным ростом (вся Азия и вся Европа, табл. 2), можно получить примерное время расселения. На азиатской территории экспансия была более ранней, ~24 тыс. лет назад, восточно-европейская часть ареала была заселена не более 12 тыс. лет назад, что соответствует концу позднего плейстоцена, началу голоцена.

В анализе Mismatch distribution распределение попарных дистанций в суммарной выборке из Восточной Европы и в крупных популяциях из Центральной Азии довольно сходно (рис. 6). Вместе с тем, форма распределения безусловно унимодальна в первом случае (т.е. в Европе не отклоняется от ожидаемого, исходя из модели внезапной экспансии), в то время как в крупных азиатских выборках (южная/центральная Монголия, Восточный Казахстан, Азия в целом) наблюдаемое распределение визуально начинает отклоняться от ожидаемого. Наименее гладкую форму распределения имеют выборки из Прибалхашья и Зайсана, хотя их индексы Rg этого не показывают. Деление европейской выборки на подвыборки с левого и правого берега Волги с целью сравнительного анализа сопоставимых по размеру и компактности популяций из Восточной Европы и Центральной Азии не изменило результата.

Анцестральный ареал. Реконструкция центра происхождения (рис. 7) показала, что, последний общий предок современных митохондриальных линий малой белозубки мог быть распространен в Средней Азии (кроме юго-запада), а также на территории Казахстана и далее на запад до северного Прикаспия. Наиболее высокая плотность распределения возможных точек происхождения обнаруживается в области от Семиречья до западного Гиссаро-Алая. Область возможного распространения предкового митотипа не включает Монголию, северный Китай, Алтай, Иран, Туркменистан и Причерноморье.

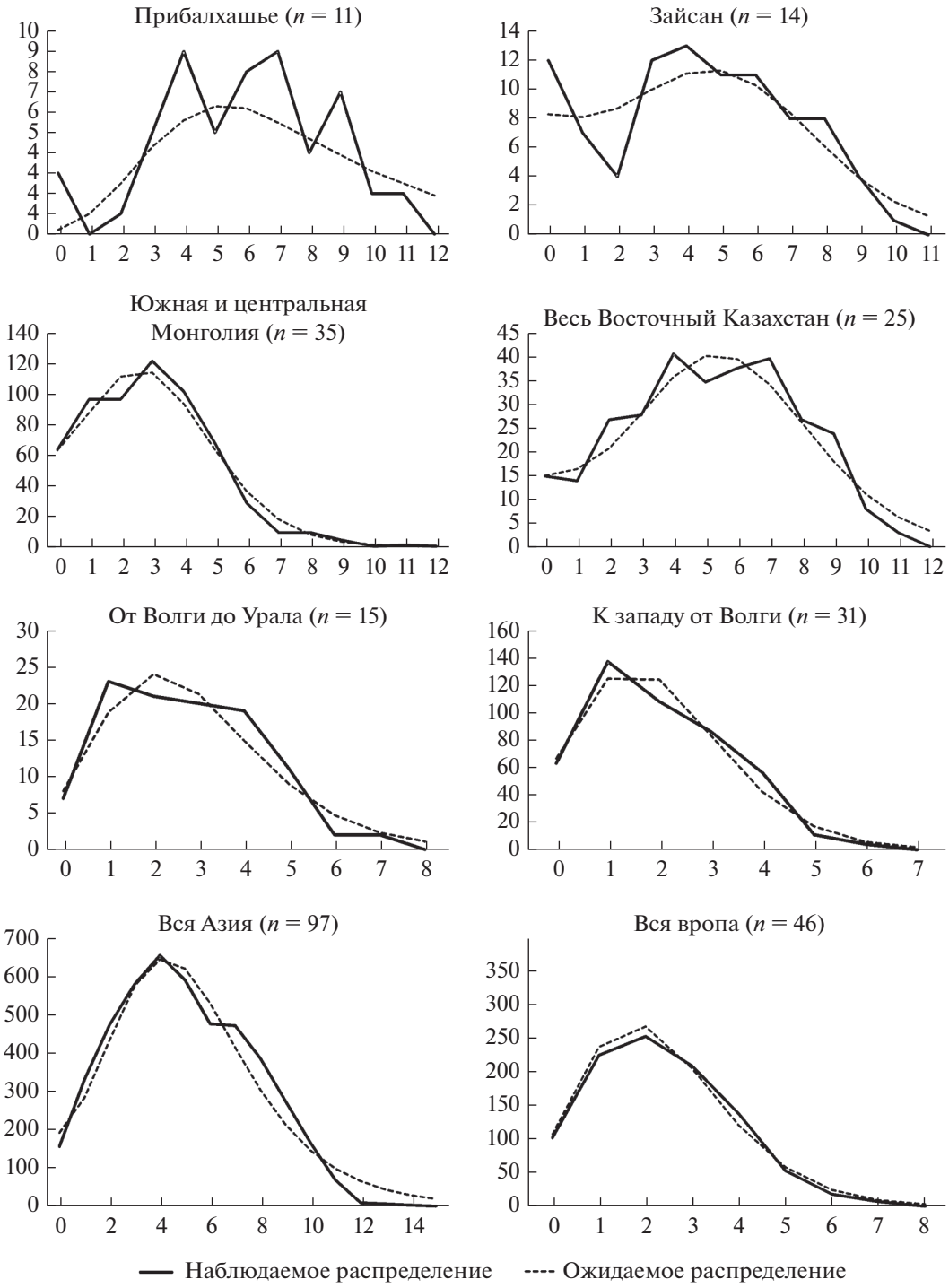

Рис. 6. Графики распределения попарных генетических дистанций Mismatch distribution в основных выборках малой белозубки. Сплошная линия – фактическое распределение, короткий штрих – распределение согласно модели внезапной экспансии. По оси абсцисс указана дистанция в числе замен, по оси ординат – частота данной дистанции.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Хронограмма и структура группировки I на филогенетической сети (возможно, первое ветвление дерева; отсутствие центрального гаплотипа, общего для б*о*льшинства образцов, значительное число замен между гаплотипами,) позволяют предположить, что эта группировка, содержащая преимущественно среднеазиатские, иранские и кашгарские гаплотипы, древнее, чем группировки II и Ш, т.е. расселение белозубок на южной части аре-

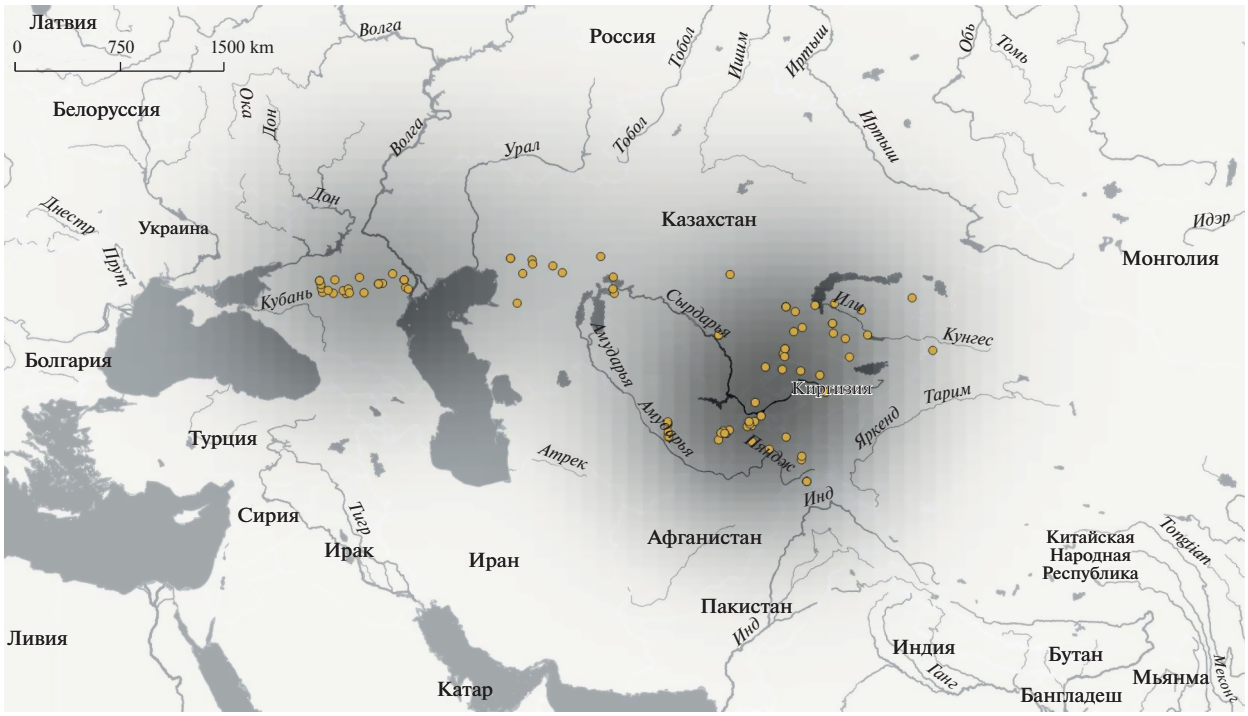

Рис. 7. Распространение предполагаемых локалитетов предкового митотипа малой белозубки. Интенсивнось фона соответствует эмпирической плотности распределения, полученной с помощью метода kde.

ала представляет собой более раннее событие по сравнению с колонизацией запада и северо-востока современного ареала. Заселение европейской части ареала произошло в наиболее недавнее время. Об этом говорят самое низкое гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие выборки из Восточной Европы, образцы из которой встречаются в единственной группе III, имеющей простую звездообразную структуру с центральным, наиболее распространенным гаплотипом. Наоборот, гаплотипы из восточного Казахстана встречаются во всех группировках гаплотипов и нуклеотидное разнообразие восточно-казахстанских популяций – одно из самых высоких, что указывает на ее потенциальную древность. Результаты поиска предковых локалитетов вида также согласуются с гипотезой средне-азиатского и/или казахстанского происхождения малой белозубки, указывают на недавнее происхождение центрально-азиатских (Монголия, Китай) популяций и еще более позднее заселение европейской части ареала в результате быстрой экспансии с территории Казахстана.

Итак, наши данные показывают, что малая белозубка очень быстро и относительно недавно колонизировала свой ареал. Видимо, вследствие этого на огромной и экологически разнообразной территории филогеографические разрывы не успели сформироваться, а разнообразие вариантов окраски и размеров отражает только морфологическую адаптацию к аридным или гумидным ландшафтам и не имеет под собой исходной генетической основы.

По характеру ареала и ландшафтно-биотопической приуроченности малая белозубка сходна с некоторыми другими палеарктическими видами мелких млекопитающих. Серый хомячок, *Cricetulus migratorius* (Pallas 1773), населяет степи, лесостепи, пустыни и полупустыни от Греции до юго-восточной Монголии включительно и от Центральной России до Белуджистана (Лебедев, 2012). Его ареал, таким образом, практически полностью включает в себя ареал малой белозубки, хотя он не заходит так далеко на север и не встречается в лесной зоне. Серый хомячок экологически пластичен и, подобно малой белозубке, в аридной зоне заселяет оазисы. У этого вида обнаружено три аллопатрических митохондриальных линии (Lebedev *et al.*, 2018) при филогеографическом разрыве по Волге между двумя широко ареальными формами (2.5% различий). Малая белозубка в отличие от хомячка, вероятно, лишь недавно освоила территории к западу от Волги. К востоку от Волги и до Монголии обитает восточная линия серого хомячка, филогеографическая структура которой напоминает таковую у малой белозубки своим звездообразным характером и низким нуклеотидным разнообразием. Как и малая белозубка, серый хомячок относительно поздно заселил Центральную Азию (Монголия) из Средней Азии и/или Ка-

захстана, время его экспансии на восточной части ареала практически совпадает с таковым у малой белозубки и оценивается в 25 тыс. лет назад (Lebedev *et al.*, 2018).

Общие черты в характере современного ареала и направления расселения можно обнаружить у *Crocidura suaveolens* s.lato с видовым комплексом домовой мыши (*Mus musculus* s.lato). В частности, ареал формы "musculus" практически совпадает с ареалом *C. suaveolens* s. str., кроме самой южной (Иран) и западной (центральная Европа) частей, и есть некоторое сходство в филогеографической структуре (Bonhomme, Searle, 2012). Так же как и в случае малой белозубки, Средняя Азия домовой мышью была заселена раньше, чем Китай, Монголия и Европа: известные из литературы датировки указывают на экспансию, близкую к плейстоцен-голоценовой границе (Suzuki *et al.*, 2013; Hardouin *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2020).

Ситуация с сибирской белозубкой пока остаётся не ясной. *C. sibirica* включает две митохондриальные линии, которые, не привязаны к определенным географическим локалитетам, не составляют монофилетической группы, т.е. (как и в прежних исследованиях) не являются видоспецифичными. Одна из этих линий (из общей группировки II) распространена преимущественно в западной части ареала (Новосибирск, Кемерово), вторая (линия из общей группировки IIIб) – преимущественно в юго-восточной части (Красноярск, Телецкое оз.).

Западная сибирская линия, по сравнению с юго-восточной, содержит больше гаплотипов, причем среди них нет общих с таковыми из ареала малой белозубки. Обособление этой линии произошло ~ 20 тыс. лет назад. Если принять эту датировку за время разделения гаплотипов собственно *C. sibirica* и *C. suaveolens* s.str., то вряд ли можно допустить видовой статус сибирской формы в связи с очень недавним временем ее обособления. Отсутствие географической структуры митохондриальной изменчивости также говорит о недавнем формировании современного ареала. В таком случае, сибирская белозубка является лишь морфотипом малой белозубки, изолированной, например, на Алтае в каком-то граничащем с лесом степном рефугиуме во время последнего ледникового максимума. Фиксация в такой популяции морфологических отличий, в том числе связанных с адаптаций к обитанию в лесной среде, может не сопровождаться общей дивергенцией и репродуктивной изоляцией от сестринской формы. Существование второй (более молодой и похожей на гаплотипы из Монголии) линии может объясняться гибридизацией с малой белозубкой во время вторичного контакта. Исходя из широкого ареала *C. suaveolens* s.str. и небольшого ареала *C. sibirica*, находящегося к тому же на самой северной оконечности ареала малой белозубки, логично предположить, что интрогрессия мтДНК происходила в направлении от малой белозубки к сибирской.

Другая гипотеза состоит в том, что *C. sibirica* – это настоящий вид, "родной" мтДНК которого в настоящее время мы не находим, поскольку она была полностью замещена мтДНК малой белозубки вследствие гибридизации в период активной колонизации современного ареала. Существование двух митохондриальных линий в этом случае может объясняться двумя событиями гибридизации с исходной формой (малая белозубка) в течение разновременных вторичных контактов. Природа противоречий генетической и морфологической изменчивости сибирской белозубки ожидает решения с помощью большого числа ядерных локусов.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (20-04-00081а).

Благодарности. Авторы благодарят Ю.Н. Литвинова, Ф.М. Голенищева, В.Г. Маликова, М.В. Касаткина, Ю.М. Ковальскую, А.В. Сурова и других коллег, принявших участие в сборе материала для генетического анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Банникова А.А., Олейниченко В.Ю., Ломов А.А., Долгов В.А. О таксономическом взаимоотношении малой и длиннохвостой белозубок, *Crocidura suaveolens* и *C. guldenstaedtii* (Insectivora, Soricidae) // Зоологический журн. 2001. Т. 80. № 6. С. 721–730.

Банникова А.А., Шефтель Б.И., Лебедев В.С., Александров Д.Ю., Мюлленберг М. Crocidura shantungensis – новый вид в фауне Монголии и Бурятии // Докл. Акад. Наук. 2009. Т. 424. № 6. С. 836–839.

Бекенов А., Бутовский П.М., Касабеков Б.В., Ланкин П.М., Стрелков П. П., Стогов И.И., Федосенко А.К., Шаймарданов Р.Т., Шубин И.Г. Млекопитающие Казахстана. т. 4. Насекомоядные и рукокрылые / Под ред. *Гвоздева Е.Б. и Страутмана Е.И.* Казахская ССР, Алма-Ата: Наука, 1985. 280 с.

Графодатский А.С. Раджабли С.И., Шаршов А.В., Зайцев М.В. Кариотипы пяти видов землероек-белозубок фауны СССР // Цитология. 1988. Т. 30. № 10. С. 1247–1250.

Зайцев М.В. Видовой состав и вопросы систематики землероек-белозубок (Mammalia, Insectivora) фауны СССР // Труды Зоологического института Академии наук СССР. 1991. Т. 243. С. 3–46.

Зайцев М.В., Войта Л.Л., Шефтель Б.И. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Насекомоядные. // Определители по фауне России. Вып. 178. СПб.: Зоологический институт РАН. 2014. 377 с.

Лавренченко Л.А., Банникова А.А., Лебедев В.С. Эндемичные землеройки-белозубки (Crocidura) Эфиопии: недавняя адаптивная радиация древней груп-

пы // Доклады Академии наук. 2009. Т. 424. № 5. С. 705–708.

Лебедев В.С. Семейство Cricetidae // Млекопитающие России: систематико-географический справочник. Сборник Трудов Зоологического Музея МГУ. Ред. *Павлинов И.Я., Лисовский А.А.* 2012. Т. 52. С. 211–220.

Темботова Ф.А. Закономерности изменчивости и эволюции насекомоядных млекопитающих Кавказа. Дис. ... док. био. наук. Нальчик: КБНЦ РАН, 1999. 315 с.

Bandelt H.J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. № 1. P. 37–48.

Bannikova A.A., Lebedev V.S., Kramerov D.A., Zaitsev M.V. Phylogeny and systematics of the Crocidura suaveolens species group: corroboration and controversy between nuclear and mitochondrial DNA markers // Mammalia. 2006. V. 70. № 1–2. P. 106–119.

Bannikova A.A., Abramov A.V., Borisenko, A.V., Lebedev V.S., Rozhnov V.V. Mitochondrial diversity of the white-toothed shrews (Mammalia, Eulipotyphla, Crocidura) in Vietnam // Zootaxa. 2011. Т. 2812. № 1. С. 1–20.

Bonhomme F., Searle J.B. House mouse phylogeography // Evolution of the house mouse (Cambridge series in morphology and molecules) / Eds. *Machola'n M., Baird S.J.E., Munclinger P., Pia'lek J.* UK, Cambridge: Cambridge University Press. 2012. P. 278–296.

Burgin C., He K., Haslauer R., Sheftel B.I., Jenkins P.D., Ruedi M., Hintsche S., Motokawa M., Hinckley A., Hutterer R. Species accounts of Soricidae // Handbook of the mammals of the world. Vol. 8. Insectivores, sloths and colugos / Eds. *Wilson, D.E., Mittermeier R.A.* Spain, Barcelona: Lynx Edicions. 2018. P. 332–551.

Catalano S.A., Goloboff P.A., Giannini N.P. Phylogenetic morphometrics (I): the use of landmark data in a phylogenetic framework // Cladistics. 2010. V. 26. P. 539–549.

Catzeflis F., Maddalena T., Hellwing S., Vogel P. Unexpected findings on the taxonomic status of East Mediterranean Crocidura russula auct. (Mammalia, Insectivora) // Zeitschrift für Säugetierkunde. 1985. V. 50. № 4. P. 185–201.

Chen S., Qing J., Liu Z., Liu Y., Tang M., Murphy R.W., Pu Y., Wang X., Tang K., Guo K., Jiang X. Multilocus phylogeny and cryptic diversity of white-toothed shrews (Mammalia, Eulipotyphla, Crocidura) in China // BMC evolutionary biology. 2020. V. 20. № 1. P. 1–4.

Drummond A.J., Rambaut A. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees // BMC Evol. Biol. 2007. V. 7. P. 214.

Drummond A.J., Rambaut A., Shapiro B., Pybus O.G. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences // Molecular Biology and Evolution. 2005. V. 5. P. 1185–1192.

Dubey S., Cosson J.-F., Magnanou E., Vohralik V., Benda P., Frynta D., Hutterer R., Vogel V., Vogel P. Mediterranean populations of the lesser white-toothed shrew (Crocidura suaveolens group): an unexpected puzzle of Pleistocene survivors and prehistoric introductions // Mol. Ecology. 2007a. V. 16. № 16. P. 3438–3452.

Dubey S., Nová P., Vogel P., Vohralík V. Cytogenetic and molecular relationships between Zarudny's rock shrew (Crocidura zarudnyi; Mammalia: Soricomorpha) and Eurasian taxa // J. Mammalogy. 2007b. V. 88. № 3. P. 706–711.

Dubey S., Zaitsev M., Cosson J.-F., Abdukadier A., Vogel P. Pliocene and Pleistocene diversification and multiple refugia in a Eurasian shrew (*Crocidura suaveolens* group) // Mol. Phylogen. Evolution. 2006. V. 38. № 3. P. 635–647.

Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis // Evolutionary bioinformatics. 2005. V. 1. P. 47–50.

Fu Y. New statistical tests of neutrality for DNA samples from a population // Genetics. 1996. V. 143. № 1. P. 557–570.

Goloboff P.A, Catalano S.A. TNT version 1.5, including a full implementation of phylogenetic morphometrics // Cladistics. 2016. V. 32. № 3. P. 221–238.

Hardouin E.A., Orth A., Teschke M., Darvish J., Tautz D., Bonhomme F. Eurasian house mouse (*Mus musculus* L.) differentiation at microsatellite loci identifies the Iranian plateau as a phylogeographic hotspot // BMC Evolutionary Biology. 2015. V. 15. № 26.

Ho S.Y.W., Phillips M.J., Cooper A., Drummond A.J. Time dependency of molecular rate estimates and systematic overestimation of recent divergence times // Mol. Biol. Evol. 2005. V. 22. P. 1561–1568.

Hoang D.T., Chernomor O., von Haeseler A., Minh B.Q., Vinh L.S. UFBoot2: Improving the ultrafast bootstrap approximation // Mol. Biol. Evol. 2017. V. 35. № 2. P. 518–522.

Hoffmann R.S. Noteworthy shrews and voles from the Xizang-Qinghai Plateau // Contribution in Mammalogy: A Memorial Volume Honoring Dr. J. Knox Jones, Jr. 1996. P. 155–168.

Hutterer R. Order Insectivora // Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference / Eds. *Wilson D.E., Reeder D.M.* Washington, DC: Smithsonian Institution Press. 1993. P. 69–130.

Jiang X., Hoffmann R.S. A revision of the white-toothed shrews (Crocidura) of southern China // J. Mammalogy. 2001. V. 82. № 4. P. 1059–1079.

Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // Mol. Biol. Evol. 2018. V. 35. № 6. P. 1547–1549.

Li Y., Fujiwara K., Osada N., Kawai Y., Takada T., Kryukov A.P., Abe K., Yonekawa H., Shiroishi T., Moriwa K., Saitou N. House mouse *Mus musculus* dispersal in East Eurasia inferred from 98 newly determined complete mitochondrial genome sequences // Heredity. 2020. P. 1–16.

Lebedev V., Poplavskaya N., Bannikova A., Ryurikov G., Surov A. Genetic differentiation in Cricetulus migratorius Pallas, 1773 (Rodentia, Cricetidae) // Mammalian Biology. 2018. V. 92. № 1. P. 115–119.

Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies // Mol. Biol. Evol. 2015. V. 32. № 1. P. 268–274.

Ohdachi S.D., Iwasa M.A., Nesterenko V.A., Abe H., Masuda R., Haberl W. Molecular phylogenetics of *Crocidura shrews* (Insectivora) in east and central Asia // J. Mammalogy. 2004. V. 85. № 3. P. 396–403.

Raspopova A.A., Bannikova A.A., Sheftel B.I., Kryštufek B., Kouptsov A.V., Illarionova N.A., Pavlova S.V., Lebedev V.S. A never-ending story of the common shrew: searching for the origin // Mammal Research. 2020. V. 65. P. 729–742.

Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1989. 1546 p.

Sheftel B.I., Bannikova A.A., Fang Y., Demidova T.B., Alexandrov D.Y., Lebedev V.S., Sun Y.H. Notes on the fauna, systematics, and ecology of small mammals in Southern Gansu, China // Biology Bulletin. 2018. V. 45. № 8. P. 898–912.

Suzuki H., Nunome M., Kinoshita G., Aplin K.P., Vogel P., Kryukov A.P., Jin M.-L., Han S.-H., Maryanto I., Tsuchiya K., Ikeda H., Shiroishi T., Yonekawa H., Moriwaki K. Evolutionary and dispersal history of Eurasian house mice *Mus musculus* clarified by more extensive geographic sampling of mitochondrial DNA // Heredity. 2013. V. 111. P. 375–390.

Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism // Genetics. 1989. V. 123. № 3. P. 585–595.

Vogel P., Cosson J.F., Jurado L.F.L. Taxonomic status and origin of the shrews (Soricidae) from the Canary Islands inferred from a mtDNA comparison with the European Crocidura species // Mol. Phylogenetics Evol. 2003. V. 27. № 2. P. 271–282.

Vogel P., Maddalena T., Catzeflis F. A contribution to the taxonomy and ecology of shrews (*Crocidura zimmermanni* and *C. suaveolens*) from Crete and Turkey // Acta Theriologica. 1986. V. 31. № 39. P. 537–545.

Phylogeography of the white-Toothed Shrews *Crocidura suaveolens* and *Crocidura sibirica*: Searching for Geographical Homeland

V. A. Gritsyshin[1, #], I. V. Artyushin[1], V. O. Burskaya[2], B. I. Sheftel[3], V. S. Lebedev[4], and A. A. Bannikova[1, ##]

[1] *Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia*

[2] *Institute for Information Transmission Problems (Kharkevich Institute) RAS, Bolshoi Karetny lane., 19, Moscow, 127051 Russia*

[3] *Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr., 33, Moscow, 119071 Russia*

[4] *Zoological Museum, Moscow State University, ul. B. Nikitskaya, 2, Moscow, 125009 Russia*

[#] *e-mail: vladimir.sokol.gritsyshin@gmail.com*

[##] *e-mail: hylomys@mail.ru*

The polymorphism of the *cytb* gene was studied in two forms of the species complex "Lesser White-toothed Shrew": *Crocidura suaveolens* s. stricto and *C. sibirica*. The haplotypes of *C. sibirica* are very close to those of *Crocidura suaveolens* and do not form an independent haplogroup. The molecular diversity of the populations the Asian part of the range is higher than in Eastern Europe. For the joined samples from Asia and Europe, a significant increase in the effective population size was revealed. Analysis of the time of expansion showed that the Asian territory was colonized earlier (before the last glacial maximum) than the Eastern Europe (at the very end of the Late Pleistocene – early Holocene). The results of the ancestral area reconstruction are consistent with the hypothesis of a Middle Asian origin of the C. *suaveolens*/*C. sibirica* group, recent colonization of Central Asia and further penetration into Eastern Europe.

Keywords: Crocidura suaveolens, *Crocidura sibirica*, mitochondrial phylogeography, ancestral area

EDN: LSUOVD
ИЗВЕСТИЯ РАН. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ, 2022, № 3, с. 272–278

БОТАНИКА

УДК 576.3.581.4.582.475.4.

КАЧЕСТВО И АНОМАЛИИ ПЫЛЬЦЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ НА ЦЕНТРАЛЬНОМ КАВКАЗЕ

© 2022 г. М. З. Моллаева*, @, Ф. А. Темботова*

**Институт экологии горных территорий им. А.К. Темботова РАН, Нальчик, 360051 Россия*
@E-mail: monika.011@yandex.ru

Поступила в редакцию 07.10.2020 г.
После доработки 28.02.2021 г.
Принята к публикации 28.02.2021 г.

В настоящей работе впервые для Центрального Кавказа описаны такие качественные показатели как жизнеспособность и аномалии пыльцевых зерен сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). В результате гистологического анализа морфологических нарушений структуры пыльцы на исследуемой территории выделены шесть морфотипов. Частота встречаемости аномальных пыльцевых зерен на изученных площадках варьировала незначительно и составила менее 10%, за исключением выборки Эльбрус (17%). Выявлена корреляция аномальных изменений пыльцы сосны с высотой ее мест произрастания. В исследованных естественных насаждениях сосны обыкновенной отмечено потенциально высокое качество пыльцы, связь качественных показателей пыльцы сосны обыкновенной с высотным градиентом практически не выявлено ($r = 0.11$ при $p = 0.005$).

Ключевые слова: P. sylvestris L., пыльца, аномалии, содержание крахмала, разновысотные популяции, жизнеспособность, стерильность

DOI: 10.31857/S102634702203012X

Одной из основных лесообразующих пород Центрального Кавказа (ЦК) является *Pinus sylvestris* var. *hamata* Steven. (Петрова и др., 2017). Массивы сосновых лесов Кабардино-Балкарии расположены в ущельях рек Баксан, Чегем, Черек, фрагментарно представлены в ущелье реки Малка, произрастают в пределах высот от 1100–2800 м над ур. м. (Нечаев, 1960; Темботова и др., 2012), отдельные деревья встречаются на высоте 3000 м над ур. м. (Саблирова и др., 2015).

Генеративные органы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) очень чувствительны к любым изменениям окружающей среды. Морфологические нарушения структуры и жизнеспособность пыльцы сосны обыкновенной согласно данным литературы обусловлены климатическими условиями мест произрастания (Тихонова, 2005; Носкова и др., 2009; Черепанова, Мищихина, 2012), и загрязнением атмосферы (Калашник, 2012; Василевская, Петрова, 2014; Махнева, 2017; Benca *et al.* 2018).

В норме пыльца *Pinus sylvestris* имеет эллипсовидную форму с двумя симметрично расположенными воздушными мешками (Моносзон-Смолина, 1949). Изучению и описанию морфологических изменений пыльцы сосны обыкновенной посвящен ряд исследований, в результате которых авторы выделили различные морфологические типы пыльцевых зерен. Естественный полиморфизм пыльцевых зерен вида представлен большим количеством морфотипов (Василевская, Петрова, 2014). На основе анализа формы клеток, способов прикрепления, размерам воздушных мешков тератоморфной пыльцы предложено 8 морфотипов (Мельникова, 2004), Дзюба (2007) объединила их в семь. С учетом отклонений в развитии экзины и наличию опухолевых новообразований выделено четыре типа (Тупицын и др., 2012).

Формирование качественной пыльцы является главным фактором, обеспечивающим нормальное оплодотворение и дальнейшее развитие семян растений, что особенно важно для голосеменных, характеризующихся длительностью фенологических репродуктивных циклов. Известно, что содержание питательных веществ (крахмала и жиров) в пыльце тесно коррелирует с ее жизнеспособностью (Третьякова, 1990, Зуева, Махнева, 1993). У голосеменных растений хорошо выражен крахмальный тип пыльцы, в связи с чем фертильность пыльцевых зерен возможно определить при помощи йодной реакции: фертильные окрашиваются полностью или частично, стерильные – не окрашиваются. (Поддубная–Арнольди, 1976; Pollen management..., 1981). Палинологический метод, учитывающий соотношение нормальных и аномальных, фертильных и стерильных пыльцевых

Рис. 1. Схема расположения разновысотных выборок *Pinus sylvestris* L.

зерен, является одним из основных инструментов биомониторинга окружающей среды.

Несмотря, на большое количество работ по изучению морфологических изменений пыльцевых зерен сосны обыкновенной, связь высоты мест произрастания с морфологическими аномальными изменениями ее пыльцы в горных условиях Кавказа ранее не рассматривалась. Однако имеются фрагментарные сведения о наличии аномалий и снижения фертильности пыльцы других хвойных видов в высокогорных условиях Южного Урала (Калашник, 2009), и Алтая (Земляной, 1971; Велисевич, 2017). В связи с выше изложенным, целью работы является сравнительный анализ фертильности и аномальных изменений пыльцевых зерен в природных горных популяциях *Pinus sylvestris* L., произрастающих на Центральном Кавказе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на Центральном Кавказе в пределах Кабардино-Балкарской республики. Объектами исследований послужили природные популяции сосны обыкновенной, произрастающих в бассейне р. Баксан, где расположен основной массив естественных сосновых насаждений. Разновысотные выборки (8) заложены как вдоль ущелья, так и по боковым его отрогам в пределах высот 1500–2500 м над ур. моря – Верхний Баксан (1500 м), Эльбрус (1800 м), Юсеньги (1800 м), Сылтран (1900 м), Адыр-Су (2350 м), Джантуган (2350 м), Чегет (2400 м), Терскол (2500 м) (рис. 1).

Сбор материала (10–15 микростробил с каждого дерева, (36–50 деревьев) проводили в период массового вылета пыльцы. Собранный материал (микростробилы) фиксировали в спиртово-уксусном растворе (фиксатор Кларка). Микропрепараты изучали в проходящем свете под микроскопом Axio Imager A2 (“Carl Zeiss”, Германия) с использованием системы формирования изображений AxioVision.

В лабораторных условиях оценивали морфологические изменения пыльцы (форму, количество воздушных мешков) с использованием стандартных методик (Моносзон–Смолина, 1949). Общее число изученных пыльцевых зерен сосны на исследуемой территории составило 13965 шт.

Содержание крахмала оценивали по интенсивности окрашивания и занимаемому объему внутреннего пространства пыльцевого зерна – жизнеспособной считалась пыльца, тело которой заполнено крахмалом полностью, на 1/3 либо 2/3 объема и более, стерильной – пустые клетки (Третьякова, 1990; Ямбуров; 2008; Пименов и др., 2011).

Рис. 2. Пыльцевые зерна (1) сосны обыкновенной и типы их аномалий, выявленные на Центральном Кавказе: 2 и 2а – “воротничковая”; 3 – клетка с 3 воздушными мешками; 4 – клетка с редукцией тела; 5 – клетка с разномерными воздушными мешками; 6 – клетка с одним воздушным мешком; 7 – клетка с “гигантским” телом. Увеличение: объектив 40×, окуляр 10×.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На первом этапе исследований определяли аномалии пыльцы (морфотипы) и частоту встречаемости различных морфотипов пыльцы сосны. Ранее на примере 4-х выборок сосны (Моллаева, 2017) было выявлено несколько типов аномалий. Увеличение числа выборок и их изолированное расположение позволило нам выявить новые аномалии и характер распространения аномальных клеток с высотой мест произрастания.

Морфологический анализ пыльцы сосны обыкновенной на исследуемой территории выявил целый спектр аномальных изменений пыльцевых зерен (рис. 2).

Было отмечено 6 типов аномалий пыльцы: зерна, характеризующиеся наличием аномального числа воздушных мешков, – одним либо тремя мешками, клетка с разномерными воздушными мешками, (1 воздушный мешок в 2 раза больше 2-го), недоразвитыми воздушными мешками (“воротничковая форма”), пыльцевые зерна с редуцированным телом; “гигантские” пыльцевые зерна.

Частота встречаемости аномальных пыльцевых зерен в разновысотных выборках сосны Баксанского ущелья варьирует от 7–10 до 17% от общего числа изученных пыльцевых зерен (табл. 1). Высокая встречаемость аномальных пыльцевых зерен наблюдается в окр. с Эльбрус (17%), минимальная, почти в три раза меньше в Адыр-Су (6.5%). Наиболее распространённой аномалией пыльцы деревьев сосны на исследуемой территории является редукция тела (табл. 1), встречаемость которой в большинстве выборок составляет 50% от общего числа аномальных пыльцевых зерен, за исключением выборки Джантуган – 14.74% (табл. 1).

Т. н. “воротничковая форма” пыльцы или редукция воздушных мешков занимает вторую позицию по частоте встречаемости среди остальных морфотипов пыльцевых зерен, варьирует в пределах от 10% (Терскол, 2500 м) до 53% (Джантуган, 2350 м). Аномальные клетки с одним воздушным мешком встречаются также во всех выборках и составляют ~30% от общего числа здоровых клеток. Следует отметить, что редкая 3-х мешковая пыльца встречена только в двух выборках – Джантуган (1.8%) и В. Баксан (3.45%). Т. н. “гигантские” пыльцевые зерна обнаружены в высокогорных выборках Адыр-Су, Джантуган, Чегет и Терскол, процент встречаемости их также невелик, однако наблюдается увеличение числа этих клеток с продвижением в горы. Самой редкой аномалией пыльцы на исследуемой территории является разноразмерность воздушных мешков, встречается только в Адыр-Су и составляет лишь 1.28% (табл. 1)

Различия процентного соотношения аномалий пыльцы между исследуемыми выборками достоверные и близкие к достоверным (при $p = 0.05$). С целью изучения влияния высоты места произрастания деревьев, как комплекса факторов среды, на качество и аномальную изменчивость пыльцы, исследуемые выборки были сгруппированы в следующие высотные уровни: 1500 м (В. Баксан); 1800–2000 м (Эльбрус, Юсеньги, Сылтран); 2100–2400 м (Адыр-Су, Джантуган, Чегет); 2500 м (Терскол).

Таблица 1. Встречаемость различных типов аномалий пыльцы *Pinus sylvestris* L. на Центральном Кавказе (бассейн р. Баксан)

Типы аномалий	Разновысотные выборки, %							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Редуцированное тело	48.69	33.60	39.30	41.82	25.0	14.74	39.35	52.08
Воротничковая форма	18.25	36.09	29.30	26.92	41.60	53.84	27.02	10.41
3 воздушных мешка	3.45	–	–	–	–	1.80	–	–
1 воздушный мешок	29.6	30.29	31.40	31.25	30.0	25.0	28.76	22.91
Разномерные воздушные мешки	–	–	–	–	1.28	–	–	–
“Гигантское тело”	–	–	–	–	2.08	5.12	6.84	14.69

Примечание. 1 – В. Баксан, 2 – Эльбрус, 3 – Юсеньги, 4 – Сылтран, 5 – Адыр-Су, 6 – Джантуган, 7 – Чегет, 8 –Терскол.

Корреляционный анализ показал зависимость таких аномалий как “гигантское тело” (r = 0.76 при p = 0.05) и пыльцы с одним воздушным мешком (r = 0.72 при p = 0.05) с высотным градиентом в условиях северного макросклона Центрального Кавказа (Баксанское ущелье). Частота встречаемости аномальной пыльцы с тремя воздушными мешками с увеличением высоты мест произрастания, наоборот снижается (r = 0.65 при p = 0.05). Такие морфотипы пыльцы как “редуцированное тело” (r = –0.16 при p = 0.05), “воротничковая форма” (r = 0.04 при p = 0.05) и разноразмерность воздушных мешков пыльцевого зерна (r = 0.22 при p = 0.05) слабо коррелируют с высотой.

На втором этапе исследования определяли качество пыльцы по содержанию крахмала в ней. Гистохимический анализ пыльцевых зерен сосны обыкновенной, с помощью которого определяли их фертильность, показал следующие результаты (рис. 3).

Как видно из рис. 3, на исследуемой территории в большинстве разновысотных выборках сосны преобладает жизнеспособная (полностью окрашенная) пыльца. Максимальный процент жизнеспособных пыльцевых зерен был установлен в выборке Адыр-Су (31%), минимальный – в выборках, расположенных на высоте 1800 м (Юсеньги и Эльбрус) 13%.

Также отдельно вели подсчет пыльцы, заполненной крахмалом от 1/3 до 2/3 объема клетки (слабо окрашенные), считая их условно фертильными. По процентному соотношению слабоокрашенных пыльцевых зерен лидирует выборка Верхний Баксан, где отмечалось небольшое количество фертильных. Почти во всех выборках процентное соотношение условно жизнеспособных пыльцевых зерен составляет 20% и более, за исключением выборки Эльбрус, где значение достигает 15%. По числу стерильных (неокрашенных) клеток “лидирующие позиции” занимают выборки Эльбрус и Юсеньги, где 1/3 зерен являются пустыми по окраске от общего числа изученных клеток. Наименьшее количество стерильных зерен встречается в выборках Сылтран (7.4%) и Адыр-Су 9.3%, тогда как в остальных выборках (В. Баксан, Джантуган, Чегет, Терскол) их число составляет 10–15%. Высокая встречаемость аномальных пыльцевых зерен наблюдается в окрестностях поселка Эльбрус (17%), что в 2 раза больше чем у большинства выборок и почти в три раза меньше чем в Адыр-Су (6.5%). Достоверные различия (при p = 0.05) по процентному соотношению фертильных зерен выявлены в Эльбрус, Юсеньги и Терскол при сравнении с другими выборками, по наличию слабоокрашенных клеток – от всех и друг от друга Баксан, Эльбрус и Юсеньги, по числу стерильных от всех отличаются Эльбрус и Юсеньги, по числу аномальных клеток отличны Эльбрус и Адыр-Су. Однако, несмотря на выявленные различия между разновысотными выборками сосны обыкновенной, содержание крахмала в пыльце с высотой местности не коррелирует (r = = 0.11 при p = 0.05). Слабая корреляция выявлена по числу аномальных клеток (r = 0.20 при p = 0.05).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изменчивость морфотипов пыльцевых зерен *P. sylvestris*. В разновысотных природных популяциях сосны обыкновенной Центрального Кавказа были выявлены 6 типов аномалий, что в 2 раза больше, чем известно из данных литературы. Так, Калашник (2009) для естественных насаждений сосны обыкновенной, лиственницы Сукачева, ели сибирской, пихты сибирской, произрастающих в условиях гор Южного Урала, выявлены следующие три типа аномалий пыльцы: зерна с 4-мя воздушными мешками, с одним воздушным мешком и без воздушных мешков.

Выявленные нами шесть морфотипов пыльцевых зерен для *Pinus sylvestris* в условиях Баксанского ущелья, отмечены ранее рядом исследователей (Пименов и др., 2011; Калашник, 2012; Тупицын и др., 2012; Василевская, Петрова, 2014; Велисевич, 2017; Махнева, 2017) для сосны, произрастающей в неблагоприятных условиях среды (атмо-

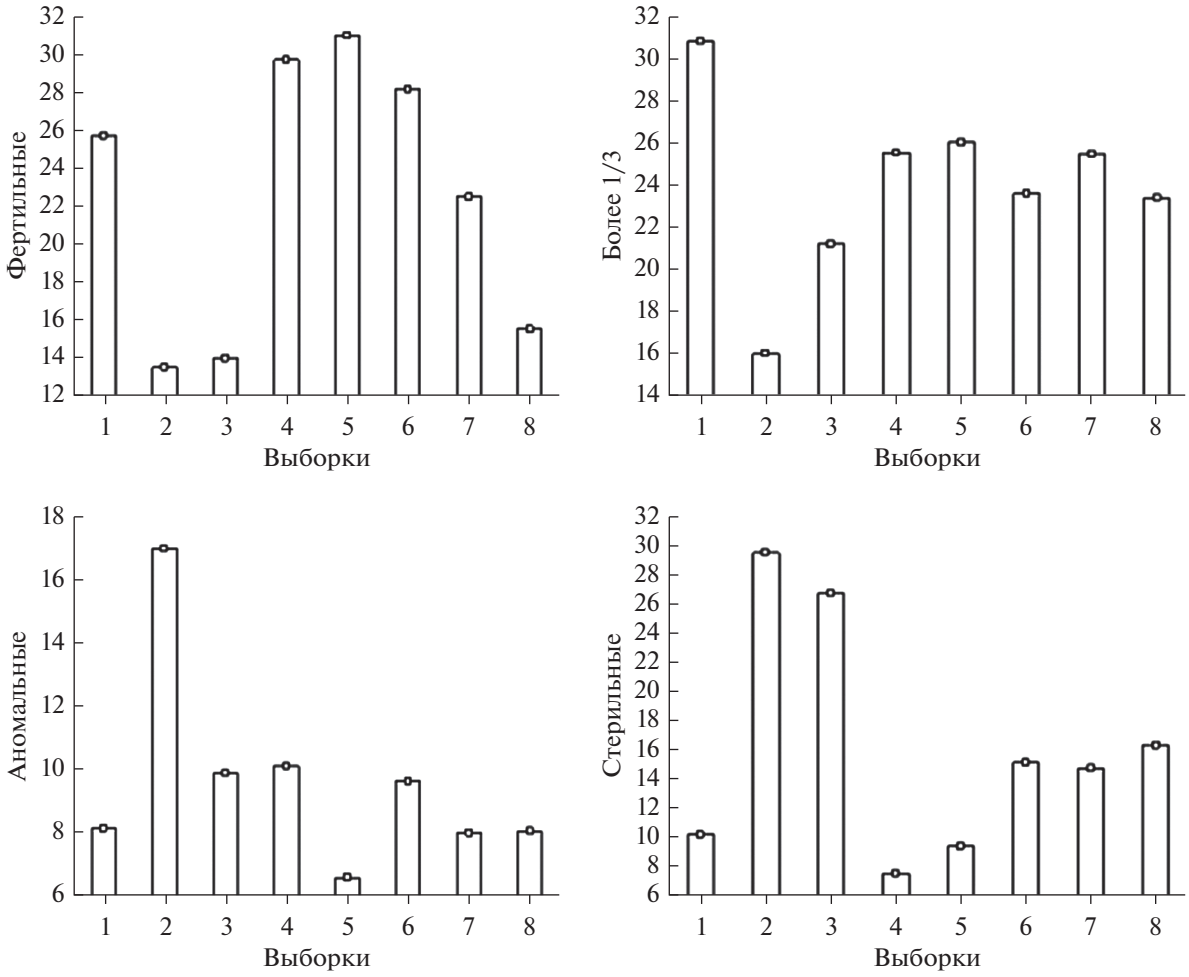

Рис. 3. Качественные характеристики пыльцевых зерен *Pinus sylvestris* L. на исследуемой территории.

сферного загрязнения, заболачивания территории, в условиях сухой степи и т.д.).

Между числом аномалий пыльцы *P. sylvestris* и высотой над уровнем моря в условиях северного макросклона ЦК выявлена положительная корреляция. Это позволяет заключить, что условия среднегорий Центрального Кавказа являются экстремальными для сосны обыкновенной.

Воздушные мешки пыльцевых зерен ветроопыляемых хвойных видов, в частности, сосны обыкновенной, выполняют важную аэродинамическую функцию – перенос пыльцы на большие расстояния (Мамаев, 1965; Некрасова, 1983), чем, вероятно, можно объяснить наблюдаемое на большей высоте (выборки Джантуган и В. Баксан) увеличение числа воздушных мешков пыльцы, что способствует улучшению ее летательной способности (“парусности”), как ответной реакции растения на условия произрастания.

Наличие в высокогорных выборках (Адыр-Су, Джантуган, Чегет и Терскол) “гигантского тела” пыльцевого зерна, вероятно, обусловлено адаптацией сосны к экстремальным условиям, необходимостью увеличения объема питательных веществ клетки. Аналогичную аномалию наблюдали у сосны обыкновенной в условиях загрязнения г. Мончегорска (Василевская, Петрова, 2014) и г. Красноярска (Третьякова, Носкова, 2004), а также у *Pinus sibirica* в аридных условиях Алтая (Велисевич, 2017).

Изменчивость качества пыльцевых зерен *Pinus sylvestris*. Гистохимический анализ в исследуемых выборках сосны обыкновенной Центрального Кавказа, произрастающей в условиях Баксанского ущелья, показал высокую жизнеспособность пыльцы для горных популяций, что не согласуется с данными литературы. Так, например, для горных популяций у ряда видов древесных растений, в частности хвойных, наблюдается снижение жизнеспособности их пыльцы по сравнению с равнинными популяциями (Земляной, 1971; Николаева, 1974; Калашник, 2009; Куликова, 2015; Велисевич, 2017), чего нельзя сказать о фертильности пыльцы сосны в условиях гор ЦК. Корреляция фертильности пыльцевых зерен *P. sylvestris* в градиенте

высоты местности на исследуемой территории не выявлена ($r = 0.11$ при $p = 0.05$).

Таким образом, по результатам исследования пыльцы *Pinus sylvestris* L. на Центральном Кавказе (на примере Баксанского ущелья) выделено шесть морфотипов аномалий: 1 – редукция тела; 2 – воротничковый, или редукция воздушных мешков; 3 – один воздушный мешок; 4 – три воздушных мешка; 5 – разноразмерность воздушных мешков; 6 – "гигантское тело".

Впервые для горных популяций сосны обыкновенной выявлена средняя положительная корреляция аномалий пыльцы с высотой мест произрастания в условиях северного макросклона Центрального Кавказа (Баксанское ущелье). Наиболее тесно связаны с высотой такие аномалии как "гигантское тело" и пыльцевые зерна с одним воздушным мешком, пыльцевые зерна с тремя воздушными мешками. Наличие "гигантского тела" пыльцевого зерна вероятно обусловлено адаптацией сосны к экстремальным высокогорным условиям как необходимостью увеличения объема питательных веществ клетки. Однако необходимы дальнейшие исследования, как на территории Центрального Кавказа, так и в других регионах Кавказа для выявления наличия общей закономерности аномалий пыльцы в горах с высотой мест произрастания.

В целом, процент аномальных клеток пыльцевых зерен на изученных площадках варьировал незначительно и составил менее 10%, за исключением выборки Эльбрус (17%).

В исследованных нами естественных насаждениях сосны обыкновенной выявлено потенциально высокое качество пыльцы: во всех выборках процент фертильной пыльцы и пыльцы содержащей крахмал до 2/3 объема клетки составляет 30%, т.е. ~60% изученных пыльцевых зерен можно считать жизнеспособными. Корреляции качественных показателей пыльцы сосны обыкновенной с высотным градиентом практически не выявлено.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Василевская Н.В., Петрова Н.В. Морфологическая изменчивость пыльцы *Pinus sylvestris* L в условиях промышленного города (на примере Мончегорска) // Ученые записки Петрозаводского гос. ун-та. 2014. № 4. С. 7–12.

Велисевич С.Н. Качество пыльцы высокогорных популяций *Pinus sibirica* Du Tour (Pinaceae) в аридных и гумидных районах Алтая // Журн. Сибир. ун-та. Биология. 2017. № 10(3). С. 301–311.

Дзюба О.Ф. Тетроморфные пыльцевые зерна в современных и палеопалинологических спектрах и некоторые проблемы палиностратиграфии // Нефтегазовая геология: теория и практика. 2007. № 2. С. 1–22.

Земляной А.И. Особенности микроспорогенеза у кедра сибирского на Алтае. Известия СО АН СССР. Сер. Биол. наук, 1971. № 15(3). С. 51–58

Зуева Г.В., Махнева С.Г. Фертильность пыльцы сосны обыкновенной. //Леса Урала и хозяйство в них. Екатеринбург. УИЛТИ, 1993. Вып. 16. С. 225–237

Калашник Н.А. Характеристика естественных насаждений хвойных видов Южного Урала по цитогенетическим показателям // Вестник ОГУ. 2009. № 6. С. 157–160.

Калашник Н.А. Аномалии пыльцы у сосны обыкновенной в различных экологических условиях // Бюл. Бот. сада Саратовского гос. ун-та. 2012. № 10. С. 46–52.

Куликова А.И., Боярских И.Г. Состояние пыльцы *Lonicera caerulea* в локальной зоне геолого-геофизической неоднородности горного Алтая // Сиб. экологический журн. 2015. № 4. С. 608–616.

Мамаев С.А. Морфологическая изменчивость пыльцы *Pinus sylvestris,* произрастающей на Урале. Ботанический журн. 1965. № 50(5). 680–685.

Махнева С.Г. Показатели пыльцы сосны обыкновенной в биомониторинге техногенного загрязнения среды (на примере двух промышленных центров Урала) // "Биологические системы: устойчивость, принципы и механизмы функционирования": сборник статей V Всероссийской научно-практической конференции. Нижний Тагил. 2017. С. 230–237.

Мельникова Т.А. Аномальная пыльца рода Pinus как индикатор палеоклиматических флуктуаций в голоцене // Вестник ДВО РАН. 2004. № 3. С. 178–182.

Моллаева М.З. Морфологические изменения пыльцы сосны обыкновенной на Центральном Кавказе. Современные проблемы экспериментальной ботаники. Материалы I Международной конференции молодых ученых. Минск. 2017. С. 192–195.

Моносзон–Смолина М.Х. К вопросу о морфологии пыльцы некоторых видов рода Pinus // Ботанический журн. 1949. № 4. С. 352–380.

Некрасова Т.П. Пыльца и пыльцевой режим хвойных Сибири. Новосибирск. 1983. 169 с.

Нечаев Ю.А. Лесные богатства Кабардино-Балкарии. Нальчик. 1960 Новосибирск. 1983. 169 с.

Носкова Н.Е., Третьякова И.Н., Муратова Е.Н. Микроспорогенез и формирование пыльцы у сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в условиях современного климата Сибири // Известия РАН. Серия биологическая. 2009. № 3. С. 379–384.

Петрова И.В., Санников С.Н., Темботова Ф.А., Санникова Н.С., Фарзалиев В.С., Моллаева М.З., Егоров Е.В. Геногеография популяций *Pinus sylvestris* L. Большого Кавказа и Крыма // Экология. 2017. № 6. С. 431–439

Пименов А.В., Сидельникова Т.С., Ефремов С.П. Морфология и качество пыльцы желто- и краснопыльниковой форм *Pinus sylvestris* L. в болотных и суходольных условиях произрастания (Томская область) // Ботанический журн. 2011. Т. 96. № 3 С. 367–375.

Поддубная–Арнольди В.А. Цитоэмбриология покрытосеменнных растений. М.: Наука, 1976. 507 с.

Саблирова Ю.М., Темботова Ф.А., Пшегусов Р.Х. Типологическое разнообразие, состояние и распространение сосновых лесов Баксанского ущелья (Центральный Кавказ) // Известия Самарского НЦ РАН. 2015. Т. 17. № 4-2. С. 389–394.

Темботова Ф.А., Пшегусов Р.Х., Тлупова Ю.М. Леса северного макросклона Центрального Кавказа (эльбрусский и терский варианты поясности // В кн.: Разнообразие и динамика лесных экосистем России. М.: КМК, 2012. Т. 1. С. 249–259.

Тихонова И.В. Морфологические признаки пыльцы в связи с состоянием деревьев сосны в сухой степи // Лесоведение. 2005. № 1. С. 63–69.

Третьякова И.Н. Эмбриология хвойных: физиологические аспекты. Новосибирск. 1990. 157 с.

Третьякова И.Н., Носкова Н.Е. Пыльца сосны обыкновенной в условиях экологического стресса // Экология. 2004. № 1. С. 26–33.

Тупицын С.С. Рябогина Н.Е., Тупицына Л.С. Уровень тератогенеза как показатель состояния биообъекта в разных экологических условиях. // Известия Самарского НЦ РАН. 2012. Т. 14. № 1-(3). С. 822–828.

Черепанова О.Е., Мищихина Ю.Д. Влияние факторов среды (температуры и влажности воздуха) на качество пыльцы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) // Аграрный вестник Урала. 2012. № 7. С. 72–73.

Ямбуров М.С. Структура мужских побегов и качество пыльцы "ведьминой метлы" сосны обыкновенной // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2008. № 3. С. 42–47.

Benca J.P., Duijnstee I.A.P., Looy C.V. UV-B-induced forest sterility: Implications of ozone shield failure in Earth's largest extinction // Science Advances. 2018. V. 4. P. 1–10.

Pollen management handbook / Ed. Franklin E.C.: *Washington, D.C.*: U.S. Dep. Agrie., 1981. 98 p.

The Pollen Quality and Anomalies of the Scots Pine in the Central Caucasus

M. Z. Mollaeva[1, #] and F. A. Tembotova[1]

[1] *Tembotov Institute of Ecology of Mountain Territories, RAS, Nalchik, Russia*

[#]*e-mail: monika.011@yandex.ru*

For the first time for the Central Caucasus, the work gives the description of such qualitative parameters of the Scots pine as viability and anomalies of pollen grains. The cytological analysis of morphological damages of the pollen structure enabled to distinguish six morphotypes of the cells in the study area. At the sites of survey, the occurrence of abnormal pollen grains varied insignificantly and comprised less than 10%, excepting the Elbrus sample (17%). Correlation between abnormal changes in the pollen of the Scots pine and elevation of its habitat was revealed. In the studied natural stands of the Scots pine, we registered potentially high quality of the pollen; correlation between qualitative parameters of the pollen of the Scots pine and altitudinal gradient wasn't virtually revealed ($r = 0.11$ when $p = 0.005$).

Keywords: Pinus sylvestris L., *P. sylvestris* var. hamata Steven., pollen, anomalies, starch content, populations of different altitudes, Central Caucasus, palynological method, fertility

EDN: TDSGKU
ИЗВЕСТИЯ РАН. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ, 2022, № 3, с. 279–288

ЗООЛОГИЯ

УДК 598.2+591.526

КЛАССИФИКАЦИЯ ПТИЦ ПРЕДАЛТАЙСКОЙ РАВНИНЫ ПО СХОДСТВУ ЛЕТНЕГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ

© 2022 г. А. В. Макаров*, @, Е. А. Беликова, Е. Н. Бочкарева*, З. М. Сергазинова*****

**Институт систематики и экологии животных СО РАН, ул. Фрунзе, 11, Новосибирск, 630091 Россия*
***Алтайский колледж промышленных технологий и бизнеса, ул. Советская, 219/5, Бийск, 659321 Россия*
****Павлодарский государственный университет им. С. Торайгырова, ул. Ломова, 64, Павлодар, 140008 Казастан*
@E-mail: al_micromammals@mail.ru

Поступила в редакцию 11.09.2020 г.
После доработки 03.02.2021 г.
Принята к публикации 03.02.2021 г.

Проанализированы результаты маршрутных учетов птиц на территории Предалтайской равнины в летние периоды 2003–2005 и 2014–2016 гг. Всего использовано 42 варианта населения птиц. На основе факторного анализа составлены классификационные иерархические схемы по сходству распределения птиц отдельно за первую и вторую половину лета. Показано, что в первую половину лета большинство видов птиц предпочитают леса, открытые лугово-степные и полевые местообитания, а также поймы рек. Во второй половине лета общий характер распределения видов сохраняется, однако доля лесного типа преференции сокращается, а лугово-полевой тип выходит на первое место. Проведен сравнительный анализ с аналогичными классификациями по горным провинциям Алтая и лесостепными и степными территориями юга Западно-Сибирской равнины.

Ключевые слова: орнитокомплекс, классификация видов, сходство в распределении, преференция, факторы среды, Предалтайская равнина

DOI: 10.31857/S1026347022030118

Предалтайская равнина по физико-географическому районированию входит в состав Алтайской горной области как отдельная Северо-Предалтайская провинция. Она окаймляет горы Алтая с северо-запада и севера неширокой предгорной полосой общей площадью ~21 тыс. км^2. На севере Предалтайская равнина граничит с орографическими единицами юго-востока Западно-Сибирской равнины: на северо-западе – с Приобским плато, а на северо-востоке – с Бие-Чумышской возвышенностью. С юга к Предалтайской равнине примыкают горные провинции Северо-Западного, Северного и Северо-Восточного Алтая, а на востоке она постепенно переходит в предгорья Салаира (Атлас Алтайского края, 1978).

Результаты анализа распределения птиц представлены в виде идеализированных иерархических классификаций, отображающих дифференциацию видов на группы, как вариант упорядочивания и способ компактного отображения полученных представлений. Выявление сходства в характере пребывания и распределении птиц проведено с помощью многомерного факторного анализа. Преимущества его заключаются в том, что математическая обработка материала снимает ряд трудностей, связанных с постепенностью смены в распределении от одной группы видов к другой (Бочкарева и др., 2013). Работы по количественной оценке распределения птиц представлены относительно широко. Часть из этих публикаций выполнены по лесостепи и степи Тоболо-Иртышского и Обь-Иртышского междуречий Западной Сибири (Соловьев, 2005, 2012; Торопов, 2008), а также по лесостепи Средней Сибири (Жуков, 2006). Имеются работы по пространственному распределению птиц отдельных горных провинций Алтая (Равкин, 1984; Цыбулин, 1999; Бочкарева, Ирисова, 2009; Торопов, Граждан, 2010; Бочкарева, 2011; Бочкарева, Ливанов, 2013) и Алтая в целом (Цыбулин, 2009). На Предалтайской равнине, несмотря на сравнительно неплохую изученность ее территории в орнитофаунистическом отношении, ранее подобные работы не проводили. Исходя из этого, цель данного исследования состоит в выявлении групп видов птиц со сходным пространственным распределением в I и II половинах лета, и в сравнении полученных результатов с приграничными территориями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Птиц учитывали в 2003–2005 гг. и с 2014 по 2016 гг. на территории четырех ключевых участков. Из них первый включает в себя селитебные местообитания г. Бийска, обследованные в 2003–2005 гг. (Беликова, 2007). На втором участке, расположенном в окрестностях пос. Усятское и Красногорское, работы вели в 2014 г. в 11 местообитаниях (Бийский и Красногорский районы Алтайского края). По данному участку за 1998 г. привлечены также опубликованные материалы по пяти предгорным ландшафтным урочищам окрестностей пос. Нижняя Ненинка (Торопов, Граждан, 2010). Третий и четвертый ключевые участки заложены в центральной и западной частях Предалтайской равнины в пределах Петропавловского и Курьинского районов Алтайского края. Здесь распространены в основном засушливые и умеренно засушливые степные ландшафты, в которых в общей сложности обследовано 19 местообитаний. Всего с учетом наших и заимствованных материалов, общий объем использованных данных за летний период составил 42 варианта населения птиц, при этом в первой половине лета учтено 175, а во второй – 158 видов птиц.

Учеты птиц проведены на постоянных, но не строго фиксированных маршрутах без ограничения ширины трансекта. При этом в каждом местообитании за каждые полмесяца с учетом пройдено по 5 км, а по берегам рек – по 10 км. На учетах оценивали расстояние до птиц в момент обнаружения (Hayne, 1949), а пересчет на площадь проведен по гармонической средней дальности обнаружения интервальным способом (Равкин, 1967). Суммарная протяженность основных учетных маршрутов составила ~2000 км. Результаты всех учетов птиц, в том числе на реках, приведены к числу особей на 1 км^2.

При составлении классификации видов птиц по сходству распределения, в качестве меры сходства использован коэффициент Жаккара (Jaccard, 1902) для количественных признаков (Наумов, 1964). Анализ проведен с помощью программы факторной классификации (Трофимов, 1976; Трофимов, Равкин, 1980). При такой классификации виды объединяют по максимальному сходству в незаданное число групп. Результаты первого разбиения соответствуют типам распределения. Выявленные группы далее с помощью той же программы подразделены на подтипы и классы распределения, пока в полученные кластеры не будет входить не более пяти видов и их распределение можно будет объяснить теми или иными факторами среды. Если при первом и последующем разбиениях в полученные типы и подтипы входили виды, не характерные для тех или иных ландшафтных урочищ, то они согласно идеализированным представлениям перераспределялись в близкие им по составу группы. Видовые названия птиц даны по Коблику с соавт. (2006) и Коблику и Архипову (2014). Названия монофилитических видов, не различаемых во время учетов и определенных предположительно, приведены под вопросом с указанием в скобках группы видов, к которой они, как рекомендовано Международным кодексом зоологической номенклатуры (2004), относятся или относились раньше. Кроме того, в связи с тем, что оба вида ласточек – береговушка (*Riparia riparia*) и бледная береговушка (*R. diluta*) во время учетов трудно различимы, их считали вместе под общим названием – береговушка (*R. riparia*).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Классификация видов птиц по сходству распределения в первой половине лета

Все 175 встреченных видов птиц по результатам факторной классификации сгруппированы в три надтипа предпочтения местообитаний: незастроенной и застроенной суши, а также водно-околоводных сообществ. При использовании приведенной ниже классификации необходимо учитывать, что употребляемое нами словосочетание “птицы, предпочитающие...” обозначает группу видов, имеющих максимальное перекрытие в зонах предпочтения. Слова “кроме того” относятся к маркерам до конца предложения (до точки или до точки с запятой). Перечисление, идущее за этими словами, следует рассматривать как дополнительную информацию к предыдущему описанию распределения видов. Например, такие виды, как горихвостка-лысушка, большая синица и зеленушка, относящиеся к подтипу 1.2 и классу 1.2.1, в равной степени предпочитают как березово-сосновые леса, так и районы городской застройки и поселки.

Птицы, предпочитающие незастроенные местообитания

1. Лесной тип преференции (длиннохвостая неясыть, белоспинный дятел, лесной конек, соловей-красношейка, пеночка-теньковка, зяблик).

Птицы, предпочитающие:

1.1 – сосновые леса (козодой, деряба, пеночка-трещотка, желтоголовый королек, сойка, юрок, чиж);

1.2 – березово-сосновые леса (вальдшнеп, бородатая неясыть, желна, свиристель, московка, клест-еловик), и кроме того:

1.2.1 – районы городской застройки и поселки (горихвостка-лысушка, большая синица, зеленушка);

1.3 – березовые леса (глухая кукушка, жулан, иволга);

1.4 – сосновые и березово-сосновые леса (рябчик, большой пестрый дятел, певчий дрозд, серая мухоловка, мухоловка-пеструшка, зеленая пересмешка, пухляк, поползень);

1.5 – влажные березово-осиновые леса (черно-зобый дрозд, белобровик, соловей-свистун, синехвостка, толстоклювая камышевка, пеночка-зарничка, пищуха, снегирь), и кроме того:

1.5.1 – пойменные луга-ивняки (малый пестрый дятел, рябинник, пестрый дрозд, ополовник, дубонос).

2. Пойменный тип преференции (полевой лунь)

Птицы, предпочитающие:

2.1 – луга-ивняки (дербник, большой подорлик, камышница, лысуха, большой кроншнеп, поручейник, колючехвостый стриж, луговой чекан, камышевка-барсучок, седоголовая овсянка), и кроме того:

2.1.1 – низинные болота (серый журавль, коростель);

2.2 – луга-кустарники (кобчик, тетеревятник, водяной пастушок, ушастая сова, вертишейка, трехпалый и седой дятлы, черногорлая завирушка, соловей, соловьиная широкохвостка, пеночка-таловка, серая славка, славка-мельничек, щегол, чечевица, обыкновенная и камышовая овсянки), и кроме того:

2.2.1 – березово-сосновые и березовые леса (большая горлица);

2.2.2 – поселки (садовая камышевка).

3. Лугово-полевой тип преференции (пустельга, чеглок, черный коршун, канюк, красавка)

Птицы, предпочитающие:

3.1 – луга, чередующиеся с перелесками (тетерев, осоед, перепелятник, клинтух, удод, славка-черноголовка), и кроме того:

3.1.1 – низинные болота и пойменные луга-ивняки (садовая славка, белошапочная овсянка);

3.2 – луга-выпасы (огарь, балобан, орлан-белохвост, степной орел, могильник, беркут, белопоясный стриж, степной конек);

3.3 – поля (белая куропатка, перепел, степной лунь, вяхирь, сплюшка, полевой жаворонок, полевой и пятнистый коньки, желтая трясогузка, азиатский черноголовый чекан? (черноголовый чекан), обыкновенный сверчок, северная бормотушка, седоголовый щегол, коноплянка, садовая и желчная овсянки).

4. Степной тип преференции

Птицы, предпочитающие ковыльные степи (серая куропатка, золотистая щурка, каменка).

5. Болотный тип преференции

Птицы, предпочитающие низинные болота (болотный лунь, погоныш, лесной дупель, бекас, травник, фифи, желтоголовая трясогузка, варакушка, певчий сверчок, пеночка-весничка, бурая и толстоклювая пеночки), и кроме того:

5.1 – леса (кукушка);

5.2 – пойменные луга-кустарники (урагус);

5.3 – пойменные луга-ивняки (шилохвость, пятнистый сверчок, дубровник);

5.4 – лугово-полевые местообитания (болотная сова).

Птицы, предпочитающие застроенные местообитания

6. Селитебный тип преференции (сизый голубь, белая трясогузка, серая ворона, домовый и полевой воробьи).

Птицы, предпочитающие:

6.1 – поселки (черный стриж, деревенская ласточка, галка, грач, восточная черная ворона? (черная ворона), ворон), и кроме того:

6.1.1 – пойменные луга-кустарники (зеленая пеночка, сорока);

6.2 – участки городской многоэтажной застройки (воронок).

Птицы, предпочитающие водно-околоводные местообитания

7. Речной тип преференции (свиязь, серая утка, красноголовый нырок).

Птицы, предпочитающие:

7.1 – малые реки (чирок-свистунок, кряква, чирок-трескунок, чибис, малый зуек, черныш, зимородок, горная трясогузка), и кроме того:

7.1.1 – средние реки (серая цапля);

7.1.2 – поселки (маскированная трясогузка, скворец);

7.2 – средние реки (черный аист, кулик-сорока, перевозчик, озерная чайка);

7.3 – крупные реки (лебедь-кликун, широконоска, сапсан, сизая чайка, халей? (серебристая чайка), речная крачка, береговушка).

Итак, в первой половине лета большинство птиц предпочитают лесные местообитания (46 видов, 26%), меньше видов отдают предпочтение лугово-полевым ландшафтам (37 видов, 22%) и пойменным местообитаниям (32 вида, 18%). К рекам и болотам тяготеют 25 и 18 видов соответственно (14 и 10%), и еще меньше к поселкам (14 видов, 8%). Всего три вида – серая куропатка, золотистая щурка и каменка предпочитают степи (2%).

Таким образом, распределение птиц на Предалтайской равнине обусловлено, в первую очередь, влиянием облесенности, заболоченности, различий в рельефе и связанных с ним заливанием в половодье, остепненности, застроенности и

Таблица 1. Число видов птиц, предпочитающих различные местообитания в провинциях Алтайской горной области в первой половине лета

Местообитания	Провинция*				
	Предалтайская равнина	Северо-Восточная	Северо-Западная	Северная	Центральная
Субнивальные	–	–	–	–	5
Альпийско-тундровые	–	4	–	9	16
Субальпийско-редколесные	–	10	16	6	15
Лесные	46	79	61	62	85
Лугово-степные и полевые	37	18	28	38	–
Степные	3	–	–	–	42
Пойменные	32	22	–	–	–
Болотные	18	17	–	–	15
Селитебные	14	12	18	8	11
Реки	25	13	11	12	17
Озера	–	12	–	–	7
Всего видов	175	187	134	135	213

Примечание. * Материалы по всем провинциям Алтая, кроме Предалтайской равнины, взяты из литературных источников (Торопов, Граждан, 2010; Бочкарева, Ирисова, 2009; Цыбулин, 1999; Бочкарева, Ливанов, 2013).

водности. Эти факторы объясняют выделенные типы предпочтения. В ранге подтипов на размещение птиц влияют состав лесообразующих пород, различия в степени закустаренности пойменных биотопов, распашка, выпас, тип застройки, величина водотоков и проточность. В ранге классов, прослежено остаточное влияние всех ранее указанных факторов.

По результатам проведенного анализа можно сказать, что классификации видов птиц по общности предпочтения тех или иных местообитаний на Предалтайской равнине и в остальных провинциях Алтая сравнительно сходны (табл. 1).

В горах, как и на Предалтайской равнине, большинство видов птиц в первой половине лета предпочитают леса. Доля таких видов колеблется от 26% на изучаемой территории до 46% на Северо-Западном и Северном Алтае. Примерно вдвое меньшее количество видов тяготеют к открытым лугово-степным, полевым и степным местообитаниям. Таких птиц больше всего в Северной, Предалтайской, Северо-Западной и Центральной провинциях (28, 22, 21 и 20% соответственно), а меньше всего в наиболее облесенной – Северо-Восточной (10%). Птицы, свойственные пойменным местообитаниям, отмечены лишь на Предалтайской равнине и Северо-Восточном Алтае (18 и 12%), а низинным болотам, там, где они обследованы – на Предалтайской, Северо-Восточной и Центральной провинциях (7–10%). Доля видов птиц, предпочитающих населенные пункты повсеместно невысока и составляет около 5–8%. Однако на Северо-Западном Алтае, где учеты проводили в полузаброшенных поселках, привлекающих сравнительно большее число видов, их доля достигает 13%. Водно-околоводным местообитаниям по всем провинциям Алтая отдает предпочтение примерно равная и небольшая часть птиц. В горах, где представлены высокогорные ландшафты, доля птиц альпийско-субальпийско-луговых, тундровых и редколесных местообитаний больше всего в Цетральном Алтае (17%) и меньше – в Северо-Восточном (7%). По сравнению с горными территориями, на Предалтайской равнине лесные ландшафты предпочитают значительно меньшее число видов, что вероятно связано с их меньшим разнообразием и большим предпочтением птицами пойменных и болотных урочищ. Это связано со значительной засушливостью и распаханностью территории Предалтайской провинции по сравнению с горными районами.

Анализируя количество общих видов, предпочитающих те или иные местообитания на Предалтайской равнине и в горных провинциях Алтая, можно отметить следующее. Среди птиц, тяготеющих к лесным местообитаниям, наибольшее число общих видов отмечено с Северо-Восточным Алтаем (41), чуть меньше с Северным и Центральным (36–38) и меньше всего с Северо-Западным (28). Наибольшая общность списка птиц, предпочитающих открытые лугово-степные, полевые и степные урочища Предалтайской равнины отмечена с Северным и Центральным Алтаем (по 16), а наименьшая – с Северо-Восточным и Северо-Западным (8–10). Указанные различия по числу общих

видов обусловлены степенью удаленности территорий друг от друга, а также сходством в облесенности, мозаичности, увлажненности и в объеме учетов проведенных на этих территориях. Список общих птиц, предпочитающих населенные пункты, во всех провинциях Алтайской горной области составляет от 5 до 7 видов. Из них сизый голубь, деревенская ласточка, домовый и полевой воробьи и галка отмечены во всех сравниваемых провинциях. Среди птиц, предпочитающих водно-околоводные местообитания Предалтайской равнины, больше всего общих видов отмечено на Северо-Восточном Алтае (11), что обусловлено близким расположением указанных провинций, а также тем, что учеты в обоих случаях проводили в пределах акватории одной и той же реки Бии. Несколько меньшее сходство отмечено с водотоками Северо-Западного, Северного и Центрального Алтая (7–9). При этом во всех провинциях Алтайской горной области отмечены такие виды, как черныш, перевозчик, зимородок и горная трясогузка.

При сравнении классификации видов птиц Предалтайской равнины с равнинными территориями Тоболо-Иртышской лесостепи и степи, а также колочной степи Западной Сибири (Торопов, 2008; Соловьев, 2012) обращает внимание сравнительно высокая доля птиц, предпочитающих там водно-околоводные местообитания (28 и 39% соответственно). В Тоболо-Иртышской лесостепи и степи значительна доля птиц тяготеющих к водоемам (26%), среди которых наибольшее количество видов свойственно именно озерам с зарослями тростника (20%). Помимо этого, отмечено явное предпочтение видами лесов (22%), низинных болот (18%) и открытых лугово-степных, полевых и степных местообитаний (11%). В колочной степи Обь-Иртышского междуречья почти половина всех видов тяготеет к открытым степным и полевым урочищам (44%), четверть видов отдает предпочтение малым рекам (26%), а тростниковым болотам и озерам – 7 и 2% соответственно. При этом для обеих территорий характерно сходное с Предалтайской равниной число видов, предпочитающих населенные пункты (9–10%), что свидетельствует о существенной антропогенной трансформации ландшафтов лесостепных и степных районов.

Классификация видов птиц по сходству распределения во второй половине лета

Все 158 видов птиц по предпочтению местообитаний, также как по первой половине лета, сгруппированы в три надтипа: незастроенной и застроенной суши, а также водно-околоводных сообществ.

Птицы, предпочитающие незастроенные местообитания

1. Лесной тип преференции (осоед, канюк, большой пестрый дятел, деряба, соловей-краснушейка, пухляк).

Птицы, предпочитающие:

1.1 – сосновые леса (рябчик, глухарь, козодой, желна, мухоловка-пеструшка, московка, зяблик, снегирь), и кроме того:

1.1.1 – пойменные луга-ивняки (кукушка);

1.2.1 – луга, чередующиеся с перелесками (лесной конек);

1.2 – березово-сосновые леса (перепелятник, беркут, ворон);

1.3 – березовые леса (длиннохвостая и бородатая неясыти, иволга);

1.4 – влажные березово-осиновые леса (ушастая сова, белобровик, соловей, пеночка-теньковка, пищуха, кедровка), и кроме того:

1.4.1 – сосновые леса (певчий дрозд, поползень, сойка).

2. Пойменный тип преференции (рябинник, ополовник).

Птицы, предпочитающие:

2.1 – луга-ивняки (дербник, камышница, лесной дупель, большой веретенник, круглоносый плавунчик, луговой чекан, пеночка-зарничка, обыкновенная овсянка), и кроме того:

2.1.1 – низинные болота (желтоголовая трясогузка);

2.1.2 – поля (коростель);

2.2 – луга-кустарники (орел-карлик, золотистая щурка, малый пестрый и белоспинный дятлы, серая мухоловка, зеленая пеночка, серая славка, славка-мельничек, князек, чиж, урагус, чечевица), и кроме того:

2.2.1 – низинные болота (садовая камышевка);

2.2.2 – поля (удод, щегол);

2.2.3 – лугово-полевые ландшафты (чеглок).

3. Степной тип преференции.

Птицы, предпочитающие ковыльные степи (мохноногий курганник, каменка).

4. Лугово-полевой тип преференции (пустельга, степной лунь, степной орел, болотная сова, полевой жаворонок, азиатский черноголовый чекан? (черноголовый чекан)).

Птицы, предпочитающие:

4.1 – луга, чередующиеся с перелесками (тетерев, тетеревятник, кулик-воробей, вертишейка, пятнистый конек, сибирский жулан), и кроме того:

4.1.1 – низинные болота (белошапочная овсянка);

4.1.2 – пойменные луга-ивняки (толстоклювая пеночка);

4.1.3 – низинные болота и пойменные луга-ивняки (жулан);

4.2 – луга-выпасы (балобан, луговой лунь, большой подорлик, могильник, черный стриж, степной конек, каменка-плясунья);

4.3 – поля (белая и серая куропатки, перепел, хохлатый осоед, полевой лунь, красавка, клинтух, обыкновенный сверчок, северная бормотушка, клест-еловик, садовая и желчная овсянки), и кроме того:

4.3.1 – пойменные луга-кустарники (большая горлица, коноплянка).

5. Болотный тип преференции.

Птицы, предпочитающие низинные болота (серый журавль, певчий и пятнистый сверчки, пеночки – весничка и бурая, садовая славка, юрок), и кроме того:

5.1 – пойменные луга-ивняки (варакушка, дубровник).

Птицы, предпочитающие застроенные местообитания

6. Селитебный тип преференции (сизый голубь, сорока, серая ворона, домовый и полевой воробьи).

Птицы, предпочитающие:

6.1 – поселки (деревенская ласточка, галка), и кроме того:

6.1.1 – лугово-полевые ландшафты (грач);

6.1.2 – реки (черный коршун, маскированная трясогузка);

6.2 – только крупные поселки (зеленушка, седоголовый щегол);

6.3 – только малые поселки (дубонос, восточная черная ворона? (черная ворона));

6.4 – массивы городской застройки (горихвостка-лысушка), и кроме того:

6.4.1 – сосновые леса (большая синица);

6.5 – участки городской многоэтажной застройки (белопоясный стриж, воронок);

6.6 – участки городской одноэтажной застройки (белая трясогузка, свиристель).

Птицы, предпочитающие водно-околоводные местообитания

7. Речной тип преференции (серая утка, шилохвость, широконоска).

Птицы, предпочитающие:

7.1 – малые реки (чирок-свистунок, кряква, чирок-трескунок, хохлатая чернеть, большой баклан, болотный лунь, чибис, малый зуек, бекас, большой кроншнеп, черныш, белохвостый песочник, скворец), и кроме того:

7.1.1 – поля (желтая трясогузка);

7.1.2 – средние реки (зимородок, береговушка);

7.2 – средние и малые реки (перевозчик, горная трясогузка);

7.3 – средние реки (серая цапля, травник);

7.4 – крупные реки (большой крохаль, черный аист, кобчик, сапсан, кулик-сорока, халей? (серебристая чайка), сизая и озерная чайки, речная крачка).

Во второй половине лета большинство птиц предпочитают открытые лугово-полевые ландшафты (36 видов, 23%), а к рекам и лесам тяготеют 32 и 31 вид соответственно (по 20%). По-прежнему значительное количество птиц предпочитают пойменные местообитания (28 видов, 18%), а птиц, тяготеющих к населенным пунктам, по сравнению с первой половиной лета, становится больше (20 видов, 13%). Меньше всего птицы во второй половине лета предпочитают болота (9 видов, 6%) и степи (2 вида, 1%).

По сравнению с первой, во второй половине лета, в связи с завершением гнездования и послегнездовыми кочевками, иссушением болотных урочищ, снижается доля птиц, предпочитающих леса и низинные болота, но возрастает количество видов, предпочитающих реки и селитебные местообитания. Суммарная доля видов, образующих лугово-полевой и пойменный тип преференции в течение лета почти не меняется.

При сопоставлении классификационных схем за первую и вторую половину лета можно отметить, что в каждом типе преференции есть виды, не меняющие своего предпочтения в течение лета. Наибольшая доля таких видов свойственна рекам и населенным пунктам (61 и 48%), чуть меньше – лесам и лугово-полевым местообитаниям (по 38%). Наименьшая доля видов, не меняющих типа предпочтения характерна для низинных болот и пойменных местообитаний (28 и 20%). Остальная часть видов представлена птицами с явной послегнездовой сменой характера предпочтения. Так, во второй половине лета из группы птиц, предпочитающих типично лесные местообитания, в пойменную группу перенесены – малый пестрый и белоспинный дятлы, рябинник, серая мухоловка, пеночка-зарничка, ополовник и чиж; в болотную – юрок; а к тяготеющим к открытым и слабооблесенным урочищам – жулан и клест-еловик. Наоборот, в лесные урочища из открытых и слабооблесенных местообитаний перешли – осоед, перепелятник, канюк и беркут; из пойменных – ушастая сова и соловей; из болотных – кукушка. Кроме того, для некоторых видов во второй половине лета характерна смена не только типа преференции, но и надтипа. Так, в населенные пункты из лесных местообитаний перемещаются горихвостка-лысушка, свиристель, большая синица, зеленушка и дубонос, из лугово-полевых – черный коршун, белопоясный стриж и седоголовый

Таблица 2. Число видов птиц, предпочитающих различные местообитания в провинциях Алтайской горной области во второй половине лета

Местообитания	Провинция				
	Предалтайская равнина	Северо-Восточная	Северо-Западная	Северная	Центральная
Субнивальные	–	–	–	–	4
Альпийско-тундровые	–	4	–	10	24
Субальпийско-редколесные	–	8	19	7	19
Лесные	31	75	40	48	68
Лугово-степные и полевые	36	13	18	36	–
Степные	2	–	–	–	40
Пойменные	28	22	–	–	–
Болотные	9	11	–	–	–
Селитебные	20	19	21	8	18
Реки	32	6	12	12	18
Озера	–	10	–	–	8
Всего видов	158	168	110	121	199

щегол, а из речных – маскированная трясогузка. Наоборот, из предпочитавших ранее населенные пункты, во второй половине лета к лесному типу предпочтения отнесен ворон, к пойменному – зеленая пеночка, а к лугово-полевому – черный стриж. Реки во второй половине лета больше предпочитают кобчик, болотный лунь, бекас, большой кроншнеп, травник и желтая трясогузка, отнесенные в первой половине лета к болотному, пойменному и лугово-полевому типам преференции.

Как и в первой половине лета, в дифференциации распределения птиц главная роль принадлежит облесенности, заливанию в половодье, остепненности, заболоченности, застроенности и водности. Меньшее значение имеют состав лесообразующих пород, различия в степени закустаренности пойменных биотопов, распашка, выпас скота, тип застройки, размер населенных пунктов и водотоков, а также проточность.

В горных провинциях Алтая большинство птиц во второй половине лета предпочитают леса, но их доля по сравнению с первой половиной лета несколько меньше (34–45%) (табл. 2).

В течение лета почти не меняется по провинциям количество видов, предпочитающих открытые лугово-полевые местообитания и степи. Их доля колеблется от 30% в Северном Алтае, до 23 и 20% на Предалтайской равнине и в Центральном Алтае, несколько меньше в Северо-Западном (16%) и минимально в Северо-Восточном Алтае (8%). Так же как и на Предалтайской равнине, в Северо-Восточном Алтае во второй половине лета значительно сокращается доля птиц, свойственных болотным местообитаниям (по 6%), а доля птиц, держащихся в поймах, остается на одном уровне (18 и 13%). Во всех сравниваемых провинциях Алтайской горной области во второй половине лета значительно возрастает количество видов, предпочитающих населенные пункты и высокогорные альпийско-субальпийско-луговые и тундровые ландшафты. При этом по сравнению с первой половиной лета, в селитебных местообитаниях Предалтайской равнины, Северо-Восточного и Центрального Алтая птиц стало больше на 6–7 видов, а в высокогорьях Северного, Северо-Западного и Центрального Алтая – на два, три и 11 видов соответственно. В течение лета на реках горных провинций Алтая держится примерно одинаковое количество птиц, а на Предалтайской равнине во второй половине лета, их число возрастает на семь видов, что связано с послегнездовыми кочевками (хохлатая чернеть, большой крохаль, бекас, большой кроншнеп, желтая трясогузка), а также осенними миграциями некоторых видов (большой баклан и белохвостый песочник).

Среди птиц, предпочитающих леса на Предалтайской равнине, так же как и в первой половине лета, наибольшее количество общих видов отмечено с Северо-Восточным Алтаем (27) и чуть меньше – с Центральным (24). В Северном и Се-

веро-Западном Алтае, вследствие меньшего числа птиц, отдающих предпочтение лесам, отмечено снижение количества общих видов (17–18). Во всех сравниваемых провинциях Алтайской горной области к лесам тяготеют 16 общих видов: рябчик, глухарь, перепелятник, длиннохвостая неясыть, большой пестрый дятел, желна, певчий дрозд, соловей-красношейка, пеночка-теньковка, пухляк, московка, поползень, иволга, сойка, зяблик и снегирь. Видовой список птиц, тяготеющих к открытым лугово-полевым и степным урочищам Предалтайской равнины, по количеству общих видов наиболее сходен с таковым по Северо-Восточному, Северному и Центральному Алтаю (13–15). При этом во всех провинциях такие местообитания предпочитают четыре вида: перепел, серая куропатка, степной конек и коноплянка. Как и в первой половине лета, в населенных пунктах всех сравниваемых провинций отмечены сизый голубь, деревенская ласточка, а также домовый и полевой воробьи. Однако при провинциальном рассмотрении список птиц населенных пунктов Предалтайской равнины больше всего сходен с таковыми Северо-Восточного и Северо-Западного Алтая (14 и 12 общих видов). Помимо четырех вышеуказанных видов, эти территории объединяет так же присутствие воронка, маскированной трясогузки, горихвостки-лысушки, сороки и серой вороны. Среди птиц, предпочитающих водно-околоводные местообитания Предалтайской равнины, больше всего общих видов с Центральным и Северо-Западным Алтаем (12 и 10), и несколько меньше с Северным и Северо-Восточным (6–8). При этом за исключением Северо-Восточной провинции, на всех территориях Алтайской горной области, реки предпочитают – большой крохаль, черныш, перевозчик, зимородок и горная трясогузка.

Для равнинных степных и лесостепных территорий Западной Сибири во второй половине лета характерны сходные с Предалтайской равниной изменения в территориальном распределении птиц (Торопов, 2008; Соловьев, 2012). На фоне уменьшения количества видов, предпочитающих леса и низинные болота, возрастает доля птиц, держащихся в водно-околоводных местообитаниях. В Тоболо-Иртышской лесостепи и степи доля таких видов, по сравнению с первой половиной лета, увеличилась с 28 до 42%, среди которых к озерам с зарослями тростника тяготеет 25%, а к открытым водоемам – 14%. Число лесных видов птиц по сравнению с первой половиной лета, сократилось на 15 видов и составило 17%, а птиц, предпочитающих низинные болота – на 28 видов и составило всего 7%. Помимо этого, во второй половине лета здесь несколько возрастает доля птиц, свойственных населенным пунктам (с 9 до 11%). В колочной степи Обь-Иртышского междуречья почти половина всех видов (43%) предпочитают водно-околоводные местообитания, из них к рекам тяготеют 16%, а к открытым и тростниковым озерам – 12 и 10%. Более высокое, чем на Предалтайской равнине, количество видов, держащихся на реках и озерах, определяется большей представленностью в степной зоне Западной Сибири различных водоемов с зарослями тростника и соответственно их лучшей обеспеченностью кормами и наличием мест для устройства гнезд и укрытий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ по распределению и предпочтению птицами различных местообитаний, позволил выделить следующие типы преференций: лесной, лугово-полевой, степной, пойменный, болотный, речной и селитебный. В дифференциации видов птиц по типам преференции ведущая роль принадлежит облесенности, заболоченности, различиям в рельефе, остепненности, застроенности и водности.

В первой половине лета наибольшее количество видов птиц предпочитают леса, чуть меньше лугово-полевые и пойменные местообитания, на порядок – реки, болота и селитебные местообитания и меньше всего птицы предпочитают степи. Во второй половине лета происходит снижение числа видов, тяготеющих к лесам и низинным болотам и увеличение таковых, предпочитающих населенные пункты и реки. Эти изменения обусловлены, с одной стороны, трансформацией местообитаний (в виде иссушения низинных болот), а с другой – послегнездовыми кочевками, осенними миграциями и перераспределением птиц по наиболее кормным и благоприятным для каждого конкретного вида местообитаниям.

При сопоставлении классификации видов птиц по предпочтению местообитаний Предалтайской равнины и горных провинций Алтая, а также равнинных лесостепных и степных территорий юга Западной Сибири выявлен сравнительно сходный характер размещения птиц. На всех сравниваемых территориях во второй половине лета отмечено снижение количества видов, предпочитающих леса и болота, но возрастает число видов тяготеющих к селитебным и водно-околоводным местообитаниям. Различия в пространственном распределении птиц на сравниваемых территориях обусловлены преобладанием на Предалтайской равнине лесостепных, луговостепных и полевых ландшафтов, а также значительно меньшим разнообразием и меньшей площадью лесных местообитаний, характерных для горных провинций Алтая. Тем не менее, по характеру распределения видов птиц, Предалтай-

ская равнина в большей степени сходна с горными провинциями Алтая, чем с лесостепными и степными территориями Тоболо-Иртышского и Обь-Иртышского междуречий юга Западно-Сибирской равнины. Для территории последних характерно наличие большого количества пресных и слабосоленых озер, и соответственно числа видов птиц, относящихся к водно-околоводному типу преференции. Различия по числу общих видов птиц между Предалтайской равниной и остальными провинциями Алтая зависят от сопряженности территорий, соотношения площадей облесенных, мозаичных и открытых урочищ, густоты речной сети и соответственно от количества видов, предпочитающих группы местообитаний в той или иной провинции. Кроме того, межсезонные изменения по числу общих видов могут быть обусловлены послегнездовыми кочевками, трансформацией местообитаний и перераспределением птиц во второй половине лета по биотопам с наиболее оптимальными условиями.

Благодарности. Авторы благодарны заведующему лабораторией зоологического мониторинга ИСиЭЖ СО РАН Ю.С. Равкину за замечания и редактирование рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Атлас Алтайского края / сост. и подгот. к изд. Главным управлением геодезии и картографии при Совете министров СССР / Отв. ред. Заруцкая И.П. Т. 1. М.–Барнаул: ГУГК, 1978. 222 с.

Беликова Е.А. Пространственно-временная структура населения птиц города Бийска Алтайского края // Естественные и технические науки. 2007. № 6. Вып. 32. С. 62–64.

Бочкарева Е.Н. Особенности летнего распределения птиц Северо-Западного Алтая // Вест. Удмуртского университета. Сер. Биология. Науки о Земле. 2011. Вып. 4. С. 64–70.

Бочкарева Е.Н., Ирисова Н.Л. Птицы Тигирекского заповедника. Барнаул, 2009. 209 с.

Бочкарева Е.Н., Ливанов С.Г. Птицы Центрального Алтая: численность, распределение и пространственно-временная дифференциация населения. Новосибирск: Наука-Центр, 2013. 544 с.

Бочкарева Е.Н., Ливанов С.Г., Торопов К.В., Малков Н.П. Особенности летнего распределения птиц Центрального Алтая // Сиб. экол. журн. 2013. № 1. С. 69–76.

Жуков В.С. Птицы лесостепи Средней Сибири. Новосибирск: Наука, 2006. 492 с.

Коблик Е.А., Архипов В.Ю. Фауна птиц стран Северной Евразии в границах бывшего СССР: списки видов. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. 171 с.

Коблик Е.А., Редькин Я.А., Архипов В.Ю. Список птиц Российской Федерации. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2006. 287 с.

Международный кодекс зоологической номенклатуры. Издание четвертое / Пер. с англ. и фр. М.: Т-во научных изданий КМК, 2004. 223 с.

Наумов Р.Л. Птицы природного очага клещевого энцефалита Красноярского края: Автореф. дис. канд. биол. наук. М., 1964. 19 с.

Равкин Ю.С. К методике учета птиц лесных ландшафтов // Природа очагов клещевого энцефалита на Алтае / Биол. ин-т. СО АН СССР / Отв. ред. Максимов А.А. Новосибирск, 1967. С. 66–75.

Равкин Ю.С. Пространственная организация населения птиц лесной зоны (Западная и Средняя Сибирь). Новосибирск: Наука, 1984. 264 с.

Соловьев С.А. Птицы Омска и его окрестностей. Новосибирск: Наука, 2005. 295 с.

Соловьев С.А. Птицы Тоболо-Иртышской лесостепи и степи: Западная Сибирь и Северный Казахстан. Т. 1: Пространственная структура и организация населения. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. 294 с.

Торопов К.В. Птицы колочной степи Западной Сибири. Новосибирск: Наука, 2008. 356 с.

Торопов К.В., Граждан К.В. Птицы Северо-Восточного Алтая: 40 лет спустя. Новосибирск: Наука-Центр, 2010. 394 с.

Трофимов В.А. Модели и методы качественного и факторного анализа матрицы связи // Проблемы анализа дискретной информации / Ин-т экономики и организации пром. производства СО АН СССР / Отв. ред. Миркин Б.Г. Новосибирск, 1976. Ч. 2. С. 24–36.

Трофимов В.А., Равкин Ю.С. Экспресс-метод оценки связи пространственной неоднородности животного населения и факторов среды // Количественные методы в экологии животных / Зоол. ин-т АН СССР / Отв. ред. Песенко Ю.А. Л., 1980. С. 135–138.

Цыбулин С.М. Птицы Северного Алтая. Новосибирск: Наука, 1999. 519 с.

Цыбулин С.М. Птицы Алтая: пространственно-временная дифференциация, структура и организация населения. Новосибирск: Наука, 2009. 234 с.

Hayne Don W. An examination of the strip census method for estimating animal populations // J. Wildlife Management. 1949. Vol. 13, N 2. P. 145–147.

Jaccard P. Lois de distribution florale dans la zone alpine // Bulletin de la Societe vaudoise des sciences naturelles. 1902. Vol. 38. P. 69–130.

Classification of Birds of the Prealtay Plain According to the Similarity of the Summer Distribution

A. V. Makarov[1, #], E. A. Belikova[2], E. N. Bochkareva[1], and Z. M. Sergazinova[3]

[1] *Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS, Frunze Str., 11, Novosibirsk, 630091 Russia*

[2] *Altai College of Industrial Technology and Business, Sovetskaya Str., 219/5, Biysk, 659321 Russia*

[3] *Pavlodar State University named S. Toraigyrov, Lomov Str., 64, Pavlodar, 140008 Kazakhstan*

[#]*e-mail: al_micromammals@mail.ru*

The results of routing counts of birds on the territory of the Prealtay Plain in the summer periods of 2003–2005 and 2014–2016 are analyzed. A total of 42 bird population options were used. Based on factor analysis, classification hierarchical schemes were compiled on the distribution of birds separately for the first and second half of summer. It has been shown that in the first half of summer, most bird species prefer forests, open meadow-steppe and field habitats, as well as floodplains. In the second half of summer, the general character of the distribution of species remains, but the proportion of the forest type of preference is reduced, and the meadow-field type comes out on top. A comparative analysis is carried out with similar classifications by the mountain provinces of Altai and the forest-steppe and steppe territories of the south of the West Siberian Plain.

Keywords: ornithocomplex, species classification, similarity in distribution, preference, environmental factors, Pre-Altai plain

EDN: QBLAXD
ИЗВЕСТИЯ РАН. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ, 2022, № 3, с. 289–299

ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

УДК 574.22

СТИМУЛИРОВАНИЕ РОСТА МОЛОДИ АФРИКАНСКОГО КЛАРИЕВОГО СОМА (*Clarias gariepinus*) С ПОМОЩЬЮ МОДИФИКАЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА ВОДЫ

© 2022 г. Д. В. Шумейко*, С. А. Лоза*, А. Н. Коржов*, В. К. Ромашов*, В. В. Малышко, ***, А. А. Елкина*, ***, @, А. В. Моисеев******

**Кубанский государственный университет, ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040 Россия*
***Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, ул. Седина, 4, Краснодар, 350063 Россия*
****ФИЦ Южный научный центр РАН, просп. Чехова, 41, Ростов-на-Дону, 344006 Россия*
*****Кубанский государственный аграрный университет, ул. Калинина, 13, Краснодар, 350004 Россия*
@E-mail: 013194@mail.ru

Поступила в редакцию 09.08.2020 г.
После доработки 29.09.2020 г.
Принята к публикации 29.09.2020 г.

Исследовано влияние воды с высоким отрицательным окислительно-восстановительным потенциалом (ОВП) на физиологические показатели молоди африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*). В результате проведенных исследований установлено, что снижение ОВП воды от +150...+250 мВ до –600...–500 мВ с помощью электромембранного генератора без изменения солевого состава при незначительном изменении pH с экспозицией 30 и 60 мин раз в сутки положительно сказывается на основных биологических показателях молоди африканского клариевого сома. Прирост биомассы в контрольной группе составил 756.6 г, а в опытной группе (30 мин обработки) – 1004.2 г. Наибольшей представительностью по массе в контрольной группе характеризовались рыбы в наименьшем размерном диапазоне: 1.0–2.9 г (38%). В опытных группах он составлял 22.6 и 18.3%, а основное количество особей находилось в диапазоне 3.0–4.9 г (38.3 и 44.1% соответственно). Установлено, что наилучшие показатели достигаются при обработке водной среды в течение 30 мин.

Ключевые слова: африканский клариевый сом, окислительно-восстановительный потенциал, молодь, вода, биологические системы

DOI: 10.31857/S1026347022030167

Широко распространенным объектом пресноводной аквакультуры является африканский клариевый сом. Биологические особенности которого обуславливают перспективность для проведения модельных исследований в установках замкнутого водоснабжения (Ковалев, 2006; Власов, Завьялов, 2014; Zaid *et al.*, 2020). Проводятся исследования влияния различных факторов на физиологические показатели клариевого сома: биохимического профиля и экспрессии генов при повышении концентрации тяжелых металлов в среде обитания (Swaleh *et al.*, 2020), гербицидов (Oluah *et al.*, 2020), влияние микроэлементов (Siqwepu *et al.,* 2020) и различных факторов загрязнения окружающей среды (Audu, Ajima, 2020). Африканский клариевый сом удобен для проведения научных исследований своей неприхотливостью в содержании, что позволяет осуществлять большие плотности посадки рыбы, отказаться от применения электроприборов, создающих постороннее влияние на объекты выращивания, и редко производить замену воды (Abd-Elkareem *et al.*, 2020; Adeoye *et al.*, 2020).

Разработка научных основ рациональной технологии выращивания африканского клариевого сома имеет важное хозяйственное значение. Основной средой его обитания является вода, состав и физико-химические свойства которой определяют, в том числе, и физиологические показатели рыбы (Mashaly *et al.*, 2020). По этой причине необходимо проведение исследований эффективных способов повышения качества воды и внедрение инновационных технологий ее кондиционирования (Zhang *et al.*, 1999; Stewart, 2009; Basov *et al.*, 2019a, 2019b, 2019c; Volchenko *et al.*, 2020; Dumbo *et al.*, 2020). Особое место среди них занимает электрохимическая активация водных растворов (использование водных растворов с различными значениями ОВП), с помощью которой можно

Таблица 1. Химический состав водопроводной воды

pH	Жесткость, мг-экв/л	$C(Ca^{2+})$, мг-экв/л	$C(Mg^{2+})$, мг-экв/л	$C(HCO_3)$, ммоль/л	$C(H_2CO_3)$, ммоль/л	$C(Cl^-)$, ммоль/л	$C(SO_4^{2-})$, ммоль/л	$C(Na^+)$, ммоль/л	$C(K^+)$, ммоль/л
7	2.9	2.2	0.7	4.53	0.21	0.80	0.42	5.63	0.71

добиться улучшения физиологических показателей рыб (Bahir, 1996; Плутахин и др., 2013.). Такие водные растворы характеризуется высокой физико-химической и биологической активностью (Ichihara *et al.*, 2015). Молекулярный водород (H_2) способен достаточно легко проникать через биологические мембраны и диффундировать во внутриклеточное пространство, а также гематоэнцефалический барьер (в то время, как большинство антиоксидантных соединений не могут его преодолеть), при этом он обладает выраженными антиоксидантными свойствами. При достижении ядра и митохондрий H_2 способен оказывать влияние на окислительно-восстановительные процессы в них (Ohta, 2012).

В первых работах, описывающих биологические эффекты воды с высоким отрицательным ОВП, показана возможность ее использования в качестве антиоксидантного средства (Yanagihara *et al.*, 2005; Ohsawa *et al.*, 2007). В дальнейшем было проведено большое количество исследований ее антиоксидантных свойств с использованием различных моделей окислительного стресса на лабораторных животных (Sun *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011, 2015; Ito *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2013; Shinbo *et al.*, 2013; Hattori *et al.*, 2015; Jing *et al.*, 2015).

Методы получения и свойства растворов описаны в ряде научных работ (Сергунина, 1968; Петрушанко, Лобышев, 2001, 2004; Погорелов и др., 2019). Вода с измененным ОВП широко используется в пищевой промышленности, биотехнологии, кормопроизводстве, медицине и ветеринарии (Труфляк и др. 2014; Sun *et al.*, 2015).

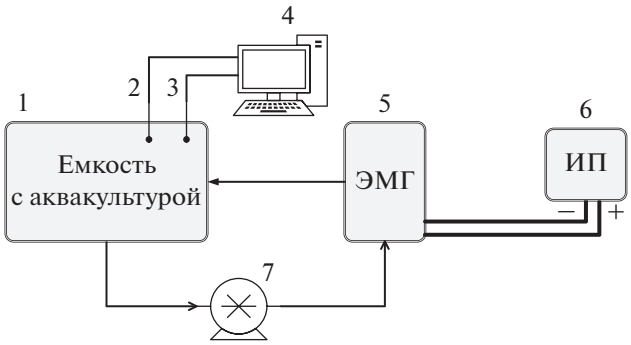

Рис. 1. Принципиальная схема обработки воды: 1 – емкость с рабочим объемом 50 л с опытными объектами аквакультуры; 2 – pH метр; 3 – ОВП метр; 4 – ПК; 5 – электромембранный генератор с биполярной мембраной; 6 – источник питания; 7 – перистальтический насос.

Цель данной работы – изучить влияние воды с высоким отрицательным ОВП на физиологические показатели молоди африканского клариевого сома.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в лаборатории перспективных технологий в аквакультуре на базе бизнес-инкубатора ФГБОУ ВО “Кубанский государственный университет”.

В качестве экспериментального объекта использовали молодь африканского клариевого сома (мраморный клариевый сом или нильский клариас (*Clarias gariepinus*)).

Эксперимент проводили в период с 24.04.2019 г. по 24.05.2019 г. Общая продолжительность составила 30 дней.

Для содержания молоди использовали шесть пластиковых непрозрачных емкостей объемом 60 л размерами 710 × 400 × 290 мм каждая. Две емкости использовали для контрольных групп, остальные четыре – для двух опытных групп. Таким образом, все наблюдения были проведены в двукратной повторности. Каждую емкость наполняли водой в количестве 50 л. Для контрольной группы емкости наполняли отстоянной водопроводной водой (табл. 1). В эксперименте использовали аналогичную воду, которую предварительно обрабатывали путем снижения окислительно-восстановительного потенциала в опыте № 1 в течение 30 мин и в опыте № 2 в течение 60 мин.

Для получения воды с высоким отрицательным ОВП был собран электромембранный генератор ЭМГ-30 с экспериментальной биполярной ионообменной мембраной МБ-Э (Zabolotsky *et al.*, 2019; Mareev *et al.*, 2020; Melnikov *et al.*, 2020). Принципиальная схема обработки воды представлена на рис. 1.

При обработке вода из емкости с помощью перистальтического насоса производительностью 15 л/ч циркулировала через электромембранный генератор с размером электродов 1 дм^2, сила тока

составляла 1 А. Электроды были изготовлены из платинированного титана. Анодная и катодная камера разделены экспериментальной биполярной мембраной. В камерах генератора при протекании тока происходят следующие реакции:

$$\text{катод}(-): 2H_2O + 2e \rightarrow 2OH^- + H_2\uparrow, \quad (1)$$

$$\text{анод}(+): 2H_2O - 4e \rightarrow 4H^+ + O_2\uparrow. \quad (2)$$

Выделяющийся в катодной камере газообразный водород при растворении в воде смещает ее ОВП в отрицательную область. При использовании традиционных электролизеров для уменьшения ОВП воды происходит значительное смещение pH в катодной камере в щелочную область (pH > 11), что делает такую воду непригодной для жизнедеятельности объектов аквакультуры. В электромембранном генераторе происходит генерация катионов водорода на биполярной мембране, что компенсирует убыль этих ионов за счет электролиза. При обработке воды, изменяя токовые режимы и каталитическую активность мембраны, можно управлять скоростью генерации ионов водорода, чтобы поддерживать pH воды при ее обработке в заданном диапазоне. Таким образом, при обработке воды в электромембранном генераторе ее солевой состав и кислотность практически не изменяются, а ОВП от значений +150...+250 мВ снижается до –600...–500 мВ.

Обработку воды в емкостях проводили 1 раз в сутки, время работы электромембранного генератора составляло 30 мин для опытной группы 1 и 60 мин для опытной группы 2. ОВП воды в обрабатываемой емкости контролировали с помощью иономера Эксперт 001 (Россия).

В качестве измерительного использовали точечный платиновый электрод, электродом сравнения служил хлоридсеребряный электрод, заполненный насыщенным раствором хлорида калия. Хлоридсеребряный электрод имеет потенциал +220 мВ относительно стандартного водородного электрода, поэтому для определения реального значения ОВП необходимо из измеренного значения вычесть 220 мВ. Вид зависимости ОВП от времени показан на рис. 2 (вертикальными пунктирными линиями показано время включения и выключения электромембранного генератора).

При обработке воды происходит резкое снижение ОВП во всей емкости, несмотря на то, что за 15–30 мин обработки через генератор протекает только часть воды, однако за счет высокой концентрации растворенного и газообразного водорода происходит его быстрая диффузия по всему объему обрабатываемой емкости. После окончания обработки происходит плавное повышение

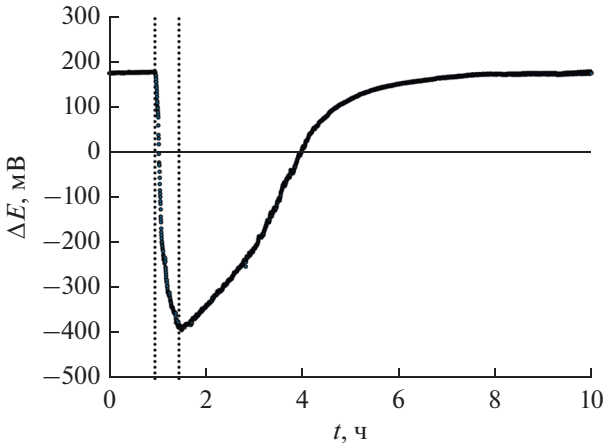

Рис. 2. Зависимость ОВП от времени.

ОВП за счет улетучивания водорода и его расходования на реакции восстановление различных органических веществ.

В каждую емкость помещали по 130 мальков с приблизительно одинаковой средней массой тела. В итоге в эксперименте было задействовано 780 рыб. Каждые шесть дней проводили определение биомассы групп, пересчет количества и корректировку суточных норм кормления. В конце опыта производили взвешивание и измерение длины каждой особи. Взвешивание рыбы проводили с точностью до 0.01 г, кормов – до 0.1 г на электронных весах. Также каждые двое суток осуществляли полную замену воды.

Молодь кормили два раза в сутки согласно рыбоводным нормативам, рекомендациям производителя кормов, при этом суточная норма кормления в процентах от биомассы задавалась одинаково как для контроля, так и для опытных групп и составила 5% от биомассы рыб. Кормление производили осетровым кормом *Coppens vital* (1.2–1.5 мм) с содержанием белка 46.0%, жира 100%, клетчатки 10%, золы 9.9% и фосфора 1.7%.

В течение эксперимента основные гидрохимические показатели (аммиак, нитриты, нитраты, pH) находились в норме. Температура воды в емкостях была в пределах 25 ± 2°С. Результаты обрабатывали с помощью стандартных статистических методов (Лакин, 1990). Статистическую достоверность отличий в группах выявляли с помощью *U*-критерия Манна–Уитни и критерия Краскела–Уоллиса для непараметрических и независимых групп.

Вычисляли следующие показатели: среднее значение ($\bar{x}$), среднее квадратическое отклонение (σ), коэффициент вариации (*CV*), медиана, 25-й и 75-й процентиль.

Таблица 2. Масса и длина тела африканского клариевого сома в течение эксперимента

Сутки	Контроль		Опыт № 1		Опыт № 2	
	n, шт.	$\bar{x} \pm \sigma$, *CV, %*	*n*, шт.	$\bar{x} \pm \sigma$, *CV, %*	*n*, шт.	$\bar{x} \pm \sigma$, *CV, %*
Масса, г						
1	260	0.58 ± 0.220 / 36	260	0.57 ± 0.235 / 34.8	260	0.58 ± 0.222 / 35.5
6	258	0.94 ± 0.380 / 37.4	256	1.01 ± 0.445 / 38.2	254	0.99 ± 0.416 / 37.3
12	250	1.48 ± 0.623 / 39.5	246	1.56 ± 0.733 / 41.1	248	1.56 ± 0.661 / 39.3
18	249	2.07 ± 0.895 / 41.3	240	2.35** ±1.15 / 44.5	244	2.28** ±0.987 / 40.8
24	245	2.81 ± 1.239 / 43.1	238	3.42* ±1.707 / 47.7	239	3.29* ±1.447 / 42.9
30	234	3.92 ± 1.748 / 44.6	230	5.02* ±2.561 / 51.0	229	4.85* ±2.153 / 44.4
Длина, см						
1	260	4.2 ± 0.060 / 16.5	260	4.2 ± 0.055 / 15.7	260	4.2 ± 0.057 / 16.1
30	234	8.1 ± 1.28 / 15.9	230	8.5** ±1.38 / 16.3	229	8.4* ±1.31 / 15.2

Примечание. – при сравнении с контролем (*U*-критерий Манна–Уитни): * – $p \leq 0.01$; ** – $p \leq 0.05$.

Показатели роста вычисляли по следующим формулам (Щербина, Гамыгин, 2006): удельная скорость роста (C_w) – $C_w = \frac{\ln M_t - \ln M_0}{t} \times 100\ \%$; относительный прирост – $\Delta M = \frac{M_t - M_0}{M_0} \times 100\%$, где M_0, M_t – средняя масса рыб в начале и конце периода соответственно.

Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных, проводили с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 12.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Температурный режим и водородный показатель в период выращивания были относительно стабильными. Температура варьировала в диапазоне от 23.5 до 25.9°C, pH от 7.3 до 8.0. При этом все изменения происходили синхронно в каждой группе. Это связано с особенностью работы электромембранного генератора, который поддерживает pH воды в заданном диапазоне аналогично контрольной группе, несмотря на снижение ОВП. Следует отметить, что при обработке опытных групп, происходило незначительное повышение температуры воды на 0.2–0.5°C, которая выравнивалась к контролю приблизительно за один час. Данное явление, как мы считаем, не могло повлиять на ход и результаты эксперимента.

В результате проведенных работ были получены основные биологические показатели молоди африканского клариевого сома (табл. 2).

В начале опыта средняя масса молоди составляла 0.58 г, длина – 4.2 см. В течение эксперимента рост молоди изменялся в каждой группе. В конце эксперимента средняя масса составляла: в контрольной группе – 3.92 г, опытной группе № 1 – 5.02 г и опытной группе № 2 – 4.85 г. Средняя длина в конце опыта составила у контрольной группы – 8.1 см, опытной группы № 1 – 8.5 см и опытной группы № 2 – 8.4 см. При сравнении с помощью *U*-критерия Манна–Уитни достоверных отличий выявлено не было между опытными группами № 1 и 2.

Сравнение с помощью критерия Краскела–Уоллиса всех групп в совокупности выявило достоверные отличия между ними по средней массе на 12.05.19 при $p \leq 0.05$, 18.05.19 и 24.05.19 при $p \leq 0.01$, по длине в конце эксперимента 24.05.19 при $p \leq 0.01$.

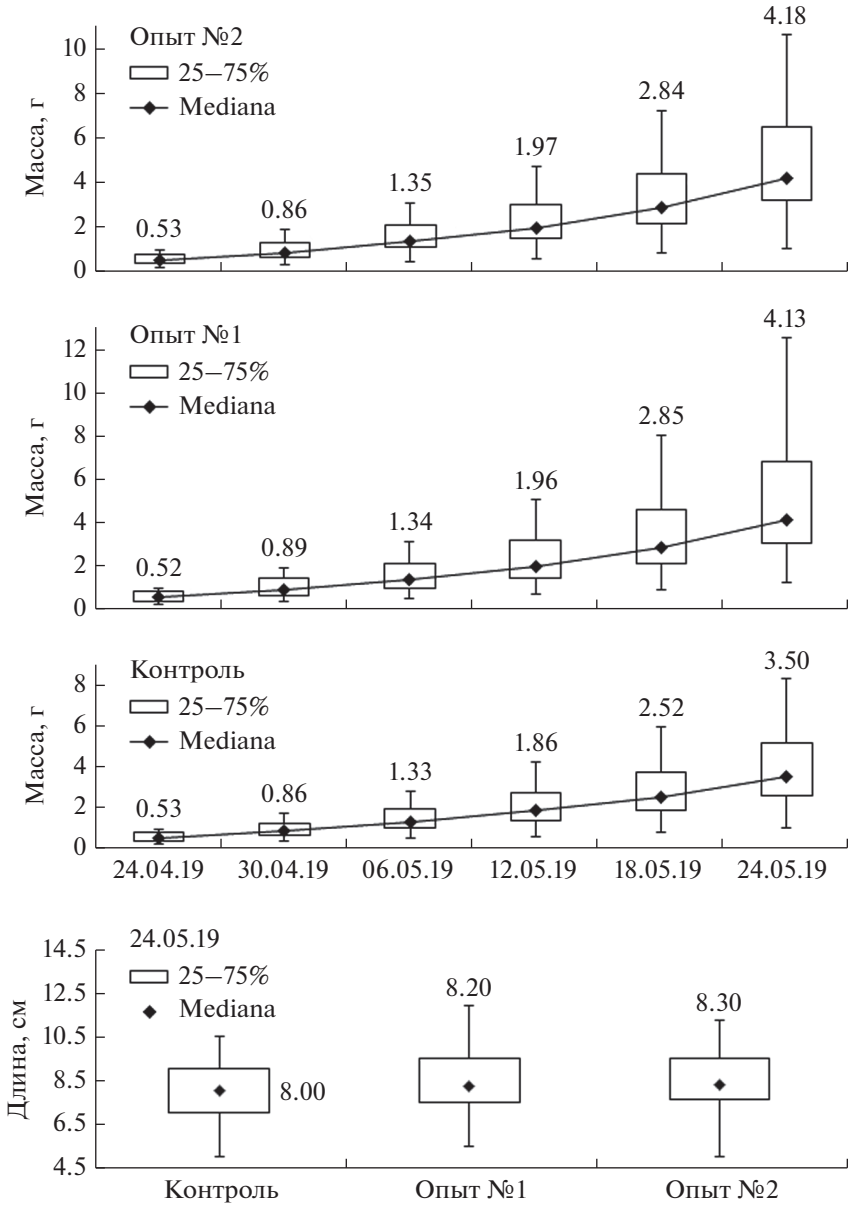

Рис. 3. Рыбоводно-биологические показатели африканского клариевого сома в течение эксперимента.

Коэффициент вариации массы тела в группах во времени изменялся от 34.8–36.0 до 44.4–51.0%, при этом различия по группам невелики.

В совокупности по группам по критерию Краскела–Уоллиса различия достоверны по медианам масс рыб: 18.05.19 при $p \leq 0.05$ и 24.05.19 при $p \leq 0.01$, по медианам длин в конце эксперимента 24.05.19 различия не выявлены (рис. 3).

Минимальная масса молоди африканского клариевого сома в конце эксперимента у всех групп была примерно одинаковой и составила 1.02–1.19 г, минимальная длина в конце также не сильно отличалась 5.0–5.5 см. В то время как максимальная масса молоди варьировала: контрольная группа – 8.2 г; опытная группа № 1 – 12.57 г; опытная группа № 2 – 10.55 г.

За время эксперимента во всех группах оценивали количество погибших рыб в вариантах (табл. 3). Изначально в опыте было задействовано по 260 экз. молоди африканского клариевого сома. Конечная выживаемость с учетом объема выборок не сильно разнилась и была следующей: контрольная группа – 234 экз. (90.0%), опытная группа № 1 – 230 экз. (88.5%), опытная группа № 2 – 229 экз. (88.1%). Такие показатели для данного вида являются нормой (Ковалев, 2006), так как они

Таблица 3. Показатели выживаемости молоди африканского клариевого сома

Сутки		Контроль	Опыт № 1	Опыт № 2
1	экз.	260	260	260
	%	100.0	100.0	100.0
6	экз.	258	256	254
	%	99.2	98.5	97.7
12	экз.	250	246	248
	%	96.2	94.6	95.4
18	экз.	249	240	244
	%	95.8	92.3	93.8
24	экз.	245	238	239
	%	94.2	91.5	91.9
30	экз.	234	230	229
	%	90.0	88.5	88.1

склонны к каннибализму и съедают ослабленных и мелкорослых особей. При этом данную разницу нельзя считать значительной и показательной.

Для оценки размерной структуры, полученной в конце эксперимента молоди африканского клариевого сома, составляли вариационные ряды (рис. 4, 5). Массу оценивали по шести размерным классам с интервалом 2 г, длину по семи с интервалом 1 см.

Минимальная величина размерной группы по массе составила 1.0–2.9 г, а максимальная – 11.0–12.9 г, а по длине минимальная составила 5.0–5.9 см, максимальная – 11.0–11.9 см.

На рис. 4 видно, что в контрольной группе по сравнению с опытной группой № 1 и опытной группой № 2 отсутствуют особи в классовых интервалах 9.0–12.9 г. Наибольшей представительностью по массе в контрольной группе характеризовались рыбы в наименьшем размерном классе 1.0–2.9 г (38%). В опытной группе № 1 и 2 данный класс занимал меньшие объемы 22.6 и 18.3%, а основное количество особей находится в диапазоне 3.0–4.9 г (38.3 и 44.1% соответственно).

Необходимо отметить, что длина по сравнению с массой характеризуется меньшей изменчивостью во времени (рис. 5). В отличие от массы распределение особей по длине является нормальным, что видно из гистограмм на рис. 5. При этом в контрольной группе отсутствовали особи в классе 11.0–11.9 см, а основное количество особей во всех группах находилось в диапазоне длин от 7.0 до 9.9 см.

Показательным является изменение биомассы в течение эксперимента (табл. 4): начальная масса в каждой группе составляла 151 г. На протяже-

Таблица 4. Динамика прироста и биомассы молоди клариевого сома

Сутки	Показатель	Контроль	Опыт № 1	Опыт № 2
6	биомасса, г	151	151	151
	прирост, г/сут.	15.9	18.0	17.2
	C_w, %	8.1	9.0	8.7
12	биомасса, г	246.2	258.8	254.4
	прирост, г/сут.	20.5	20.9	22.2
	C_w, %	6.8	6.6	7.0
18	биомасса, г	369.2	384	387.6
	прирост, г/сут.	24.4	29.9	27.8
	C_w, %	5.6	6.4	6.0
24	биомасса, г	515.4	563.6	554.6
	прирост, г/сут.	29.1	41.2	38.8
	C_w, %	4.9	6.1	5.8
30	биомасса, г	690.2	810.6	787.1
	прирост, г/сут.	37.7	57.4	53.8
	C_w, %	4.7	5.9	5.7
Окончание опыта	биомасса, г	91.6	1155.2	1109.6

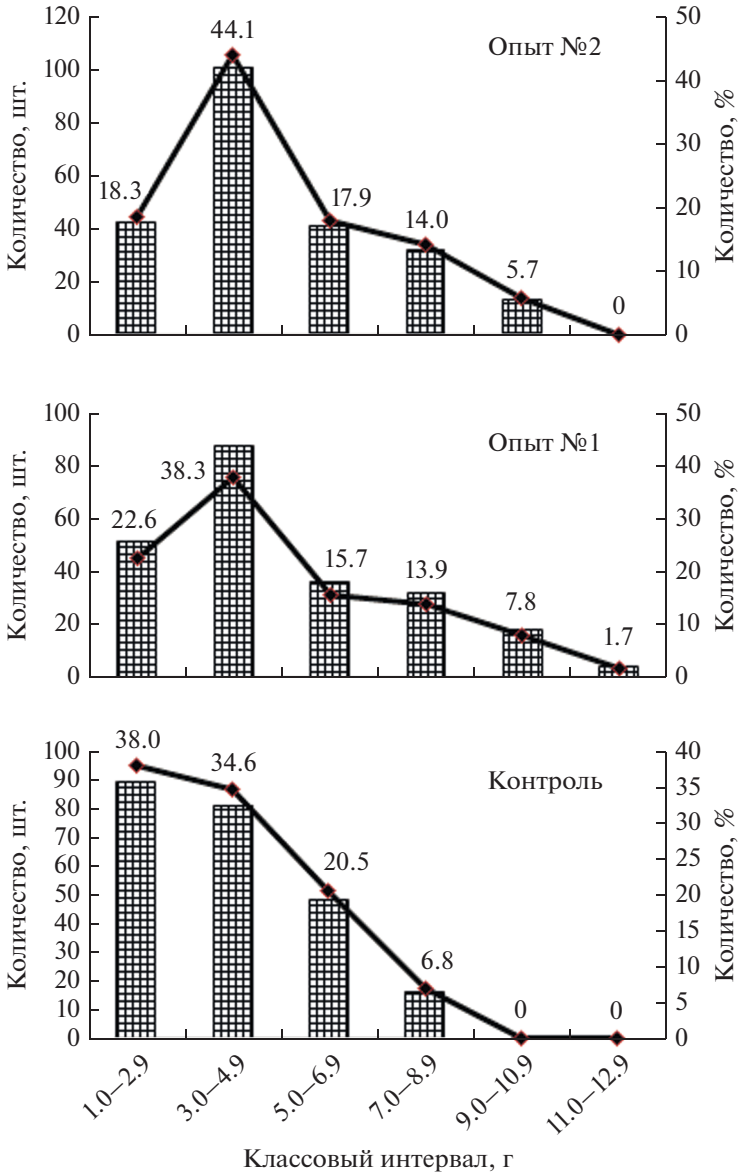

Рис. 4. Вариационный ряд длины молоди африканского клариевого сома по окончанию опыта.

нии всего эксперимента в контрольной группе наблюдали отставание в наборе биомассы. Наибольшим фактическим приростом биомассы в 1004.2 г характеризовалась опытная группа № 1, при этом, в контрольной группе – 756.6 и 958.6 г в опытной группе № 2. Ежесуточный прирост в контрольной группе составлял от 15.9 до 37.7 г/сут, опытной группе № 1 от 18.0 до 57.4 г/сут и опытной группе № 2 от 17.2 до 53.8 г/сут.

Суточная норма кормления, выраженная в процентах, увеличивалась соизмеримо и закономерно растущей биомассе на каждом этапе. При этом, из-за выявленного отставания контрольной группы (с 6 сут эксперимента), основным индикатором роста являлось описание его удельной скорости, которая по мере взросления организма снижалась во всех группах: от 9.0 до 5.9% в опытной группе № 1, от 8.7 до 5.7% в опыте группе № 2 и особенно от 8.1 до 4.7% в контрольной группе. Второй индикатор – относительный прирост биомассы. На рис. 6 можно заметить снижение биомассы, при этом у контрольной группы (24.7%) практически на всем протяжении эксперимента он всегда был ниже опытных группах № 1 (29.8%) и № 2 (29.1%).

Одним из показателей эффективности выращивания и работы организма в целом является кормовой коэффициент (табл. 5). В результате за

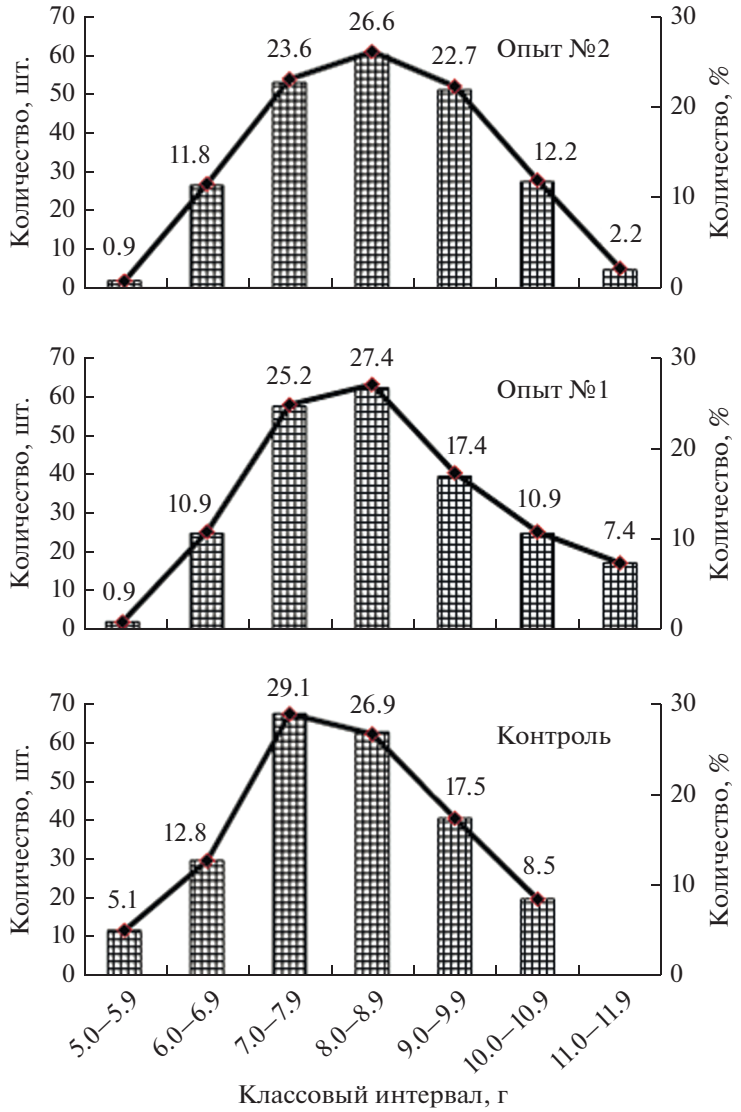

Рис. 5. Вариационный ряд длины молоди африканского клариевого сома по окончанию опыта.

все время эксперимента больше всего корма было съедено опытной группой № 1 – 650.4 г, а опытной группой № 2 и контрольной группой 640.4 и 591.6 г, соответственно. Несмотря на то, что у опытной группы № 1 наибольший расход корма, кормовой коэффициент у него меньше, чем у других опытных групп и равен 0.65 ед., тогда как у контрольной группы – 0.77 ед., а у опытной группы № 2 – 0.67 ед.

Таким образом, в результате проведенных работ нами установлено, что снижение ОВП от +150...+250 до –600...–500 мВ с помощью электромембранного генератора без изменения солевого состава и кислотности с экспозицией 30 и 60 мин раз в сутки положительно сказывается на основных биологических показателях молоди африканского клариевого сома. Причем наилучший показатель наблюдали в опытной группе с обработкой воды в течение 30 мин.

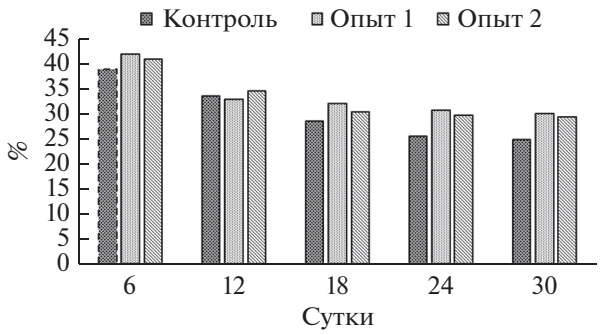

Рис. 6. Относительная динамика роста молоди африканского клариевого сома, %.

Таблица 5. Расход кормов в период проведения эксперимента

Опытная группа	Суточная норма кормления, г/сут / расход корма за период, г					Итоговый расход корма, г	ПБМ, г	КК, ед.
	Сутки							
	6	12	18	24	30			
Контроль	7.6 / 45.3	12.3 / 73.9	18.5 / 110.8	25.8 / 154.6	34.5 / 207.1	591.6	765.6	0.77
Опыт № 1	7.6 / 45.3	12.9 / 77.6	19.2 / 115.2	28.2 / 169.1	40.5 / 243.2	650.4	1004.2	0.65
Опыт № 2	7.6 / 45.3	12.7 / 76.3	19.4 / 116.3	27.7 / 166.4	39.4 / 236.1	640.4	958.6	0.67

Примечание. ПБМ – прирост биомассы; КК – кормовой коэффициент.

Эффективность выражается в статистически достоверном увеличении средних и максимальных масс молоди в опытных группах № 1 и 2, по сравнению с контрольной группой. При этом конечная выживаемость по группам с учетом объема выборок достоверно не отличалась. Наиболее представительными по массе в контрольной группе характеризовались рыбы в наименьшем размерном классе 1.0–2.9 г (38%), в свою очередь, в опытных группах № 1 и 2 основное количество особей находилось в диапазоне 3.0–4.9 г (38.3 и 44.1% соответственно). Удельная скорость роста изменялась примерно одинаково во всех группах. Относительный прирост биомассы контрольной группы практически на всем протяжении эксперимента всегда был ниже опытных групп № 1 и 2. У опытных групп № 1 и 2 был меньший по сравнению с контролем кормовой коэффициент, что говорит об эффективном усвоении корма молодью.

Таким образом, наблюдаемое увеличение продуктивности выращивания молоди африканского клариевого сома является результатом воздействия воды с высоким отрицательным ОВП на стимулирование биологических процессов в организме, однако механизм данного эффекта влияния требует более детального и тщательного изучения. Возможно, резкое изменение ОВП среды обитания клариевого сома приводит к возникновению стресса, что оказывает выраженное влияние на динамику биохимических, клеточных, тканевых и системных регуляторных процессов. Кроме того, попадание молекулярного водорода в организм приводит к изменению в экспрессии генов в системных органах, что также может отражаться на физиологических показателях молоди африканского клариевого сома.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного задания ЮНЦ РАН (АААА-А19-119040390083-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Власов В.А., Завьялов А.П. Воспроизводство и выращивание клариевого сома (*Clarias gariepinus*) в установках с замкнутым водообеспечением // Зоотехника. 2014. Т. 12. С. 22–24.

Ковалев К.В. Технологические аспекты выращивания клариевого сома (*Clarias gariepinus*) в рыбоводной установке с замкнутым циклом водообеспечения (УЗВ): дис. канд. с.-х. наук. М.: с.-х. акад. им. К.А. Тимирязева. 2006. 132 с.

Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.

Петрушанко И.Ю., Лобышев В.И. Неравновесные состояния электрохимически активированной воды и ее биологической активности // Биофизика. 2001. Т. 46(3). С. 389–401.

Петрушанко И.Ю., Лобышев В.И. Физико-химические свойства водных растворов, полученных в мембранном электролизере // Биофизика. 2004. Т. 49(1). С. 22–31.

Плутахин Г.А., Аидер М., Кощаев А. Г., Гнатко Е.Н. Теоретические основы электрохимической обработки водных растворов // Политематический сетевой электронный научный журн. Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ). 2013. Т. 8. Р. 092.

Погорелов А.Г., Кузнецов А.Л., Панаит А.И., Погорелова М.А., Суворов О.А., Иваницкий Г.Р. Дезинтеграция бактериальной плёнки посредством электрохимически восстановленного водного раствора // Докл. академии наук. 2019. Т. 486(3). С. 395–397. https://doi.org/10.31857/S0869-56524863395-397

Сергунина Л.А. Эффективный метод электролиза для обеззараживания питьевой воде // Гигиена и санитария. 1968. Т. 33(4). С. 16–21.

Труфляк Е.В., Курченко Н.Ю., Яркин Д.С. Изучение гидропосева овощных культур с применением электроактивированной воды // Научный журнал

КубГАУ. 2014. Т. 96(02). С. 1–15.
http://doi.org/ej.kubagro.ru/2014/02/pdf/06.pdf

Щербина М.А., Гамыгин Е.А. Кормление рыб в пресноводной аквакультуре. М.: ВНИРО, 2006. 360 с.

Abd-Elkareem M., Abou Khalil N.S., Sayed A.E.-D.H. Cytoprotective effect of Nigella sativa seed on 4-nonylphenol-induced renal damage in the African catfish (*Clarias gariepinus*) // Chemosphere. 2020. V. 259. P. 127379.

Adeoye A.A., Akegbejo-Samsons Y., Fawole F.J., Davies S.J. Preliminary assessment of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larval meal in the diet of African catfish (*Clarias gariepinus*): Impact on growth, body index, and hematological parameters // J. World Aquaculture Society. 2020. V. 51(4). P. 1024–1033.

Audu B.S., Ajima M.N.O. Metabolic enzyme profile, behavioural changes and morphophysiological parameters of African catfish *Clarias gariepinus* juveniles in response to burnt waste tyres // Comp. Clin. Pathology. 2020. V. 29(4). P. 787–797.

Bahir V. Electrochemical activation: A strategy for creation of environmentally benign technologies // Activated Water. 1996. V 1. P. 1–7.

Basov A., Fedulova L., Baryshev M., Dzhimak S. Deuterium-depleted water influence on the isotope $^2H/^1H$ regulation in body and individual adaptation // Nutrients. 2019a. V. 11(8). P. 1903.
https://doi.org/10.3390/nu11081903

Basov A., Fedulova L., Vasilevskaya E., Dzhimak S. Possible mechanisms of biological effects observed in living systems during $^2H/^1H$ isotope fractionation and deuterium interactions with other biogenic isotopes // Molecules. 2019b. V. 24(22). P. 4101.
https://doi.org/10.3390/molecules24224101

Basov A.A., Kozin S.V., Bikov I.M., Popov K.A., Moiseev A.V., Elkina A.A., Dzhimak S.S. Changes in prooxidant-antioxidant system indices in the blood and brain of rats with modelled acute hypoxia which consumed a deuterium-depleted drinking diet // Biol. Bulletin. 2019c. V. 46(6). P. 531–535.
https://doi.org/10.1134/S1062359019060049

Dumbo J.C., Gilbert B.M., Avenant-Oldewage A. Oxidative stress biomarkers in the African sharptooth catfish, Clarias gariepinus, associated with infections by adult digeneans and water quality // Intern. J. Parasitology: Parasites and Wildlife. 2020. V. 12. P. 232–241.

Hattori Y., Kotani T., Tsuda H., Mano Y., Tu L., Li H., Hirako S., Ushida T., Imai K., Nakano T., Sato Y., Miki R., Sumigama S., Iwase A., Toyokuni S., Kikkawa F. Maternal molecular hydrogen treatment attenuates lipopolysaccharide-induced rat fetal lung injury // Free Radic Res. 2015. V. 49. P. 1026–1037.
https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1038257

Huang G., Zhou J., Zhan W., Xiong Y., Hu C., Li X., Li Y., Liao X. The neuroprotective effects of intraperitoneal injection of hydrogen in rabbits with cardiac arrest // Resuscitation. 2013. V. 84(5). P. 690–5.
https://doi.org/10.1016/j.resuscitation.2012.10.018

Ichihara M., Sobue S., Ito M., Ito M., Hirayama M., Ohno K. Beneficial biological effects and the underlying mechanisms of molecular hydrogen – comprehensive review of 321 original articles // Med. Gas. Res. 2015. V. 5. P. 12.
https://doi.org/10.1186/s13618-015-0035-1

Ito M., Hirayama M., Yamai K., Goto S., Ito M., Ichihara M., Ohno K. Drinking hydrogen water and intermittent hydrogen gas exposure, but not lactulose or continuous hydrogen gas exposure, prevent 6-hydorxydopamine-induced Parkinson's disease in rats // Med. Gas. Res. 2012. V. 2. P. 15.
https://doi.org/10.1186/2045-9912-2-15

Jing L., Wang Y., Zhao X.M., Zhao B., Han J.J., Qin S.C., Sun X.J. Cardioprotective Effect of Hydrogen-rich Saline on Isoproterenol-induced Myocardial Infarction in Rats // Heart Lung Circ. 2015. V. 24(6). P. 602–10.
https://doi.org/10.1016/j.hlc.2014.11.018

Mareev S.A., Evdochenko E., Wessling M., Kozaderova O.A., Niftaliev S.I., Pismenskaya N.D., Nikonenko V.V. A comprehensive mathematical model of water splitting in bipolar membranes: Impact of the spatial distribution of fixed charges and catalyst at bipolar junction // J. Memb. Science. 2020. V. 603. P. 118010.
https://doi.org/10.1016/j.memsci.2020.118010

Mashaly M.I., Allam H.E., El-Naggar M.M. Impacts of physicochemical and heavy metal parameters on infestation level of the monogeneans, Quadriacanthus spp. infesting Nile catfish, *Clarias gariepinus* of different water localities in Nile Delta, Egypt // J. Parasitic Diseases. 2020. V. 44(3). P. 579–589.

Melnikov S.S., Mugtamov O.A., Zabolotsky V.I. Study of electrodialysis concentration process of inorganic acids and salts for the two-stage conversion of salts into acids utilizing bipolar electrodialysis // Separ. Purif. Techn. 2020. V. 235. P. 116198.
https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.116198

Ohsawa I., Ishikawa M., Takahashi K., Watanabe M., Nishimaki K., Yamagata K., Katsura K.-I., Katayama Y., Asoh S., Ohta S. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals // Nat. Med. 2007. V. 13(6). P. 688–94.
https://doi.org/10.1038/nm1577

Ohta S. Molecular hydrogen is a novel antioxidant to efficiently reduce oxidative stress with potential for the improvement of mitochondrial diseases // Biochim Biophys Acta. 2012. V. 1820(5). P. 586–94. https://doi.org.
https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.05.006

Oluah N.S., Aguzie I.O., Ekechukwu N.E., Madu J.C., Ngene C.I., Oluah C. Hematological and immunological responses in the African catfish Clarias gairepinus exposed to sublethal concentrations of herbicide Ronstar® // Ecot. Environ. Safety. 2020. V. 201. P. 110824.

Shinbo T., Kokubo K., Sato Y., Hagiri S., Hataishi R., Hirose M., Kobayashi H. Breathing nitric oxide plus hydrogen gas reduces ischemia-reperfusion injury and nitrotyrosine production in murine heart // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2013. V. 305(4). P. 542–550.
https://doi.org/10.1152/ajpheart.00844.2012

Siqwepu O., Salie K., Goosen N. Evaluation of potassium diformate and potassium chloride in the diet of the African catfish, *Clarias gariepinus* in a recirculating aquaculture system // Aquaculture. 2020. V. 526. P. 735414.

Stewart K.M. Physical Properties of Water // Encyclopedia of Inland Waters. 2009. P. 148–154.

Sun Q., Kang Z., Cai J., Liu W., Liu Y., Zhang J.H., Denoble P.J., Tao H., Sun X. Hydrogen-rich saline protects myocardium against ischemia/reperfusion injury in rats // Exp. Biol. Med. (Maywood). 2009. V. 234(10). P. 1212–1229. https://doi.org/10.3181/0812-RM-349

Sun X., Ohta S., Nakao A. Hydrogen Molecular Biology and Medicine // Springer. 2015. P. 122. https://doi/org/ https://doi.org/10.1007/978-94-017-9691-0

Swaleh S.B., Banday U.Z., Asadi M.-A., Usmani N. Biochemical profile and gene expression of *Clarias gariepinus* as a signature of heavy metal stress // Environ. Pollution. 2020. V. 264. P. 114693.

Volchenko N.N., Samkov A.A., Malyshko V.V., Khudokormov A.A., Moiseev A.V., Elkina A.A., Baryshev M.G., Pershin S.M. Influence of the environmental isotope composition modification on growth and metabolic activity of *Rhodococcus* and Saccharomyces // Biology Bulletin. 2020. V. 47(4). P. 326–330.https:// doi.org/ https://doi.org/10.1134/S1062359020040135

Yanagihara T., Arai K., Miyamae K., Sato B., Shudo T., Yamada M., Aoyama M. Electrolyzed hydrogen-saturated water for drinking use elicits an antioxidative effect: a feeding test with rats // Biosci. Biotechnol. Biochem. 2005. V. 69(10). P. 1985–1987.

Zabolotsky V.I., Korzhov A.N., But A.Yu., Melnikov S.S. Reagent-free electromembrane process for decarbonization of natural water // membranes and membrane technologies. 2019. V. 1(6). P. 341–346. https://doi.org/10.1134/S2517751619060076

Zaid A., Isibor P., Aduljelili O., Akinsanya B. Effects of herbal mixture (Jedi, gbewutu and opa-eyin) on the health status of juvenile african catfish (*Clarias gariepinus*) // Egyptian J. Aquatic Biol. Fish. 2020. V. 24(1). P. 31–48.

Zhang J., Blaszczyk A., Grifo J., Ozil J.P., Adler A., Berkeley A. Electrical activation and *in vitro* development of human oocytes which failed fertilization following intracytoplasmic sperm injection // Fertility and Sterility. 1999. V. 7. P. 509–512.

Zhang G., Gao S., Li X., Zhang L., Tan H., Xu L., Chen Y., Geng Y., Lin Y., Aertker B., Sun Y. Pharmacological postconditioning with lactic acid and hydrogen rich saline alleviates myocardial reperfusion injury in rats // Sci. Rep. 2015. V. 5. P. 9858. https://doi.org/10.1038/srep09858

Zhang Y., Sun Q., He B., Xiao J., Wang Z., Sun X. Anti-inflammatory effect of hydrogen-rich saline in a rat model of regional myocardial ischemia and reperfusion // Int. J. Cardiol. 2011. V. 148(1). P. 91–95. https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2010.08.058

Stimulating the Growth of African *Clarias gariepinus* Youth by Modification of the Reducing Oxidation Potential of Water

D. V. Shumeiko[1], S. A. Loza[1], A. N. Korzhov[1], V. K. Romashov[1], V. V. Malyshko[2, 3], A. A. Elkina [1, 3, #], and A. V. Moiseev[4]

[1] *Kuban State University, st. Stavropolskaya, 149, Krasnodar, 350040 Russia*

[2] *Kuban State Medical University of the Ministry of Health of Russia, st. Sedina, 4, Krasnodar, 350063 Russia*

[3] *Federal Research Center Southern Scientific Center RAS, pr. Chekhov, 41, Krasnodar, 344006 Russia*

[4] *Kuban State Agrarian University, st. Kalinina, 13, Krasnodar, 350004 Russia*

[#]*e-mail: 013194@mail.ru*

The effect of water with a high negative oxidation-reduction potential (ORP) on the physiological parameters of juvenile African Clarius catfish (*Clarias gariepinus*) was studied. As a result of the studies, it was found that a decrease in the ORP of water from +150...+250 mV to –600...–500 mV using an electromembrane generator without changing the salt composition with a slight change in pH with an exposure of 30 and 60 minutes once a day has a positive effect on the main biological indicators of juvenile African Clarius catfish. The increase in biomass in the control group was 756.6 g, and in the experimental group (30 min of treatment) – 1004.2 g. Fish in the smallest size range were characterized by the highest weight representation in the control group: 1.0–2.9 g (38%). In the experimental groups, it was 22.6 and 18.3%, and the main number of individuals was in the range of 3.0–4.9 g (38.3 and 44.1%, respectively). It was found that the best performance is achieved when the aquatic environment is treated for 30 minutes.

Keywords: Clarias gariepinus, redox potential, water, biological systems

EDN: PRMIUE
ИЗВЕСТИЯ РАН. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ, 2022, № 3, с. 300–311

ЭКОЛОГИЯ

УДК 593.16(597):574.583:581

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИЙ, ПИКОФИТОПЛАНКТОНА И ФЛАГЕЛЛЯТ В УСТЬЕВОЙ ОБЛАСТИ Р. МЕКОНГ

© 2022 г. Д. Б. Косолапов*, **, @, Н. Г. Косолапова*, А. И. Цветков*, Динь Нгуен Ку***

**Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, пос. Борок, 109, Некоузский р-н, Ярославская обл., 152742 Россия*

***Череповецкий государственный университет, просп. Луначарского, 5, Череповец, Вологодская обл., 162600 Россия*

****Южное отделение Российско-Вьетнамского тропического центра, № 3, улица 3/2, округ 11, Хошимин, Вьетнам*

@E-mail: dkos@ibiw.ru

Поступила в редакцию 21.08.2020 г.
После доработки 21.09.2020 г.
Принята к публикации 21.09.2020 г.

В устьевой зоне р. Меконг (Вьетнам) впервые определены численность и биомасса основных компонентов планктонной микробной трофической сети: бактерий, пикофитопланктона, гетеротрофных и фототрофных флагеллят, изучены особенности их пространственного распределения, а также видовое разнообразие гетеротрофных флагеллят. В этой продуктивной загрязненной тропической речной экосистеме гетеротрофные бактерии имели крупные размеры, и их биомасса достигала высоких значений, характерных для гипертрофных вод. Они вносили основной вклад (в среднем, 73.8%) в формирование общей биомассы планктонного микробного сообщества. Вклад пикофитопланктона, гетеротрофных и фототрофных флагеллят составил 20.5, 3.9 и 1.9% соответственно. Идентифицировано 29 видов и форм гетеротрофных флагеллят, относящихся к восьми крупным таксонам и группе неопределенного систематического положения.

Ключевые слова: бактерии, пикофитопланктон, флагелляты, микробная “петля”, дельта Меконга

DOI: 10.31857/S102634702203009X

Бактерии и другие микроорганизмы – самые многочисленные и разнообразные компоненты водных экосистем (Gasol *et al.*, 1997). Они формируют микробные трофические сети (микробную “петлю”), в которых бактерии усваивают растворенные органические вещества, а простейшие выполняют функцию связующего звена между бактериями и мельчайшими водорослями и зоопланктоном, т.е. между микробной петлей и пастбищной пищевой цепью (Sanders, Wickham, 1993; Pomeroy *et al.*, 2007). Микроорганизмы играют важные роли в биогеохимических круговоротах углерода и других элементов, формировании качества воды и донных отложений, образовании и потреблении парниковых газов (Falkowski *et al.*, 2008).

Одна из центральных проблем экологии состоит в понимании закономерностей распределения организмов в водных экосистемах. В этой связи особый интерес вызывают устьевые участки рек, где в результате смешивания пресных речных и соленых морских вод возникают вертикальные и горизонтальные градиенты солености и других физико-химических параметров, которые определяют характер пространственно-временной изменчивости гидробионтов. Эстуарии и дельты характеризуются высоким содержанием биогенных элементов, взвешенных и растворенных органических веществ, и вследствие этого, высокой продуктивностью (Telesh, Khlebovich, 2010; Cloern *et al.*, 2017).

Меконг – крупнейшая река юго-восточной Азии, которая имеет длину 4800 км и протекает по территории шести государств. Площадь водосбора Меконга составляет 795000 км^2, а его устьевой области – 65170 км^2. Последняя принадлежит к дельтово-эстуарному типу и расположена в южной части Вьетнама в зоне тропического климата (Михайлов, Аракельянц, 2010). Меконг испытывает мощное хроническое загрязнение и интенсивно используется в качестве источника питьевого водоснабжения и орошения, приемника промышленных, сельскохозяйственных и бытовых сточных вод и для судоходства.

В нижнем течении р. Меконг проводили большое количество микробиологических исследований, которые были посвящены в основном изучению либо патогенных микроорганизмов (Ozaki *et al.*, 2014; Wilbers *et al.*, 2014), либо специфических групп бактерий, осуществляющих биодеградацию и трансформацию загрязняющих веществ (Asta

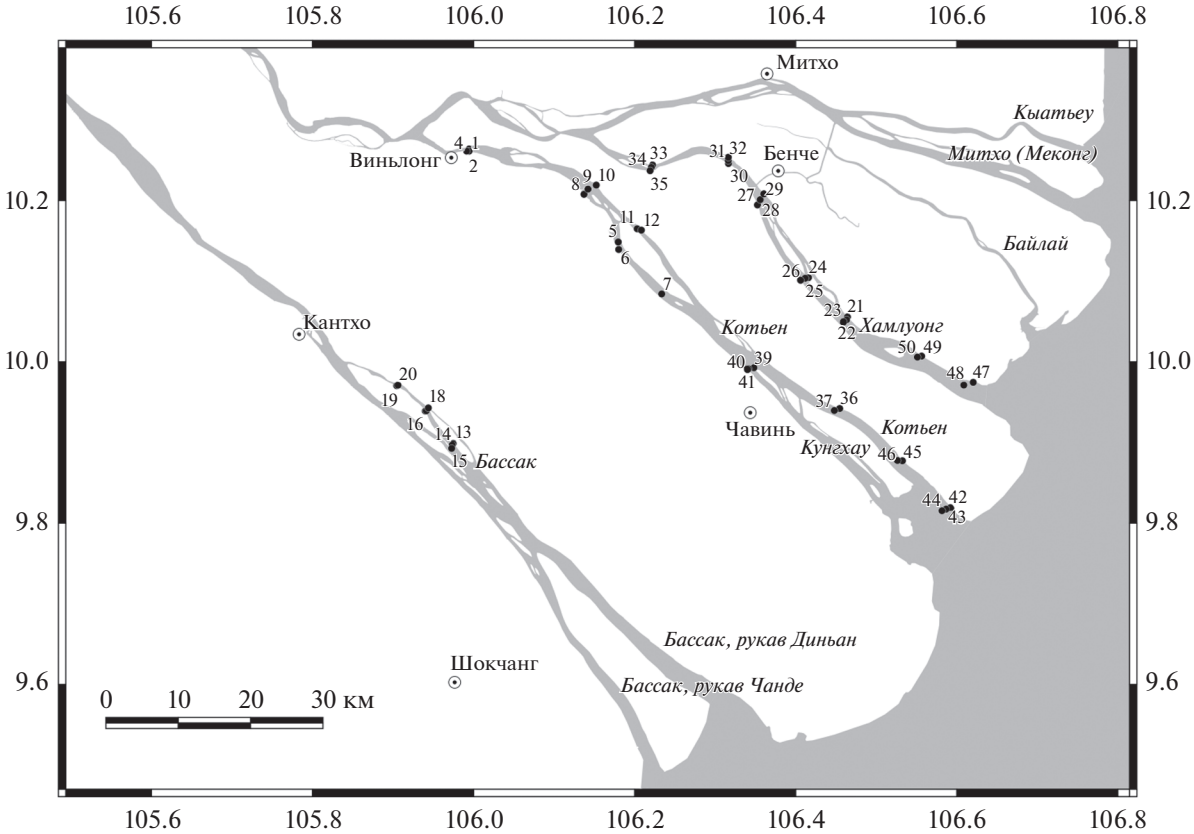

Рис. 1. Карта-схема расположения станций отбора проб в устьевой области р. Меконг 5–18 декабря 2018 г.

et al., 2019; Le *et al.*, 2017). Определение количества и активности бактериопланктона и других компонентов микробной трофической сети в дельте Меконга до сих пор не исследовали. Опубликованы данные по динамике бактериопланктона в прудах по разведению креветок и рыбы, расположенных в этом регионе (Alongi *et al.*, 1999; Wada *et al.*, 2016). Вместе с тем результаты, полученные при изучении устьевых участков других рек, показывают, что микроорганизмы играют важную роль в трофодинамике этих динамичных экосистем (Findlay *et al.*, 1992; Crump *et al.*, 2004).

Цель работы – определение численности и биомассы основных компонентов планктонной микробной трофической сети: бактерий, пикофитопланктона и флагеллят, выявление особенностей их пространственного распределения и изучение видового разнообразия гетеротрофных флагеллят в устьевой области р. Меконг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили 5–18 декабря 2018 г. на трех рукавах нижнего течения р. Меконг: Хамлуонг, Котьен и Бассак (только пресноводная часть). В этих рукавах визуально выделяли характерные участки, на которых осуществляли отбор проб воды по поперечному профилю: в медиали и рипали правого и/или левого берега. Пробы воды были получены на 50 станциях, большинство из которых находилось в пресноводной зоне (рис. 1). Воду из поверхностного слоя отбирали с помощью батометра Ван-Дорна, и сразу же помещали в стерильные пластиковые флаконы объемом 60 мл. Водные пробы фиксировали 40%-ным формальдегидом до конечной концентрации 2%, хранили в темноте при температуре 4°C и обрабатывали в лаборатории в течение 2 мес. Все используемые для учета микроорганизмов растворы реактивов предварительно фильтровали через фильтры с диаметром пор 0.2 мкм.

Численность и размеры бактерий, пикофитопланктона, гетеротрофных и фототрофных флагеллят определяли методом эпифлуоресцентной микроскопии с использованием микроскопа Olympus BX51 (Япония) с системой анализа изображений при увеличении 1000 раз (Porter, Feig, 1980; Caron, 1983; MacIsaac, Stockner, 1993). Объемы микробных клеток рассчитывали по формулам объемов цилиндра, шара или эллипсоида. Сырую биомассу вычисляли путем умножения их численности на средний объем клеток. Содержание углерода в бактериальных клетках (C, фг C/кл) рассчитыва-

ли с использованием следующего аллометрического уравнения:

$C = 120 \times V^{0.72}$ (Norland, 1993). Для перевода биомассы пикофитопланктона в единицы углерода использовали коэффициент, равный 200 (Weisse, 1993), флагеллят – 220 фг С/мкм^3 (Borsheim, Bratbak, 1987).

Гетеротрофных жгутиконосцев идентифицировали до вида или рода в нефиксированных пробах воды с помощью фазово-контрастной микроскопии и компьютерной системы анализа изображений. Обнаруженных жгутиконосцев диагностировали по морфологическим признакам и особенностям их поведения (Жуков, 1993; Vørs, 1992). Выделение трофических групп жгутиконосцев и дифференцирование их видов по типу питания проводили, как это описано ранее (Sanders, 1991).

Измерения температуры, электропроводности и солености воды, концентрации растворенного кислорода проводили с использованием многопараметрического зонда YSI ProPlus через 1 м по всему столбу воды. В поверхностном слое воды определяли мутность с помощью портативного турбидиметра Hach 2000P и pH – с использованием портативного зонда Hanna HI 98121. Скорость течения на поверхности измеряли с помощью микрокомпьютерного скоростемера-расходомера МКРС.

При установлении зависимостей между количественными характеристиками микроорганизмов и параметрами окружающей среды применяли ранговый коэффициент корреляции Спирмена для уровня значимости 0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Физико-химическая характеристика. Температура воды в устьевой области р. Меконг в декабре 2018 г. колебалась в узком диапазоне: от 28.0 до 30.0°С. Значения pH воды находились в пределах 6.32–7.90 (в среднем, 6.92 ± 0.45). Электропроводность воды изменялась от 147 на пресноводных участках рукавов до 12 622 мкСм/см по мере приближения к морю, что соответствовало солености от 0.06 до 14.77 PSU, причем расслоение водной толщи в рук. Котьен было более выражено, чем в рук. Хамлуонг. Концентрация растворенного кислорода изменялась в пределах 4.03–7.61 мг/л, что соответствовало 52.7–99.3% насыщения, и мало различалась в поверхностном и придонном слоях воды: в среднем 5.67 ± 0.87 и 5.40 ± 0.79 мг/л соответственно. Скорость течения на разных участках колебалась от 0.1 до 1.2 м/с. Вода содержала большое количество взвешенных органических и минеральных частиц, и ее мутность составляла 20.5–121.0 (в среднем, 49.4 ± 24.2) NTU.

Бактериопланктон. Общее количество гетеротрофного бактериопланктона в дельте Меконга изменялось в пределах (6.20–10.76) × 10^6 кл/мл и составило в среднем (7.88 ± 1.11) × 10^6 кл/мл (рис. 2а). Наибольшие значения этого показателя, превышающие 10^7 кл/мл, зарегистрированы как в пресноводной, так и в солоноватоводной зонах. Минимальная численность бактериопланктона обнаружена в медиали пресноводного участка рук. Котьен.

Средние для пробы объемы бактериальных клеток варьировали в пределах 0.078–0.304 (в среднем, 0.177 ± 0.053) мкм^3. Максимальное и минимальное значения этого показателя были обнаружены в пресноводной части рукавов Хамлуонг и Котьен соответственно.

Максимальная (2983 мг/м^3) и минимальная (496 мг/м^3) биомасса бактериопланктона была зарегистрирована на тех же пресноводных участках дельты, где максимальными и минимальными были объемы бактериальных клеток (рис. 2б). Средняя биомасса оказалась равной 1404 ± 486 мг/м^3. Численность бактерий была менее вариабельным показателем (коэффициент вариации (C_V) составил 14.1%), чем объем их клеток (C_V = 30.0%) и биомасса (C_V = 34.6%).

В среднем численность, объем клеток и биомасса гетеротрофного бактериопланктона на пресноводных и солоноватоводных участках рукавов Меконга отличались незначительно: 7.98 × 10^6 и 7.73 × × 10^6 кл/мл, 0.167 и 0.192 мкм^3, 1360 и 1476 мг/м^3 соответственно. Численность и биомасса бактериопланктона были выше в пресноводной части рук. Хамлуонг, чем в его солоноватоводной части: в среднем, (8.63 ± 1.06) × 10^6 кл/мл и 1713 ± 502 мг/м^3, (7.18 ± 0.93) × 10^6 кл/мл и 1484 ± 332 мг/м^3 соответственно. Эти показатели в пресноводной зоне рук. Котьен, наоборот, в среднем, были ниже по сравнению с солоноватоводной: (7.93 ± 0.93) × × 10^6 кл/мл и 1057 ± 519 мг/м^3, (8.13 ± 1.08) × × 10^6 кл/мл и 1470 ± 465 мг/м^3 соответственно.

В бактериопланктоне дельты Меконга выделяли три размерные группы: мелкоразмерные (объем клеток (V) < 100 мкм^3), среднеразмерные (V = = 100–500 мкм^3) и крупноразмерные (V > 500 мкм^3). Бактерии с объемом клеток менее 100 мкм^3 составляли в среднем 58.9% общей численности бактериопланктона и 21.3% его общей биомассы (рис. 3а). Большую часть общей биомассы (54.1%) занимали клетки средних размеров. Они же составляли 31.5% общей численности. Вклад крупных палочек и нитей (V > 500 мкм^3) в формирование общей численности и биомассы бактериопланктона оказался равным 9.6 и 24.6% соответственно.

Пикофитопланктон. При проведении исследований мы отнесли к пикофитопланктону фотосинтезирующих организмов с линейными размерами менее 3 мкм, поскольку как было установлено ранее,

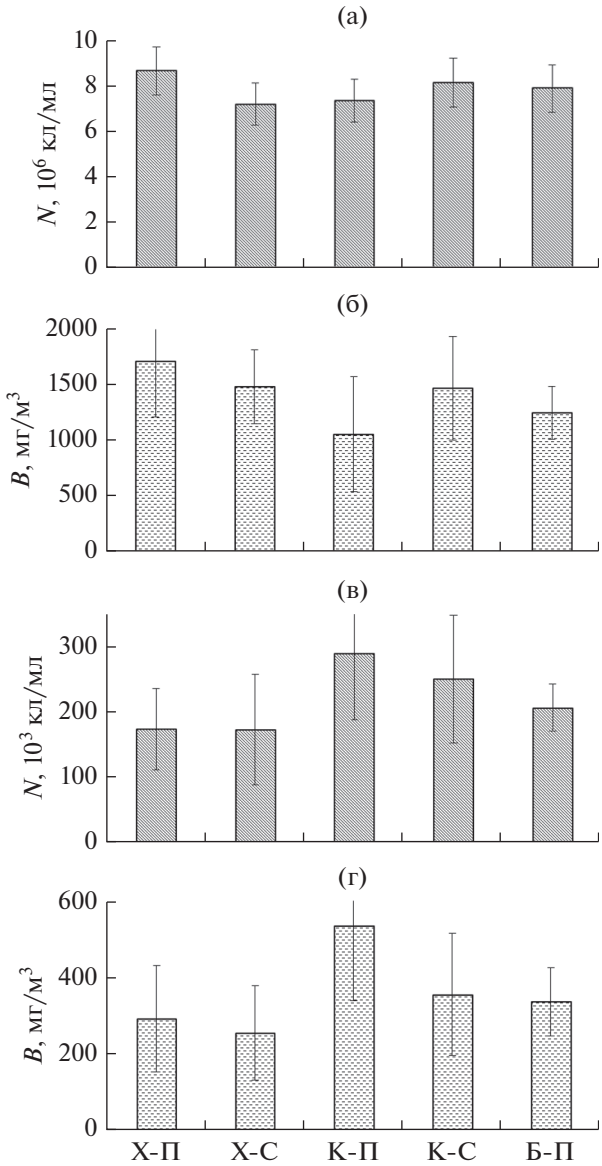

Рис. 2. Общая численность (а) и биомасса (б) гетеротрофного бактериопланктона и общая численность (в) и биомасса (г) пикофитопланктона на разных участках рукавов Меконга: пресноводном (Х-П) и солоноватоводном (Х-С) участках рук. Хамлуонг, пресноводном (К-П) и солоноватоводном (К-С) участках рук. Котьен и пресноводном участке (Б-П) рук. Бассак.

клада, объединяющая пикоцианобактерий (*Synechococcus/Prochlorococcus/Cyanobium*), образована кокковидными и палочковидными клетками диаметром до 3 мкм (Callieri, 2010). Количество пикофитопланктона в дельте Меконга изменялось в пределах (88–530) × 10^3 (в среднем, (222 ± 92) × × 10^3) кл/мл и было на 1–2 порядка ниже количества гетеротрофного бактериопланктона (рис. 2в). Биомасса пикофитопланктона находилась в пределах 137–870 (в среднем. 361 ± 175) мг/м^3 (рис. 2г). Максимальные значения этих параметров зарегистрированы в рипали пресноводной части рук. Котьен: численности – на ст. 8. биомассы – на ст. 2. Минимальная численность и биомасса пикофитопланктона отмечались в солоноватых водах рукавов Хамлуонг и Котьен соответственно. Эти параметры варьировали в более широких пределах (C_V = 41.3 и 48.7% соответственно) по сравнению с таковыми гетеротрофного бактериопланктона.

На разных участках пикофитопланктон составлял от 6.0 до 60.1% (в среднем 21.9 ± 12.6%) суммарной биомассы пикофитопланктона и гетеротрофного бактериопланктона. Только на двух станциях, расположенных в пресноводной части рук. Котьен (ст. 4 и 8), где были максимальными размеры и численность пикофитопланктона, он занимал более половины суммарной биомассы. На всех остальных участках биомасса бактерий превышала биомассу пикофитопланктона.

Средняя численность пикофитопланктона в пресно- и солоноватоводной частях дельты оказалась примерно одинаковой: 223 × 10^3 и 218 × × 10^3 кл/мл соответственно, а средний объем его клеток и биомасса в пресноводной зоне были в 1.2–1.3 раза выше, чем в солоноватоводной: 1.73 и 1.43 мкм^3, 390 и 313 мг/м^3 соответственно. Численность и биомасса пикофитопланктона в рук. Котьен (в среднем, (270 ± 100) × 10^3 кл/мл и 445 ± ± 198 мг/м^3 соответственно) были выше таковых в рукавах Бассак (в среднем, (207 ± 36) × 10^3 кл/мл и 336 ± 90 мг/м^3 соответственно) и Хамлуонг (в среднем, (174 ± 70) × 10^3 кл/мл и 277 ± 131 мг/м^3 соответственно).

Гетеротрофные флагелляты. В дельте Меконга было идентифицировано 29 видов и форм гетеротрофных жгутиконосцев, относящихся к восьми крупным таксонам и группе неопределенного систематического положения (табл. 1). Наибольшим видовым разнообразием отличался отр. Хризофитовые (9 видов). Остальные таксоны содержали в своем составе не более 4 видов. Все обнаруженные виды являются типичными обитателями морских и пресных вод.

В среднем в одной пробе отмечалось 3.1 вида, что свидетельствует о низком уровне альфа-разнообразия сообщества. Максимальное число видов (8) было зарегистрировано в солоноватоводной рипали рук. Котьен (ст. 41, 0.18 PSU). Наиболее часто (более чем в 30% проб) встречались *Cafeteria roenbergensis* и *Spumella* sp. 1. Однако основу разнообразия составляли редкие виды, частота встречаемости которых не превышала 20%. Они составляли 85.5% всех идентифицированных видов. Некоторые организмы были обнаружены только в одной пробе – это *Actinomonas mirabilis, Bodomorpha minima, Bicosoeca campanulata, Bodo curvifilis, Cercomonas* sp., *Monosiga marina, Massisteria marina, Salpingoeca pixidium* и *Protaspis simplex.*

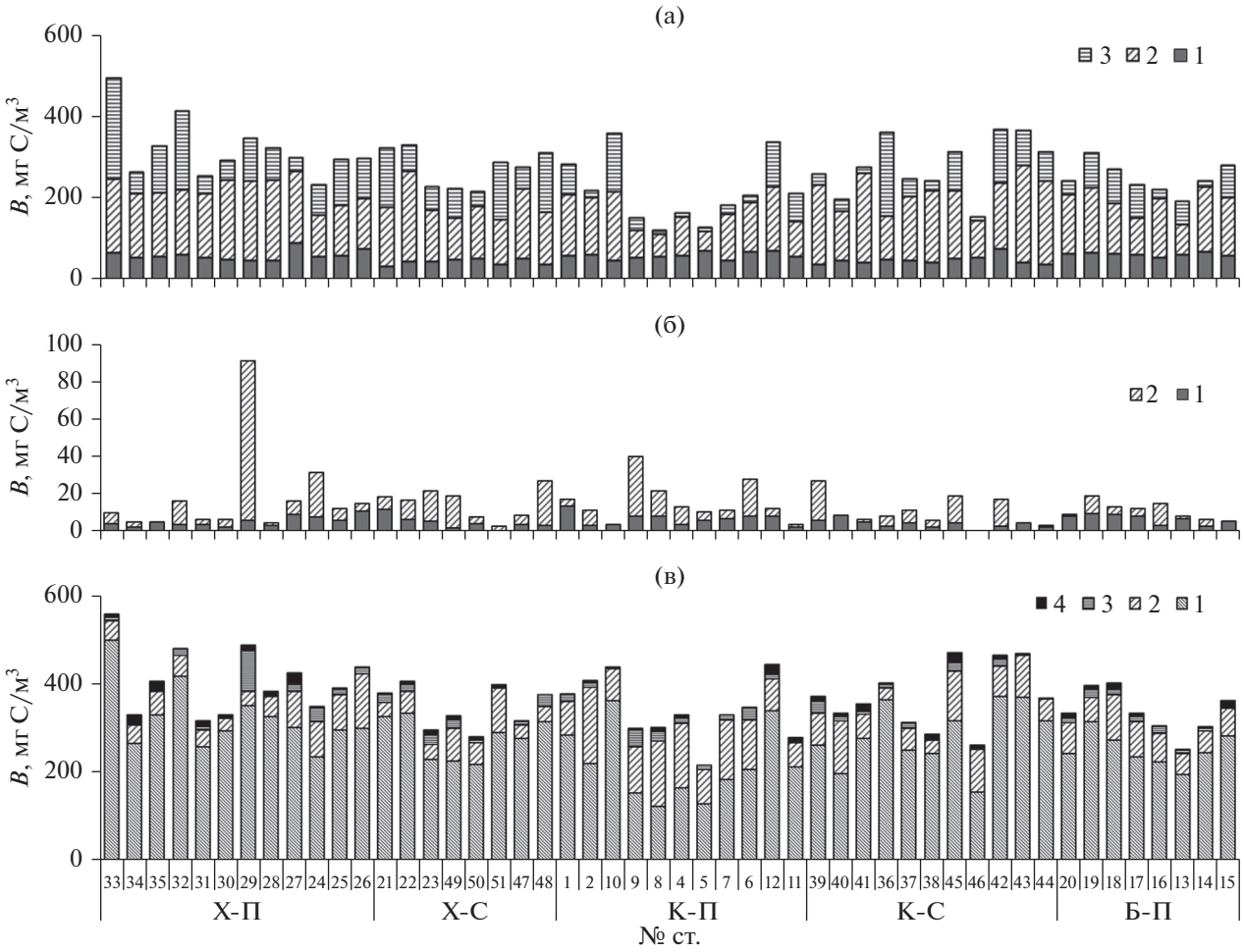

Рис. 3. а – Вклад бактерий с объемами клеток <100 (1), 100–500 (2) и >500 (3) мкм^3 в формирование общей биомассы бактериопланктона; б – вклад мелких (2–5 мкм) (1) и крупных (>5 мкм) (2) организмов в формирование общей биомассы гетеротрофных нанофлагеллят; в – суммарная биомасса планктонного микробного сообщества и вклад в ее формирование гетеротрофных бактерий (1), пикофитопланктона (2), гетеротрофных (3) и фототрофных (4) нанофлагеллят.

Наибольшее число таких видов (3) отмечено на солоноватоводном участке рук. Котьен.

Большинство идентифицированных в дельте Меконга жгутиконосцев по типу питания относились к бактерио-детритофагам. Были обнаружены также один вид-эврифаг (*Paraphysomonas imperforata*) и один хищный вид (*Colpodella angusta*).

Численность, средний объем клеток и биомасса гетеротрофных нанофлагеллят изменялись в широких пределах: от 214 до 3631 (в среднем, 1390 ± ± 681) кл/мл (рис. 4а), от 13.2 до 242.0 (в среднем, 46.5 ± 36.0) мкм^3 и от 5.1 до 413.6 (в среднем, 64.8 ± ± 62.3) мг/м^3 (рис. 4б) соответственно. Максимальное значение численности нанофлагеллят зарегистрировано в медиали пресноводного участка рук. Котьен, биомассы – в рипали пресноводного участка рук. Хамлуонг. На последнем участке биомасса жгутиконосцев существенно превышала значения этого параметра на других участках, поскольку здесь был обнаружен крупный пресноводный вид *Peranema* sp., размеры которого составляли 38 × 11 мкм. На других участках реки линейные размеры гетеротрофных нанофлагеллят не превышали 9 мкм. Минимальные значения их численности и биомассы зарегистрированы в солоноватых водах рук. Котьен.

Учитывали два размерных класса гетеротрофных нанофлагеллят: мелких (2–5 мкм) и крупных (>5 мкм). Численность мелких флагеллят значительно превышала таковую крупных флагеллят: первые составляли, в среднем, (81 ± 13%) их общей численности. Вклад мелких и крупных организмов в формирование общей биомассы был примерно одинаковым: в среднем 52.2 и 47.8% соответственно (рис. 3б).

Фототрофные флагелляты. Фототрофные флагелляты встречались не на всех участках рукавов Меконга: они не были зарегистрированы на 8 пресноводных и 4 солоноватоводных станциях.

Таблица 1. Таксоны и виды гетеротрофных жгутиконосцев

Таксон	Вид или форма
Chrysophyceae (Pascher, 1914)	*Paraphysomonas imperforata* (Lucas, 1967) *Siphomonas fritschii* (Pringcheim, 1946) *Spumella cylindrica* (Skuja, 1956) *S. minuta* *S. major* (Scuja, 1956) *S. vivipara* (Ehrenb.) (Pascher, 1912) *Spumella* sp. 1 *Spumella* sp. 2 *Stokesiella longipes* (Stokes, 1888) (Lemmermann, 1910)
Kinetoplastea (Honigberg, 1963)	*Bodo curvifilis* (Griessmann, 1913) *B. designis* (Skuja, 1948) *B. saltans* (Ehrenberg, 1832) *Bodo* sp.
Cercomonadida (Poche, 1913), (emend. Vickerman, 1983), (emend. Mylnikov, 1986)	*Bodomorpha globosa* (Stein, 1878) *B. minima* (Hollande, 1942) (Mylnikov and Karpov, 2004) *Protaspis simplex* (Vørs, 1992) *Cercomonas* sp.
Choanomonada (Kent, 1880)	*Monosiga marina* (Paasche, 1961) *Salpingoeca minor* (Dangeard, 1910) *S. pixidium* (Kent, 1880)
Bicosoecida (Grassé, 1926), (emend. Karpov, 1998)	*Bicosoeca campanulata* (Lackey, 1942) (Bourrelly, 1953) *B. conica* (Lemmermann, 1914) *Cafeteria roenbergensis* (Fenchel and Patterson, 1988)
Euglenida (Bütschli, 1884), emend. Simpson, 1997	*Peranema* sp.
Dictyochophyceae (Silva, 1980)	*Actinomonas mirabilis* (Kent, 1880)
Colpodellida (Cavalier-Smith, 1993) (emend. Adl et al., 2005)	*Colpodella angusta* (Dujardin, 1841) (Simpson and Patterson, 1996)
Incertae sedis EUKARYOTA	*Ancyromonas sigmoides* (Kent, 1880) *Amastigomonas debruynei* (De Saedeleer, 1931) *Massisteria marina* (Larsen and Patterson, 1990)

Там, где они были обнаружены, их численность изменялись от 107 до 534 кл/мл, биомасса – от 5 до 115 мг/м^3 (рис. 4в и 4г). Максимальная численность фитофлагеллят зарегистрирована в рипали солоноватоводного участка рук. Котьен, биомасса – в рипали пресноводного участка рук. Хамлуонг. Линейные размеры фототрофных флагеллят находились в пределах 3–30 мкм, объем их клеток в среднем оказался в 3.2 раза больше такового гетеротрофных флагеллят. Однако биомасса фитофлагеллят на большинстве участках рукавов была ниже биомассы гетеротрофных флагеллят и составляла, в среднем, 31.5% суммарной биомассы фототрофных и гетеротрофных флагеллят.

Суммарная биомасса планктонного микробного сообщества (гетеротрофных бактерий, пикофитопланктона, гетеротрофных и фототрофных флагеллят) в дельте Меконга изменялась в пределах 954–3267 (в среднем, 1860 ± 444) мг/м^3 или 215–558 (в среднем, 364 ± 69) мг С/м^3 (рис. 3в). Большую ее часть занимали бактерии: на разных участках рукавов от 40.1 до 90.5%, а, в среднем, 73.8 ± 11.4%. Вклад пикофитопланктона, гетеротрофных и фототрофных флагеллят составил, в среднем, 20.5 ± 10.6, 3.9 ± 3.3 и 1.9 ± 1.7% соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Количество бактериопланктона в дельте Меконга в начале сухого сезона достигало значений, характерных для эвтрофных, а его биомасса – для гипертрофных вод (Копылов, Косолапов, 2007). Большие размеры бактерий и значительная доля в сообществе очень крупных бактерий, обусловлены, по-видимому, мощным хроническим загрязнением и эвтрофированием этой тропической реки. Размеры гетеротрофных бактерий существенно зависят

от концентрации и состава органических веществ в окружающей среде, и обычно их клетки достигают крупных размеров в богатых субстратами и биогенными элементами водах.

Соленость воды – один из ведущих абиотических факторов, влияющих на развитие гидробионтов, и распределение последних в устьевых участках рек в значительной степени определяется градиентом солености (Cloern *et al.*, 2017). Ранее при изучении эстуариев было показано, что количество, структура и динамика бактериопланктона отличаются в их пресноводной и солоноватоводной частях (Selje, Simon, 2003; Crump *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2017). Обычно численность бактериопланктона выше на пресноводных участках эстуариев, что обусловлено тем, что загрязненные речные воды по мере приближения к устью разбавляются более чистой морской водой.

В начале сухого сезона, когда проводились наши исследования, и морские воды поднимались примерно на 25 км от устья Меконга, показатели количественного развития гетеротрофного бактериопланктона и пикофитопланктона на пресноводных и солоноватоводных участках рукавов отличались незначительно. Вероятно, такой равномерный характер распределения микроорганизмов, связан с постоянным перемешиванием воды и донных отложений из-за быстрого течения и влияния приливов и отливов, постоянной температурой, высокой мутностью и повсеместным мощным загрязнением. Ранее при изучении бактериопланктона крупнейшего в США эстуария – Чесапикского залива было показано, что сезонные флуктуации и пространственное распределение бактериальных популяций во многом отражали колебания таких факторов окружающей среды, как соленость и температура воды. Несмотря на резкие градиенты этих и других факторов, в каждый из сезонов года бактериальное сообщество залива было гомогенным, тогда как сезонные различия были существенными (Kan *et al.*, 2007). В мелководном заливе Ионического моря (Греция), испытывающего антропогенное влияние, сезонные изменения состава бактериопланктона проявлялись более резко, чем пространственные, и распределение бактерий в разные сезоны было однородным (Meziti *et al.*, 2015).

В соответствии с концепцией относительности и множественности зон барьерных соленостей (Аладин, Плотников, 2013) в рукавах дельты Меконга можно выделить две основные зоны: пресноводную (<2‰) и солоноватоводную (5–8‰) и две переходные: пресноводную-солоноватоводную (2–5‰) и солоноватоводную-морскую (>8‰). Причем основная солоноватоводная зона соответствует зоне критической солености, которая представляет собой экологический и эволюционный барьер, при переходе через который меняется ряд важных свойств на разных уровнях биологической организации и где происходят нелинейные изменения скоростей и направлений абиотических и биотических процессов. Здесь же проходит граница распространения пресноводной и морской фауны (Telesh, Khlebovich, 2010).

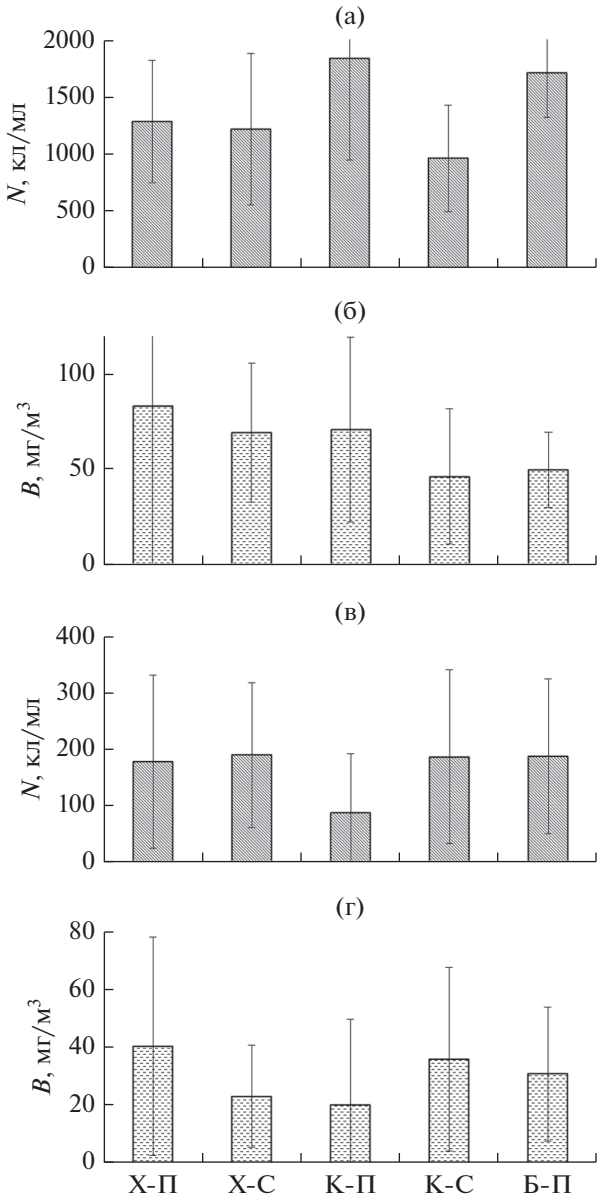

Рис. 4. Общая численность (а) и биомасса (б) гетеротрофных флагеллят, и общая численность (в) и биомасса (г) фототрофных флагеллят. Обозначения участков реки, как на рис. 2.

В устье Меконга численность и биомасса гетеротрофных микроорганизмов были минимальными в основной солоноватоводной зоне (критической солености), а фототрофных – в переходной солоноватоводной-морской (табл. 2). Максимальное количественное развитие пикофитопланктона и

Таблица 2. Численность (N) и биомасса (B) различных групп микроорганизмов и общая биомасса микробного сообщества (B_{Σ}) в разных соленостных зонах дельты р. Меконг

Зона	Соленость, ‰	Гетеротрофные бактерии		Пикофитопланктон		Гетеротрофные флагелляты		Фототрофные флагелляты		B_{Σ}, мг С/м^3
		N, 10^6 кл/мл	B, мг/м^3	N, 10^3 кл/мл	B, мг/м^3	N, кл/мл	B, мг/м^3	N, кл/мл	B, мг/м^3	
Пресноводная	<2	7.95 ± ± 1.12*	1377 ± ± 507	212 ± ± 89	364 ± ± 184	1572 ± ± 678	69.2 ± ± 69.3	161 ± ± 134	32.0 ± ± 30.5	363 ± ± 71
Пресноводная-солоноватоводная	2–5	8.34 ± ± 1.50	1586 ± ± 476	273 ± ± 120	403 ± ± 189	1282 ± ± 446	72.1 ± ± 36.2	257 ± ± 162	48.0 ± ± 35.7	408 ± ± 60
Солоноватоводная	5–8	6.93 ± ± 0.51	1190 ± ± 371	234 ± ± 87	352 ± ± 152	662 ± ± 324	36.0 ± ± 31.3	175 ± ± 128	27.6 ± ± 17.3	316 ± ± 53
Солоноватоводная-морская	>8	7.91 ± ± 0.62	1689 ± ± 341	226 ± ± 103	288 ± ± 132	801 ± ± 185	52.8 ± ± 49.9	54 ± ± 107	15.2 ± ± 30.4	381 ± ± 65

Примечание. * – среднее значение параметра ± стандартное отклонение.

фитофлагеллят отмечалось в пресноводной-солоноватоводной зоне. Численность и биомасса гетеротрофных жгутиконосцев возрастали в пресноводной и пресноводной-солоноватоводной зонах. Минимальные значения этих параметров характерны для зоны критической солености. В результате в этой зоне оказалась наименьшей общая биомасса микробного сообщества, а наибольшей она была в пресноводной-солоноватоводной зоне.

Пространственно-временная изменчивость микробных сообществ в эстуариях и дельтах рек зависит от взаимодействия многих одновременно действующих факторов, наиболее важными из которых, кроме солености, являются концентрация растворенных и взвешенных органических веществ, соединений биогенных элементов и кислорода, температура, активность консументов и вирусов-бактериофагов (Findlay *et al.*, 1992; Crump *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2017). Для фотосинтезирующих микроорганизмов важна также освещенность. Все эти факторы в значительной степени определяются гидрологическими и метеорологическими условиями. На распределение микроорганизмов в дельте Меконга также оказывает влияние перераспределение стока по рукавам. Наиболее активны в современный период северные рукава (Кыатьеу, Митхо, Балай), в которых активно идут русловые процессы, чему способствует высокая скорость течения. При продвижении к югу, рукава теряют свою активность (Михайлов, Аракельянц, 2010), в них снижаются скорости течения, повышается прозрачность и увеличивается риск “цветения” воды фитопланктоном. По всей видимости, это связано с уменьшением транспортирующей способности реки.

Биомасса пикофитопланктона обычно возрастает в градиенте трофии, тогда как ее вклад в формирование общей биомассы морского и пресноводного фитопланктона уменьшается (Bell, Kalff, 2001). Это связано с тем, что маленькие размеры и высокое отношение площади поверхности к объему клеток позволяют пикопланктону выигрывать конкуренцию за биогенные элементы у крупноразмерного фитопланктона и доминировать в олиготрофных водах. Однако пикопланктон, представленный прокариотными цианбактериями и эукариотными водорослями, может быть также главным компонентом фитопланктона в продуктивных эстуариях и прибрежных морских районах (Tsai *et al.*, 2010). Отношение биомасс гетеротрофного и фототрофного компонентов пикопланктона в градиенте трофии уменьшается: автотрофные компоненты вносят больший вклад в формирование биомассы пикопланктона в мезо- и эвтрофных водах, тогда как гетеротрофные – в олиготрофных (Santic *et al.*, 2014).

Биомасса гетеротрофного бактериопланктона в дельте Меконга отрицательно коррелировала с численностью ($r = -0.316$) и биомассой ($r = -0.448$) пикофитопланктона, что свидетельствует как о возможных конкурентах взаимоотношениях между этими группами микроорганизмов, так и о том, что их развитие могут контролировать разные факторы.

Исследования, проведенные в эстуарии р. Чжуцзян (Китай), выявили существенные различия в динамике гетеротрофных бактерий и пикоцианобактерий на пресноводных и солоноватоводных участках в сухой и влажный сезоны (Li *et al.*, 2017).

Количество как пикоцианобактерий, в составе которых доминировали *Synechococcus* spp., так и гетеротрофных бактерий, возрастало во влажный сезон. Ключевым фактором формирования структуры бактериопланктона была соленость.

В дельте Меконга численность и биомасса гетеротрофного бактериопланктона были наименее вариабельными параметрами (C_V = 14.1 и 34.6% соответственно) по сравнению с таковыми пикофитопланктона (41.3 и 48.7%), гетеротрофных (49.0 и 96.2%) и фототрофных (84.4 и 96.6%) жгутиконосцев. Известно, что бактерии являются наиболее стабильным компонентом биоты водоемов: таких резких, как у других групп гидробионтов, сезонных колебаний их количества не происходит, что свидетельствует об их устойчивости к изменению факторов окружающей среды и сбалансированности процессов их размножения и отмирания.

Разнообразие гетеротрофных нанофлагеллят в нижнем течении Меконга в начале сухого сезона было сравнительно невысоким: всего было идентифицировано 29 видов и форм из 8 крупных таксонов и группы неопределенного систематического положения. Численность и биомасса этих простейших, зарегистрированные в дельте Меконга, находятся в диапазоне этих параметров, определяемых в других морских и пресноводных экосистемах, в т. ч. в эстуариях рек, где их количество варьирует от $<10^2$ до $>10^4$ кл/мл, обычно достигая наибольших значений летом (McManus, Fuhrman, 1990; Huang *et al.*, 2008; Tsai *et al.*, 2010; Vargas *et al.*, 2012).

Гетеротрофные нанофлагелляты являются основными потребителями бактерий и пикофитопланктона и представляют собой источник пищи для инфузорий и зоопланктона, тем самым, играя важную роль в переносе углерода пикопланктона на более высокие уровни трофических сетей (Sanders, Wickham, 1993). К бактериотрофам относятся в основном мелкие флагелляты, тогда как более крупные виды могут выедать значительную часть биомассы фитопланктона (Verity *et al.*, 2002). Кроме бактерий и водорослей гетеротрофные нанофлагелляты могут использовать другие источники пищи, в частности, взвешенные и коллоидные органические вещества (Tranvik *et al.*, 1993; Scherwass *et al.*, 2005). Воды нижнего течения Меконга содержат большое количество органических и минеральных частиц, а большинство идентифицированных здесь видов гетеротрофных флагеллят относится к бактерио-детритофагам.

Количество и биомасса простейших в устьевых участках рек обычно уменьшаются по направлению к морю (McManus, Fuhrman, 1990; Rychert *et al.*, 2014). В дельте Меконга общая численность гетеротрофных флагеллят, а также численность и биомасса мелких флагеллят отрицательно коррелировали с соленостью и положительно – с мутностью воды. Достоверных корреляционных связей общей биомассы флагеллят с этими абиотическими параметрами обнаружено не было, но знаки коэффициентов корреляции были такими же. Зависимости между количественными показателями гетеротрофных флагеллят, бактерий и пикофитопланктона не были выявлены. По-видимому, это связано с тем, что в окружающей водной среде одновременно действует множество факторов, влияющих на развитие микроорганизмов. Кроме гетеротрофных и миксотрофных флагеллят другие консументы, такие как, инфузории, используют в пищу как бактерий, так и флагеллят. Среди главных факторов, контролирующих пространственное распределение флагеллят в эстуариях, находятся соленость, температура, концентрация биогенных элементов и хлорофилла, количество пищевых объектов и активность консументов (McManus, Fuhrman, 1990; Huang *et al.*, 2008; Tsai *et al.*, 2010; Vargas *et al.*, 2012; Rychert *et al.*, 2014).

Отношение численности бактерий к численности гетеротрофных флагеллят изменялось на разных участках в нижнем течении Меконга от 1709 до 31563 (в среднем, 7375 ± 4781). Биомасса гетеротрофных флагеллят составляла 0.75–26.44% (в среднем, 5.31 ± 5.30%) биомассы бактериопланктона и 0.44–19.83% (в среднем.3.85 ± 3.52%) суммарной биомассы бактерио- и пикофитопланктона. Это свидетельствует о хорошей обеспеченности жгутиконосцев пищевыми объектами, которые, по-видимому, не лимитировали их развитие. Вероятно, помимо абиотических факторов, важную роль в контроле гетеротрофных флагеллят в дельте Меконга играют инфузории и многоклеточный зоопланктон (контроль “сверху”). При этом надо учитывать, хотя гетеротрофные флагелляты избирательно выедают крупных и активных бактерий, самых крупных палочек и нитей, которые составляют заметную часть бактериопланктона в дельте Меконга, большинство флагеллят не способно использовать в пищу.

В прибрежных морских водах более половины общего количества нанофлагеллят могут составлять фототрофные организмы (Hall *et al.*, 1993; Tsai *et al.*, 2011; Vargas *et al.*, 2012). Хотя не все из них способны к фаготрофии, т.е. являются миксотрофами, последние могут вносить существенный, иногда основной вклад в потребление бактерий (Nygaard, Tobiesen, 1993; Unrein *et al.*, 2007; Tsai *et al.*, 2011). Так, фитофлагелляты были ответственны за 86% потребления бактерий всеми флагеллятами в верхнем слое водной толщи зал. Орхус (Дания) (Havskum, Riemann, 1996).

В дельте Меконга фитофлагелляты были минорным компонентом микробного сообщества: их вклад в формирование общей микробной биомассы не превышал 6.0%, а в среднем, оказался равным 1.9%. Биомасса фототрофных флагеллят

составляла, в среднем, 31.5% общей биомассы флагеллят и была больше биомассы гетеротрофных флагеллят только на 20% исследованных участков, в основном пресноводных.

***

Количество и распределение планктонных микроорганизмов в устьевой области р. Меконг зависит, в первую очередь, от гидрологических условий, а именно: стока реки и проникновения морских вод. В начале сухого сезона 2018 г. большая часть дельты находилась под влиянием пресных речных вод, и бактерии и другие микроорганизмы достигали высоких значений численности и биомассы. Это предполагает, что значительная часть потока углерода в этой тропической загрязненной экосистеме проходит через микробную петлю, представляющую собой важное связующее звено между первичными продуцентами и верхними уровнями планктонных трофических сетей. Дельта Меконга характеризовалась равномерным распределением микроорганизмов: значительных различий между пресными и солоноватыми участками обнаружено не было, что обусловлено быстрым течением, влиянием приливов и отливов, постоянной и высокой температурой, большой мутностью, действующим повсеместно мощным антропогенным воздействием. Флагелляты были в достаточной степени обеспечены своей основной пищей – пикопланктоном, и, по-видимому, их развитие, кроме гидрологических факторов, контролировалось "сверху" консументами. Дальнейшее изучение распространения, динамики, разнообразия и взаимоотношений микроорганизмов позволит оценить их значение в структурно-функциональной организации устьевых участков тропических рек и прогнозировать их реакции на антропогенные воздействия и климатические изменения.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания № 121051100102-2. Экспедиционные исследования в устьевой зоне р. Меконг проведены при финансовой и организационной поддержке Совместного Российско-Вьетнамского тропического центра.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Аладин Н.В., Плотников И.С. Концепция относительности и множественности зон барьерных соленостей и формы существования гидросферы // Тр. Зоол. ин-та. РАН. 2013. Прил. № 3. С. 7–21.

Жуков Б.Ф. Атлас пресноводных гетеротрофных жгутиконосцев (биология, экология, систематика). Рыбинск: Дом печати, 1993. 160 с.

Копылов А.И., Косолапов Д.Б. Микробиологические индикаторы эвтрофирования пресных вод // Биоиндикация в мониторинге пресноводных экосистем. Сборник материалов Межд. конф. / СПб.: Изд-во "Лема", 2007. С. 176–181.

Михайлов В.Н., Аракельянц А.Д. Особенности гидрологических и морфологических процессов в устьевой области р. Меконг // Водн. рес. 2010. Т. 37. № 3. С. 259–273.

Alongi D.M., Dixon P., Johnston D.J. et al. Pelagic processes in extensive shrimp ponds of the Mekong delta, Vietnam // Aquaculture. 1999. V. 175. P. 121–141.

Asta M.P., Wang Y., Frutschi M. et al. Microbially mediated release of As from Mekong Delta peat sediments // Environ. Sci. Technol. 2019. V. 53. № 17. P. 10208–10217.

Bell T., Kalff J. The contribution of picophytoplankton in marine and freshwater systems of different trophic status and depth // Limnol. Oceanogr. 2001. V. 46. P. 1243–1248.

Borsheim K.Y., Bratbak G. Cell volume to carbon conversion factors for a bacterivorous *Monas* sp. enriched from seawater // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1987. V. 36. P. 171–175.

Callieri C. Single cells and microcolonies of freshwater picocyanobacteria: a common ecology // J. Limnol. V. 69. 2010. P. 257–277.

Caron D.A. Technique for enumeration of heterotrophic and phototrophic nanoplankton, using epifluorescence microscopy, and comparison with other procedures // Appl. Environ. Microbiol. 1983. V. 46. № 2. P. 491–498.

Cloern J.E., Jassby A.D., Schraga T.S. et al. Ecosystem variability along the estuarine salinity gradient: Examples from long-term study of San Francisco Bay // Limnol. Oceanogr. 2017. V. 62. № S1. P. S272–S291.

Crump B.C., Hopkinson C.S., Sogin M.L., Hobbie J.E. Microbial biogeography along an estuarine salinity gradient: combined influences of bacterial growth and residence time // Appl. Environ. Microbiol. 2004. V. 70. P. 1494–1505.

Falkowski P.G., Fenchel T., DeLong E.F. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles // Science. 2008. V. 320. P. 1034–1039.

Findlay S., Pace M.L., Lints D., Howe K. Bacterial metabolism of organic carbon in the tidal freshwater Hudson Estuary // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1992. V. 89. P. 117–153.

Gasol J.M., del Giorgio P.A., Duarte C.M. Biomass distribution in marine planktonic communities // Limnol. Oceanogr. 1997. V. 42. № 6. P. 1353–1363.

Hall J.A., Barrett D.P., James M.R. The importance of phytoflagellate, heterotrophic flagellate and ciliate grazing on bacteria and picophytoplankton sized prey in a coastal marine environment // J. Plankton Res. 1993. V. 15. P. 1075–1086.

Havskum H., Riemann B. Ecological importance of bacterivorous, pigmented flagellates (mixotrophs) in the Bay of Aarhus, Denmark // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1996. V. 137. P. 251–263.

Huang B., Lan W., Cao Z. et al. Spatial and temporal distribution of nanoflagellates in the northern South China Sea // Hydrobiologia. 2008. V. 605. P. 143–157.

Kan J., Suzuki M.T., Wang K. et al. High temporal but low spatial heterogeneity of bacterioplankton in the Chesapeake Bay // Appl. Environ. Microbiol. 2007. V. 73. № 21. P. 6776–6789.

Le H.P., Le T.K., Nguyen T.P.O. Isolation and characterization of carbendazim-degrading bacteria in rice paddy soil in Can Tho, Vietnam // Int. J. Adv. Res. 2017. V. 5. № 6. P. 863–870.

Li J., Jiang X., Jing Z. et al. Spatial and seasonal distributions of bacterioplankton in the Pearl River Estuary: The combined effects of riverine inputs, temperature, and phytoplankton // Mar. Pollut. Bull. 2017. V. 125. P. 199–207.

MacIsaac E.A., Stockner J.G. Enumeration of phototrophic picoplankton by autofluorescence microscopy // Handbook of methods in aquatic microbial ecology / Eds Kemp P.F. et al. Boca Raton: Lewes Publishers, 1993. P. 187–197.

McManus G.B., Fuhrman J.A. Mesoscale and seasonal variability of heterotrophic nanoflagellate abundance in an estuarine outflow plume // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1990. V. 61. P. 207–213.

Meziti A., Kormas K.A., Moustaka-Gouni M., Karayanni H. Spatially uniform but temporally variable bacterioplankton in a semi-enclosed coastal area // Syst. Appl. Microbiol. 2015. V. 38. P. 358–367.

Norland S. The relationship between biomass and volume of bacteria // Handbook of methods in aquatic microbial ecology / Eds Kemp P.F. et al. Boca Raton: Lewis Publishers, 1993. P. 303–308.

Nygaard K., Tobiesen A. Bacterivory in algae: A survival strategy during nutrient limitation // Limnol. Oceanogr. 1993. V. 38. № 2. P. 273–279.

Ozaki H., Co T.K., Le A.K. et al. Human factors and tidal influences on water quality of an urban river in Can Tho, a major city of the Mekong Delta, Vietnam // Environ. Monit. Assess. 2014. V. 186. P. 845–858.

Pomeroy L.R., Williams P.J.leB., Azam F., Hobbie J.I. The microbial loop // Oceanography. 2007. V. 20. № 2. P. 28–33.

Porter K.G., Feig Y.S. The use of DAPI for identifying and counting of aquatic microflora // Limnol. Oceanogr. 1980. V. 25. № 5. P. 943–948.

Rychert K. Kownacka J. Wielgat-Rychert M. Pluto-Prądzyńska A. Protozoan communities in the Vistula River estuary (Baltic Sea) // J. Ecol. Prot. Coastline. 2014. V. 18. P. 39–53.

Sanders R.W. Trophic strategies among heterotrophic flagellates // The biology of free-living heterotrophic flagellates. Oxford: Clarendon Press, 1991. P. 21–38.

Sanders R.W., Wickham S.A. Planktonic protozoa and metazoan: predation, food quality and population control // Mar. Microb. Food Webs. 1993. V. 7. № 2. P. 121–256.

Šantic D., Šestanovic S., Šolic M. et al. Dynamics of picoplankton community from coastal waters to the open sea in the Central Adriatic // Medit. Mar. Sci. 2014. V. 15. № 1. P. 179–188.

Scherwass A., Fischer Y., Arndt H. Detritus as a potential food source for protozoans: utilization of fine particulate plant detritus by a heterotrophic flagellate, *Chilomonas paramecium*, and a ciliate, *Tetrahymena pyriformis* // Aquat. Ecol. 2005. V. 39. P. 439–445.

Selje N., Simon M. Composition and dynamics of particle-associated and free-living bacterial communities in the Weser estuary, Germany // Aquat. Microb. Ecol. 2003. V. 30. P. 221–237.

Telesh I.V., Khlebovich V.V. Principal processes within the estuarine salinity gradient: A review // Mar. Pollut. Bull. 2010. V. 61. P. 149–155.

Tranvik L.J., Sherr E.B., Sherr E.F. Uptake and utilization of "colloidal DOM" by heterotrophic flagellates in seawater // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1993. V. 92. P. 301–309.

Tsai A.Y., Gong G.C., Sanders R.W. et al. The impact of the Changjiang River plume extension on the nanoflagellate community in the East China Sea // Estuar. Coast. Shelf Sci. 2010. V. 89. P. 21–30.

Tsai A.Y., Gong G.C., Sanders R.W. et al. Importance of bacterivory by pigmented and heterotrophic nanoflagellates during the warm season in a subtropical Western Pacific coastal ecosystem // Aquat. Microb. Ecol. 2011. V. 63. P. 9–18.

Unrein F., Massana R., Alonso-Saez L., Gasol J.M. Significant year-round effect of small mixotrophic flagellates on bacterioplankton in an oligotrophic coastal system // Limnol. Oceanogr. 2007. V. 52. P. 456–469.

Vargas C.A., Contreras P.Y., Iriarte J.L. Relative importance of phototrophic, heterotrophic, and mixotrophic nanoflagellates in the microbial food web of a river-influenced coastal upwelling area // Aquat. Microb. Ecol. 2012. V. 65. P. 233–248. https://doi.org/10.3354/ame01551

Verity P.G., Wassmann P., Frischer M.E. et al. Grazing of phytoplankton by microzooplankton in the Barents Sea during early summer // J. Mar. Syst. 2002. V. 38. P. 109–123. https://doi.org/10.1016/S0924-7963(02)00172-0

Vørs N. Heterotrophic amoebae, flagellates and Heliozoa from the Tvärminne Area, Gulf of Finland, in 1988–1990 // Ophelia. 1992. V. 36. № 1. P. 1–109.

Wada M., Mori F. Yokouchi K. et al. Comparison of planktonic microbial abundance and dissolved oxygen consumption between the aquaculture ponds of mudskippers and shrimps in the Mekong Delta, southern Vietnam // Fish Sci. 2016. V. 82. P. 787–797.

Weisse T. Dynamics of autotrophic picoplankton in marine and freshwater ecosystems // Adv. Microb. Ecol. 1993. V. 13. P. 327–370.

Wilbers G.-J., Becker M., Nga L.T. et al. Spatial and temporal variability of surface water pollution in the Mekong Delta, Vietnam // Sci. Total Environ. 2014. V. 485–486. P. 653–665.

Distribution of Bacteria, Picophytoplankton and Flagellates in the Mekong Delta

D. B. Kosolapov[1, 2, #], N. G. Kosolapova[1], A. I. Tsvetkov[1], and Dinh Nguyen Ku[3]

[1] *Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Nekouzskii raion, Yaroslavl oblast, 152742 Russia*

[2] *Cherepovets State Universityave, Lunacharskogo, 5, Cherepovets, Vologda oblast, 162600 Russia*

[3] *South Branch of the Russian-Vietnamese Tropical Center, No. 3, 3/2 Street, District 11, Ho Chi Minh City, Vietnam*

[#]*e-mail: dkos@ibiw.ru*

For the first time in the Mekong Delta (Vietnam), the abundance and biomass of the main components of the planktonic microbial food web: bacteria, picophytoplankton, heterotrophic and phototrophic flagellates were determined, as well as the features of their spatial distribution and the species diversity of heterotrophic flagellates were studied. In this productive pol-luted tropical river ecosystem, heterotrophic bacteria were large in size, and their biomass reached high values characteristic of hypertrophic waters. They made the main contribution (73.8% on average) to the formation of the total biomass of the planktonic microbial community. The contribution of picophytoplankton, heterotrophic and phototrophic flagellates was, on average, 20.5, 3.9, and 1.9%, respectively. 29 species and forms of heterotrophic flagellates belonging to 8 large taxons and a group of uncertain taxonomic position were identified.

Keywords: bacteria, picophytoplankton, flagellates, microbial loop, Mekong Delta

EDN: USJYPZ
ИЗВЕСТИЯ РАН. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ, 2022, № 3, с. 312–321

ЭКОЛОГИЯ

УДК 597-169:597.583.1(282.256.34)

СТРУКТУРА СООБЩЕСТВ ПАРАЗИТОВ ОКУНЯ (*Perca fluviatilis* L.) В НАЧАЛЬНЫЙ ПЕРИОД ФОРМИРОВАНИЯ БОГУЧАНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

© 2022 г. Ю. К. Чугунова*, @, Е. П. Иешко, @@**

**Красноярский филиал ФГБНУ "ВНИИ рыбного хозяйства и океанографии", ул. Парижской Коммуны, 33, Красноярск, 660097 Россия*

***Институт биологии Карельского научного центра РАН, ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910 Россия*

@E-mail: jhermann@mail.ru

@@E-mail: ieshkoep@gmail.com

Поступила в редакцию 03.09.2020 г.
После доработки 11.11.2020 г.
Принята к публикации 11.11.2020 г.

Впервые исследованы эколого-популяционные изменения видового богатства и разнообразия паразитических сообществ окуня *Perca fluviatilis* (L. 1758) в процессе трансформации биоты Богучанского водохранилища. Исходный состав паразитов (2012 г.) отличался высоким разнообразием, преобладали метацеркарии трематод. В 2014 г. происходит резкое обеднение видового состава паразитов, указывая на практическое отсутствие роли бентоса в этологии окуня. После заполнения водоема (2016–2019 гг.) видовой состав паразитов окуня заметно меняется: нарастает разнообразие и встречаемость паразитических инфузорий. Гельминты, имеющие планктонный путь развития (*Proteocephalus percae, Camallanus lacustris, Triaenophorus nodulosus*), становятся доминирующими, определяя лимнофильный тип паразитофауны.

Ключевые слова: водохранилища, сукцессия водоемов, паразитофауна, рыбы, окунь, *Perca fluviatilis*

DOI: 10.31857/S1026347022030064

Богучанское водохранилище – третье по площади водохранилище России, образовано в нижнем течении р. Ангары. Заполнение водоема проходило в 2012–2015 гг., площадь водного зеркала при нормальном подпорном уровне (НПУ) водохранилища 208.0 м составляет 2326 км^2, полный объем – 58.2 км^3, максимальная глубина – 75 м, средняя – 25 м (Корпачев и др., 2013; Корпачев, Пережилин, 2018; Барабанова, 2019). Трансформация р. Ангары при создании водохранилища формирует новый комплекс факторов, напрямую и опосредованно влияющих на состояние водной биоты.

В фитопланктоне р. Ангары (в районе формирования Богучанского водохранилища) до зарегулирования было зарегистрировано 236 таксонов планктонных водорослей. Средняя численность и биомасса в вегетационный период составляла 0.41–0.80 млн кл./л и 0.14–0.30 г/м^3 соответственно (Шевелева, Воробьева, 2009). В период заполнения водохранилища в составе фитопланктона происходит резкое снижение видового разнообразия (в 2014 г. – 10, в 2015 – 23 вида), но регистрируется вспышка количественных показателей цианобактерий (Глущенко, 2019). В 2016–2017 гг. количественные показатели фитопланктона существенно возросли. Максимальная численность (6.4–9.0 млн кл./л) отмечена весной, биомасса – летом (4.8–6.4 г/м^3) (Usoltseva, Titova, 2017).

Видовой состав зоопланктона р. Ангары до зарегулирования был представлен 60 видами (Шевелева, Воробьева, 2009) и не претерпел существенных изменений в первые годы заполнения водохранилища. Зоопланктон верхнего участка Богучанского водохранилища сходен по разнообразию фауны коловраток, ракообразных и комплекса доминантов с выше расположенным Усть-Илимским водохранилищем. По мере заполнения водохранилища гидрологический и температурный режимы способствовали развитию лимнофауны верхнего участка. Так на третьем году заполнения (2015 г.) численность и биомасса зоопланктона (на участке, расположенном в 100 км ниже плотины Усть-Илимской ГЭС), уже достигали 57.6 тыс. экз./м^3 и 1050 мг/м^3,

что значительно выше по сравнению с данными 2014 г. (13 тыс. экз./м^3 и 165 мг/м^3 соответственно). В 2016 г. продолжается увеличение продукции зоопланктона, биомасса которого на данном участке исследования составляла 2 г/м^3 (Шевелева и др. 2016).

Состав зообентоса в р. Ангаре на месте будущего водохранилища был разнообразен. В 2002–2003 гг. обнаружено 144 разновидности организмов различных таксонов. Численность и биомасса бентоса составляли 5.3 тыс. экз./м^2 и 17.0 г/м^2 соответственно. Доминировали байкальские гаммариды (53.0% численности, 65.0% биомассы), субдоминанты по численности – олигохеты и хирономиды (19.0 и 17.0%), по биомассе – моллюски и олигохеты (12.0 и 9.0%) соответственно (Бажина, Клеуш, 2014).

Во время наполнения водохранилища (2014 г.) донная фауна Богучанского водохранилища оказалась резко обедненной по видовому составу и включала виды из пяти таксономических групп, где преобладали хирономиды (11 видов). На 5-й год существования водохранилища (2018 г.) количество видов хирономид возрастает до 17. Чаще всего встречались *Polypedilum gr. nubeculosum* и *Cryptochironomus gr. defectus*, в целом фауна хирономид находится на стадии формирования (Машонская, 2019).

Ихтиофауна р. Ангары в зоне формирования Богучанского водохранилища насчитывала 31 вид рыб и рыбообразных из 11 семейств. Осетр (*Acipenser baeri* Brandt), стерлядь(*Acipenser ruthenus* Brandt), ленок (*Brachymystax lenok* Pallas) встречались в Ангаре единично, таймень (*Hucho taimen* Pallas) и сиг (*Coregonus lavaretus pidschian* Gmelin) были малочисленны. Наиболее распространенным являлся хариус (*Thymallus arcticus* Pallas). Лещ (*Abramis brama* L.) и верховка (*Leucaspius delineates* Heckel) мигрировали в систему Ангары из русла Енисея, а также через систему расположенных выше ангарских водохранилищ (Понкратов, 2014).

В современном составе рыбного населения регистрируются: щука (*Esox lucius* L.), окунь, ерш (*Gymnocephalus cernuus* L.), плотва (*Rutilus rutilus* L.), лещ, елец обыкновенный (*Leuciscus leuciscus* L.), язь (*Leuciscus idus* L,), налим (*Lota lota* L.), гольян обыкновенный (*Phoxinus phoxinus* L). Доминантами являются окунь и плотва, составляющие (по данным промысловой статистики в 2019 г.) 50 и 30% уловов соответственно. Как и вышерасположенные ангарские водохранилища (Олифер, 1977, Тугарина, 1977), Богучанское водохранилище в последующие годы станет водоемом окунёво-плотвичного типа.

В работе используются два ключевых понятия: “инфрасообщество” – все виды паразитов, обнаруженные у отдельной особи хозяина и “компонентное сообщество” – виды паразитов данной популяции хозяина (Holmes, Price, 1986). Изменения гидрологических и гидробиологических параметров на ранних этапах образования водохранилища рассмотрены на примере изменения видового состава и структуры паразитофауны окуня. Для оценки богатства фауны паразитов применен широко используемый в классической экологии метод, который учитывает зависимость видового богатства от площади обследованной территории или числа проб (Джиллер, 1988). В последние годы появились немногочисленные примеры изучения зависимости видового богатства паразитов от числа исследованных хозяев (Иешко, Коросов, 2012; Salgado-Maldonado *et al.*, 2016; Pelegrini *et al.*, 2018; Иешко и др., 2019; Llopis-Belenguer *et al.*, 2020).

Первыми в отечественной паразитологии данный подход реализовали Г.К. Петрушевский и М.Г. Петрушевская (1960), показавшие, что богатство паразитофауны имеет закономерную связь с числом исследованных рыб. В современной литературе широко обсуждается вопрос о механизмах формирования и природе паразитарных сообществ. Считается (Llopis-Belenguer *et al.*, 2020), что понимание действующих процессов может варьировать в зависимости от уровня пространственной организации и рассматриваемой грани разнообразия: таксономического, функционального и филогенетического.

Данная работа направлена на исследование концепции экологического соответствия в паразитологии. Трансформация речной биоты в условиях становления водохранилища – это процесс, в ходе которого представители рыбного населения сохраняются в тех случаях, когда способны приспособиться к новым условиям обитания. Используя эту модель, мы демонстрируем изменения видового разнообразия паразитов в процессе адаптации окуня к новым условиям обитания и использованию пищевых ресурсов, в ходе чего происходит утрата специфичных видов и становление новой структуры паразитофауны.

Трансформация в кратчайший период речной экосистемы в озерную дает возможность оценить динамику и перестройку паразитарных сообществ в ответ на изменения биоты. В этой связи можно предположить, что компонентные сообщества паразитов окуня, обитающих в изменяющихся условиях водохранилища, будут различаться богатством инфрасообществ и скоростью накопления видового богатства компонентных

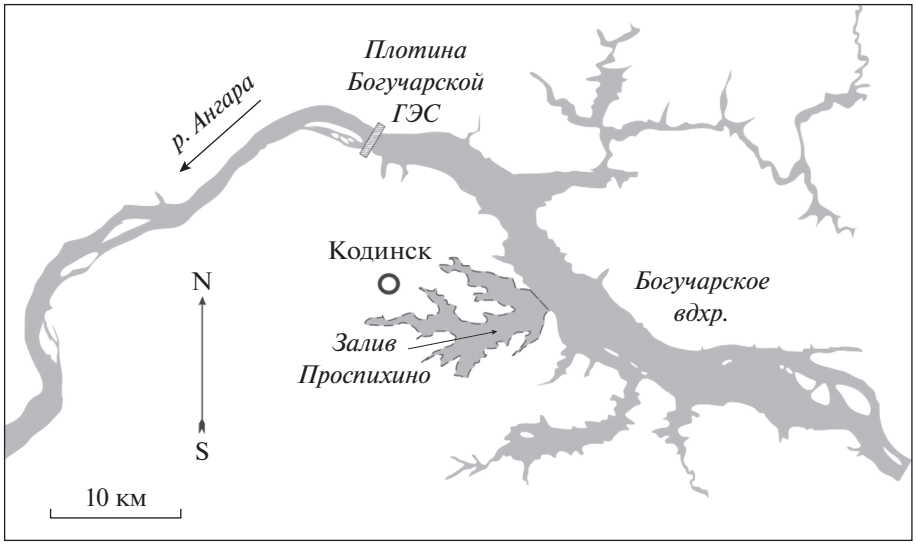

Рис. 1. Район проведения исследований.

сообществ паразитов по сравнению с исходным речным периодом.

В данной статье показаны изменения видового разнообразия и встречаемости паразитов, обусловленные утратой типичных мест обитания окуня при переходе водоема от речного статуса к озерному. Показаны паразитологические последствия обеднения бентосного и литорального комплекса в экологии и питании окуня, которые сопровождаются утратой специфичных видов гельминтов в связи с разрывом жизненного цикла. Рассмотрены особенности видового богатства компонентных сообществ, кривых накопления видового состава паразитов окуня в условиях трансформации условий обитания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал был собран летом (июнь–июль) 2012–2016 гг. и 2019 г. в зал. Проспихина (низовье Богучанского водохранилища) (рис. 1). Исследования проводили на живом (Быховская-Павловская, 1985) и фиксированном 10%-ном р-ром формалина (Доровских, Степанов, 2009) материале. Методом полного паразитологического вскрытия исследовано 139 экз. окуня.

Для количественной характеристики зараженности использовали следующие показатели: экстенсивность инвазии (ЭИ,%), индекс обилия (ИО, экз./рыбу). Численность инфузорий определяли по числу клеток (среднее значение в выборке в 25 полях зрения при увеличении микроскопа 10 × 15). В случае, когда среднее число клеток было <10 экз., указывали знак “+” (единично); от 10 до 50 экз. – “++” (мало); >50 экз. –“+++” (много).

Для описания связи количества обнаруженных видов паразитов с увеличением объема выборки хозяина использовали уравнение степенной регрессии $s = an^b$. Параметры уравнений регрессии имеют биологическую интерпретацию: коэффициент b характеризует скорость нарастания видового богатства компонентных сообществ паразитов (s) при росте числа исследованных особей хозяина (n), коэффициент a равен ожидаемому числу видов паразитов на первой особи, взятой из данной модельной выборки (Иешко и др., 2019).

Обработка и анализ данных выполнен с использованием программ Past (Hammer *et al.*, 2001) и R (https://www.r-project.org). Написанный на языке R скрипт для конкретной выборки методом рандомизации (Мастицкий, Шитиков, 2014) строит 100 серий кривых накопления видового богатства паразитов и для каждого ряда рассчитывает коэффициенты a и b регрессионного уравнения. Были рассчитаны группы коэффициентов по всем данным для каждого года отдельно. Ряды этих коэффициентов использовали для расчета средних, их распределений с оценкой значимости различий по DN-критерию Колмогорова–Смирнова.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Видовой состав паразитов окуня в разные годы. У окуня Богучанского водохранилища за весь период исследований обнаружен 31 вид паразитов,

относящихся к 7 типам: Choanzoa (кл. Ichthyosporea), Cnidaria (кл. Myxozoa), Ciliophora (кл. Oligohymenophorea), Platyhelminthes (кл. Monogenea, Cestoda, Trematoda), Nematoda (кл. Chromadorea), Arthropoda (кл. Hexanauplia), Mollusca (кл. Bivalvia).

Наиболее разнообразная паразитофауна, сохранившая типичный облик речных условий, найдена у окуня в начальный период заполнения водохранилища. В 2012 г. было обнаружено 17 видов паразитов, среди которых доля видов со сложным циклом развития несколько выше(52.9%), чем с простым (47.1%).Основу видового состава паразитов окуня формировали гельминты: моногенеи (2), трематоды (5), цестоды (1), нематоды (1). Ядро компонентного сообщества паразитов образуют метацеркарии трематод: *Ichthyocotylurus variegates* (Creplin, 1825) и *Diplostomum volvens* Nordmann, 1832, доминирующие по встречаемости и средней численности (табл. 1). К массовым видам можно отнести: *Apiosoma campanulatum* (Timofeev, 1962), *Camallanus lacustris,* Zoega, 1776, *Diplostomum spathaceum* Rudolphi, 1819). Единично встречались*Trichodina urinaria* Dogiel, 1940*, Ancyrocephalus percae* Ergens, 1966, *Achtheres percarum* (Nordmann, 1832).

В период наполнения водохранилища (2013–2014 гг.) уровень воды и границы литоральной зоны менялись каждый месяц. При этом видовой состав и структура фауны паразитов окуня претерпели значительные изменения за короткий период. В 2013 г. было найдено уже 12 видов, из них еще 5 представлены гельминтами. На следующий год при дальнейшем обеднении видового состава паразитов из оставшихся 9 видов, 6 представлены инфузориями и всего 3 вида паразитов со сложным циклом развития (*Tylodelphys clavata* Nordmann, 1832, *I. variegatus*, *C. lacustris*).

Полное заполнение водохранилища до проектной величины достигнуто в мае 2015 г. К этому периоду отмечается заметный рост видового богатства паразитов: зарегистрировано 17 видов, из которых 4 представлены гельминтами, имеющими планктонный тип жизненного цикла. Однако преобладающее число видов относится к представителям простейших. Среди гельминтов доминирующее положение занимают цестоды *Proteocephalus percae* (Müller, 1780) (66.6%) и нематоды *C. lacustris* (23.3%) (см. табл. 1).

Показательным фактором является отсутствие, наиболее часто встречаемых в предшествующий период, метацеркарий трематод *I. variegatus* и сокращение встречаемости метацеркарий р. *Dilostomum*.

Паразитофауна окуней, исследованных в период 2016–2019 гг., показала устойчивое нарастание встречаемости и интенсивности заражения рыб цестодами *P. percae* по сравнению с показателями 2015 г. Гельминты представлены 3 видами: нематоды *C. lacustris,* цестоды *P. percae* и впервые в составе паразитарного сообщества появились плероцеркоиды *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781). Важно отметить полное отсутствие трематод в составе паразитофауны окуня начиная с этого периода. Причем исчезли не только виды, попадающие в хозяина через кормовые объекты, но и активно нападающие.

Особенности и различия видового богатства компонентных сообществ паразитов окуня в начальный период и спустя 3 года после зарегулирования (2015 г.), по-видимому, связаны с изменениями богатства инфрасообществ. Для наиболее корректного анализа рассмотрены одновозрастные выборки рыб. Сравнивали видовое богатство инфрасообществ окуней (3+) в 2012 г. и в 2015 г. При этом в начальный период это были рыбы, выклюнувшиеся еще в реке и обитавшие в естественных условиях, а спустя три года – это уже окуни, появившиеся и выросшие в водохранилище.

Инфрасообщества паразитов и характеристика кривых накопления видового богатства компонентных сообществ. Распределение видового богатства инфрасообществ паразитов окуня в исследованные годы практически всегда носило агрегированный характер, при котором в популяции доминировали рыбы с малым числом видов паразитов. Особи с большим числом видов паразитов были единичны.

В 2012 г. незараженные рыбы в выборке отсутствовали, в составе инфрасообществ обнаружено от 1 до 7 видов паразитов. У рыб в возрасте 3+ лет доминировали особи, зараженные 3-мя видами паразитов. В 2015 г. в выборке также доминировали рыбы с 3-мя видами паразитов, однако распределение инфрасообществ было более равномерным (рис. 2). Распределения видового богатства инфрасообществ паразитов окуня в начальный период создания водохранилища и при полном заполнении (2012–2015 гг.) имели достоверные отличия (тест Колмогорова–Смирнова DN = 0.51 при $p < 0.05$).

В 2016 г., когда рыбы достигли возраста 4+ лет, доминирующее число их инфрасообществ составляют 4 и 5 видов, также представленных инфузориями, но к ним присоединяется уже цестода *P. percae*. Распределение графически смещено вправо и плосковершинное (рис. 3).

Таблица 1. Паразитофауна окуня Богучанского водохранилища

Вид паразита	2012 г. *n* = 34		2013 г. *n* = 15		2014 г. *n* = 15		2015 г. *n* = 30		2016 г. *n* = 30		2019 г. *n* = 15	
	%	ИО, экз.	%	ИО, экз.	%	ИО, экз.	%	ИО, экз.	%	ИО, экз.	%	ИО, экз.
Dermocystidium percae	–	–	–	–	–	–	10.0	0.16	–	–	–	–
Henneguya lobosa	8.82	0.54	–	–	–	–	3.3	0.1	3.33	0.03	6.6	0.06
Myxobolus guyenoti	11.76	0.64	20.0	1.0	–	–	–	–	–	–	–	–
Capriniana piscium	–	–	–	–	–	–	13.3	+	–	–	–	–
Apiosoma campanulatum	38.23	+	80.0	+	80.0	++	43.3	++	56.3	++	46.6	++
Apiosoma minimicronucleatum	–	–	–	–	–	–	16.6	++	26.6	++	26.6	++
Apiosoma piscicolum	–	–	–	–	–	–	13.3	+	23.3	+	6.6	+
Apiosoma conicum	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	13.3	++
Apiosoma sp.	–	–	–	–	6.6	+	–	–	–	–	–	–
Epistylis lwoffi	–	–	26.6	+	6.6	+	3.3	+	90.0	+++	20.0	++
Trichodina acuta	5.88	+	13.3	+	33.3	+	36.6	2.36	56.6	+	13.3	+
T. intermedia	–	–	–	–	26.6	+	10.0	+	–	–	–	–
T. urinaria	5.88	++	6.6	+	–	–	3.3	+	10.0	+	–	–
Trichodinella epizootica	5.88	+	6.6	+	40.0	++	50.0	++	30.0	+	26.6	++
Gyrodactylus lucii	–	–	–	–	–	–	–	–	3.3	0.03	–	–
G. cernuae	–	–	–	–	–	–	–	–	6.6	0.46	–	–
Gyrodactylus sp.	2.94	0.03	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ancyrocephalus percae	8.82	0.17	–	–	–	–	–	–	3.3	0.23	–	–
Caryophyllidea gen. sp.	2.94	0.03	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Proteocephalus percae	–	–	13.3	0.26	–	–	66.6	1.96	83.3	2.3	20.0	0.33
P. torulosus	–	–	–	–	–	–	6.6	0.06	–	–	–	–
Triaenophorus nodulosus (*pl*)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	26.6	0.46
Bunodera luciopercae	5.88	0.41	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ichthyocotylurus variegatus	97.06	23.08	20.0	1.33	6.6	0.33	–	–	–	–	–	–
Diplostomum spathaceum	20.58	0.32	13.3	0.46	–	–	–	–	–	–	–	–
Diplostomum volvens	70.58	3.73	73.3	2.66	–	–	10.0	0.8	–	–	–	–
Tylodelphys clavata	8.82	0.29	–	–	13.3	0.73	–	–	–	–	–	–
Camallanus lacustris	26.47	0.7	26.6	0.73	26.6	1.0	23.3	0.3	6.67	0.06	46.6	1.53
Raphidascaris acus (*larva*)	–	–	–	–	–	–	6.6	0.06	3.33	0.06	–	–
Achtheres percarum	11.7	0.11	13.3	0.13	–	–	6.6	0.06	3.33	0.03	6.6	0.13
Unionidae gen. sp.	8.82	0.17	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Характеристика хозяев												
Длина тела АВ (мм)	145–350 (197.6±7.5)		158–350 (254.0±13.4)		152–270 (200.8±8.16)		160–242 (190.8±4.7)		192–307 (210.8±3.67)		160–245 (207.6±5.84)	
Масса тела, г.	32–616 (124.2±19.6)		58–946 (289.5±57.6)		46–337 (118.7±19.3)		45–196 (91.4±8.3)		80–147 (113.2±2.58)		45–181 (117.46±9.50)	
Возраст, лет	2+–5+		2+–8+		3+–4+		3+– 4+		4+		4+–7+	

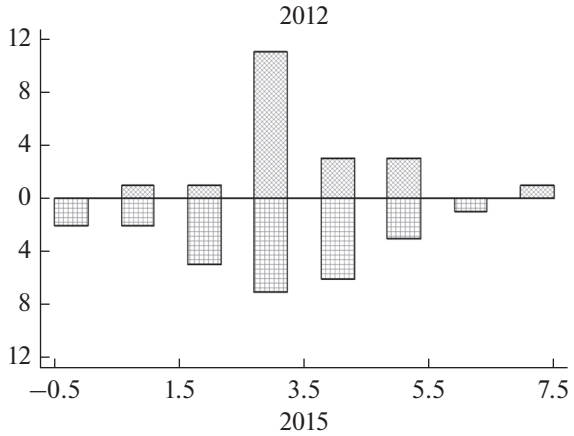

Рис. 2. Гистограммы распределения видового богатства инфрасообществ паразитов окуня 3+ лет в разные этапы формирования Богучанского водохранилища. Здесь и на рис. 3 по оси ординат – частоты, по оси абсцисс – число видов.

Несмотря на видимые графические различия сравниваемые распределения видового богатства паразитов окуня в возрасте 3+ лет (2015 г.) и 4+ лет (2016 г.) достоверно не различаются (DN = 0.35, $p \geq 0.05$).

По данным каждого исследованного периода построены рандомизированные ряды накопления видового богатства и рассчитаны значения коэффициентов *a* и *b* уравнения степенной регрессии (табл. 2). Различия кривых накопления видового богатства компонентных сообществ паразитов, построенные для паразитарных сообществ окуня возрастной группы 3+ лет (в 2012 и 2015 гг.) (рис. 4), оценивались по распределению коэффициентов *a* и *b*. Как для коэффициента *a*, который характеризует видовое богатство инфрасообществ, так и для коэффициента *b*, определяющего скорость накопления видового богатства, достоверных отличий не обнаружено (тест Колмогорова–Смирнова для коэффициента *a* DN = = 0.17 при $p > 0.11$; для коэффициента *b* DN = 0.15 при $p < 0.21$).

Анализ двух группировок окуней в 2015 г., в возрасте 3+ лет и в 2016 г. в возрасте 4+ лет показывает, что кривые накопления видового богатства также не имели достоверных отличий (для коэффициентов *a* DN = 0.12, *b* DN = 0.17 при $p > 0.05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В июне 2012 г., т.е. сразу после зарегулирования р. Ангары и создания Богучанского водохранилища, окунь имеет паразитов, заражение которыми произошло еще в речной период. Среди паразитов, чье развитие включает промежуточных хозяев, только один вид (*C. lacustris*) развивается с участием различных копепод семейства Cyclopoidae. Окончательными хозяевами для этой нематоды являются рыбы семейства Percidae, но в жизненный цикл могут быть вовлечены и другие группы рыб. Так в качестве постциклических хозяев выступают многие хищные рыбы (Salmonidae, Esocidae), и ряд других групп (Cobitidae, Cyprinidae, Esocidae, Salmonidae и др.) могут выступать в роли паратенических хозяев (Пугачев, 2004).

Остальные паразиты включают в свой жизненный цикл бентосные организмы. С участием олигохет развиваются цестоды *Caryophyllidea* gen. sp., миксоспоридии *Henneguya lobosa* (Cohn, 1895) и *Myxobolus guyenoti* (Naville, 1928). Моллюски (дву-

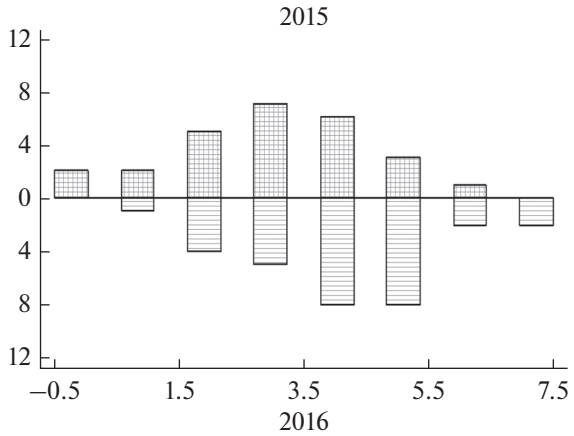

Рис. 3. Гистограммы распределения видового богатства инфрасообществ паразитов окуня в возрасте 3+ и 4+ лет (2015 и 2016 гг.).

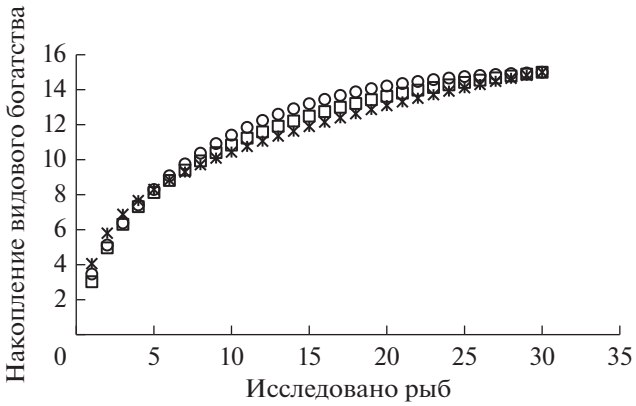

Рис. 4. Кривые накопления видового богатства компонентных сообществ паразитов окуня в разные периоды формирования водохранилища (○ – 2012 г.; □ – 2015 г.; * – 2016 г.).

Таблица 2. Коэффициенты степенной регрессионных моделей $S = aM^b$ накопления видового богатства в зависимости от числа исследованных рыб в разные годы

Показатель	2012 г.		2015 г.		2016 г.	
	a	*b*	*A*	*b*	*a*	*b*
Минимальные значения	2.75	0.16	1.67	0.20	1.97	0.19
Максимальные значения	8.94	0.52	8.41	0.68	7.12	0.62
Средняя	4.89	0.36	4.61	0.37	4.72	0.35
Мин. доверительный интервал	4.66	0.34	4.37	0.35	4.52	0.34
Макс. доверительный интервал	5.10	0.37	4.84	0.38	4.92	0.36

створчатые и брюхоногие) служат промежуточными хозяевами для трематод. Основу трематодофауны окуня формируют виды, паразитирующие у рыб на стадии метацеркария и заканчивающие свое развитие в рыбоядных птицах. Первыми промежуточными хозяевами для *I. variegates* (Creplin, 1825) служат двустворчатые моллюски р. *Valvata*, а для глазных трематод *D. spathaceum*, *D. volvens*, *T. clavata* – брюхоногие моллюски р. *Lymnaea*. Заражение окуня данными видами происходит перкутантно и не связано с питанием, в отличие от *Bunodera luciopercae* (Müller, 1776) Lühe, 1909. Окунь заражается бунодерой, поедая каланоидных веслоногих рачков – вторых промежуточных хозяев паразита (Соколов и др., 2013).

Заполнение Богучанского водохранилища происходило очень быстро. К 08.11.2012 г., т.е. фактически за полгода, была достигнута промежуточная отметка 185 м, из планируемых 208 м. В 2013 г. водохранилище практически наполнено, его уровень составляет 192.7 м. Столь резкая трансформация реки в водохранилище негативно сказалась в первую очередь на донных биоценозах. Кроме того, на ранних этапах еще не сформирована береговая линия и отсутствует литоральная зона. Большие глубины, разрушение затопленной растительности и переформирование грунтов привело к разрушению и отмиранию исходных реофильных донных сообществ.

Уже в первый год наполнения водоема видовое разнообразие паразитов сокращается до 12 видов, 3 из которых, связанные с бентосом (*Caryophyllidea* gen. sp., *B. luciopercae* и глохидии моллюсков), в последующие годы не были зарегистрированы. В 2014 г., когда уровень водохранилища поднялся еще на 11 м (203.4 м), продолжалось падение числа видов паразитов до 9. Основу фауны формируют инфузории (6 видов), среди которых доминируют *A. campanulatum* (80%), *Trichodinella epizootica* (Raabe, 1950) (40%) и *Trichodina acuta* (Lom, 1961) (33.3%). Благоприятными факторами для развития одноклеточных простейших является уменьшение проточности и прогреваемость водоема. Напротив, донные сообщества гидробионтов разрушены, а планктонные – сильно разбавлены и еще не сформированы. Кроме того, рыбы в новых условиях оказались разрежены и не образуют плотных скоплений. В результате разобщения паразитов и их хозяев у окуня в этот период отсутствуют моногенеи и паразитические ракообразные.

После завершения наполнения водоема (2015 г.) из паразитов, чье развитие протекает с участием бентоса, остаются миксоспоридии *H. lobosa* (встречаемость которых единична)и метацеркарии *D. volvens,* зараженность которыми сократилась в 7 раз по сравнению с годом зарегулирования. Доминирующим видом становится цестода *P. percae,* нарастание численности которой продолжается в последующий год. В 2016 г. лидирующее положение попрежнему занимают паразитические инфузории, фауна которых, по-видимому, уже сформирована. Трематоды в составе паразитофауны окуня не регистрируются.

Спустя 7 лет существования водоема (2019 г.) обнаружено 12 видов паразитов. Моногенеи в составе фауны отсутствуют, очевидно, вследствие своей низкой численности, а из 4-х видов паразитов со сложным циклом развития 3 вида окунь получает за счет планктонного питания. При этом впервые в составе паразитофауны появились плероцеркоиды *T. nodulosus* (26.6%). Известно, что в условиях водохранилищ с замедленным течением, хорошей прогреваемостью, ростом численности и биомассы зоопланктона создают-

ся благоприятные условия для развития этого лимнофильного вида паразита (Изюмова, 1977). Скорее всего, мы наблюдаем начало формирования очага триенофороза в Богучанском водохранилище.

Накопление видового богатства компонентного сообщества паразитов окуня имеет степенную зависимость от числа обследованных особей хозяина. Степенная или взаимосвязанная с ней логарифмическая зависимость между данными параметрами – одна из общих закономерностей организации компонентных паразитарных сообществ (Walther *et al.*, 1995; Dove, Cribb, 2006; Sarabeev, 2015). Отсутствие отличий между кривыми накопления по коэффициенту *a* и *b*, построенными для сообществ паразитов окуня (рис. 4) в разные периоды перехода речной биоты в озерную, подтверждается сходством видового богатства инфрасообществ. Согласно концепции экологического соответствия, колонизация окунем водохранилища будет сопровождаться сменой трофических преференций. Окунь имеет высокую экологическую пластичность и способен специализироваться как планктофаг (Жаков, 1984). Поэтому главной причиной обеднения видового богатства гельминтов в инфра и компонентных сообществах паразитов окуня мы считаем утрату в пищевом рационе окуня представителей бентоса, что является экологическим последствием начальных этапов существования водохранилища.

Сходство кривых накопления видового богатства компонентных сообществ паразитов сопровождается кардинальными отличиями по видовому составу. Так в 2012 г. 53% паразитофауны составляли виды, использующие в своем развитии бентосные организмы, а в 2015 г. 60% фауны формировали виды с простым циклом развития. Доминирующее число видов в двух сообществах составляют 3 вида паразитов. В исходный период это метацеркарии трематод, спустя 3 года ядро паразитофауны формируют цестоды *P. percae,* и паразитические инфузории *A. campanulatum, T. epizootica*. В 2016 г. состав инфрасообществ паразитов не изменился по сравнению с предыдущим годом. Через 7 лет существования водохранилища наряду с паразитическими простейшими ведущее положение начинают занимать гельминты с планктонным путем развития.

***

В условиях трансформирования водоема река → → водохранилище, видовой состав, структура инфра и компонентных сообществ паразитов окуня претерпевает существенные изменения. Несмотря на практически равное количество видов в начале зарегулирования и после заполнения, качественный состав паразитофауны изменился. Ведущее положение по видовому разнообразию заняли паразитические инфузории родов *Apiosoma* и *Trichodina*, причем вспышка численности апиосом наблюдалась уже на второй год существования водохранилища.

После зарегулирования р. Ангары быстрое эвтрофирование привело к росту продукции зоопланктона и увеличению его роли в питании рыб, в результате чего в настоящее время наблюдается нарастание встречаемости и интенсивности заражения рыб цестодами и нематодами, цикл развития которых включает планктонных Copepoda.

Наблюдая происходящие изменения паразитофауны и проводя сравнение с Красноярским водохранилищем, можно утверждать, что в Богучанском водохранилище также будет чрезвычайно бедный состав паразитофауны, цикл развития которых включает бентосные организмы. Доминировать будут гельминты с планктонным путем развития. Очевидно произойдет формирование очага триенофороза, а с началом промышленного лова рыбы и усиления антропогенной нагрузки на водоем – развития очага дифиллоботриоза.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственных заданий (076-00005-20-02 и 0218-2019-0075).

Благодарность. Авторы глубоко признательны за помощь в сборе ихтиологического материала сотрудникам Красноярского филиала ФГБНУ “ВНИРО” (“НИИЭРВ”) Ю.В. Перепелину, А.В. Рожкову, А.В. Назарову.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бажина Л.В., Клеуш В.О. Макрозообентос Красноярской акватории реки Ангара до наполнения водохранилища Богучанской ГЭС // Чтения памяти В.Я. Леванидова. 2014. Вып. 6. С. 66–77.

Барабанова Е.А. Водохранилища водосбора арктических морей России // Водные ресурсы. 2019. Т. 46. № 2. С. 123–131.

Быховская–Павловская И.Е. Паразиты рыб. Руководство по изучению. Л.: Наука, 1985. 122 с.

Глущенко Л.А. Фитопланктон периода формирования Богучанского водохранилища // XII Съезд гидробиологического общества при РАН: тез. докл., г. Петрозаводск, 16–20 сентября 2019 г. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2019. С. 109–111.

Джиллер П. Структура и экологическая ниша. М.: Мир, 1988. 184 с.

Доровских Г.Н., Степанов В.Г. Методы сбора и обработки ихтиопаразитологических материалов

(учебное пособие). Сыктывкар: Сыктывкарский ун-т, 2009. 131 с.

Жаков Л.А. Формирование и структура рыбного населения озер Северо-Запада СССР. М.: Наука, 1984. 144 с.

Иешко Е.П., Коросов А.В. Оценка видового богатства паразитофауны рыб: экологический подход // Принципы экологии. 2012. Т. 1. № 4. С. 28–40.

Иешко Е.П., Коросов А.В., Соколов С.Г. Видовое богатство сообществ паразитов ротана *Perccottus glenii* (Actinopterygii: Odontobutidae) в нативной и приобретенной частях ареала хозяина // Паразитология. 2019. Т. 53. Вып. 2. С. 145–158. https://doi.org/10.1134/S0031184719020066

Изюмова Н.А. Паразитофауна рыб водохранилищ СССР и пути ее формирования. Л.: Наука, 1977. 284 с.

Корпачев В.П., Пережилин А.И. Андрияс А.А. Оценка объема затопления древесной массы в водохранилище Богучанской ГЭС // Вестник ПГТУ. Лес. Экология. Природопользование. 2013. № 1. С. 50–56.

Корпачев В.П., Пережилин А.И., Андрияс А.А., Гудаева Е.А. Морфометрические характеристики проектируемых водохранилищ ГЭС Сибири // Хвойные бореальной зоны. 2018. Т. 36. № 5. С. 411–417.

Мастицкий С.Э., Шитиков В.К. Статистический анализ и визуализация данных с помощью R. Электронная книга. 2014. http://r-analytics.blogspot.com (23 ноября 2018).

Машонская Ю.О. Видовое разнообразие, численность и биомасса личинок хирономид (Diptera, Chironomidae) на разных участках акватории Богучанского водохранилища // Экология южной Сибири и сопредельных территорий. Материалы XXIII Междунар.науч. школы-конференции студентов и молодых ученых. Абакан, 20–22 ноября 2019 г. Абакан: Хакасский госуниверситет им. Н.Ф. Катанова, 2019. С. 52–53.

Олифер С.А. Рыбохозяйственное освоение Усть-Илимского водохранилища // Изв. Гос-НИОРХ. Рыбохозяйственное освоение водохранилищ Сибири. 1977. Т. 115. С. 65–96.

Петрушевский Г.К., Петрушевская М.Г. Достоверность количественных показателей при изучении паразитофауны рыб // Паразитологический сборник ЗИН РАН. 1960. № 19. С. 333–343.

Понкратов С.Ф. Перспективы рыбохозяйственного использования Богучанского водохранилища // Вестник рыбохозяйственной науки. 2014. Т. 1. № 3. С. 29–40.

*Пугачев О.Н.*Каталог паразитов пресноводных рыб Северной Азии. Нематоды, скребни, пиявки, моллюски, ракообразные, клещи. СПб., Тр. ЗИН РАН, 2004. Т. 304. 250 с.

Соколов С.Г., Протасова Е.Н., Черевичко А.В. Новый таксономический статус трематод *Bunodera luciopercae* s. str. и *Bunodera acerinae* stat. n. (Trematoda, Allocreadiidae) и второй промежуточный хозяин *Bunodera lucioperca e*s. str. // Зоологический журн. 2013. Т. 92. № 2. С. 184–193.

Тугарина П.Я. Иркутское водохранилище и продуктивность его ихтиоценозов // Изв. Гос-НИОРХ. Рыбохозяйственное освоение водохранилищ Сибири. 1977. Т. 115. С. 44–54.

Шевелева Н.Г., Воробьева С.С. Состояние и развитие фито- и зоопланктона нижнего участка Ангары, прогноз формирования планктона в Богучанском водохранилище // J. Siberian Federal University. Biology. 2009. № 3. С. 313–326.

Шевелева Н.Г., Пастухов М.В., Зайцева Е.П., Полетаева В.И. Сообщество зоопланктона верхнего участка Богучанского водохранилища в период его заполнения // География и природные ресурсы. 2016. № 6. С. 81–85. https://doi.org/10.21782/GIPR0206-1619-2016-6(81–85)

Dove A.D., Cribb T.H. Species accumulation curves and their applications in parasite ecology // Trends in Parasitology. 2006. V. 22. P. 568–574.

Hammer O., Harper D., Ryan P. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica. 2001. V. 4(1). P. 9.

Holmes J.C., Price P.W. Communities of parasites. In: *Kikkawa J. and Anderson D.J.* (eds.). Community ecology: patterns and processes. Melbourne, Blackwell Scientific Publications. 1986. P. 187–213.

Llopis-Belenguer C., Pavoine S., Blasco-Costa I., Antonio Balbuena J. Assembly rules of helminth parasite communities in grey mullets: combining components of diversity // Intern. J. Parasitology. 2020. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.06.006

Pelegrini L.S., Januário F.F., Kozlowisky de Azevedo R., Abdallah V.D. Biodiversity and ecology of the parasitic infracommunities of *Loricaria prolix* (Siluriformes: Loricariidae) from the Tietê-Batalha Basin, SP, Brazil // Acta Scientiarum. Biological Sciences.2018. V 40, e36294. https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v40i1.36294

Salgado-Maldonado G., Novelo-Turcotte M.T., Caspeta-Mandujano J.M., Vazquez-Hurtado G., Quiroz-Martínez B., Mercado-Silva N., Favila M. Host specificity and the structure of helminth parasite communities of fishes in a Neotropical river in Mexico // Parasite.2016. V. 23 P. 1–11. https://doi.org/10.1051/parasite/2016073

Sarabeev V. Helminth species richness of introduced and native grey mullets (Teleostei: Mugilidae) // Parasitology International.2015. V. 64. P. 6–17.

Usoltseva M.V., Titova L.A. Phytoplankton of the Boguchany reservoir in 2016–2017 at the stations in front of the hydroelectric dam // Acta Biologica Sibirica. 2017. V. 3(3). P. 57–65. https://doi.org/10.14258/abs.v3i3.3616

Walther B.A., Cotgreave P., Price R.D., Gregory R.D., Clayton D.H. Sampling effort and parasite species richness // Parasitology Today.1995. V. 11(8). P. 306–310.

The Structure of Parasite Communities in Perch (*Perca fluviatilis* L.) in Early Stages of Boguchanskoye Storage Reservoir Impoundment

Yu. K. Chugunova[1, #] and E. P. Ieshko[2, ##]

[1] *Krasnoyarsk Branch of the Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Parizhskoi Kommuny st., 33, Krasnoyarsk, 660097 Russia*

[2] *Institute of Biology, Karelian Research Centre RAS, Pushkinskaya st., 11, Petrozavodsk, 185910 Russia*

[#]*e-mail: jhermann@mail.ru*

[##]*e-mail: ieshkoep@gmail.com*

This is a first study of ecological and populational changes in the species richness and diversity of parasitic communities in perch *Perca fluviatilis* (L.1758) during the transformation of the Boguchanskoye storage reservoir's biota. Originally (2012), the composition of parasites was highly diverse, with a prevalence of trematode metacercariae. In 2014, an abrupt loss of the parasite species diversity happened, pointing to nearly zero involvement of the benthos in perch ethology. After impoundment (2016–2019), the species composition of parasites in perch changed notably: the diversity and prevalence of parasitic infusoria increased. Helminths with a planktonic development pathway (*Proteocephalus percae, Camallanus lacustris, Triaenophorus nodulosus*) have become dominant, placing the parasite fauna into the limnophilic type.

Keywords: storage reservoirs, waterbody succession, parasite fauna, fishes, perch *Perca fluviatilis*

EDN: HXTXQK
ИЗВЕСТИЯ РАН. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ, 2022, № 3, с. 322–331

ЭКОЛОГИЯ

УДК 574.4.631.4.

ВЛИЯНИЕ ТРОФИЧЕСКОЙ РОЛИ ПОПУЛЯЦИИ ЛОСЯ (*Alces alces* L.) НА ЦИКЛЫ АЗОТА И УГЛЕРОДА В ЕЛОВО-БЕРЕЗОВОМ ЛЕСУ ЮЖНОЙ ТАЙГИ

© 2022 г. С. М. Разгулин@

Институт лесоведения РАН, ул. Советская, д. 21, с. Успенское, Одинцовский район Московской обл., 143030 Россия
@E-mail: root@ilan. ras. ru

Поступила в редакцию 25.12.2020 г.
После доработки 01.09.2021 г.
Принята к публикации 01.09.2021 г.

На протяжении двух лет были исследованы результаты 25-летней изоляции участка елово-березового леса в Ярославской области (6Е4Б, 100 лет, I класс бонитета) от присутствия лося. Установлено, что продуктивность нетто-минерализации соединений азота в горизонте почвы 0–12 см, измеренная с мая по октябрь в полевых условиях была выше на неогороженной площади, чем на огороженной, составляя соответственно15 ± 0.4 и 10.4 ± 0.5 г N/м^2. Продукция эмиссии диоксида углерода из почвы за этот же период на неогороженном участке была ниже (319 ± 47 г C/м^2), чем на огороженном (552 ± 82 г C/м^2). На 1 г C-CO_2 в почве изолированного участка минерализуется 19 мг азота, а на контрольной площади 47 мг. Присутствие лося изменяло распределение концентраций аммония в верхнем горизонте почвы участков (0–4 см) с нормального в изолированном варианте на логнормальное в контроле.

Ключевые слова: нетто-минерализация соединений азота, аммонификация, нитрификация, эмиссия CO_2 из почвы, лось, южная тайга

DOI: 10.31857/S1026347022030131

Животные принимают участие в циклах основных биогенных элементов экосистем в качестве консументов различных порядков, однако их роль в этих процессах остается недостаточно исследованной. Различается и уровень изученности роли животных в круговоротах различных элементов. В цикле углерода влияние животных оформлено в виде биосферной концепции (Schmitz *et al.*, 2014), в то время как в цикле азота их роль показана для отдельных процессов в отдельных экосистемах (Hobbs, 1996). В бореальных лесах наиболее изучена трофическая роль копытных – оленя и лося, которые селективно поедая одни виды (тополь, иву, осину, рябину) отдают преимущества другим, не представляющим трофического интереса видам, иногда через сложные конкурентные отношения (Смирнов, 1987; Persson *et al.*, 2000; Goetsch *et al.*, 2011; Jensen *et al.*, 2011; Mc Garvey *et al.*, 2013; Murray, 2013; Burkea *et al.*, 2019).

В ряде работ исследуется влияние копытных-дендрофагов на физико-химические свойства почвы (Pastor *et al.*, 1993; Jensen *et al.*, 2011; Burkea *et al.*, 2019).

В лесах умеренного пояса ключевая роль в биосферном круговороте принадлежит азоту, дефицит которого сдерживает продуктивность лесных фитоценозов. Наиболее продуктивным процессом 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, занимающий центральное место в азотном цикле, хорошо изучен в лесах Северной Америки и на некоторых территориях Западной Европы (Разгулин, 2008, 2017; Chapman *et al.*, 2013).

В России с бесконечным разнообразием лесных почв и колоссальной площадью насаждений нетто-минерализация соединений азота, измеренная в условиях "*in situ*", представлена единичными работами (Разгулин, 2017) и, в целом, практически не изучена.

В подзоне южной тайги Европейской России в работах К.А. Смирнова (Смирнов, 1987, 2007, 2017; Смирнов, Судницына, 2003) показано, что роль копытных–дендрофагов определяется плотностью популяции и величиной трофической нагрузки на фитоценозы. При усилении пищевого пресса прямое и косвенное влияние копытных

может затрагивать все уровни экосистемы – от почвы до верхнего яруса. Это ведет к структурным изменениям фитоценоза и перераспределению потока вещества и энергии в экосистеме. Несмотря на обилие работ, посвященных лосю, эта сторона его жизнедеятельности мало изучена и влияние копытных на циклы углерода и азота в лесных экосистемах отражено лишь в немногих исследованиях (Pastor *et al.*, 1993; Persson *et al.*, 2009; Popma, Nadelhoffer, 2020).

В данной работе оценивается влияние популяции лося на: содержание органического углерода ($C_{орг}$) и форм азота в почве; продуктивность нетто-минерализации соединений азота в почве и продукцию диоксида углерода. Возможны стимуляция, подавление или отсутствие влияния животного на эти процессы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в Рыбинском районе Ярославской области. Экспериментальный участок располагался на склоне р. Нахта в хорошо дренированном елово-березовом лесу (состав древостоя 6Е4Б, 100 лет, I класс бонитета, полнота 0.7). В подросте ель (*Picea abies*) высотой до 8 м, немного осины *(Populus tremula*). В подлеске рябина *Sorbus aucuparia*), жимолость (*Lonicera xilosteum*), крушина (*Frangula alnus*), лещина (*Corylus avellana*), красная смородина (*Ríbes rúbrum*). Напочвенный покров очень разнообразный, представлен звездчаткой дубравной (*Stellária nemórum*), копытнем европейским (*Ásarum europaéum*), кислицей (*Óxalis acetoséllа*), бором развесистым (*Milium effusum*), фиалкой удивительной (*Víola mirábilis*). В целом, насчитывается более 40 видов растений, отнесенных к неморальной и бореальной группам и группе видов вторичных лесов (Смирнов, Судницына, 2003).

Почва дерново-среднеподзолистая, легкосуглинистая. Выражена подстилка (A_0), мощностью 1 см. Ниже до глубины 15 см залегает сероваточерный гумусовый горизонт (A_1). Далее идет элювиальная часть профиля рыжих и палевых тонов (A_2), на глубине 70–80 см подстилающаяся моренным суглинком.

В 1992 г. часть территории размером 15 × 30 м была огорожена забором со столбами высотой 2.5 м и 5 рядами проволоки через 0.4 м, что исключало проникновение лося за ограждение. Смежный участок такой же площади был контрольным, без ограждения.

В 2017–2018 гг. на обоих участках с мая по октябрь одновременно измеряли:

1) нетто-минерализацию соединений азота в двух горизонтах почвы A_0–A_1 (0–4 см) и A_1 (4–12 см) методом инкубации проб без растений. Пробы помещали в пакеты из капроновой сетки и экспонировали в условиях "*in situ*" в почвенном профиле, в течение 27–30 сут в 8-кратной повторности для каждого горизонта. Пробы располагали в шахматном порядке от вершины до подножия склона, охватывая всю пробную площадь. Накопление азота рассчитывали как разность между произведениями массы горизонта на 1 м^2 и содержанием элемента в конце и начале экспозиции (Разгулин, 2009);

2) эмиссию аммиака методом изолированных камер площадью 60 см^2 в 10-кратной повторности, используя принцип поглощения микроколичеств этого газа серной кислотой через 10–13 суток (Разгулин, Степанов, 2009);

3) эмиссию диоксида углерода в 4 изолированных камерах (40 × 40 × 10 см) с врезанными в почву до глубины 15–20 см стальными рамами. Пробы воздуха отбирали в вакуумированные флаконы в 3-кратной повторности через 10–13 дней в течение сезона. За каждый год выполнено 5 измерений процесса минерализации азота и 9 измерений эмиссии аммиака и углекислого газа;

4) опад в пяти опадоуловителях, размером 1.5 × × 0.9 м, с трехкратным отбором содержимого с августа по ноябрь.

После экспозиции в лаборатории из проб удаляли крупные (более 1 мм в диаметре) включения. Затем пробы из верхнего горизонта сепарировали на ситах 5 и 3 мм, а образцы из нижнего – на ситах 3 и 2 мм. Пробы перемешивали, помещали в полиэтиленовые пакеты и хранили в холодильнике при 4°С. Для определения обменного аммония пробы почвы, эквивалентные 4 г сухого веса для верхнего горизонта и 8 г для нижнего экстрагировали в течение суток 100 мл 2%-ного раствора хлорида калия с добавлением 1 капли толуола. Затем суспензию 1 ч взбалтывали на ротаторе, центрифугировали, фильтровали и определяли аммоний методом диффузионно-изотермической дистилляции аммиака во всех повторностях. Содержание нитратов измеряли в водной вытяжке восстановлением до нитритов на омедненном кадмии и их определением с реактивом Грисса (Разгулин, 2009). Азот нитратов определяли в смешанной пробе из 8 составляющих.

Содержание углекислого газа измеряли на газоанализаторе с поглотителями Реберга, оттитровывая избыток гидрата окиси бария соляной кислотой. В качестве газа-носителя использовали аргон (Разгулин, 2017).

В почве, листьях рябины и опавшей хвое 1 раз за вегетацию в 4 повторностях определяли органический углерод методом потери при прокаливании и общий азот методом Кьельдаля.

Объемную массу горизонтов A_0–A_1 и A_1 измеряли в 8 повторностях.

В табл. 1 и табл. 2 содержание форм углерода и азота в почве, а также количество опада отнесены

Таблица 1. Среднесезонное содержание минерального азота, органических углерода и азота в горизонтах почвы неогороженного и огороженного участков

Параметр	Горизонт		Год	
			2017	2018
NH_4^+, мг N/100 г	A_0-A_1,	Но	6.28 ± 0.86	4.82 ± 0.65
		О	5.78 ± 0.87	4.7 ± 0.26
	A_1,	Но	1.72 ± 0.13	1.22 ± 0.11
		О	1.44 ± 0.27	1.02 ± 0.14
NO_3^-, мг N/100 г	A_0-A_1,	Но	0.46 ± 0.08	0.71 ± 0.08
		О	0.26 ± 0.06	0.74 ± 0.11
	A_1,	Но	0.30 ± 0.07*	0.58 ± 0.12
		О	0.09 ± 0.02	0.29 ± 0.06
Содержание $C_{орг}$, %,	A_0-A_1,	Но	10 ± 0.3	9.3 ± 0.4
		О	11.3 ± 0.3	9.1 ± 0.3
	A_1,	Но	3.3 ± 0.1	3.2 ± 0.2
		О	3.5 ± 0.1	3.1 ± 0.2
Содержание $N_{общ}$, %	A_0-A_1,	Но	0.53 ± 0.05	0.50 ± 0.05
		О	0.62 ± 0.06	0.42 ± 0.06
	A_1,	Но	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.01
		О	0.17 ± 0.01	0.16 ± 0.01

Примечание. Здесь и табл. 2 – различия между (Но) и (О) достоверны * при $p < 0.1$; ** при $p < 0.05$.

к сухому весу и представлены в виде средних и их ошибки. Минерализованный азот и продукция диоксида углерода за период исследования приведены в виде суммы и ее ошибки. Распределение концентраций аммония и активности аммонификации в почве, а также значений эмиссии углекислого газа рассчитывали по данным двух лет измерений. Статистические расчеты выполнены с помощью программы “Statistika 10”*.

В табл.3 приведены средние за 2 года значения активности минерализации азота в мг N/100г почвы/сут (Am) и эффективности процесса, когда активность выражается на единицу $C_{орг}$ (мг N/гС/сут, N_c) и Nобщ (мг N/гN/сут, N_n) почвы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среднесезонное содержание форм минерального азота в почве участков в большинстве случаев не различалось между собой. Только в 2017 г. в горизонте A_1 в почве огороженного участка нитратов было достоверно меньше (при $p < 0.1$), чем на контрольном участке. Межгодовые различия в содержании аммонийного азота в верхнем и нижнем горизонтах почвы в вариантах эксперимента были невелики, а для нитратов значительны, от 1.5 до 3 раз (табл. 1).

Не получено существенных различий между участками по содержанию $C_{орг}$ и $N_{общ}$ в почве – эти показатели оказались довольно стабильными как в эксперименте, так и по годам исследований (табл. 1).

Отсутствие различий в химическом составе почвы экспериментальных и контрольных участков отмечалось и ранее в широколиственных и смешанных лесах США и Канады с высокой (14–40 голов на 1000 га) и низкой (2–4 головы на 1000 га) численностью копытных. Животные не влияли на содержание Na, K, Ca, Mg, емкость поглощающего комплекса, общих C, N, P и аммония в почве (Pastor *et al.*,1993; Ellis, Leroux, 2017; Burkea *et al.*, 2019).

Только в смешанном лесу (США, штат Мичиган) с высокой численностью оленей (130–830 голов на 1000 га) присутствие животных увеличивало емкость поглощающего комплекса и содержание K и Mg в почве. Однако не было различий в содержании минерального и общего азота, а концентрации $C_{орг}$ в почве были ниже, чем на изолированном участке (Jensen *et al.*, 2011).

Таким образом, даже в условиях длительной изоляции (от 12 до 37 лет) не получено подтверждения однозначного действия копытных на химический состав почвы.

Не было достоверных различий в объемной массе почвы, составлявшей в верхнем горизонте на неогороженном и огороженном участках 0.585 ±

Таблица 2. Продуктивность аммонификации (Аф) и нитрификации (Нф), количество минерализованного азота (Nм), эмиссия аммиака (Эа), продукция диоксида углерода и опад в почве неогороженного (Но) и огороженного (О) участков

Параметр	Горизонт почвы		Год	
			2017	2018
Аф, г N/м^2	A_0-A_1,	Но	6.0 ± 0.3	5.4 ± 0.7**
		О	5.9 ± 0.2	1.9 ± 0.7
	A_1,	Но	3.4 ± 0.3**	3.5 ± 0.5
		О	2.3 ± 0.2	4.5 ± 0.6
Нф, г N/м^2	A_0-A_1,	Но	2.3 ± 0.03**	2.8 ± 0.1**
		О	1.1 ± 0.04	1.8 ± 0.2
	A_1,	Но	2.9 ± 0.07**	3.8 ± 0.4**
		О	1.3 ± 0.06	2.5 ± 0.24
Nм, г N/м^2	Весь	Но	14.7 ± 0.4**	15.5 ± 1**
	профиль	О	10.6 ± 0.5	10.7 ± 1
Эа, мг N/м^2		Но	3.9 ± 1.5	1 ± 0.2
		О	2.4 ± 0.2	0.6 ± 0.2
Продукция CO_2, г C/м^2		Но	357 ± 53**	281 ± 40
		О	729 ± 100	375 ± 56
Опад, г/м^2		Но	194 ± 11	183 ± 14
		О	193 ± 11	199 ± 11

± 0.07 и 0.673 ± 0.05 г/см^3 и 1.08 ± 0.04 г/см^3 в нижней части профиля на обоих участках. Отсутствие различий в значениях объемной массы почвы в вариантах эксперимента было отмечено и ранее (Burkea *et al.*, 2019).

В 2017 г. продуктивность аммонификации на неогороженном участке в горизонтах A_0–A_1 и A_1 составляла 6 ± 0.3 и 3.4 ± 0.3, а нитрификации – 2.3 ± 0.03 и 2.9 ± 0.07 г N/м^2 соответственно. Всего было минерализовано 14.6 ± 0.4 г N/м^2, вклад нитрификации был равен 5.2 ± 0.07 г N/м^2, или 35% (табл. 2).

В почве изолированного варианта в этих же горизонтах аммонифицировалось 5.9 ± 0.5 и 2.3 ± ± 0.2 г N/м^2, а нитрифицировалось 1.1 ± 0.04 г N/м^2 и 1.3 ± 0.06 г N/м^2. Общая сумма была равна 10.6 ± ± 0.5 г N/м^2, вклад нитрификации составлял 22%.

В 2018 г. на неогороженном участке в верхнем и нижнем горизонтах почвы было аммонифицировано 5.4 ± 0.7 и 3.5 ± 0.5 г N/м^2, а нитрификация составляла 2.8 ± 0.1 и 3.8 ± 0.4 г N/м^2. Общее количество минерализованного азота было равно 15.5 ± 1 г N/м^2, с вкладом нитрификации, равным 42%.

В верхнем и нижнем горизонтах почвы изолированной площади аммонифицировалось 1.7 ± 0.7 и 4.5 ± 0.6 г N/м^2, нитрификация составляла 1.8 ± ± 0.2 и 2.5 ± 0.2 г N/м^2. В итоге минерализовалось 10.5 ± 1 г N/м^2, нитрификация составляла 40%.

Межгодовые изменения минерализации соединений азота в почве насаждения были незначительны на контроле и достигали 2–3 раз в верхнем горизонте почвы экспериментального участка (табл. 2).

Таким образом, средняя за 2 года продуктивность аммонификации на неогороженном участке в горизонтах A_0–A_1 и A_1 составляла 5.7 ± 0.3 и 3.4 ± ± 0.3, а нитрификации – 2.5 ± 0.03 и 3.3 ± 0.07 г N/м^2 соответственно.

В почве изолированного варианта в этих же горизонтах аммонифицировалось 3.8 ± 0.5 и 3.4 ± ± 0.2 г N/м^2 и нитрифицировалось 1.4 ± 0.04 и 1.8 ± 0.06 г N/м^2. Всего в почвенном профиле контрольного и экспериментального участков было минерализовано 15 ± 0.4 и 10.4 ± 0.5 г N/м^2, соответственно. Указанное различие достоверно при $P < 0.05$. Снижение продуктивности процесса на изолированной площади обеспечило уменьшение аммонификации в горизонте A_0–A_1 в 1.5

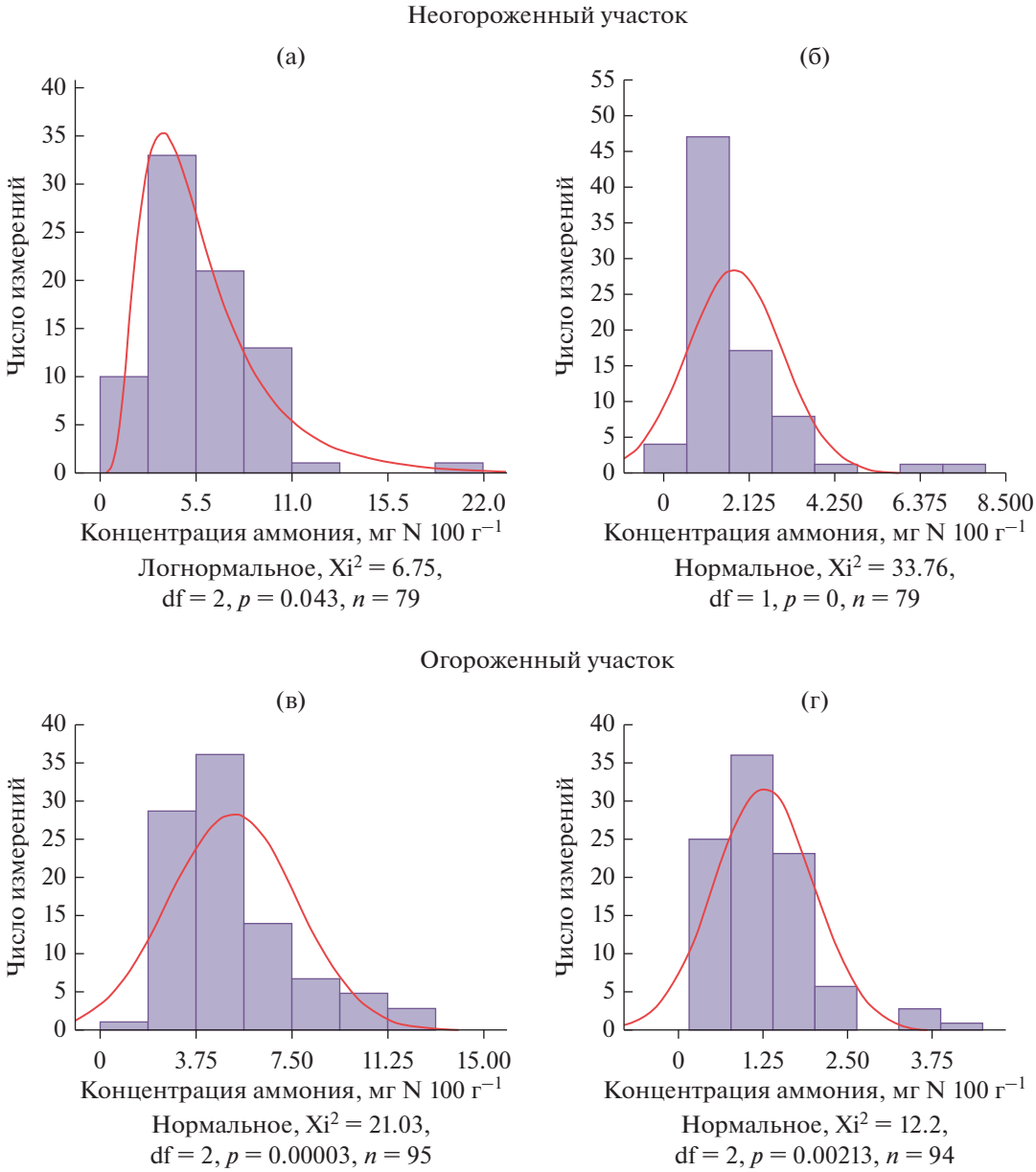

Рис. 1. Диаграммы распределения концентраций аммония в горизонтах почвы елово-березового леса. (а) – горизонт A_0–A_1, (б) – горизонт A_1.

раза и снижение во всем профиле нитрифицированного азота в 1.7 раза по сравнению с неогороженным участком. От запасов $N_{общ}$ в верхнем и нижнем горизонтах почвы нетто-минерализованный азот составлял 7 и 5.3% на неогороженном участке и 3.7% в обоих горизонтах в изолированном варианте.

При движении вниз по профилю почвы активность минерализации азота (Am) закономерно снижается, но эффективность процесса (N_c и N_n) в обоих горизонтах почвы контрольной площади была близка, что отмечалось и ранее на участках с низким трофическим влиянием лося (Разгулин, 2017). Присутствие лося привело к увеличению эффективности минерализации азота (N_c) в верхнем горизонте почвы экспериментального участка в 1.4 раза по сравнению с нижним (табл. 3).

Суммарные потери аммиака за период исследования в 2017 и 2018 гг. составили 3.9 ± 1.5 и 2.4 ± ± 0.2 мг N/м^2 на неогороженном участке и 1 ± 0.2 и 0.6 ± 0.2 мг N/м^2 на изолированной площади. За оба года исследований эти показатели было выше на неогороженном участке, но эти различия были недостоверны (табл. 2).

Таблица 3. Среднесезонная активность (A_m) и эффективность (N_c и N_n) минерализации азота в горизонтах почвы неогороженного и огороженного участков

Участок. Горизонт почвы		A_m, мг N/100г/сут	N_c, мг N/гС/сут	N_n, мг N/гN/сут
НО,	A_0-A_1	0.25 ± 0.04*	0.026 ± 0.004	0.49 ± 0.08
	A_1	0.059 ± 0.01	0.018 ± 0.001	0.39 ± 0.06
О,	A_0-A_1	0.168 ± 0.06	0.016 ± 0.006	0.32 ± 0.12
	A_1	0.053 ± 0.006	0.016 ± 0.002	0.33 ± 0.04

Примечание. * Приведены средние значения и их среднеквадратическое отклонение.

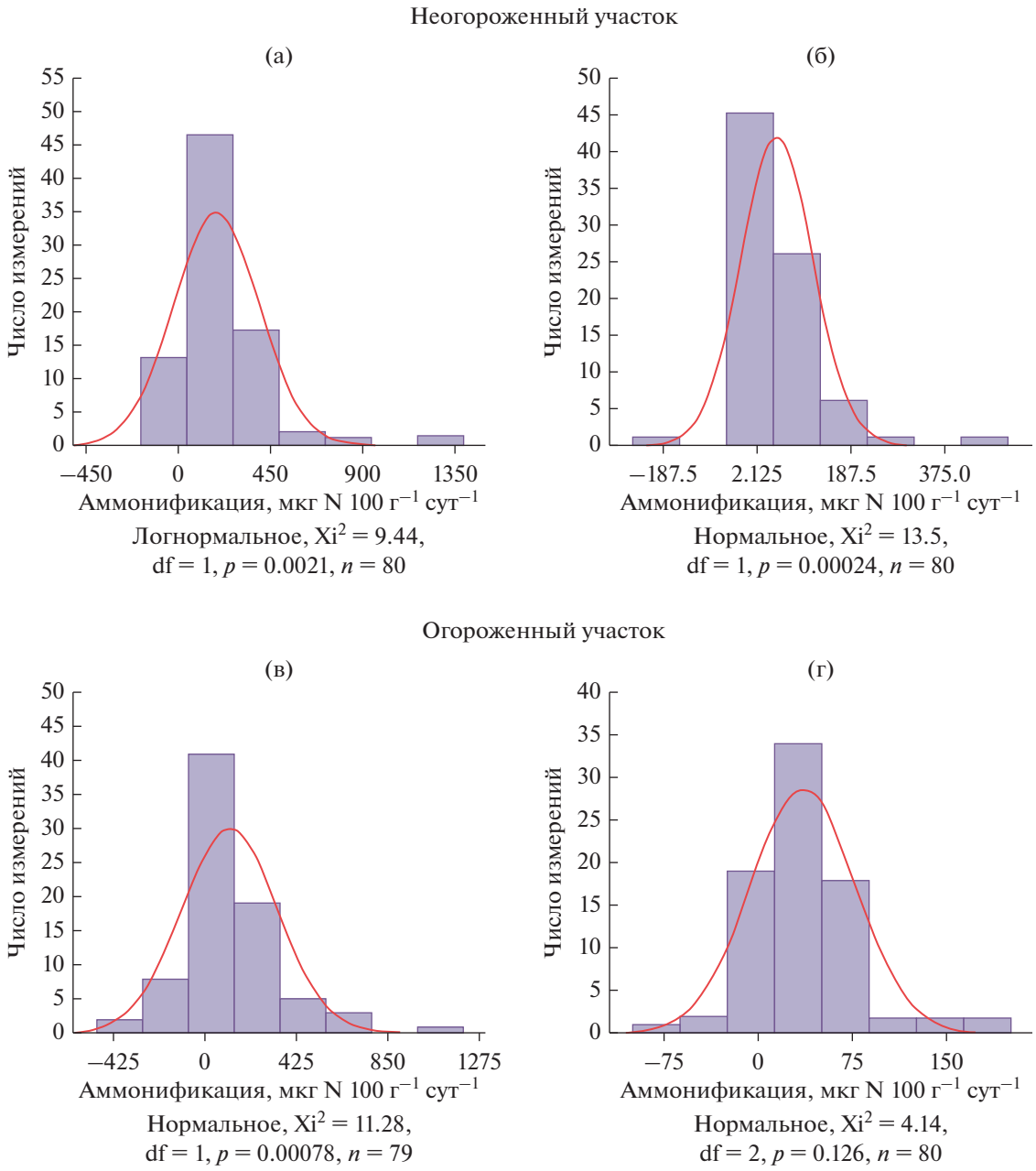

Рис. 2. Диаграммы распределения активности аммонификации в горизонтах почвы елово-березового леса. (а) – горизонт A_0–A_1, (б) – горизонт A_1.

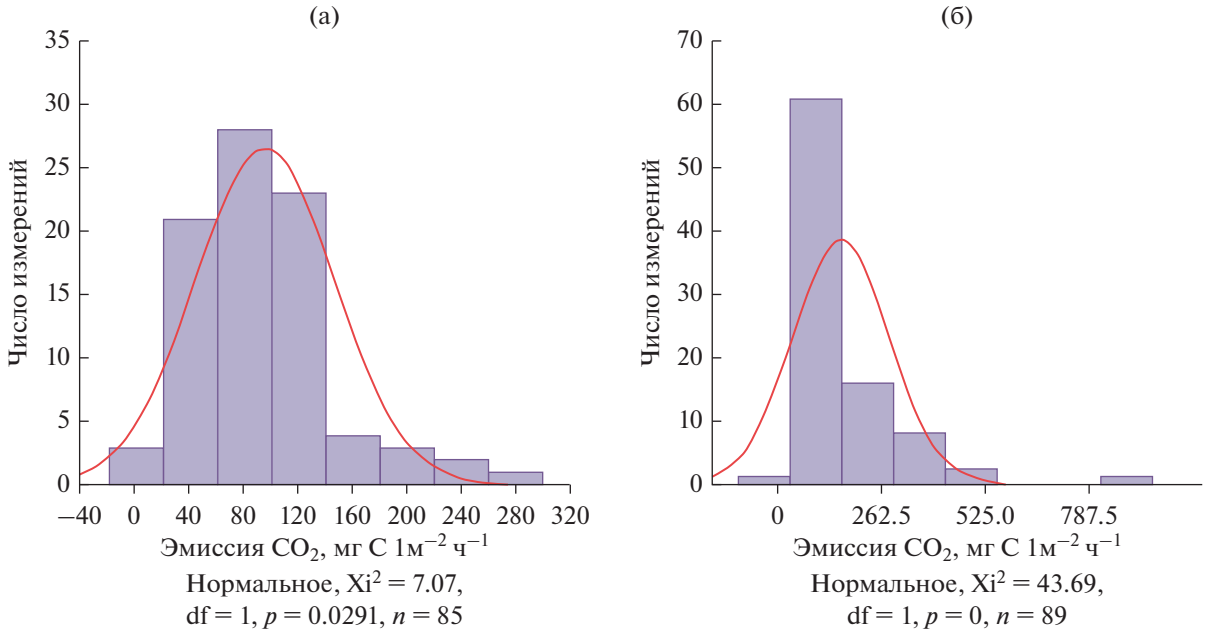

Рис. 3. Диаграммы распределения значений эмиссии диоксида углерода из почвы елово-березового леса. (а) – неогороженный участок. (б) – огороженный участок.

Продукция диоксида углерода из почвы насаждения в оба года исследований была выше на огороженном участке, но достоверно различалась только в 2017 г. (табл. 2).

Расчет гистограмм распределения содержания аммония, активности аммонификации в горизонтах почвы насаждения и значений эмиссии диоксида углерода показали в большинстве вариантов нормальное распределение указанных величин (рис. 1, рис. 2, рис. 3). Однако присутствие лося изменяет распределение содержания аммония в верхнем горизонте почвы с нормального на огороженном участке на логнормальное на контрольной площади (рис. 1). В распределении значений эмиссии углекислого газа на огороженном участке хорошо выражена левая асимметрия, содержащая в классе значений 0–131 мг С/м^2/ч 70% всех данных и отсутствующая на графике неогороженной площади (рис. 3).

Проведенные исследования показали, что увеличение минерализации азота сопровождается уменьшением продукции диоксида углерода на контрольном участке (табл. 2), что противоречило результатам исследования экологического ряда южно-таежных березняков, где увеличение нетто-минерализации азота за вегетацию соответствовало увеличению продукции диоксида углерода как показателя деструкционных процессов почвы (Разгулин, 2017).

Снижение респираторной активности почвы на 24–56% под действием выпаса копытных отмечалось в бореальных лесах и другими авторами (Persson *et al.*, 2009). С другой стороны, потенциальная минерализация углерода и азота почвы была выше в присутствии лося, но эти различия не были достоверны (Pastor *et al.*, 1993). Не различалась и скорость разложения подстилки в смешанном лесу (Канада, остров Ньюфаундленд) в вариантах эксперимента с огораживанием (Ellis, Leroux, 2017).

Полагали, что “моча и фекальные массы копытных могут быть достаточно сильными факторами, чтобы перевесить снижение качества органического вещества почвы” (Stark, 2002) и стимулировать азотный цикл (Hobbs, 1996). В олиготрофных тундрах Финляндии малая численность оленей ограничивала циклы C и N. Увеличение интенсивности выпаса стимулировало минерализацию C и N как в олиготрофных, так и эвтрофных условиях (Stark, 2002). Увеличение нетто-минерализации азота при снижении дыхательной активности почвы под действием выпаса копытных ранее отмечали в саваннах Африки и ландшафтах Йеллоустонского национального парка США (Hobbs, 1996; Stark, 2002). Однако повторные исследования почвы семиаридных прерий парка не показали однозначного действия копытных на азотный цикл, включая гросс-минерализацию элемента (Verchot *et al.*, 2002).

Достоверные различия в продуктивности нетто-минерализации азота в лесных почвах проявляются только при высокой численности животных. Так, в широколиственном лесу (США, штат Мичиган) плотность популя-ции лося в 34 и

46 голов на 1000 га снижала количество минерализован-ного азота в горизонте почвы 0–10 см в 2 раза, по сравнению с огорожен-ным участком с 45–46 до 22–28 кг N/га. На участках с плотностью популяции лося 14 голов на 1000 га различия в продуктивности процесса отсутствовали. В изоляции участки находились 30 лет. Селективным поеданием лиственных пород лось оставляет конкурентное преимущество хвойным видам. В подстилке увеличивается содержание целлюлозы и сокращается листовой опад, что снижает деструкцию растительной массы и минерализацию азота (Pastor *et al.*, 1993). В олиготрофных лесах Скандинавии выпас северного оленя и лося не оказывал однозначного действия на минерализацию азота. Были отмечены как стимуляция процесса, так и отсутствие какого-либо эффекта (Stark, 2002). В лесах умеренной зоны выпас оленей увеличивал минерализацию азота в ландшафтах с богатыми почвами и снижал этот показатель в бедных элементами питания экотопах. Эмиссия диоксида углерода, наоборот, уменьшалась в богатых почвах и возрастала на участках с бедными элементами питания (Popma, Nadelhoffer, 2020). Вероятно, проблема влияния копытных на азотный и углеродный циклы осложняется бесконечным разнообразием лесных экосистем и требует дальнейших исследований.

В настоящем исследовании получено однозначное снижение продуктивности нетто-минерализации соединений азота в почве под действием лося с низкой плотностью популяции в 3 головы на 1000 га (Смирнов, 2007). По данным Persson с соавт. (Persson *et al.*, 2000), один взрослый лось выделяет 40 кг азота в год, что в нашем варианте составляет 0.012 г N/м^2/год. Реальное поступление азота в почву будет еще меньше, так как скорость разложения лосиных “шариков”, составляющих 40% общих выделений азота (Persson *et al.*, 2000) крайне низка – 0.65% N в год (Pastor *et al.*, 1993).

С другой стороны, численность лосей остается весьма приближенной, а контрольный участок, тем не менее, получал дополнительный азот в течение 25 лет, что могло стимулировать азотный цикл. Также известно, что экспериментальная обрезка саженцев березы в условиях мезокосма, имитирующая влияние копытных, снижала надземную и подземную биомассу саженцев, но увеличивала минерализацию азота почвы, по сравнению с контролем (Carline, Bardgett, 2005).

На исследуемых участках рябина была преобладающим видом, составляющим более 50% надземной биомассы подлеска (Смирнов, Судницына, 2003). В неизолированном варианте ее высота не превышала 1.7 м с плоской, воронковидной кроной, регулярно объедаемой лосем. Листья имели черную кайму, листовая масса была ниже, чем на огороженной площади, в 2.3 раза (Смирнов, 2007). На экспериментальном участке рябина образовала сомкнутый ярус высотой 5–6 м с густой, хорошо облиственной кроной. На неогороженной площади трофические травмы кроны снижали продукцию фотосинтеза и ограничивали количество корневых экссудатов, поступающих в почву (Stark, 2002), что снижало эктомикоризацию тонких корней (Rossow *et al.*, 1997) и вызывало депрессию респираторной функции почвы (Stark, 2002), но, возможно, стимулировало минерализацию соединений азота почвы (Carline, Bardgett, 2005).

В 1999 г. количество опада на контрольном и изолированном участках составляло 191 и 249 г/м^2. Увеличение произошло за счет хвойного опада, вклад которого был равен 42 и 102 г/м^2 соответственно (Смирнов, Судницына, 2003). В 2017–2018 гг. количество опада было одинаковым на обоих участках и близким к данным 1999 г. – 193 г/м^2 (табл. 2). Возможно, на изолированном участке береза обогнала ель, и количество хвойного опада уменьшилось, но общая продуктивность фитоценозов не изменилась и вероятно, была близка на обоих участках. Несмотря на различия в минерализации азота почвы, содержание общего азота в зеленых листьях рябины было одинаковым на обоих участках (1.65 ± 0.06%), как и в опавшей хвое (0.97 ± 0.05%), что отмечалось и ранее для листового и хвойного опада (Смирнов, Судницына, 2003).

Влияние крупных копытных на химический состав растений, количество и качество опада в лесных экосистемах остается неоднозначным. На контрольных участках смешанного леса с присутствием лося количество опада и содержание общих форм C, N, P в листовом опаде было меньше, чем в эксперименте (Ellis, Leroux, 2017). В одних исследованиях копытные–дендрофаги не изменяли содержание $N_{общ}$ в листьях деревьев (Pastor *et al.*, 1993), в других (с очень высокой плотностью популяции) уменьшали его (Jensen *et al.*, 2011).

Одновременное измерение минерализации азота и эмиссии диоксида углерода из почвы дает возможность приближенно оценить взаимодействие деструкционных параметров и минерализации азота. Использование эмиссии углекислого газа из почвы как показателя деструкционных процессов встречает методические затруднения и неопределенности. В данном исследовании врезка в почву стальных рам на глубину 15–20 см перерезает корни деревьев и кустарников, что приближает поток газа к базальному дыханию, однако при этом ликвидируются ризосферные эффекты, развивающиеся на поверхности корней.

В среднегодовых значениях продукция углекислого газа составляет 319 ± 47 и 552 ± 82 г С/м^2 в контрольном и изолированном вариантах, а среднегодовая продуктивность минерализации соединений равна 15.0 г N/м^2 на контрольном участке и 10.4 г N/м^2 и эксперименте. Получаем, что на 1 г С-CO_2 в почве изолированного участка минерализуется (Nм: С-CO_2) 19 мг азота, а в почве контрольного участка в 2.5 раза больше – 47 мг. Несмотря на это, продуктивность фитоценозов на огороженном и неогороженном участках была близка.

Таким образом, 25-летняя изоляция не привела к однозначным изменениям в содержании органического углерода, минерального и общего азота в почве участков.

Присутствие лося увеличивает количество минерализованного азота почвы в 1.5 раза по сравнению с огороженным участком, в основном за счет увеличения вклада аммонификации в верхнем горизонте почвы и нитрифицированного азота во всем профиле.

Присутствие лося приводит к возрастанию доли минерализованного азота от запасов $N_{общ}$ почвы от 3.7% во всем профиле изолированной площади до 7 и 5.3% в верхнем и нижнем горизонте неизолированного варианта.

В среднегодовых значениях продукция эмиссии диоксида углерода на огороженной площади была в 1.7 раза выше, чем на контроле.

Трофическая роль лося повышает эффективность минерализации азота в верхнем горизонте почвы по сравнению с нижним на экспериментальном участке, при равном значении этих показателей на контрольной площади.

Популяция лося изменяла распределение содержания аммония в верхнем горизонте почвы участков с нормального в изолированном варианте на логнормальное на неогороженной площади.

Благодарности. Автор выражает признательность Н.М. Шиховой (Институт физики Земли им. О.Ю. Шмидта РАН) за помощь в статистической обработке данных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Разгулин С.М. Минерализация азота в почвах бореальных лесов // Лесоведение. 2008. № 4. С. 57–62.

Разгулин С. М. Полевой метод измерения минерализации азота в лесных почвах // Почвоведение. 2009. № 11. С. 1341–1344.

Разгулин С.М. Цикл азота в экосистемах березовых лесов южной тайги европейской части России. Автореф. дис. ... д. б. н. 03.02.08. М.: 2017. 40 с.

Разгулин С.М., Степанов А.Л. Эмиссия аммиака из дерново-подзолистой почвы под разными фитоценозами // Почвоведение. 2009. № 7. С. 853–856.

Смирнов К.А. Роль лося в биоценозах южной тайги. М.: Наука, 1987. 113 с.

Смирнов К.А. Закономерности формирования подроста и подлеска в южно-таежном ельнике при разной трофической нагрузке лося // Лесоведение. 2007. № 3. С. 52–58.

Смирнов К.А. Трофическая деятельность лося как фактор формирования лесных экосистем южной тайги. Комплексные стационарные исследования в лесах южной тайги (Памяти М.В. Рубцова) М.: Товарищество научных изданий КМК, 2017. С. 189–209.

Смирнов К.А., Судницына Т.Н. Изменение структурных и физико-химических параметров экосистемы ельника под влиянием лося (*Alces alces* L.) // Экология. 2003. № 3. С. 194–199.

Burkea D., Carrino-Kykera S., Hokea A., Steven Cassidyb S., Bialic-Murphyb L., Kaliszb S. Deer and invasive plant removal alters mycorrhizal fungal communities and soil chemistry: evidence from a long-term field experiment // Soil Biol. Biochem. 2019. V. 128. P. 13–21.

Carline K., Bardgett R. Changes in tree growth resulting from simulated browsing have limited effects on soil biological properties // Soil Biol. Biochem. 2005. V. 37. P. 2306–2314.

Chapman L., McNulty S., Sun G., Zhang Y. Net nitrogen mineralization in natural ecosystems across the conterminous US // Intern. J. Geoscience. 2013. V. 4. P. 1300–1312.

Ellis M., Leroux S. Moose directly slow plant regeneration but have limited indirect effects on soil stoichiometry and litter decomposition rates in disturbed maritime boreal forests // Fun. Ecology. 2017. V. 31. P. 790–801.

Goetsch C., Wigg J., Royo A., Ristau T., Carson1 P. Chronic over browsing and biodiversity collapse in a forest understory in Pennsylvania: results from a 60 year-old deer exclusion plot // J. Torrey Botan. Society. 2011. V. 138(2). P. 220–224.

Hobbs T. Modifuication of ecosystems by ungulates // J. Wildlife Management, 1996. V. 60. № 4. P. 695–713.

Jensen N., Webster C., Witt J., Grant J. Ungulate winter habitat selection as a driver of herbaceous-layer heterogenety in a northern temperate forests // Ecosphere. 2011. V. 2(6). Article 67. P. 1–15.

McGarvey J., Bourg N., Jonathan R., Thompson J., McShea W., Shen X. Effects of twenty years of deer exclusion on woody vegetation at three life-history stages in a mid-atlantic temperate deciduous forest // Northeastern naturalist. 2013. V. 20(3). P. 451–468.

Murray B.D. Spatial and temporal patterns in ungulate-ecosystem interactions/ dissertation, michigan technological university, 2013. 123 p.

Pastor J., Dewey B., Naiman R., Mcinnes P., Cohen Y. Moose brousing and soil fertility in the boreal forests of isle royale National park // Ecology. 1993. V. 74. P. 467–480.

Persson I.-L., Danel K., Bergstrцm R. Disturbance by large herbivores in boreal forests with special reference to moose // Ann. Zool. Fennici. 2000. V. 37. P. 251–263.

Persson I.-L., Nilsson M., Pastor J., Erikson T., Bergstrom R., Danell K. Depression of belowground respiration rates at simulated high moose population densites in boreal forests // Ecology. 2009. V. 90. P. 2724–2733.

Popma J., Nadelhoffer K. Deer browsing effects on temperate forest soil nitrogen cycling shift from positive to negative across fertility gradients // Can. J. For. Res. 2020. V. 50. P. 1281–1288.

Rossow J., Bryant J., Kiellan K. Effects of above-ground browsing by mammals on mycorrhizal infection in an early successional taiga ecosystem // Oecologia. 1997. V. 110. P. 94–98.

Schmitz O., Raymond P., Estes J., Werner A., Kurz W. Holtgrieve G., Ritchie M., Schindler D., Spivak A., Wilson R., Bradford M., Christensen V., Deegan L., Smetacek V., Vanni M., Wilmers C. Animating the carbon cycle // Ecosystems. 2014. V. 17. P. 344–359.

Sponseller R., Gundale M., Futter M., Ring E., Nordin A., Nacholm T., Laudon H. Nitrogen dynamics in managed boreal forests: recent advances and future research directions // Ambio. 2016. V. 45 (Suppl. 2). S. 175–181.

Stark S. Reindeer grazing and soil nutrient cycling in boreal and tundra ecosystems. / Department of Biology, University of Oulu, P.O. Box 3000, FIN-90014 University of Oulu, Finland. 2002. 31 p.

Verchot L., Groffman P., Frank D. Landscape versus ungulate control of gross mineralization and gross nitrification in semi-arid grassland of Yelloustone National park // Soil. Biol. Biochem. 2002. V. 34. P. 1691–1699.

Influence of the Trophic Role of the Moose Population (*Alces alces* L.) on Nitrogen and Carbon Cycles in the Spruce-Birch Forest of the Southern Taiga

S. M. Razgulin[#]

Institute of Forest Science RAS, st. Sovetskaya, 21, p. Uspenskoe, Odintsovsky District, Moscow Region, 143030 Russia
[#]*e-mail: root@ilan. ras. ru*

For two years the results of 25-year isolation of a spruce-birch forest in the Yaroslavl region (6E4B, 100 years, quality class I) from the presence of elk were studied. It was found that the productivity of net mineralization of nitrogen compounds in the soil horizon of 0–12 cm, measured from May to October under field conditions, was higher on an unfenced area than on a fenced area, amounting to 15 ± 0.4 and 10.4 ± 0.5 g N/m^2, respectively. The production of carbon dioxide emissions from the soil over the same period in the unenclosed area was lower (319 ± 47 g C/m^2) than in the fenced area (552 ± 82 g C/m^2). For 1 g of C-CO_2, 19 mg of nitrogen is mineralized in the soil of an isolated area, and 47 mg in the control area. The presence of elk changed the distribution of ammonium concentrations in the upper soil horizon of the plots (0–4 cm) from normal in the isolated variant to lognormal in the control.

Keywords: net mineralization of nitrogen compounds, ammonification, nitrification, CO_2 emission from soil, elk, southern taiga

EDN: NURTPK
ИЗВЕСТИЯ РАН. СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ, 2022, № 3, с. 332–336

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 591.545.598.8

ВЛИЯНИЕ ДАЛЬНОСТИ МИГРАЦИИ НА ГОДОВЫЕ ЦИКЛЫ ПЕНОЧЕК (*Phyllscopus*) СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

© 2022 г. В. Н. Рыжановский[@]

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, 620144 Россия

[@]E-mail: ryzhanovsky@ipae.uran.ru

Поступила в редакцию 17.07.2020 г.
После доработки 13.08.2020 г.
Принята к публикации 19.09.2020 г.

Объединенный ареал зимовки северных пеночек – *Phylloscopus trochilus*, *Ph. collibita*, *Ph. borealis*, *Ph. trochiloides* и *Ph. inornatus* включает приэкваториальные широты от Африки до Юго-Восточной Азии. Анализируется влияние длины миграционного пути на годовые циклы сезонных явлений этих видов.

Ключевые слова: пеночки, годовые циклы, миграция

DOI: 10.31857/S1026347022030143

Миграционная активность как часть годового цикла характерна для большинства представителей класса птиц в соответствии с необходимостью перемещаться в наиболее богатые кормами зоны Земного шара в определенные сроки и на определенное время. Влияние дистанции от района, благоприятного в определенный сезон для размножения до района переживания неблагоприятных условий в другие сезоны на весь годовой цикл жизни несомненно, особенно при сопоставлении ближних и дальних мигрантов. Например, отличия зимующей в тайге обыкновенной чечетки *Acanthis flammea* от зимующей в тропиках чечевицы *Carpodacus erithrinus* из лесотундры четко выражены и не требуют углубленного анализа (Рыжановский, 2005). Значительно интереснее сравнить годовые циклы систематически и экологически близких видов из общего региона гнездования, мигрирующих в единый широтный и разный долготный регионы зимовки, т.е. птиц с несколько разной длиной миграционного пути и расположением зимних ареалов. Для севера Западной Сибири такой группой являются пеночки: весничка *Phylloscopus trochilus*, теньковка *Ph. collibita*, таловка *Ph. borealis*, зеленая пеночка *Ph. trochiloides* и зарничка *Ph. inornatus*. Объединенный ареал зимовки этих видов включает приэкваториальные широты от Африки до Юго-Восточной Азии с удалением от 4–5 до 6–8 тыс. км от гнездового района в Нижнем Приобье. Задача статьи – обсудить влияние длины миграционного пути на годовые циклы сезонных явлений этих видов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сообщение основано на результатах полевых наблюдений за пеночками в Нижнем Приобье, на материалах, полученных при прижизненной обработке пеночек, пойманных паутинными сетями и ловушками и на результатах передержки пеночек в клетках на полевом стационаре Октябрьский (66°40′ с.ш. 66°40′ в.д.) в летнее время, в лабораториях Экологического стационара УрО РАН (г. Лабытнанги) и Института экологии растений и животных УрО РАН (г. Екатеринбург) в зимнее время. У всех птиц регистрировали вес тела, упитанность, описывали состояние оперения. Для сравнения полноты линьки видов применили балловую оценку. На одной стороне тела (линька протекает симметрично) выделено 25 отделов кроющих перьев, рулевых ($n = 6$) и маховых ($n = 19$) перьев. Замену каждого из рулевых и маховых перьев оценивали в 1 балл, вся их линька – 25 баллов. Замену всех кроющих перьев отдела оценивали в 2 балла, полная линька кроющих головы, туловища, крыльев – 50 баллов, полная линька половины тела – 75 баллов. При обработке материалов в программах Microsoft Excel 2003 и Statistica v. 6.0 (StatSoft Ink., 1984–2003) вычисляли коэффициенты корреляции Спирмена, Пирсона и значения критерия Краскелл–Уоллиса для установления связи сроков и длительности основных сезонных явлений пеночек с длиной миграционного пути.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Веснички зимуют в Тропической Африке (Птушенко, 1954; Керри-Линдал, 1984), куда летят через Ближний Восток (окольцованный нами самец найден в Израиле) преодолевая 5–7, в среднем, 6 тыс. км. Теньковки сибирского подвида (*Ph. c. tristis*) имеют миграционный путь, от Нижнего Приобья до Пакистана и Западной Индии – 4–5, в среднем – 4.5 тыс. км (Птушенко, 1954). Таловки осенью летят тайгой до Дальнего Востока, где многочисленны в периоды миграций (Панов, 1973), затем поворачивают на юг, до Южного Китая и Малайского архипелага – 6–8, в среднем, 7 тыс. км. Северная зарничка (*Ph. i. inornatus*) и западная зеленая пеночка (*Ph. t. viridanus*), мигрируя в Индокитай, предположительно, огибают Гималаи с востока (зарничка) и запада (зеленая пеночка) должны преодолевать 6–7, в среднем, 6.5 тыс. км и 5–6, в среднем, 5.5 тыс. км соответственно (Птушенко, 1954).

Первые самцы весничек появляются в Нижнем Приобье при освобождении от снега части территории. Прилет теньковок в лесотундру чаще начинался несколько позднее, чем у весничек, иногда одновременно, иногда раньше (табл. 1). Оба вида в период с 1972–2015 гг. сместили сроки начала прилета на более ранние даты – с конца мая на середину месяца, причем для теньковки тренд достоверен (Рыжановский, Гилев, 2020). Таловки за тот же период сроки начала прилета не изменили: конец мая – первая половина июня. Зарнички прилетают одновременно с таловками, в начале июня. Зеленые пеночки, появившиеся в регионе в последние десятилетия, прилетают одновременно с весничками и теньковками, первые весенние встречи приходятся на май–начало июня (Пасхальный, Головатин, 2007). Сведения по последнему виду отрывочны, поэтому в таблицу не включены. Согласно критерию Краскелл–Уоллиса, отличия начала прилета таловки от теньковки и веснички достоверны.

Самцы весничек прилетают с развитыми, но не достигшими максимальных размеров семенниками. Экспериментально установлена необходимость их фотопериодической стимуляции полярным днем (Рыжановский, 2001), поэтому предгнездовой период длится, в среднем, 20.9 сут. Вероятно, стимуляция необходима и теньковкам, предгнездовой период которых также длинный – 22.0 сут. Но таловки прилетали в лесотундру готовыми к размножению и не нуждались в дополнительной стимуляции фотопериодом широты Полярного круга. Поэтому предгнездовой период у них короткий – в среднем, 12.7 сут. Согласно критерию Краскелл–Уоллиса отличия таловки от теньковки и веснички также достоверны.

Даты начала откладывания яиц соответствуют последовательности прилета видов: весничка, теньковка, таловка. У зарничек, судя по возрасту птенцов в найденных гнездах в 3 разных года, яйцекладка начиналась в конце июня–начале июля, не раньше, чем у таловок. Величина кладки у пеночек близкая: весничка 5.95 ± 0.06 яиц (n = 298), теньковка 5.61 ± 0.11 яиц (n = 84); таловка 6.1 ± 0.15 яиц (n = 48); зарничка 5.5 яиц (n = 4). Сезон яйцекладки у таловок был на треть короче, чем у весничек и теньковок, что также достоверно (табл. 1).

Насиживание у всех пеночек начинается с второго–третьего яйца при кладке из 5 яиц, с четвертого-пятого при кладке из 6–7 яиц и продолжается от первого яйца до вылупления последнего птенца 16–22, в среднем, 20.2 ± 0.28 сут (n = 25), а от последнего яйца до вылупления первого птенца 10–14, в среднем, 11.5 ± 0.4 сут (n = 22). В гнезде птенцы сидят 12–15, в среднем, 14.4 ± 0.12 сут (n = 18). Индивидуальная длительность периода от первого яйца до последнего птенца в контрольных гнездах составляла у весничек 28–32, в среднем, 29.6 ± 0.4 сут (n = 16), у теньковок 30–32, в среднем, 30.8 ± 0.5 сут (n = 5), у таловок 28–32, в среднем, 30 ± 0.5 сут (n = 12) т.е. была равной. Но длительность гнездового сезона, от первого в сезоне найденного яйца в пуле контрольных гнезд до вылета из этих гнезд последнего птенца, в лесотундре у таловок, согласно критерию Краскелл–Уоллиса, достоверно меньше, чем у весничек и теньковок (табл. 1).

В годовом цикле весничек, теньковок и зарничек Северо-Западной Сибири имеют место летние постювенальная и послебрачная линьки и зимняя предбрачная линька. У таловок Западной Сибири постювенальную линьку не регистрировали за исключением полевого сезона 1977 г., когда ловили птиц с небольшой линькой, характерной для таловок Восточной Сибири (Рыжановский, 2015). Западные зеленые пеночки (*Ph. trochiloides viridanus*) в европейской части России и, по нашим данным, на Среднем Урале, не имеют постювенальной линьки, имеют неполную послебрачную линьку и полную предбрачную, как и таловки (Лапшин, 1990).

Летние линьки пеночек, если они есть, протекают в общие сроки (таблица), в конце июля–августе–начале сентября. Это наиболее постоянная, по датам, часть годового цикла. Темпы линек контролируются сокращающимся днем второй половины лета при эндогенном (связанным с возрастом) контроле сроков начала линек (Рыжановский, 1997). Предбрачную линьку в лаборатории у всех видов мы регистрировали в январе–апреле, как и в природе, с началом увеличения светлой фазы суток, т.е. у всех видов она контролируется растущим днем.

Длительность линьки зависит от количества заменяемых перьев. Частичная постювенальная линька (более 12 баллов) весничек и теньковок,

Таблица 1. Сроки *lim*/M (*n лет*), продолжительность *lim*/M (*n лет*) сезонных явлений; коэффициенты корреляции средних величин с дальностью миграции Спирмена (числитель), Пирсона (знаменатель); значение критерия Краскелл–Уоллиса, выделены достоверные величины

Показатели	Вид, длина миграционного пути, км				Корреляции	Критерий Краскелл–Уоллиса
	Ph. trochilus, 6000	*Ph. collybita*, 4500	*Ph. borealis*, 7000	*Ph. inornatus*, 6500		
Сроки начала прилета, даты	18.05–9.06 / 26.05 (28)	22.05–15.06 / 2.06 (17)	26.05–13.06 / 7.06 (27)	8.06–15.06 / 11.06 (3)	$r = 0.60$ / $r = 0.42$	**$H = 31.14$, $p = 0.0000$**
Продолжительность предгнездового периода, дни	12–26 / 20.9 (11)	18–28 / 22.0 (3)	9–19 / 12.7 (7)	–	$r = -1.00$ / $r = -0.85$	**$H = 9.78$, $p = 0.0075$**
Срока начала яйцекладки, даты	10.6–4.6 / 19.6 (22)	15.6–7.6 / 22.6 (8)	19.6–9.6 / 23.6 (7)	29.6–5.7 / 3.7 (3)	$r = 0.60$ / $r = 0.33$	**$H = 14.23$, $p = 0.0008$**
Продолжительность сезона яйцекладки, дни	17–32 / 23.8 (6)	18–30 / 21.7 (4)	10–21 / 14.0 (5)	–	$r = -0.50$ / $r = -0.69$	**$H = 5.85$, $p = 0.0538$**
Продолжительность гнездового сезона, дни	44–59 / 50.8(6)	43–55 / 46.5 (4)	35–41 / 40.7(4)	–	$r = -0.50$ / $r = -0.47$	**$H = 8.65$, $p = 0.0132$**
Сроки начала постювенальной линьки, даты	20.7–8.8 / 7.8 (4)	18.7–1.8 / 7.8 (2)	Нет линьки	1.8–15.8 / 7.8	$r = 0.00$ / $r = 0.00$	–
Продолжительность постювенальной линьки особи, дни	35–40 / 37.8 (7)	30–40 / 38.0 (4)	Нет линьки	25–35 / 30.0 (2)	$r = -1.00$ / $r = -0.71$	–
Сроки начала послебрачной линьки, даты	6.7–16.7 / 9.7 (5)	20.7–7.8 / 24.7 (3)	13.7–28.7 / 10.7 (4)	25.7–15.8 / 6.8 (2)	$r = 0.00$ / $r = -0.17$	**$H = 4.04$, $p = 0.1324$**
Продолжительность послебрачной линьки особи, дни	32–42 / 35.0 (6)	39–50 / 45.0 (2)	20–25 / 22.8 (2)	40 (1)	$r = -0.80$ / $r = -0.80$	–
Сроки начала отлета, даты	18.8–2.8 / 20.8 (4)	19.8–8.8 / 23.8 (2)	4.8–16.8 / 11.8 (5)	1.09 (1)	$r = -0.40$ / $r = -0.26$	**$H = 4.41$, $p = 0.1106$**
Продолжительность весенне-осеннего сезона, дни	105–126 / 117.7 (4)	112–118 / 115 (2)	74–80 / 76.2 (4)	100–115 / 107.5 (2)	$r = -0.80$ / $r = -0.68$	–
Продолжительность осеннего ожирения особи, дни	60–80 / 72.1 (9)	110–125 / 117.5 (2)	102–133 / 117.3 (3)	–	$r = -0.50$ / $r = -0.14$	–
Продолжительность предбрачной линьки особи, дни	60–70 / 65 (2)	30–35 / 32 (2)	45–70 / 63 (6)	30–40 / 35 (2)	$r = -0.40$ / $r = -0.56$	–

при близкой полноте (у весничек сменяются кроющие головы, туловища, иногда часть кроющих крыла; у теньковок кроющие головы, туловища и обычно часть кроющих крыла), продолжалась 35–40 сут. Зарнички при несколько меньшей полноте (сменяются кроющие головы и туловища без кроющих хвоста, незначительная часть кроющих крыла) заменяли оперение за 25–35 сут, таловки в 1977 г. при минимальной полноте (центральные ряды кроющих брюшной, спинной, плечевой птерилий) заменяли оперение за 5–15 сут. Полная послебрачная линька (75 баллов), характерная для большинства весничек, теньковок и, вероятно, всех зарничек продолжается 40–50 сут, не-

полная послебрачная линька (отсутствие линьки второстепенных маховых) части весничек и теньковок продолжается 30–40 сут; частичная послебрачная линька таловок и зеленых пеночек (заменяются кроющие головы, туловища, часть кроющих крыла, третьестепенные маховые) продолжается 20–25 сут (Рыжановский, 2017). Предбрачная линька весничек, таловок, зеленых пеночек полная (75 баллов), продолжительностью, в клетках, 2–2.5 мес. Теньковки и зарнички имели частичную линьку крыла и хвоста и полную кроющих головы и туловища (18–30 баллов), продолжительностью 1–1.5 месяца. Корреляции связи полноты всех трех линек с длительностью линек в группах видов высокие ($r = 0.84 \pm 0.38$, 0.81 ± 1.97 и 0.96 ± 0.17 соответственно), но достоверны только для предбрачной линьки.

Продолжительность сезона пребывания в гнездовом районе минимальна, не более 70–80 сут, у таловок, и, вероятно, у зеленых пеночек, так как из Восточной Европы они отлетают одновременно с таловками (Лапшин, 1990). Веснички и теньковки встречаются в лесотундре 100–120 сут, зарнички – ~100 сут. Отлет из Приобской лесотундры наблюдается в августе–сентябре. Начинают его таловки, и, вероятно, зеленые пеночки, затем веснички, заканчивают теньковки и зарнички. Об участии птицы в миграции свидетельствует миграционное состояние, одним из показателей которого являются жировые запасы. В клетках веснички, теньковки и таловки сохраняли значительные запасы жира, 50–75% от тощего зимнего веса, в течение 2–4-х месяцев (табл. 1), до ноября–января.

Отлетая из лесотундры во второй половине августа – первой половине сентября северные пеночки через 1.5–2.5 мес. (Птушенко, 1954) прибывают на места зимовки, где, возможно, осуществляют местные кочевки до утраты жировых запасов к началу увеличения длины дня после зимнего солнцестояния. Роста дня в феврале–марте достаточно для вступления в предбрачную линьку с последующей весенней миграцией и прилетом в лесотундру в конце мая–начале июня. Общая продолжительность негнездового периода, от дат начала отлета до начала прилета популяций пеночек Нижнего Приобья округленно: весничка и теньковка 245–265, таловка и зеленая пеночка 285–295, зарничка 250–265 дней.

Основным мерилом связи, существующей между биологическими признаками, служит коэффициент корреляции (Лакин, 1968). В таблице приводятся коэффициенты ранговой корреляции Спирмена и корреляции Пирсона. Величины в связи с небольшим числом видов во всех случаях не достоверные. При этом выделяются положительные и отрицательные корреляции. В первом случае, чем длиннее миграционный путь пеночек, тем позднее наблюдается прилет, начало яйцекладки, начало послебрачной линьки и продолжительность предбрачной линьки. Во втором случае, чем длиннее миграционный путь, тем короче продолжительность предгнездового периода, сезона яйцекладки, гнездового сезона, весенне-летне-осеннего сезона, постювенальной и послебрачной линек, периода миграционного ожирения, и наблюдается смещение отлета на более ранние даты.

Коэффициенты корреляции более 0.7 (табл. 1), свидетельствуют о высокой степени связи средних величин продолжительности предгнездового периода, постювенальной и послебрачной линек, весенне-летне-осеннего сезона со средней длиной миграционного пути. Коэффициенты 0.4–0.7 свидетельствуют о средней степени связи длины миграционного пути со средними, за период наблюдений, сроками начала прилета, начала яйцекладки, начала отлета, продолжительности сезона яйцекладки, гнездового сезона, миграционного ожирения и предбрачной линьки. Отсутствует связь дальности миграции со средними датами начала постювенальной и послебрачной линек. С длиной миграционного пути отрицательно связана полнота постювенальной линьки ($r = -0.40$), почти не связаны полнота послебрачной ($r = 0.05$) и предбрачной ($r = 0.11$) линек. Отметим наличие публикаций о выраженном влиянии длины миграционного пути на полноту линек воробьиных птиц (Блюменталь, Дольник, 1966; Stresemann. Stresemann, 1968; Рымкевич, 1983; Рыжановский, 1997).

При вычислении критерия Краскелл–Уоллеса использовали полные выборки (не средние величины, как в предыдущих вычислениях) данных по весничке, теньковке и таловке. Достоверной оказалась связь дальности миграции с датами начала прилета, с длительностью предгнездового периода, с датами начала яйцекладки, с длительностью периода яйцекладки и всего гнездового периода.

В итоге максимально дальний мигрант – таловка в лесотундру прилетает позднее других пеночек, быстро приступает к гнездованию, имеет короткий гнездовой сезон, рано отлетает в направлении зимовки т.к. молодые птицы не имеют линьки, у взрослых линька частичная и рано заканчивается. Мигранты относительно короткого расстояния, весничка и теньковка, прилетают раньше таловки, имеют затянутый предгнездовой и гнездовой периоды, продолжительную постювенальную линьки, поздний отлет. Отличия годовых циклов зарнички и зеленой пеночки, вероятно, также связаны с длиной миграционного пути.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность сотруднику ИЭРиЖ УрО РАН

А.В. Гилеву за помощь в статистической обработке материалов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН при поддержке Комплексной программы УрО РАН (проект 18-9-4-22).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Блюменталь Т.И., Дольник В.Р. Географические и внутрипопуляционные различия в сроках размножения, линьки и миграции у некоторых перелетных воробьиных птиц // Тр. Всесоюз. совещ. по внутривидовой изменчивости наземных позвоночных и микроэволюции. Свердловск. 1966. С. 319–332

Керри–Линдал К. Птицы над сушей и морем. Глобальный обзор миграций птиц. М.: Мысль. 1984. 204 с.

Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Изд-во Высшая школа, 1968. 284 с.

Лапшин Н.В. Зеленая пеночка – *Philloscopus trochiloides* (Sund) // Линька воробьиных птиц Северо-Запада СССР. Л.: Изд-во ЛГУ, 1990. С. 135–136.

Панов Е.Н. Птицы Южного Приморья. Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние. 1973. 375 с.

Пасхальный С.П., Головатин М.Г. Весенний пролет птиц в низовьях Оби // Научный вестник ЯНАО. Экосистемы Субарктики: структура, динамика, проблемы охраны. 2007. Вып. 6(50). Ч. 2. С. 23–57.

Птушенко Е.С. Род пеночка // Птицы Советского Союза. М.: Сов. Наука, 1954. Т. 6. С. 153–161. С. 2869–2872.

Рыжановский В.Н. Экология послегнездового периода жизни воробьиных птиц Субарктики. Екатеринбург. Изд-во Урал. ун-та, 1997. 288 с.

Рыжановский В.Н Гнездовой сезон как часть годового цикла воробьиных Субарктики // Гнездовая жизнь птиц. Пермь: Пермск. гос. пед. ин-т, 2001. С. 3–22.

Рыжановский В.Н. Сроки и продолжительность сезонных явлений годового цикла жизни воробьиных Субарктики на примере птиц Нижнего Приобья // Сибирский экологический журн. 2005. № 3. С. 475–487.

Рыжановский В.Н. Годовой цикл линек пеночки-таловки (Phylloscopus borealis Blasius, 1858) из северо-западной Сибири и его географическая изменчивость // Экология 2015. № 6. С. 460–465.

Рыжановский В.Н. Полнота сезонных линек воробьиных птиц (Aves, Passeriformes) Северо-Западной Сибири // Сибирский экологический журн. 2017. № 5. С. 583–594.

Рыжановский В.Н., Гилев А.В. Об иерархии факторов, определяющих сроки начала прилета воробьеобразных птиц (Passeriformes) в Приобскую лесотундру // Зоологический журн. 2020. Т. 99. № 2. С. 436–449.

Рымкевич Т.А. Сравнительная характеристика линьки овсянок (*Embericidae*) в Ленинградской области // Сообщения 7-й Прибалт. комиссии по изучению миграций птиц. Тарту. 1983. № 14 С. 85–112.

Stresemann E., Stresemann V. 1968. Winterquartier und Mauser der Dorngrassmucke, *Sylvia communis* // J. Ornithol. 1968. Bd. 109. № 3. S. 303–314.

The Effect of Range Migration on the Annual Cycles of Leaf Warblers (*Phylloscopus*) in North-Western Siberia

V. N. Ryzhanovskiy[#]

Institute of ecology of plants and animals, Urals branch of RAS, Yekaterinburg, 620144 Russia

[#]*e-mail: ryzhanovsky@ipae.uran.ru*

The combined wintering range of Northern warblers- *Phylloscopus trochilus*, *Ph. collibita*, *Ph. borealis*, *Ph. trochiloides* and *Ph. inornatus* includes the Equatorial latitudes from Africa to South-East Asia. The influence of the length of the migration path on the annual cycles of seasonal phenomena of these species is analyzed.

Keywords: warblers, annual cycles, migration