

---

---

# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Номер 3, 2021

---

---

## ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ЭВОЛЮЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ

Математическое моделирование популяционной динамики на основе рекуррентных уравнений: результаты и перспективы. Ч. II

*Е. Я. Фрисман, О. Л. Жданова, М. П. Кулаков, Г. П. Неверова, О. Л. Ревуцкая* 227

---

## ГЕНЕТИКА

Оогенез (профаза I мейоза) и митотические хромосомы партеногенетического вида *Darevskia armeniaca* (семейство Lacertidae)

*Л. А. Куприянова, Л. Д. Сафронова, В. Б. Сычева, Ф. Д. Даниелян, В. Г. Петросян* 241

---

## МИКРОБИОЛОГИЯ

Взаимодействие молочно-кислых бактерий при разных условиях совместного выращивания

*А. Израелян, К. Карапетян, Л. Арстамян, Л. Алексанян* 249

---

## ЗООЛОГИЯ

Биоритмы роста пресноводной жемчужницы *Margaritifera margaritifera* (Bivalvia, Margaritiferidae) популяция р. Немина (Карелия)

*А. А. Зотин, Е. П. Иешко* 256

Тренды изменения формы постгонитов в эволюции злаковых мух рода *Meromyza* (Diptera, Chlogoripidae)

*А. А. Яцук, А. Ф. Сафонкин, Т. А. Триселева* 263

---

## ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

Функциональная диверсификация морфологически сходных органов пищеварительного тракта у представителей Muroidea

*Е. И. Наумова, Т. Ю. Чистова, А. А. Варшавский, Г. К. Жарова* 270

Способность новых диаминоалканов и их аддитивных солей, эффективных по тесту выживания мышей, к защите системы крови при костномозговой форме острой лучевой болезни

*Э. А. Тарахтий, Р. И. Ишметова* 280

Влияние рекомбинантного белка теплового шока 90 БЕТА (БТШ90β) на скорость ранозаживления у мышей

*В. К. Жалимов, Ю. Ю. Скарга, Ю. В. Грицына, О. С. Моренков* 291

---

## ЭКОЛОГИЯ

Внеклеточная продукция фитопланктона и ее значение для гетеротрофной активности бактерий

*В. В. Бульон* 299

Трансформация углерода в агроэкосистемах на разных типах почв Прибайкалья в условиях аэротехногенного загрязнения и климатических изменений

*Л. В. Помазкина, Ю. В. Семенова, Н. Н. Кириллова* 309

Значимость вида в биоценозе, классе биоценозов, районе: обзор комплексных индексов

*С. В. Осипов* 321

---

---

# Contents

---

---

No. 3, 2021

---

---

## Theoretical and Evolutionary Biology

Mathematical Modeling of Population Dynamics Based on Recurrent Equations:  
Results and Prospects. P. II

*E. Ya. Frisman, O. L. Zhdanova, M. P. Kulakov, G. P. Neverova, and O. L. Revutskaya* 227

---

## Genetics

Oogenesis (Prophase I of Meiosis) and Mitotic Chromosomes of Parthenogenetic Species  
*Darevskia armeniaca* (Family Lacertidae)

*L. A. Kupriyanova, L. D. Safronova, V. B. Sicheva, F. D. Danielyan, and V. G. Petrosyan* 241

---

## Microbiology

Interaction of Lactic Acid Bacteria under Different Conditions of Combined Growth

*A. Israyelyan, K. Karapetyan, L. Arstamyan, and L. Alexsanyan* 249

---

## Zoology

Growth Parameters of the Freshwater Pearl Mussel *Margaritifera margaritifera*  
(Bivalvia, Margaritiferidae) Nemina River Population (Karelia)

*A. A. Zotin and E. P. Ieshko* 256

Trends in Changes of the Form of Postgonites in the Evolution of Grass Flies  
of the Genus *Meromyza* (Diptera, Chloropidae)

*A. A. Yatsuk, A. F. Safonkin, and T. A. Triseleva* 263

---

## Animal and Human Physiology

Functional Diversity of Morphologically Similar Digestive Organs in Muroidea Species

*E. I. Naumova, T. Yu. Chistova, A. A. Varshavskii, and G. K. Zharova* 270

Ability of New Diaminoalkanes and Their Additive Salts, Effective in the Mouse Survival Test,  
to Protect the Blood System in the Bone Marrow Form of Acute Radiation Disease

*E. A. Tarakhtii and R. I. Ishmetova* 280

Influence of Recombinant Heat Shock Protein 90 $\beta$  (Hsp90 $\beta$ ) on the Speed  
of Wound Healing in Mice

*V. K. Zhalimov, Y. Y. Skarga, Yu. V. Gritsyna, and O. S. Morenkov* 291

---

## Ecology

Extracellular Phytoplankton Production and Its Importance for Heterotrophic Activity of Bacteria

*V. V. Bouillon* 299

Carbon Transformation in Agroecosystems on Different Types of Soils in the Baikal Region  
under Aerotechnogenic Pollution and Climatic Change

*L. V. Pomazkina, Yu. V. Semenova, and N. N. Kirillova* 309

The Importance of a Species in a Biocoenosis, a Class of Biocoenoses, and a Region:  
a Review of Combined Indexes

*S. V. Osipov* 321

---

---

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ  
И ЭВОЛЮЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 51-76:574.34

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОПУЛЯЦИОННОЙ  
ДИНАМИКИ НА ОСНОВЕ РЕКУРРЕНТНЫХ УРАВНЕНИЙ:  
РЕЗУЛЬТАТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ. Ч. II

© 2021 г. Е. Я. Фрисман\*, О. Л. Жданова\*, \*\*, М. П. Кулаков\*,  
Г. П. Неверова\*, \*\*, @, О. Л. Ревуцкая\*

\*Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН,  
ул. Шолом-Алейхема, 4, Биробиджан, 679016 Россия

\*\*Институт автоматики и процессов управления ДВО РАН, ул. Радио, 5, Владивосток, 690041 Россия

@E-mail: galina.nev@gmail.com

Поступила в редакцию 16.06.2020 г.

После доработки 02.12.2020 г.

Принята к публикации 02.12.2020 г.

Во второй части обзора основное внимание уделено моделированию процессов эволюции лимитированных популяций, а также влиянию миграции на динамику популяций и особенности их пространственного распределения. Представлены существующие подходы и математические дискретные во времени модели для изучения возникновения мультистабильности, синхронизации и кластеризации в популяционных системах.

DOI: 10.31857/S000233292103005X

Для понимания механизмов, вызывающих популяционные колебания, важно применять рекуррентные уравнения к изучению и моделированию динамики численности тех биологических видов, которые характеризуются четко выраженным сезоном размножения и стадийностью развития. Рекуррентные уравнения позволили объяснить резкие колебания численности популяций при сравнительно постоянных внешних условиях. Оказалось, что периодические колебания, наблюдаемые в живых системах, могут определяться не только внешними воздействиями, но и внутренними свойствами самой системы. Кроме того, часто в экспериментальных и полевых исследованиях данные собираются с регулярными интервалами времени, что также указывает на целесообразность использования рекуррентных уравнений.

В предыдущей части обзора были рассмотрены динамические эффекты (мультистабильность, фазовая мультистабильность), к которым приводят плотностно-зависимая регуляция, усложнение возрастной, половой, стадийной структур и влияние внешних факторов (Фрисман и др., 2021). В данной части обзора основное внимание уделяется задачам, связанным с моделированием процессов эволюции лимитированных популяций, а также влиянию миграции на динамику популяций и особенности их пространственного распределения. Предлагаемый обзор будет полезен для исследователей, которые имеют набор данных

наблюдений или экспериментов и находятся в поиске математических методов и моделей для их описания и анализа.

ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕССОВ  
МИКРОЭВОЛЮЦИИ НА  
ПОПУЛЯЦИОННУЮ ДИНАМИКУ

Базовые концепции общей биологии, связанные с эволюцией популяций и динамикой экосистем, были сформированы в предположении, что экологические и эволюционные процессы тесно взаимосвязаны. В частности, автор эволюционной теории Ч. Дарвин (Darwin, 1859), создатели синтетической “генетической” теории эволюции Р. Фишер (Fisher, 1930), С. Райт (Wright, 1930), Дж. Холдейн (Haldane, 1932) и С.С. Четвериков (Четвериков, 1926), а также основоположники теоретической экологии (динамической теории экосистем) П. Ферхюльст, В. Вольтера и Г.Ф. Гаузе (Гаузе, 1935, 1984) рассматривали эволюционные и экологические процессы как неотъемлемые характеристики одного целого.

Более детально механизм взаимосвязи эволюционных и экологических процессов впервые был описан в 1950-х и 1960-х гг. Одной из первых появилась гипотеза Читти (Chitty, 1952, 1960) о том, что циклические изменения численности полевых животных могут быть следствием естественного отбора, благоприятствующего различным геноти-

пам в противоположные фазы цикла внешних условий. Затем было предположено, что именно эволюция создает условия для контроля численности травоядных, паразитов и хищников в природе (Pimentel, 1968). Развивались представления о плотно- и частотно-зависимых составляющих в действии естественного отбора (Birch, 1955; Charlesworth, 1971), а также о плотно-независимых формах естественного отбора, действие которых в условиях экологического лимитирования способно вызвать изменение характера динамики численности популяций (Gottlieb, 1974; Gaines *et al.*, 1978; Фрисман, 1986, 1995).

Позже интерес к этой теме практически пропал в связи с неудачными попытками экспериментально подтвердить взаимосвязь эколого-генетических процессов, например, гипотезу Читти (Boonstra, Voag, 1987). В результате укоренилось мнение, что у эволюционных и экологических процессов значительно отличаются временные шкалы (Carroll *et al.*, 2007). Несмотря на преобладающий пессимизм, постепенно накапливались результаты исследований, подтверждающие возможность наблюдать существенные адаптивные генетические изменения, происходящие в настоящее время (например, изменение окраски и признаков жизненного цикла гупий при смене хищника (Endler, 1980; Reznick, Bryga, 1987; Reznick *et al.*, 1990); изменения признаков жизненного цикла комаров, завезенных на Гавайи (Stearns, 1983); фенотипические признаки кроликов, завезенных в Новую Зеландию (William, Moore, 1989)). Позже удалось экспериментально подтвердить, что естественный отбор и генетическая изменчивость могут влиять на популяционную динамику (Sinervo *et al.*, 2000; Yoshida *et al.*, 2003). В последнее время наблюдается рост исследовательского интереса к анализу коэволюционной динамики, однако полного синтеза экологических и генетических представлений и концепций нет до сих пор (Carroll *et al.*, 2007; Pelletier *et al.*, 2009), экологические и генетические популяционные процессы, как правило, рассматриваются отдельно (Mallet, 2012; Bertram, Masel, 2019). В частности, в популяционно-генетических моделях изучается динамика генетических частот в зависимости от различных особенностей наследования, при этом используются относительные значения приспособленностей генотипов, что позволяет считать численность популяции постоянной (модель Фишера–Райта) (Stearns, 1992; Ellner, 1996; Barton *et al.*, 2007; Yamamichi, Ellner, 2016; Yamamichi, Hosono, 2017).

Отметим модели, в которых показано, что эволюционный процесс естественного отбора может привести к изменению параметров роста популяции и связанной с этим смене динамических режимов ее численности, и обсудим возможные механизмы и направленность этих изменений.

Для понимания основных закономерностей эволюции динамического поведения численности лимитированной популяции ограничимся подробным рассмотрением простой модельной ситуации, когда все адаптивное разнообразие в популяции определяется одним диаллельным  $A$  локусом с аллеломорфами  $A_1$  и  $A_2$ , причем фенотип особи жестко определяется ее генотипом; популяция панмиктична, в ней действуют менделевские правила наследования, а смежные поколения особей не перекрываются. В этом случае действие отбора можно описать количественно, поставив в соответствие каждому из генотипических классов особей  $A_1A_1$ ,  $A_1A_2$ , и  $A_2A_2$  по одному коэффициенту  $w_{11}$ ,  $w_{12}$  и  $w_{22}$  соответственно, называемому приспособленностью особей данного генотипа (fitness). Будем считать, что  $w_{ij}$  равно среднему числу потомков, произведенных одной особью данного генотипического класса и доживших до репродуктивного возраста (внесших вклад в следующее поколение). Это определение приспособленности формально эквивалентно определению Фишера (Fisher, 1930; Ратнер, 1977).

Несмотря на максимальное упрощение, моногенная модель отбора не полностью оторвана от реальности. В качестве яркого примера можно привести моногенный характер наследования размера помета у арктических песцов *Lepus lagopus*. На основе комплексного сегрегационного анализа типа наследования размера приплода в расширенной генеалогии фермерских песцов было показано, что для данного адаптивного (напрямую определяющего приспособленность) признака наследование математического ожидания размера приплода можно описать в рамках моногенной модели с контролем малого размера приплода по рецессивному типу (Axenovich *et al.*, 2007).

Перейдем к математическому описанию процесса эволюции популяции и введем следующие обозначения:  $q$  – частота гамет, несущих аллель  $A_1$ ,  $N$  – численность популяции. Сделанные предположения позволяют получить рекуррентные уравнения, связывающие значения этих переменных в смежных поколениях (Ратнер, 1977):

$$\begin{cases} N_{n+1} = \bar{w}_n N_n, \\ q_{n+1} = q_n(w_{11}q_n + w_{12}(1 - q_n)) / \bar{w}_n, \end{cases} \quad (1)$$

где  $n$  – номер поколения,  $\bar{w}_n = w_{11}q_n^2 + 2w_{12}q_n \times (1 - q_n) + w_{22}(1 - q_n)^2$  – средняя приспособленность популяции.

Рассмотрим ситуацию, когда действие отбора не зависит от численности (плотности населения) популяции, однако будем учитывать влияние плотно-зависимых факторов, лимитирующих рост популяции. Такое представление, по-видимому, вполне соответствует реальному действию отбора на те признаки, природная генотипическая из-

менчивость по которым никак не коррелирует с изменениями плотности в популяции. Подобным образом должны, по-видимому, отбираться многие физиологические мутации, влияющие на общую жизнеспособность.

В этом случае относительные приспособленности (отношения  $w_{ij}/w^*$ , где  $w_{ij}$  – приспособленность  $ij$ -го генотипа, а  $w^*$  – приспособленность одного из генотипов, принятая за эталон) не зависят от численности популяции, т.е. их можно считать константами. Поскольку популяция находится под действием плотно-зависимых лимитирующих факторов, то абсолютные приспособленности каждого генотипического класса должны зависеть от численности популяции:

$$w_{ij}(N) = a_{ij}f(N). \tag{2}$$

Здесь  $f(N)$  – функция, характеризующая плотностную регуляцию численности, одинаковую для каждого генотипа,  $a_{ij}$  – коэффициенты, равные относительным генотипическим приспособленностям. Функцию  $f(N)$  будем считать монотонно убывающей с ростом численности, причем  $f(0) = 1$ . Такое действие отбора предлагаем называть F-отбором, подчеркивая этим, что отбор осуществляется при постоянных относительных приспособленностях (fitnesses). Легко видеть, что в случае F-отбора уравнения динамики (1) преобразуются к виду

$$\begin{cases} N_{n+1} = a_n N_n f(N_n), \\ q_{n+1} = q_n(a_{11}q_n + a_{12}(1 - q_n))/a_n. \end{cases} \tag{3}$$

Динамика численности рассматриваемой популяции, находящейся под действием F-отбора, может описываться моделью Рикера ( $f(N) = \exp(-bN)$ ), дискретным аналогом модели Ферхюльста ( $f(N) = 1 - kN$ ) и др. В отличие от классических моделей здесь коэффициент роста популяции  $a$  зависит от  $n$ . Это связано с тем, что  $a_n$  равно среднему значению относительных приспособленностей  $a_{ij}$  в популяции в  $n$ -м поколении, т.е.

$$a_n = a_{11}q_n^2 + 2a_{12}q_n(1 - q_n) + a_{22}(1 - q_n)^2.$$

Отметим, что без потери общности модель (3) может быть записана в относительных значениях численности:

$$\begin{cases} x_{n+1} = a_n x_n f(x_n), \\ q_{n+1} = \frac{a_{11}q_n^2 + a_{12}q_n(1 - q_n)}{a_{11}q_n^2 + 2a_{12}q_n(1 - q_n) + a_{22}(1 - q_n)^2}, \end{cases} \tag{4}$$

причем в случае дискретного аналога модели Ферхюльста  $f(x_n) = 1 - x_n$ , а для модели Рикера  $f(x_n) = \exp(-x_n)$ .

Уравнение изменения генетической структуры популяции при F-отборе не зависит от ее численности и может быть исследовано отдельно. Кроме того, оно совпадает с уравнением динами-

ки генетической структуры нелимитированной популяции. Следовательно, здесь справедлива теорема Фишера, доказанная для дискретного случая Кингманом (Kingman, 1961):  $a_{n+1} \geq a_n$ , т.е. среднее значение относительных приспособленностей  $a_i$  может лишь возрасть в процессе эволюции независимо от их конкретных значений и начального состояния популяции. Это означает, что репродуктивный потенциал лимитированной популяции возрастает в процессе эволюции так же, как средняя приспособленность свободной. Однако такой монотонный рост репродуктивного потенциала, вызванный динамикой генетической структуры, может привести к изменению характера динамического поведения численности даже однородной популяции и обусловить возникновение периодических и нерегулярных колебаний. Таким образом, в лимитированных популяциях с неперекрывающимися поколениями прогрессивное возрастание средней приспособленности может оказаться в диссонансе со стабильностью роста популяции.

Рассмотрим модель эволюционной динамики популяции, содержащей два возрастных класса: младший, включающий в себя неполовозрелых особей, и старший, состоящий из особей, участвующих в размножении. Предполагается, что рождаемость половозрелых особей меняется в процессе микроэволюции, а репродуктивный потенциал – максимально возможная плодовитость особей – является адаптивным признаком, который определяется одним аутосомным диаллельным локусом с аллеломорфами  $A$  и  $a$ . Следовательно, в популяции выделяются генотипические группы  $AA$ ,  $Aa$  и  $aa$  с различающимися репродуктивными потенциалами. Модель имеет вид (Неверова и др., 2020)

$$\begin{cases} X_{n+1} = B_n Y_n \exp(-\alpha X_n - \beta Y_n), \\ Y_{n+1} = sX_n + vY_n, \\ q_{n+1} = \frac{p_n [b_{AA}p_n + b_{Aa}(1 - p_n)]}{B_n}, \\ p_{n+1} = \frac{sq_n X_n + vp_n Y_n}{sX_n + vY_n}, \end{cases} \tag{5}$$

где  $X$  и  $Y$  – численности младшего и старшего возрастных классов соответственно;  $n$  – номер периода размножения;  $s$  ( $0 < s \leq 1$ ) и  $v$  ( $0 < v \leq 1$ ) – коэффициенты выживаемости неполовозрелых и половозрелых особей соответственно;  $q$  и  $p$  – частоты аллеля  $A$  в младшем и старшем возрастных классах соответственно;  $B_n = b_{AA}p_n^2 + 2b_{Aa}p_n(1 - p_n) + b_{aa}(1 - p_n)^2$  – средний репродуктивный потенциал старшего возрастного класса в году  $n$ ;  $b_{AA}$ ,  $b_{Aa}$  и  $b_{aa}$  – репродуктивные потенциалы соответствующих генотипов;  $\alpha$  и  $\beta$  – коэффициенты, характеризующие интенсивности воздействия неполо-

возрелых и половозрелых особей на уменьшение рождаемости.

Проведенные ранее исследования нелинейных моделей динамики популяций с возрастной структурой показали, что увеличение средней индивидуальной приспособленности приводит к колебаниям численности, а затем к возникновению хаотических аттракторов, структура и размерность которых меняются при изменении параметров модели. В частности, увеличение рождаемости и уменьшение смертности возрастных групп приводят к усложнению структуры аттракторов и росту фрактальной размерности (Фрисман, Скалецкая, 1994; Фрисман, Жданова, 2009; Фрисман и др., 2010; Frisman *et al.*, 2011).

Согласно моделям (4) и (5) перечисленные типы динамики численности могли бы последовательно возникать в эволюции лимитированной популяции под действием плотностно-независимого естественного отбора, повышающего среднюю приспособленность популяции в соответствии с фундаментальной теоремой естественного отбора Фишера. Показано, что результаты F-отбора в экологически лимитированных популяциях не отличаются от результатов отбора по “фишеровским” приспособленностям в свободно размножающихся популяциях: промежуточные значения приспособленностей гетерозигот (относительно приспособленностей гомозигот (движущий отбор) приводят к установлению мономорфизма по аллелям, обеспечивающим больший репродуктивный потенциал; сверхдоминирование приводит к устойчивому полиморфизму, а пониженная относительная приспособленность гетерозигот – к бистабильности мономорфных состояний.

Плотностное лимитирование приводит к тому, что с ростом среднего репродуктивного потенциала равновесная численность популяции теряет устойчивость и возникают колебания. При этом генетическая структура определяется соотношением приспособленностей: при движущем отборе устанавливается мономорфизм, при сверхдоминировании – полиморфизм, при пониженном репродуктивном потенциале гетерозигот – ловушка бистабильности (Неверова и др., 2020).

Наличие возрастной структуры обеспечивает возникновение колебаний по двум сценариям: сценарию удвоения периода, приводящему к “пилообразным” колебаниям численности, редко встречающимся в природе, и сценарию рождения инвариантной кривой, при котором возникают квазипериодические колебания, сравнительно часто наблюдающиеся в природе.

Динамические режимы, наблюдаемые в наших эколого-генетических моделях, – следствие объединения двух подходов: естественный отбор приводит к эволюционному росту приспособленности (в модели (5) – к росту репродуктивного

потенциала), а плотностное регулирование при увеличении репродуктивного потенциала приводит к бифуркациям, обеспечивающим возникновение колебаний численности. Только теперь эти флуктуации появляются в ходе генетической эволюции.

Принципиально новое здесь – возникновение устойчивых колебаний не только численности, но и частот генов. Отметим, что F-отбор не является плотностно-зависимым отбором: репродуктивные потенциалы генотипов – константы, независящие ни от численности, ни от плотности. Ожидалось, что F-отбор вызовет монотонное изменение частот, которое может привести к изменению динамического режима популяции. Однако оказалось, что в рамках F-отбора возможны бифуркации, которые приводят к возникновению устойчивых колебаний частот аллелей. При этом нарушается принцип суперпозиции результатов двух моделей: плотностно-независимого естественного отбора и плотностно-зависимой регуляции роста численности; появляются режимы, которые не наблюдались отдельно в каждой из моделей.

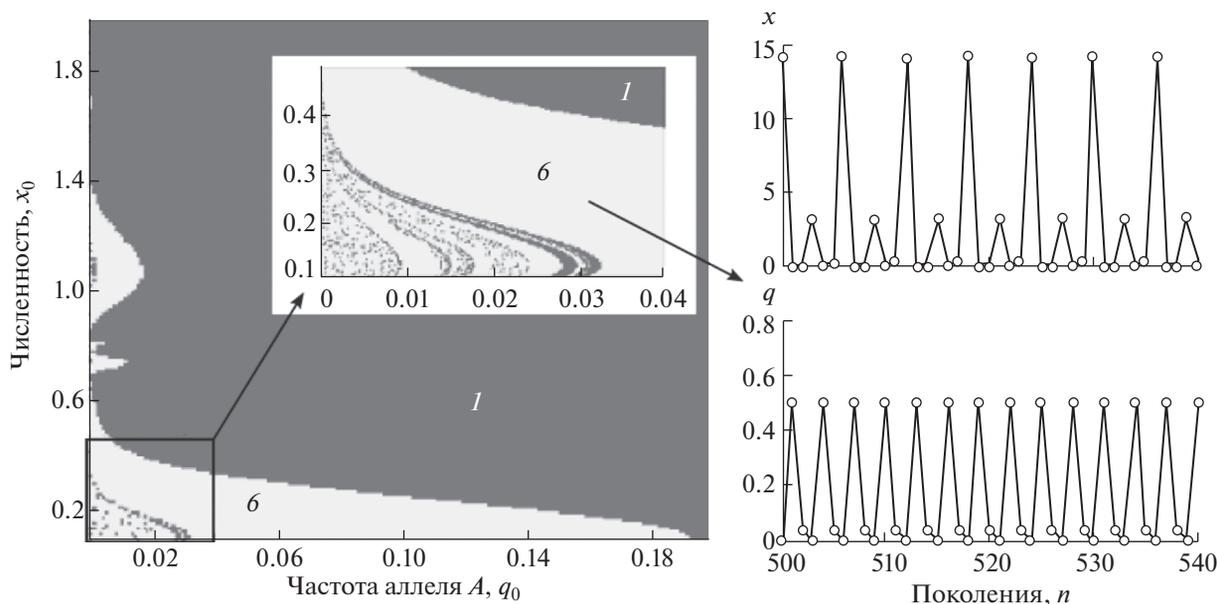
Другой парадокс F-отбора заключается в том, что он, будучи независимым от плотности, приводит к периодическим колебаниям и нерегулярным режимам динамики численности, которые создают условия для плотностно-зависимого отбора, такого как g- и K-отбор.

В случае g- и K-отбора зависимость приспособленности генотипов от численности оказывается более сложной, чем при F-отборе. Наиболее часто эту зависимость формализуют в виде

$$w_{ij}(x_n) = \exp[R_{ij}(1 - x_n/K_{ij})]. \quad (6)$$

Формула (6) – обобщение модели Рикера для популяции, развивающейся под действием естественного отбора.  $R_{ij}$  ( $R_{ij} > 0$ ) – мальтузианский параметр, характеризующий репродуктивный потенциал  $ij$ -го генотипа,  $K_{ij}$  ( $K_{ij} > 0$ ) – ресурсный параметр генотипа: это равновесное значение численности, которое было бы достигнуто популяцией, если бы она состояла только из особей с  $ij$ -м генотипом. Коэффициент  $R$  измеряется в абсолютных единицах, а  $K$  – в относительных. Рассматриваемый тип естественного отбора – биологически содержательный, поскольку известны результаты наблюдений g- и K-стратегий отбора в лабораторных и природных популяциях низших и высших организмов (Long, Long, 1974; MacNaughton, 1975; Graham, 1977).

Исследование модели (1) показало, что, когда приспособленности генотипов описываются уравнением (6), можно выделить аналоги основных типов отбора на базе соотношения ресурсных параметров генотипов. В отличие от результатов действия отбора в популяциях без учета плот-



**Рис. 1.** Бассейны притяжения двух типов динамики модели (1), (6) при  $K_{aa} = 0.8, K_{AA} = 1, K_{Aa} = 2.2, R_{AA} = 2.3, R_{Aa} = 1, R_{aa} = 5.69$ . Полиморфная неподвижная точка ( $x = 1.19, q = 0.62$ ) устойчива.

ностного лимитирования, здесь зависимость от начальных условий при пониженном ресурсном параметре гетерозиготы в лимитированной популяции приобретает весьма сложную форму. В этом случае помимо начальной генетической структуры популяции на результат эволюции может влиять и ее начальная численность. При повышенном ресурсном параметре гетерозигот в популяции сохраняется полиморфизм, при этом характер динамики как численности, так и частот генов может быть как равновесным, так и флуктуирующим, а смена динамического режима может быть вызвана изменением начальных условий (рис. 1).

Даже при промежуточном значении ресурсного параметра гетерозиготы (что соответствует направлению отбору) популяция с плотностным лимитированием роста численности может оставаться полиморфной, при этом динамика ее численности и генетического состава нестационарна. На рис. 2 показана область существования устойчивого полиморфизма при промежуточном доминировании ресурсных параметров генотипов. Динамика популяции в этом случае может быть весьма разнообразной – от строго регулярной (циклы различной длины) до нерегулярной.

Таким образом, сложившиеся представления о направленном действии естественного отбора как силы, ведущей популяцию к некоторой оптимальной приспособленности, нарушаются уже даже в такой простой модели вследствие ее мультистабильности. Оказалось, что изменение начальных условий, которое может быть обусловлено влиянием

внешней среды, способно значительно изменить результат эволюции. Выявленная мультистабильность дает возможность популяции оставаться полиморфной даже при пониженной приспособленности гетерозиготы. При этом сложная фрактальная структура бассейнов притяжения альтернативных аттракторов свидетельствует о колоссальных сложностях прогноза эволюционных последствий даже при известных значениях приспособленностей конкретных генотипов.

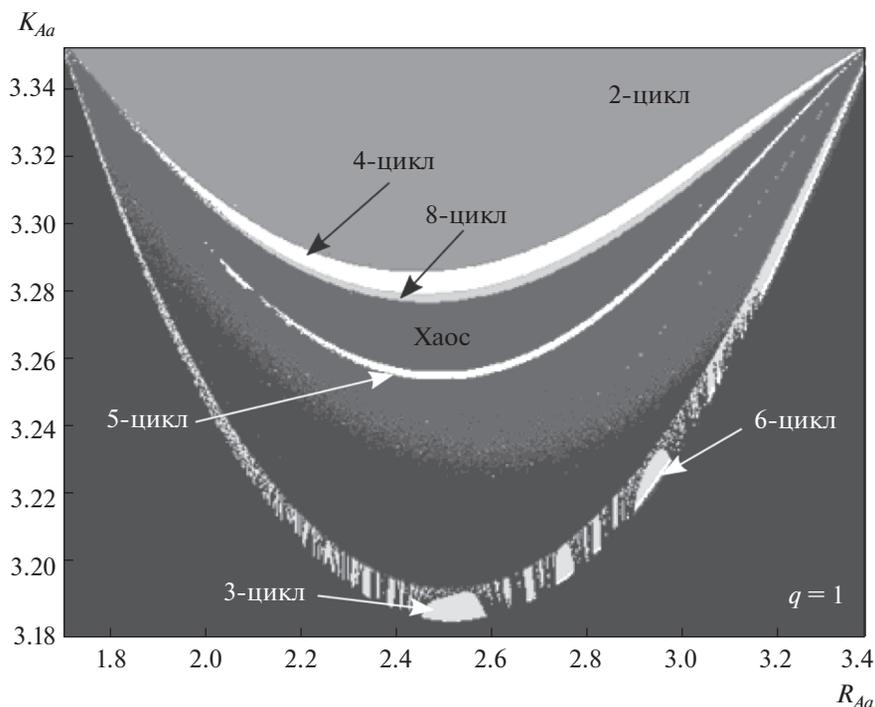
### ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕССОВ МИГРАЦИИ

Рассмотрим систему двух миграционно связанных популяций, динамика каждой из которых описывается моделью Рикера:

$$\begin{cases} x_{n+1} = (1 - m)ax_n e^{-x_n} + may_n e^{-y_n}, \\ y_{n+1} = (1 - m)ay_n e^{-y_n} + max_n e^{-x_n}, \end{cases} \quad (7)$$

где  $m$  – коэффициент связи между двумя полностью идентичными локальными популяциями или коэффициент миграции,  $x$  и  $y$  – относительные численности популяций,  $n$  – номер сезона размножения,  $a$  – коэффициент рождаемости.

Подобного типа модель известна давно (Орро, Kapral, 1986; Кузнецов, Кузнецов, 1991; Gyllenberg, Hanski, 1992; Gyllenberg *et al.*, 1993; Hanski, Gyllenberg, 1993; Безручко и др., 2002; Астахов и др., 2006). Несмотря на свою простоту и большую историю модель (7) имеет ряд особенностей динамического поведения, изученных относительно недавно (Кулаков, Фрисман, 2010; Кулаков и др., 2013). Так, известно, что при одних и тех



**Рис. 2.** Карта режимов динамики генетического состава популяции при  $K_{aa} = 1.46$ ,  $K_{AA} = 3.35$ ,  $R_{AA} = 3.4$ ,  $x_0 = 0.1$ ,  $q_0 = 0.2$ . Черным цветом отмечена область параметров, соответствующих мономорфному равновесию ( $q = 1$ ); оттенками серого – полиморфному состоянию системы (1), (6).

же значениях демографических параметров в зависимости от начальных значений численности популяций в системе оказывается возможным возникновение принципиально разных динамических режимов. Фазовое пространство модели при этом дробится бассейнами притяжений этих режимов. В частности, показано, что могут одновременно сосуществовать синхронные и несинхронные режимы. С ростом репродуктивного потенциала  $a$  происходит рост числа возможных мультистабильных состояний (рис. 3). Так, в диапазоне существования устойчивого цикла длины 2 наблюдается единственный цикл, противофазный ему ( $2_1$ ). В то время как несинхронные циклы больших длин представлены несколькими своими разновидностями, которые отличаются временным сдвигом (фазой) значений рядов  $x_n$  и  $y_n$  на целую величину  $\tau$ , такую, что  $|x_n - y_{n+\tau}| \rightarrow 0$  при  $n \rightarrow \infty$ . Например, 4-цикл в системе (7) имеет 3 несинхронных вида –  $4_1$ ,  $4_2$  и  $4_3$  (нижний индекс равен  $\tau$ ). Однако несинхронный 8-цикл в системе (7) представлен лишь 5 своими разновидностями ( $8_1, 8_2, 8_3, 8_5, 8_7$ ). Кроме того, цикл  $8_2$  имеет “двойника”  $8_2^*$ , для которого не существует предела  $|x_n - y_{n+\tau}| \rightarrow 0$ , однако для  $\tau = 2$  эта разница минимальна. Каждый из перечисленных режимов имеет свои сложно устроенные области (бассейны) притяжения (рис. 4). Это позволяет заключить,

что из-за малого размера некоторых бассейнов самые незначительные внешние воздействия (промысел, болезни, хищничество и т.п.) могут перекинуть траекторию в другой бассейн с принципиально иным типом динамики (рис. 4).

### БОЛЬШИЕ МЕТАПОПУЛЯЦИИ: СИНХРОНИЗАЦИЯ И КЛАСТЕРИЗАЦИЯ

Дальнейшее развитие моделей, описывающих динамику миграционно связанных популяций, исходит из следующих соображений:

во-первых, система популяций или метапопуляция может состоять более чем из двух локальных групп особей, которые каким-то образом рассредоточены по двумерному ареалу. В этом случае модель динамики такой системы будет состоять более чем из двух связанных рекуррентных уравнений. Логично предположить, что такие системы наследуют ряд свойств системы (7), а также демонстрируют ряд принципиально новых;

во-вторых, особи в популяции могут отличаться одна от другой по половому, возрастному или генетическому признакам, а также подвижностью по ареалу. Например, способными к миграции могут быть особи старшего возрастного класса, в то время как молодежь не участвует в расселении.

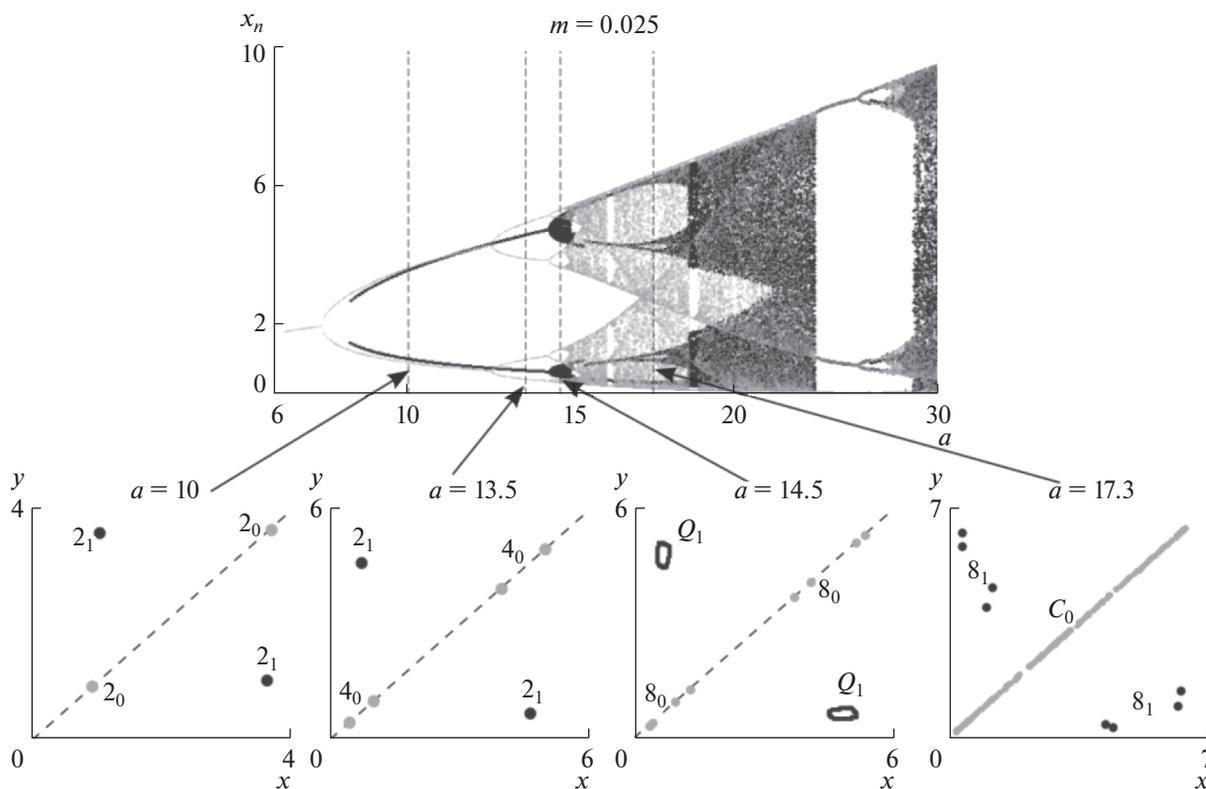


Рис. 3. Бифуркационная диаграмма (сверху) и фазовые портреты (снизу) модели (7). Черным цветом отмечены синхронные циклы ( $2_0, 3_0, 4_0, 8_0$ ), серым цветом – асинхронные ( $2_1, 4_2, 6_3, 8_1$ ).  $Q_1$  и  $C_0$  – квазипериодическая и хаотическая динамика соответственно.

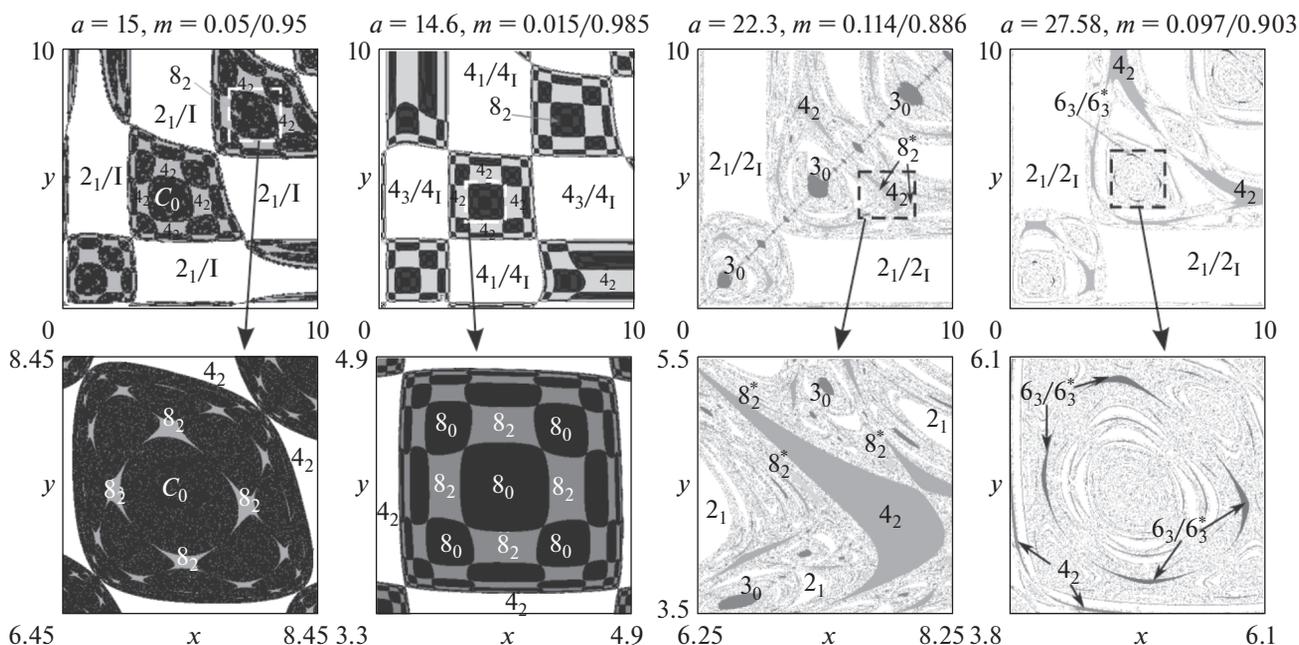


Рис. 4. Бассейны притяжения модели (7). Черным цветом выделена область притяжения полностью синхронных режимов, белым цветом – область противофазных режимов, серым – множество иных асинхронных режимов, в том числе с частичной синхронизацией.

Рассмотрим следующую математическую модель (Кулаков, Фрисман, 2017, 2019; Кулаков, 2018):

$$\begin{cases} x_{ij}(t+1) = ay_{ij}(t) \exp[-\rho x_{ij}(t) - y_{ij}(t)], \\ y_{ij}(t+1) = rx_{ij}(t) + vy_{ij}(t) + \\ + \frac{mv}{S} \sum_{g=i-P}^{i+P} \sum_{h=j-P}^{j+P} M(i, j, g, h) [y_{gh}(t) - y_{ij}(t)], \end{cases} \quad (8)$$

где  $x_{ij}(t)$  и  $y_{ij}(t)$  – относительные численности (плотности) младшей (неполовозрелой) и старшей (половозрелой) части метапопуляции в  $t$ -й номер сезона ( $t = 0, 1, 2, \dots$ ) на участке двумерного ареала с номером  $(i, j)$ . Индекс  $i$  – номер строки ( $i = 1, 2, \dots, s$ ),  $j$  – столбца ( $j = 1, 2, \dots, k$ ),  $k$  и  $s$  – размеры ареала. В отсутствие миграции ( $m = 0$ ) уравнения (8) описывают ситуацию, при которой численность потомства нелинейно зависит от численности обоих возрастных классов, что соответствует плотностно-зависимой регуляции рождаемости. Предполагается, что старший возрастной класс состоит из выживших в прошлом сезоне половозрелых особей (доля таких особей составляет  $0 \leq v < 1$ ) и тех особей, которые перешли из младшего класса в старший (за счет выживаемости молодежи с интенсивностью  $0 < r \leq 1$ ). Параметр  $a$  в первом уравнении – репродуктивный потенциал. Величина  $\rho > 0$  определяет вклад неполовозрелых особей в плотностно-зависимое лимитирование рождаемости (Frisman *et al.*, 2011).

Функция  $M$  задает характер расселения особей из каждой субпопуляции, т.е.  $M$  – это функция связи. Если местообитания с номерами  $(i, j)$  и  $(g, h)$  связаны, то  $0 < M < 1$ , в противном случае –  $M = 0$ . Величина  $S$  – нормирующий коэффициент, рассчитываемый так, чтобы обеспечить строгое равенство между числом особей, покинувших  $(i, j)$ -е местообитание (эмигранты), и числом тех, кто пополняет каждое  $(g, h)$ -е местообитание (иммигранты). Одна из возможных функций, описывающих связь, – это Гауссова кривая следующего вида:

$$\begin{aligned} M(i, j, g, h) &= \frac{1}{S} \exp \left[ -\frac{(i-g)^2 + (j-h)^2}{P} \right], \\ S &= \sum_{g=-P}^P \sum_{h=-P}^P \exp \left[ -\frac{g^2 + h^2}{P} \right] - 1. \end{aligned} \quad (9)$$

Согласно выражениям (9) интенсивность потока мигрантов из  $(i, j)$ -й субпопуляции экспоненциально уменьшается по мере удаления от нее. Параметры  $m$  и  $P$  в рамках системы, состоящей из уравнений (8) и (9), интерпретируются как сила и радиус связи соответственно. Такой подход описывает очевидное наблюдение: чем дальше от источника расположен участок, принимающий эмигрантов, тем труднее до него добраться

за короткое время. Таким образом, на смежные участки перемещается максимально большое число мигрантов, а в более удаленные местообитания доходит все меньше и меньше особей. Использование нелинейных функций связи для описания дальнедействующих взаимодействий не ново. Например, часто используют гиперболическую или экспоненциальную зависимость (Vasconcelos *et al.*, 2004; Viana *et al.*, 2017), но, как правило, для одномерных решеток, состоящих из связанных одномерных логистических отображений. Функция вида (9) была приведена в ранее опубликованных работах (Tuzinkevich, Frisman, 1990; Фрисман и др., 1996).

В модели (8) используются периодические граничные условия, т.е. ареал описывается в форме тора. Для этого принимается, что первая строка решетки системы (8) связана с последней, а первый столбец – с последним, т.е. каждая субпопуляция с номером  $(i, j)$  связана с  $(s, j)$ , а  $(i, 1)$  – с  $(i, k)$ . Такое представление ареала широко используется при моделировании пространственно-временной динамики популяции на небольшом участке огромного ареала, если моделирование на всем ареале технически сложно (Comins *et al.*, 1992; Liang *et al.*, 2005; Burton, Travis, 2008; Banerjee *et al.*, 2016; Huang, Zhang, 2016; Kolobov, Frisman, 2016; Huang *et al.*, 2019; Pommerening, Grabarnik, 2019), например, если условия среды на всем ареале оказываются достаточно неоднородными, в то время как на моделируемом участке небольшой площади условия примерно равные. Замыкание границ в этом случае восполняет пробелы информации о состоянии популяции за пределами моделируемого участка.

Система (9) описывает развитие групп связанных популяций, которые изначально имеют разные численности, вследствие чего их динамика оказывается несинхронной. Миграционная связь стремится сгладить возможные различия между ними, т.е. синхронизировать их динамику. Оказывается, что это возможно не всегда. Например, при малых силе и радиусе связи это практически невозможно (возможно лишь при специально подобранных начальных условиях). Вместе с тем синхронизация может быть не полной, а кластерной, когда синхронными оказываются группы или кластеры рядом располагающихся субпопуляций. Например, если каждая субпопуляция при определенных значениях демографических параметров демонстрирует колебания с периодом 2, то в зависимости от начальных численностей колебания на разных территориях могут иметь разные фазы колебаний. Поэтому в простейшем случае динамика в разных кластерах отличается только фазой.

На двумерном ареале кластеры синхронных популяций приобретают форму пятен, полос,

спиралей, лабиринтных и мозаичных узоров из концентрации численностей. Однако, несмотря на тот факт, что часто формируются довольно простые пространственные структуры (пятна или полосы), динамика в разных частях двумерного ареала иногда отличается не только фазой (оказывается некогерентной), даже несмотря на тот факт, что все локальные субпопуляции абсолютно идентичные, а связь между ними достаточно сильная (Кулаков, Фрисман, 2018, 2019, 2020). Можно привести несколько примеров, в которых пятна состоят из субпопуляций с синхронной (когерентной) динамикой, но окружены субпопуляциями, демонстрирующими колебания численности с другим периодом и амплитудой (рис. 5). Такое сложное коллективное поведение связано со следующим:

во-первых, согласно (9) поток мигрантов уменьшается по мере удаления от каждого местообитания. Поэтому кластеры редко однородны по степени синхронизации – она, как правило, снижается от центра кластера к границам, на которых иногда возникают кластеры с переходным типом динамики (рис. 5б);

во-вторых, динамика локальной двухвозрастной популяции в отсутствие какого-либо расселения (при  $m = 0$ ) обладает мультистабильностью: при разных начальных численностях возникают колебания, которые отличаются не только фазой колебаний, как в случае простой метапопуляции с непересекающимися поколениями (модель (7)), но и периодами и амплитудами (Кулаков и др., 2014).

В результате при определенных условиях складывается ситуация, когда в одной части ареала наблюдается синхронизация одних циклов, а в другой части – принципиально других. С учетом существенной разницы в размахе колебаний формируемые кластеры хорошо контрастируют на фоне друг друга или на фоне полностью синхронного (рис. 5б) или несинхронного поведения (рис. 5а), или даже пространственно-временного хаоса (рис. 5в).

В ряде случаев на фоне когерентной динамики появляются одиночные субпопуляции, которые не синхронизируются ни с кем. Колебательные элементы с таким динамическим поведением называют уединенными состояниями (Шепелев, Вадивасова, 2017; Rybalova *et al.*, 2019). В модели (8) их появление связано с одним из мультистабильных режимов динамики локальной популяции: 3-цикл или трехкомпонентный хаотический аттрактор (результат серии бифуркаций 3-цикла). С одной стороны, такие субпопуляции характеризуются случайным расположением на ареале (но появляются они не только при случайных начальных условиях), с другой стороны, для них характерен взрывной тип динамики, когда после

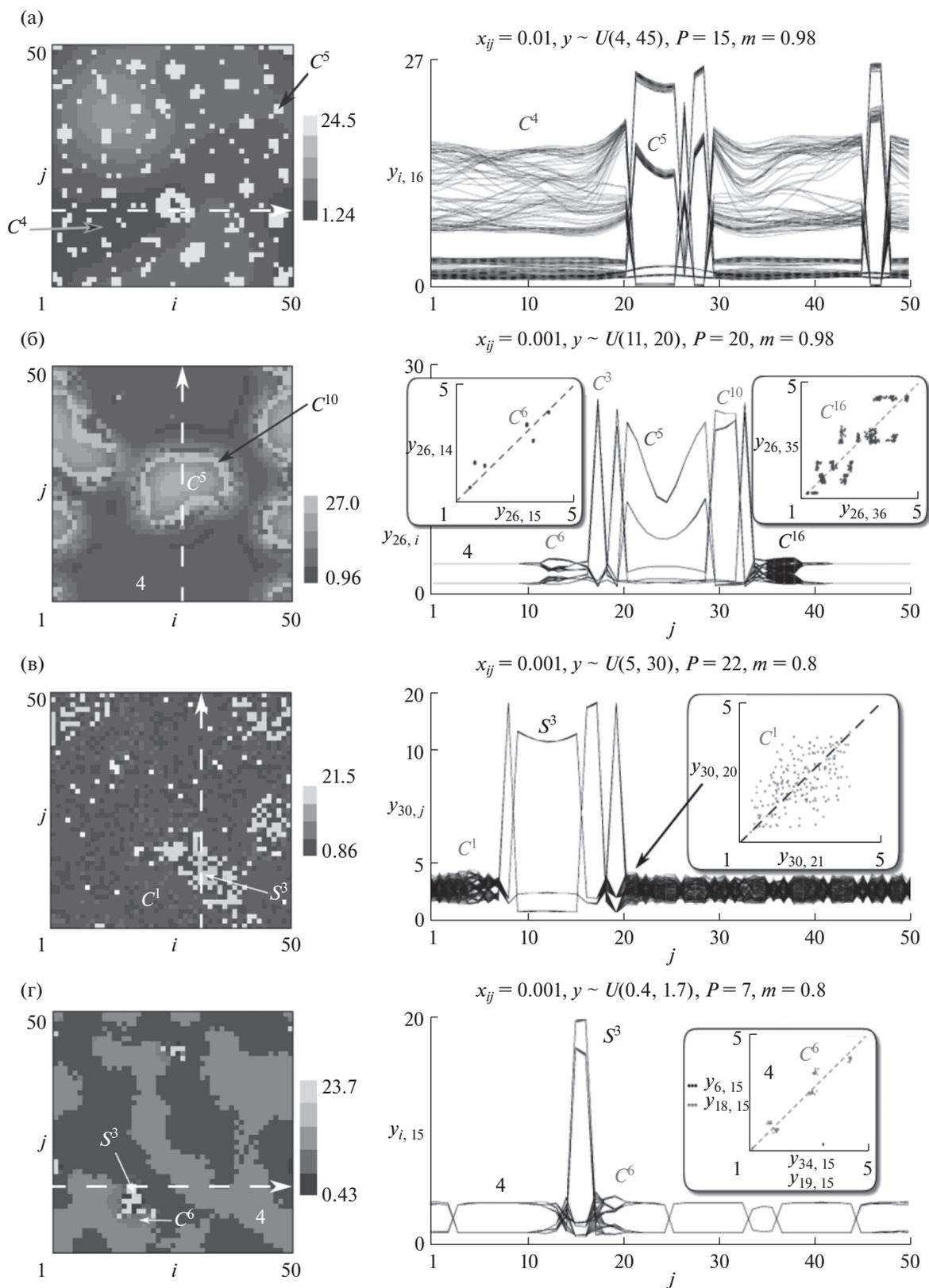
стремительного роста численности следует столь же стремительное падение.

Анализ закономерностей формирования описанных пространственно-временных структур выявил несколько особенностей:

во-первых, регулярные когерентные структуры в виде пятен или полос формируются даже при максимальной силе и радиусе связи ( $m = 1$ ,  $P = \min(k, s)/2$ ). Это объясняется тем, что интенсивность потока мигрантов уменьшается по мере роста расстояния между субпопуляциями. В результате связь никогда не бывает по-настоящему глобальной, при которой должна наступать полная синхронизация. Дальнейшая эволюция пятен при снижении интенсивности связи сопровождается либо увеличением их количества с уменьшением размера, либо слиянием и образованием полос. Впоследствии эти полосы закручиваются и приобретают форму лабиринтов, спиралей или колец. При таком усложнении пространственных структур динамика в целом остается когерентной, т.е. динамика в разных кластерах отличается лишь фазой;

во-вторых, при любых силе и радиусе связи появляются некогерентные остальным популяции – уединенные состояния. Их число растет по мере снижения силы или радиуса связи, и в какой-то момент они начинают синхронизироваться и образовывать кластеры, которые существенно отличаются от окружающих (рис. 5г). Следует отметить, что если фоновые субпопуляции уже давно несинхронны между собой (при низких  $m$  и  $P$ ) и невозможно выделить четкие пространственные узоры, или даже формируются пространственно-временной хаос, то появление кластеров из уединенных состояний приводит вновь к регулярному типу пространственного распределения особей в пространстве даже при слабой связи.

В контексте изучения миграционно связанных популяций полная синхронизация свидетельствует о равномерном распределении особей по ареалу. В модели (8) такое распределение почти невозможно (лишь только при специально подобранных начальных условиях). Появление пятен, особенно отличающихся амплитудой, соответствует пятнистому пространственному распределению особей по ареалу, и свидетельствует о синхронизации динамики субпопуляций в некоторой окрестности, размер которой прямо зависит от радиуса связи. В случае появления пятен можно утверждать, что ячейки образуют неотличимые от локальных популяций группы, динамика которых качественно совпадает с одиночной популяцией (Кулаков, Фрисман, 2015). С точки зрения метапопуляционной биологии пятно – это большая ядерная популяция, а все что вокруг него – это мелкие спутниковые популяции (Hanski, Gyl-



**Рис. 5.** Примеры кластеров, возникающих в системе (8), в виде пятен, состоящих из когерентных субпопуляций (кластер  $C^5$ ) на фоне некогерентных хаотических колебаний в виде пространственных волн (кластер  $C^4$ ) (а) или абсолютно синхронных субпопуляций (кластер 4) (б). Кластеры, сформированные из уединенных состояний ( $S^3$ ), на фоне пространственно-временного хаоса ( $C^1$ ) (в) или лабиринтного узора (г) при  $a = 130, s = 0.5, v = 0.25, \rho = 0.5$  (а)–(б) и  $\rho = 0.6$  (в)–(г). Параметры связи и начальные значения численностей указаны над каждым примером.

lenberg, 1993; Hanski, Gaggiotti, 2004). Появление протяженных полос, которые тянутся через всю территорию, можно интерпретировать как синхронизацию довольно удаленных субпопуляций вдоль некоторых направлений, что указывает на наличие миграционного коридора, по которому наблюдается наиболее интенсивный поток особей. Появление уединенных состояний даже на фоне простых регулярных пространственных структур (иногда полностью однородного распределения), наблюдаемых в модели (8), вполне соотносится с таким явлением, как вспышка массового размножения, характерная для некоторых насекомых (например, для сибирского шелкопряда, саранчи и др.) (Barbosa, Schultz, 1987; Исаев и др., 2015). Это явление аналогично уединенным состояниям характеризуется быстрым нарастанием численности одиночной субпопуляции, после которого следует ее резкое снижение. Более того, это состояние оказывается когерентным выбросом на других территориях, что указывает на принципиальную возможность прогноза таких катастрофических явлений.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сегодня методы нелинейной динамики позволили масштабно переосмыслить целый ряд сугубо физических и технических проблем и явлений, а также привели к формулировкам и решениям принципиально новых математических задач. При этом методы нелинейной динамики достаточно давно (фактически с момента их появления) и вполне успешно применялись к решению задач в области математической популяционной биологии. Однако только теперь появилось понимание того, что именно эти методы позволяют не только по-новому взглянуть на общебиологические проблемы, но и выявить некоторые фундаментальные закономерности, которые до этого оставались незамеченными. Кроме того, результаты демонстрируют возможности математического моделирования при решении биологических задач, формировании и обосновании биологических гипотез и позволяют сделать важные выводы. С помощью математического аппарата нелинейной динамики в перспективе можно получить сведения, относящиеся к развитию и осмыслению нелинейных представлений и закономерностей в разделах общей и математической биологии.

Исследование выполнено в рамках государственных заданий Института комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН и Института автоматизации и процессов управления ДВО РАН при

частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-14-50326.

**Acknowledgments:** This work was performed in the framework of the State targets of the Institute for Complex Analysis of Regional Problem FEB RAS and the Institute for Automation and Control Processes FEB RAS and supported by the Russian Foundation for Basic Research (№ 19-14-50326).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Астахов В.В., Шабунин А.В., Стальмахов П.А.* Бифуркационные механизмы разрушения противофазной синхронизации хаоса в связанных системах с дискретным временем // Изв. вузов. ПНД. 2006. Т. 14. № 6. С. 100–111.
- Безручко Б.П., Прохоров М.Д., Селезнев Е.П.* Виды колебаний, мультистабильность и бассейны притяжения аттракторов симметрично связанных систем с удвоением периода // Изв. вузов. ПНД. 2002. Т. 10. № 4. С. 47–68.
- Гаузе Г.Ф.* Исследования над борьбой за существование в смешанных популяциях // Зоол. журн. 1935. Т. 14. № 2. С. 243–270.
- Гаузе Г.Ф.* Экология и некоторые проблемы происхождения видов // Экология и эволюционная теория. Л.: Наука, 1984. С. 5–105.
- Исаев А.С., Пальникова Е.Н., Суховольский В.Г., Тарасова О.В.* Динамика численности лесных насекомых-филлофагов: модели и прогнозы. М.: КМК, 2015. 264 с.
- Кузнецов А.П., Кузнецов С.П.* Критическая динамика решеток связанных отображений у порога хаоса // Изв. вузов. Радиофизика. 1991. Т. 34. № 10–12. С. 1079–1115.
- Кулаков М.П.* Об одной модели миграционно связанных популяций с дальнедействующими взаимодействиями // Регион. проблемы. 2018. Т. 21. № 2. С. 52–60.
- Кулаков М.П., Фрисман Е.Я.* Синхронизация 2-циклов в системе симметрично связанных популяций, запас–пополнение в которых описывается функцией Рикера // Изв. вузов. ПНД. 2010. Т. 18. № 6. С. 25–41.
- Кулаков М.П., Фрисман Е.Я.* Использование эффекта кластеризации в системах связанных отображений для описания динамики метапопуляций // Матем. биология и биоинформатика. 2015. Т. 10. № 1. С. 220–233.
- Кулаков М.П., Фрисман Е.Я.* Кластеризация и химеры в пространственной динамике популяций с возрастной структурой на кольцевом ареале // Регион. проблемы. 2017. Т. 19. № 4. С. 5–11.
- Кулаков М.П., Фрисман Е.Я.* Кластеризация и химеры в модели пространственно-временной динамики популяций с возрастной структурой // Нелинейная динамика. 2018. Т. 14. № 1. С. 13–31.

- Кулаков М.П., Фрисман Е.Я. Моделирование пространственно-временной динамики популяции с возрастной структурой и дальнедействующими взаимодействиями: синхронизация и кластеризация // Матем. биология и биоинформатика. 2019. Т. 14. № 1. С. 1–18.
- Кулаков М.П., Фрисман Е.Я. Подходы к исследованию мультистабильности пространственно-временной динамики двухвозрастной популяции. // Изв. вузов. ПНД. 2020. Т. 28. № 6. С. 653–678.
- Кулаков М.П., Аксенович Т.И., Фрисман Е.Я. Подходы к описанию пространственной динамики миграционно-связанных популяций: анализ синхронизации циклов // Регион. проблемы. 2013. Т. 16. № 1. С. 5–15.
- Кулаков М.П., Неверова Г.П., Фрисман Е.Я. Мультистабильность в моделях динамики миграционно-связанных популяций с возрастной структурой // Нелинейная динамика. 2014. Т. 10. № 4. С. 407–425.
- Неверова Г.П., Жданова О.Л., Фрисман Е.Я. Возникновение сложных режимов динамики численности в ходе эволюции структурированной лимитированной популяции // Генетика. 2020. Т. 56. № 6. С. 714–725.
- Ратнер В.А. Математическая популяционная генетика. Новосибирск: Наука, 1977. 126 с.
- Фрисман Е.Я. Первичная генетическая дивергенция (теоретический анализ и моделирование). Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1986. 160 с.
- Фрисман Е.Я. Изменение характера динамики численности популяции: механизмы перехода к хаосу // Вестн. ДВО РАН. 1995. № 4. С. 97–106.
- Фрисман Е.Я., Жданова О.Л. Эволюционный переход к сложным режимам динамики численности двухвозрастной популяции // Генетика. 2009. Т. 45. № 9. С. 1277–1286.
- Фрисман Е.Я., Скалецкая Е.И. Странные аттракторы в простейших моделях динамики численности биологических популяций // Обзорение прикл. и пром. математики. 1994. Т. 1. № 6. С. 988–1008.
- Фрисман Е.Я., Тузинкевич А.В., Громова Н.П. “Пятнистость” пространственных структур популяции и происхождение видов как следствие динамической неустойчивости // Вестн. ДВО РАН. 1996. № 4. С. 120–129.
- Фрисман Е.Я., Неверова Г.П., Ревуцкая О.Л., Кулаков М.П. Режимы динамики модели двухвозрастной популяции // Изв. вузов. ПНД. 2010. Т. 18. № 2. С. 111–130.
- Фрисман Е.Я., Жданова О.Л., Кулаков М.П., Неверова Г.П., Ревуцкая О.Л. Математическое моделирование популяционной динамики на основе рекуррентных уравнений: результаты и перспективы. Ч. I // Изв. РАН. Сер. биол. 2021. № 1. С. 3–18.
- Четвериков С.С. О некоторых моментах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики // Журн. эксперим. биол. 1926. Сер. А. Т. 2. № 1. С. 3–54.
- Шенелев И.А., Вадивасова Т.Е. Уединенные состояния в 2D-решетке бистабильных элементов при глобальном и близком к глобальному характере взаимодействия // Нелинейная динамика. 2017. Т. 13. № 3. С. 317–329.
- Axenovich T.I., Zorkoltseva I.V., Akberdin I.R., Beketov S.V., Kashtanov S.N., Zakharov I.A., Borodin P.M. Inheritance of litter size at birth in farmed arctic foxes (*Alopex lagopus*, Canidae, Carnivora) // Heredity. 2007. V. 98(2). P. 99–105.
- Banerjee T., Dutta P.S., Zakharova A., Schöll E. Chimera patterns induced by distance-dependent power-law coupling in ecological networks // Phys. Rev. E. 2016. V. 94. № 032206.
- Barbosa P., Schultz J.C. Insect outbreaks. London and N.Y.: Acad. Press Inc., 1987. 578 p.
- Barton N., Briggs D., Eisen J., Goldstein D., Patel N. Evolution. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 2007. 649 p.
- Bertram J., Masek J. Density-dependent selection and the limits of relative fitness // Theor. Popul. Biol. 2019. V. 129. P. 81–92.
- Birch L.C. Selection in *Drosophila pseudoobscura* in relation to crowding // Evolution. 1955. V. 9. № 4. P. 389–399.
- Boonstra R., Boag P.T. A test of the Chitty hypothesis: inheritance of life-history traits in meadow voles *Microtus pennsylvanicus* // Evolution. 1987. V. 41. P. 929–947.
- Burton O., Travis J. Landscape structure and boundary effects determine the fate of mutations occurring during range expansions // Heredity. 2008. V. 101. P. 329–340.
- Carroll S.P., Hendry A.P., Reznick D.N., Fox C.W. Evolution on ecological time-scales // Func. Ecol. 2007. V. 21(3). P. 387–393.
- Charlesworth B. Selection in density-regulated populations // Ecology. 1971. V. 52(3). P. 469–474.
- Chitty D. Mortality among voles (*Microtus agrestis*) at Lake Vyrnwy, Montgomeryshire in 1936–9 // Philos. Transact. Roy. Soc. London. Ser. B, Biol. Sci. 1952. V. 236(638). P. 505–552.
- Chitty D. Population processes in the vole and their relevance to general theory // Can. J. Zool. 1960. V. 38. P. 99–113.
- Comins H.N., Hassell M.P., May R.M. The spatial dynamics of host-parasitoid systems // J. Anim. Ecol. 1992. V. 61. P. 735–748.
- Darwin C. On the origin of species by means of natural selection. Murray; London, 1859. 502 p.
- Ellner S. Environmental fluctuations and the maintenance of genetic diversity in age or stage-structured populations // Bull. Math. Biol. 1996. V. 58(1). P. 103–127.
- Endler J.A. Natural selection on color patterns in *Poecilia reticulata* // Evolution. 1980. V. 34. № 1. P. 76–91.
- Fisher R.A. The genetical theory of natural selection. Oxford: Clarendon Press, 1930. 272 p.

- Frisman E.Ya., Neverova G.P., Revutskaya O.L.* Complex Dynamics of the Population with a Simple Age Structure // *Ecol. Model.* 2011. V. 222. P. 1943–1950.
- Gaines M.S., Leroy R., McClenaghan Jr., Rose R.K.* Temporal patterns of allozymic variation in fluctuating populations of *Microtus ochrogaster* // *Evolution.* 1978. V. 32. № 4. P. 723–739.
- Gottlieb L.D.* Genetic stability in a peripheral isolate of *Stephanomeria exigua* ssp. *coronaria* that fluctuates in population size // *Genetics.* 1974. V. 76(3). P. 551–556.
- Graham J.* Reproductive effect and r- and K-selection in two species of *Lacuna* (Gastropods: Prosobranchia) // *Mar. Biol.* 1977. V. 40. № 3. P. 217–224.
- Gyllenberg M., Hanski I.* Single-species metapopulation dynamics: a structured model // *Theor. Popul. Biol.* 1992. V. 42. № 1. P. 35–61.
- Gyllenberg M., Söderbacka G., Ericson S.* Does migration stabilize local population dynamics? Analysis of a discrete metapopulation model // *Math. Biosci.* 1993. V. 118. P. 25–49.
- Haldane J.B.S.* *The Causes of Evolution.* London: Longman Green, 1932. 235 p.
- Hanski I.A., Gaggiotti O.E.* *Ecology, genetics and evolution of metapopulations.* San Diego: Elsevier, 2004. 696 p.
- Hanski I., Gyllenberg M.* Two general metapopulation models and the core-satellite species hypothesis // *Amer. Natur.* 1993. V. 142. № 1. P. 17–41.
- Huang T., Zhang H.* Bifurcation, chaos and pattern formation in a space-and time-discrete predator-prey system // *Chaos, Solit., Fract.* 2016. V. 91. P. 92–107.
- Huang T., Zhang H., Hu Z., Pan G., Ma S., Zhang X., Gao Z.* Predator-prey pattern formation driven by population diffusion based on Moore neighborhood structure // *Adv. Diff. Equat.* 2019. V. 2019. № 1. P. 399.
- Kingman J.F.C.* A mathematical problem in population genetics // *Proc. Can. Phil. Soc.* 1961. V. 57. P. 574–582.
- Kolobov A.N., Frisman E.Y.* Individual-based model of spatio-temporal dynamics of mixed forest stands // *Ecol. Compl.* 2016. V. 27. P. 29–39.
- Liang D., Wu J., Zhang F.* Modelling population growth with delayed nonlocal reaction in 2-dimensions // *Math. Biosci. Eng.* 2005. V. 2. № 1. P. 111–132.
- Long Th., Long G.* The effects of r- and K-selection on components of variance for two quantitative traits // *Genetics.* 1974. V. 76. № 3. P. 567–573.
- MacNaughton S.J.* R- and K-selection in *Tipha* // *Amer. Natur.* 1975. V. 109. № 961. P. 251–261.
- Mallet J.* The struggle for existence. How the notion of carrying capacity, K, obscures the links between demography, Darwinian evolution and speciation // *Evol. Ecol. Res.* 2012. V. 14. P. 627–665.
- Oppo G.-L., Kapral R.* Discrete models for the formation and evolution of spatial structure in dissipative systems // *Phys. Rev. A.* 1986. V. 33. № 6. P. 4219.
- Pelletier F., Garant D., Hendry A.P.* Eco-evolutionary dynamics // *Phil. Trans. Roy. Soc. B.* 2009. V. 364. P. 1483–1489.
- Pimentel D.* Population regulation and genetic feedback // *Science.* 1968. V. 159. P. 1432–1437.
- Pommerening A., Grabarnik P.* *Individual-based methods in forest ecology and management.* Cham: Springer Inter. Publ. 2019. 411 p.
- Reznick D.A., Bryga H., Endler J.A.* Experimentally induced life-history evolution in a natural population // *Nature.* 1990. V. 346(6282). P. 357–359.
- Reznick D.N., Bryga H.* Life-history evolution in guppies (*Poecilia reticulata*). I. Phenotypic and genetic changes in an introduction experiment // *Evolution.* 1987. V. 41(6). P. 1370–1385.
- Rybalova E., Anishchenko V.S., Strelkova G.I., Zakharova A.* Solitary states and solitary state chimera in neural networks // *Chaos.* 2019. V. 29. № 071106.
- Sinervo B., Svensson E., Comendant T.* Density cycles and an offspring quantity and quality game driven by natural selection // *Nature.* 2000. V. 406. P. 985–988.
- Stearns S.C.* The genetic basis of differences in life-history traits among six populations of mosquitofish (*Gambusia affinis*) that shared ancestors in 1905 // *Evolution.* 1983. V. 37(3). P. 618–627.
- Stearns S.C.* *The evolution of life histories.* Oxford: Oxford Univ. Press, 1992. 264 p.
- Tuzinkevich A.V., Frisman E.Ya.* Dissipative structures and patchiness in spatial distribution of plants // *Ecol. Model.* 1990. V. 52. P. 207–223.
- Vasconcelos D.B., Viana R.L., Lopes S.R., Batista A.M., Pinto S.E. de S.* Spatial correlations and synchronization in coupled map lattices with long-range interactions // *Physica A.* 2004. V. 343. P. 201–218.
- Viana R.L., Batista A.M., Batista C.A.S., Iarosz K.C.* Lyapunov spectrum of chaotic maps with a long-range coupling mediated by a diffusing substance // *Nonlin. Dyn.* 2017. Vol. 87. № 3. P. 1589–1601.
- William, C.K., Moore R.J.* Phenotypic adaptation and natural selection in the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, in Australia // *J. Anim. Ecol.* 1989. P. 495–507.
- Wright S.* The genetical theory of natural selection: a review // *J. Hered.* 1930. V. 21. P. 340–356.
- Yamamichi M., Ellner S.P.* Antagonistic coevolution between quantitative and Mendelian traits // *Proc. Roy. Soc. B Biol. Sci.* 2016. V. 283. 20152926.
- Yamamichi M., Hosono M.* Roles of maternal effects in maintaining genetic variation: Maternal storage effect // *Evolution.* 2017. V. 71(2). P. 449–457.
- Yoshida T., Jones L.E., Ellner S.P., Fussmann G.F., Hairston Jr. N.G.* Rapid evolution drives ecological dynamics in a predator-prey system // *Nature.* 2003. V. 424. P. 303–306.

## **Mathematical Modeling of Population Dynamics Based on Recurrent Equations: Results and Prospects. P. II**

**E. Ya. Frisman<sup>1</sup>, O. L. Zhdanova<sup>1,2</sup>, M. P. Kulakov<sup>1</sup>, G. P. Neverova<sup>1,2, #</sup>, and O. L. Revutskaya<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Institute for Complex Analysis of Regional Problems, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences,  
Sholom-Aleikhem st. 4, Birobidzhan, 679016 Russia*

*<sup>2</sup>Institute of Automation and Control Processes, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences,  
ul. Radio 5, Vladivostok, 690041 Russia*

*<sup>#</sup>e-mail: galina.nev@gmail.com*

The second part of the article focuses on subjects devoted to mathematical modeling of the evolution of limited populations and migration affecting the dynamics of coupled populations and the patterns of their spatial distribution. The purpose of this article is to present developed approaches and mathematical discrete-time models to study emergence of multistability, synchronization and clustering in population systems.

УДК 575(575.8)

## ООГЕНЕЗ (ПРОФАЗА 1 МЕЙОЗА) И МИТОТИЧЕСКИЕ ХРОМОСОМЫ ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКОГО ВИДА *Darevskia armeniaca* (СЕМЕЙСТВО Lacertidae)

© 2021 г. Л. А. Куприянова\*, Л. Д. Сафронова\*\*, В. Б. Сычева\*\*,  
Ф. Д. Даниелян\*\*\*, В. Г. Петросян\*\*, @

\*Зоологический институт РАН, Университетская наб., 1, Санкт-Петербург, 199034 Россия

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

\*\*\*Ереванский государственный университет, ул. Алека Манукяна, 1, Ереван, 0025 Армения

@E-mail: vgpetrosyan@gmail.com

Поступила в редакцию 06.11.2019 г.

После доработки 30.01.2020 г.

Принята к публикации 23.05.2020 г.

Впервые проведен анализ течения раннего оогенеза и мейоза партеногенетического вида *Darevskia armeniaca*. Показано, что число бивалентов синаптонемных комплексов (СК) на стадиях ранней пахитены–диплотены профазы 1 мейоза равно 19, на основе которых представлены СК-картиотипы. Приведены результаты сравнительного молекулярно-цитогенетического анализа митотических хромосом ( $2n = 38, 34A + 2m + Zw$ , половые хромосомы) партеногенетических самок и мейотических хромосом ( $n = 19$  бивалентов) мужской особи *D. armeniaca* с инверсией пола. Отмечено отсутствие механизма эндоредупликации хромосом в премейотических митозах *D. armeniaca*, прохождение ранних стадий мейоза и формирование гаплоидного числа СК-бивалентов гомеологичных хромосом.

DOI: 10.31857/S0002332921030085

Открытие значительного числа рыб, амфибий и рептилий, размножающихся посредством гино-, гибридо- и партеногенеза, поставило перед исследователями ряд серьезных вопросов, в частности вопрос о цитологических особенностях оогенеза однополых видов. В первых работах было показано, что у таких форм в процессе оогенеза осуществляется мейоз и механизмы восстановления соматического числа хромосом у однополых позвоночных и беспозвоночных часто едины. Классификации механизмов диплоидизации отличаются одна от другой по цитологической картине нарушений оогенеза или по их генетическому эффекту (пре-, внутри- и постмейотический типы мейоза). Генетические последствия перечисленных типов мейоза различны, поэтому от механизмов восстановления соматического числа хромосом у однополых особей будут зависеть результаты мейоза и судьбы особей в целом. Эти последствия приобретают еще большее значение, если учесть, что в эволюционном отношении однополюе размножение связано с гибридизацией и полиплоидией.

Сохранение и поддержание высокой степени гетерозиготности гибридов возможно при премейотическом типе диплоидизации, а именно при подавлении цитокинеза в последнем премейотическом митозе. Более того, этот механизм позволяет избе-

гать многие трудности, связанные с синапсисом гомеологов гибрида и расхождением псевдобивалентов в течение мейоза гибридных триплоидных форм. По-видимому, именно этими обстоятельствами объясняется распространение этого механизма у однополых позвоночных и обнаружение такого типа мейоза у североамериканских партеногенетических гибридных диплоидных ( $2n$ ) и триплоидных ( $3n$ ) ящериц рода *Aspidoscelis* семейства Teiidae (Cuerllar, 1971; Lutes *et al.*, 2010). У гибридных диплоидных партеногенетических самок этого рода в мейоз входит тетраплоидная ( $4n$ ) клетка, и в ходе профазы 1 мейоза на стадиях пахитены–диплотены в ооците происходит спаривание сестринских хромосом и формирование диплоидного числа псевдобивалентов (Lutes *et al.*, 2010). Однако в мейозе гибридных гиногенетических рыб *Carassius gibelio* такой механизм отсутствует (Черфас, 1969).

Кавказские партеногенетические ящерицы рода *Darevskia* семейства Lacertidae также имеют гибридное происхождение (Moritz *et al.*, 1992b) и в отличие от североамериканских партеногенетических видов всегда характеризуются типичным для семейства диплоидным ( $2n$ ) числом акроцентрических (A) хромосом, равным 38 с гетероморфными половыми  $Zw$  хромосомами ( $2n = 38A, Zw$ ).

В предшествующих работах в ядрах ооцитов гибридных партеногенетических самок этого рода были изучены стадии ранней пахитены—диплотены—диакинеза и обнаружены фигуры, образованные гомеологичными хромосомами с концевыми хиазмами в проксимальных и дистальных районах мейотических хромосом (Cuellar, 1971; Kupriyanova, 1992, 1994, 2010). Кроме того, при анализе синаптонемных комплексов (СК) число бивалентов приближалось к 19, т.е. к гаплоидному числу ( $n = 19$ ). Эти и другие косвенные факты позволяли допустить отсутствие механизма эндоредупликации хромосом в премейотическом митозе и возможность рекомбинации генетического материала, а следовательно, возникновение генетического разнообразия за счет рекомбинации (Kupriyanova, 1992, 1994, 2010; Куприянова, 1997).

Очевидно, что цитогенетические механизмы мейоза ключевые в эволюции партеногенеза гибридных видов. Для более детального описания и уточнения механизмов раннего мейоза гибридных партеногенетических видов рода *Darevskia* мы исследовали ооциты вида *Darevskia armeniaca* (Méhely, 1909), проанализировали структуру элементов мейотического ядра и морфологию СК-хромосом, на основании которых составили СК-кариотипы хромосом гибридного ядра. Такие СК-кариотипы были сопоставлены с полученными ранее митотическими хромосомами *D. armeniaca*, а также с характеристиками профазы I мейоза, а именно с хромосомами на стадии диакинеза у редких диплоидных мужских особей *D. armeniaca* с нарушенной фертильностью (Darevskii, Kupriyanova, 1982; Kupriyanova, 2010).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Самки *D. armeniaca* были собраны в разные годы в районах Армянских городов Цахкадзора ( $40^{\circ}32'7''$  с.ш.,  $044^{\circ}42'30''$  з.д.) и Дилижана ( $40^{\circ}44'2''$  с.ш.,  $044^{\circ}49'4''$  з.д.). Характеристики точек находок и современные ареалы партеногенетического вида *D. armeniaca* и родительских видов *D. valentini*, *D. mixta* были описаны ранее (Petrosyan *et al.*, 2019a, b; Petrosyan *et al.*, 2020).

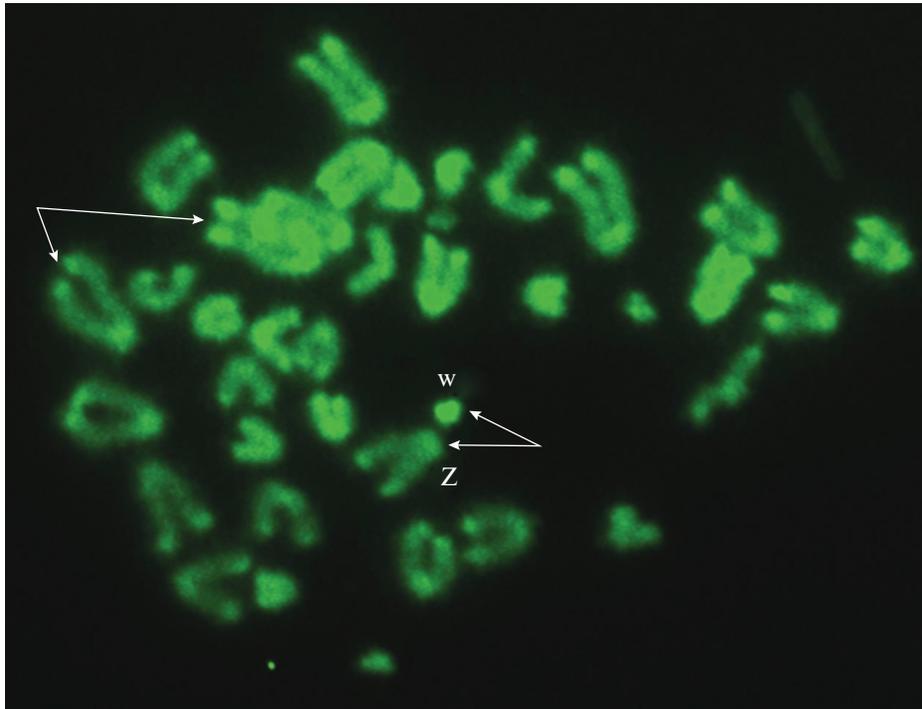
**Мейотические хромосомы.** Для микроскопического анализа СК-препараты тотальных распластанных ядер ооцитов готовили из клеточной суспензии, полученной из зародышевой полости яичника самки методом Дрессера и Мозеса (Dresser, Moses, 1980). Распластывание (спредирование) ооцитов проводили на капле 0.5%-ного раствора NaCl. Препараты фиксировали 4%-ным параформальдегидом, а для визуализации СК их окрашивали 50%-ным раствором нитрата серебра, затем просматривали и фотографировали под световым микроскопом Leica (Германия). Длины СК-бивалентов ооцитов измерялись с помощью программы Leica Application Suite.

**Митотические хромосомы.** В работе использовали метод получения митотических хромосом с предварительным введением 0.1%-ного раствора фитогемагглютина (ФГА Р ПанЭко (Россия); 0.03 мл раствора на 10 г массы) и колхицина (Merck (Германия); 0.1 мл на 10 г массы). Препараты окрашивали красителем Giemsa по стандартной методике и методом дифференциального сравнительного С-окрашивания с последующим окрашиванием хромосом красителем, специфичным к АТ-парам оснований флуорохромом ДАПИ. Препараты просматривали и фотографировали под световым микроскопом Leica, длины хромосом измерялись с помощью программы Leica Application Suite.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В кариотипе исследованных самок *D. armeniaca* присутствуют 38 акроцентрических (А) хромосом, среди которых 2 микрохромосомы (m) и половые Zw ( $2n = 38A: 34 A + 2m + Zw; n = 19$ ). Сравнительное флуорохромное дифференциальное (С/СМА<sub>3</sub>/ДАПИ) окрашивание метафазных хромосом *D. armeniaca* показало, что большинство хромосом набора имеют мелкие блоки АТ-повторов в прицентромерных и GC-повторов в теломерных районах С-гетерохроматина (рис. 1, 2). Вместе с тем молекулярно-цитогенетический анализ выявил различия в структуре некоторых хромосом — гетероморфизм теломерных районов С-гетерохроматина хромосом. Например, одна первая хромосома первой пары кариотипа имеет в этих районах крупные яркие блоки, содержащие GC-повторы, в то время как у другой хромосомы первой пары эти блоки выражены значительно слабее. Яркий С-блок, включающий в себя GC-пары, присутствует также и в половой w-микрохромосоме, хотя по размеру и морфологии она практически не отличается от двух других микрохромосом кариотипа (рис. 1). Кроме того, одна макрохромосома *D. armeniaca* отличается по морфологии от других хромосом набора, поскольку она имеет короткие плечи и небольшие блоки, обогащенные АТ- и GC-повторами, в околоцентромерных и теломерных районах соответственно. По размерам эта непарная хромосома относится к средней группе хромосом, к пятой-шестой паре, и рассмотрена как половая Z-хромосома (рис. 1, 2). Важно отметить, что у разных видов этого семейства половая Z-хромосома пятой-шестой пары часто имеет короткие плечи, что объясняют ее нестабильностью. Ранний мейоз (профаза I мейоза) партеногенетического вида *D. armeniaca* ( $2n = 38A$ ) изучался на препаратах распластанных ядер ооцитов размером 0.8–1.1 мм.

Анализ СК на стадиях ранней пахитены и диплотены показал, что они полностью синаптированы и сформировали 19 СК-бивалентов. Этот



**Рис. 1.** Метафазные пластинки клеток крови *Darevskia armeniaca* (самка) – С-исчерченность гетерохроматина после окрашивания специфичным G-С-флуорохромом (СМА<sub>3</sub>) (Курпьянова, 2010, с изменениями)  $2n = 38 A: 34A + 2m + Zw$  (половые хромосомы). Стрелки указывают на гетероморфные ауто- (первая пара) и половые хромосомы Z и w (пятая пара).

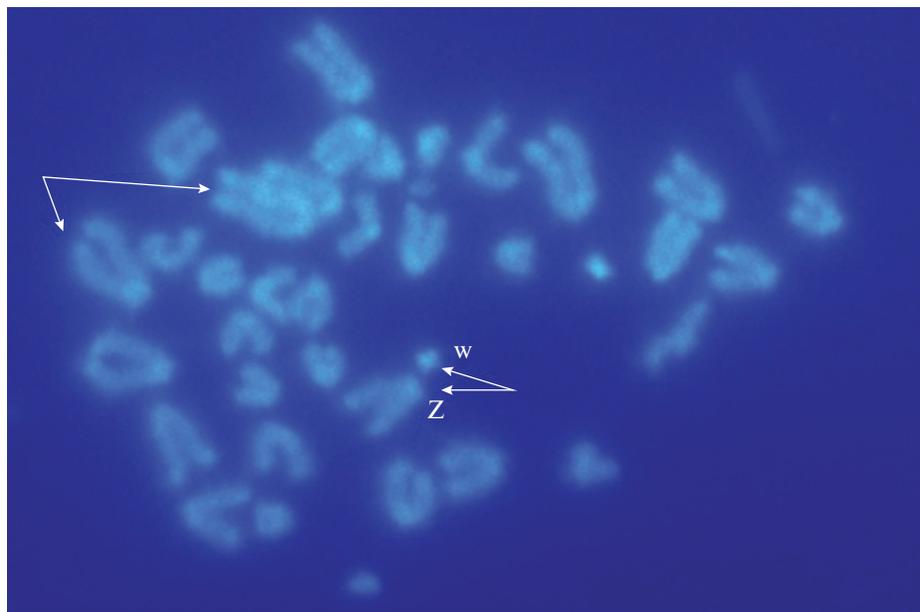
анализ профазы мейоза проведен на пяти ядрах овоцитов (рис. 3а–г). Однако распластанность СК-бивалентов (комплекса) не происходит аналогично, как было показано при сперматогенезе (Сафронова, Курпьянова, 2016), поскольку ядра овоцитов погружены в жидкую среду с большим количеством жира. Этот процесс препятствует хорошему распластыванию на стекле, что приводит к волнистости, а в некоторых случаях – к закручиванию концов. На рис. 3 нумерация СК-бивалентов представлена в порядке убывания их линейных размеров проведенных измерений. СК-бивалент № 1, сформированный первыми по размеру и гетероморфными по структуре хромосомами набора (первый СК), отличался по морфологии от остальных СК-бивалентов. Следует особо подчеркнуть, что на всех изученных препаратах распластанных ядер овоцитов число СК-бивалентов всегда равно гаплоидному числу хромосом вида, т.е. 19.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

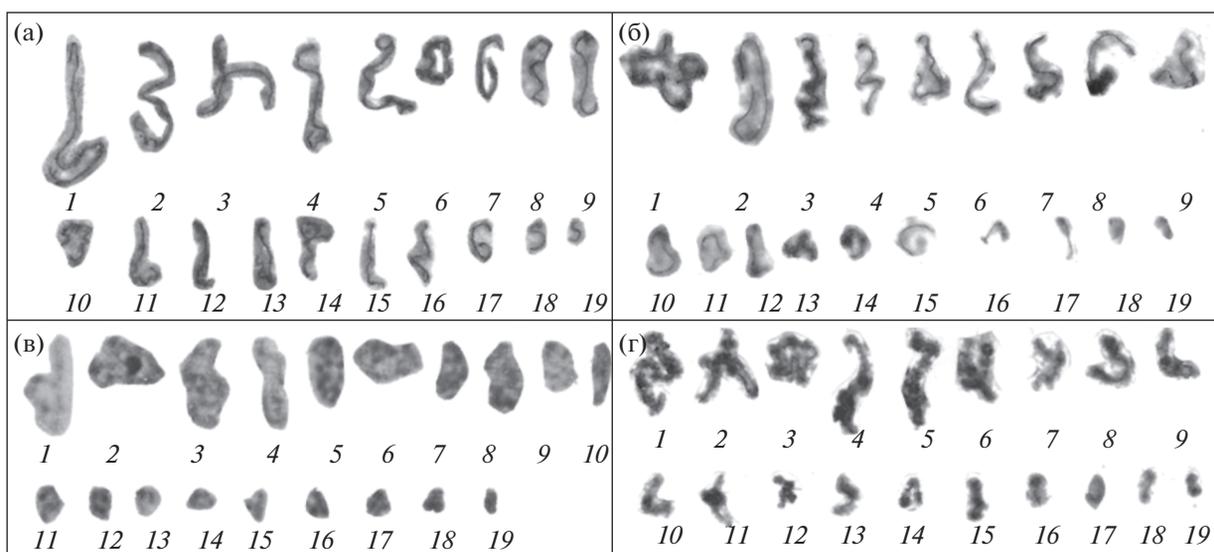
В ряде предшествующих комплексных работ было показано (Курпьянова, 1989, 1992, 2010), что гибридный партеногенетический вид *D. armeniaca* (*D. mixta* × *D. valentini*), как и другие однополюе и обоеполье виды рода *Darevskia* семейства Lacertidae, характеризуется 38 одноплечими по морфологии и близкими по размерам акроцентрическими (A) хромосомами и стабильной структурой кари-

отипа ( $2n = 38 A, NF$  (основное число) = 38). Кроме того, этот вид, как и два других гибридных партеновида (*D. dahli*, *D. unisexualis*) рода *Darevskia*, имеет сходные числа и морфологию половых Zw-хромосом. В результате гибридизации самки *D. armeniaca* могли получить Z-хромосому от отцовского *D. valentini* и w-хромосому от материнского *D. mixta* родительских видов (Курпьянова, 1992; Moritz *et al.*, 1992a; Murphy *et al.*, 2000). Для кариотипов Lacertidae характерна локализация структурного гетерохроматина (С-окрашивание) в прицентромерных и теломерных районах хромосом и редко в интеркалярных районах (Olmo *et al.*, 1986; Курпьянова, 1994). Такое единообразие хромосом ограничивает возможность использования признаков кариотипа при анализе вопросов происхождения этих гибридных видов, процесса мейоза и их эволюции в целом. Именно по этой причине идентификация хромосом видов рода *Darevskia* в целом до сих пор – трудная задача. Однако эти результаты свидетельствовали и о цито- и генетической близости родительских видов рода *Darevskia* (Курпьянова, 2010; Курпьянова, 2014).

Тем не менее молекулярно-цитогенетический анализ одного из родительских видов для *D. rosbekowi* этого рода, *D. raddei*, продемонстрировал присутствие в кариотипе дицентрической хромосомы (Spangenberg *et al.*, 2019). Результаты данной работы выявили некоторые различия в молеку-



**Рис. 2.** Метафазные пластинки клеток крови *Darevskia armeniaca* (самка) – С-исчерченность гетерохроматина после окрашивания специфичным АТ-флуорохромом (ДАПИ)  $2n = 38 A: 34A + 2m + Zw$  (половые хромосомы). Стрелки указывают на гетероморфные и половые Z- и w-хромосомы.



**Рис. 3.** СК-каротип распластанных ядер ооцита *Darevskia armeniaca* (самка).

лярно-цитогенетической структуре теломерных районов хромосом *D. armeniaca*. К настоящему времени известно, что амплификация некоторых генов и образование тандемно расположенных высококопийных повторов, например, в прицентромерных районах хромосом – это частое геномное нарушение, встречающееся у гибридов. Прицентромерные и теломерные районы часто имеют ключевое значение для пространственной ориентации хромосом в ядре и очень важны для совпа-

дения мест связи хромосом гибрида с ядерной оболочкой, а также для конъюгации хромосом в процессе мейоза. Крупная хромосомная реорганизация, системные мутации играют существенную роль в процессе сальтационного видообразования и затрагивают ранние этапы развития особи (Стегний, 2019).

Проведенный анализ четырех клеток, находящихся на стадии ранней профазы I мейоза, свидетельствует о том, что в раннем оогенезе парте-

ногенетического гибридного вида *D. armeniaca* отсутствуют полиплоидные ооциты и, следовательно, механизм эндоредупликации хромосом в последних митотических делениях. Все полученные данные свидетельствуют о том, что в раннем оогенезе диплоидные ядра ооцитов самки *D. armeniaca* ( $2n = 38$ ) вступают в ранний мейоз (в профазу I мейоза) и на стадии ранней пахитены—диплотены формируют 19 СК-бивалентов. Картины раннего мейоза еще раз демонстрируют генетическую близость родительских видов гибридного однополого *D. armeniaca*.

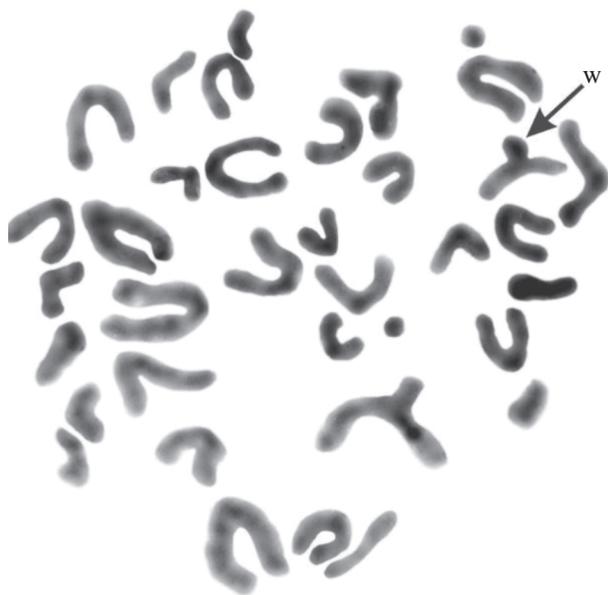
Сравнительное дифференциальное флуорохромное (С/СМА<sub>3</sub>/ДАПИ) окрашивание хромосом *D. armeniaca* позволило также еще раз рассмотреть половые Zw-хромосомы видов рода *Darevskia*. Известно, что половая Z-хромосома ряда видов Lacertidae отнесена по размеру к пятой-шестой хромосоме и часто имеет короткие плечи. Например, согласно молекулярно-цитогенетическому картированию хромосом Z-половая хромосома *Lacerta agilis* ( $2n = 38$ , Zw) отнесена по длине к пятой паре кариотипа и имеет частичную гомологию с шестой и девятой хромосомами курицы (Skiklnath *et al.*, 2014). Предположительно пятая-шестая по длине половые хромосомы Z<sub>1</sub> и W были обнаружены в криптической группе *Zootoca vivipara* (Куприянова, Руди, 1990; Odierna *et al.*, 1998; Куприянова, Беме, 2012). Непарная пятая-шестая по длине хромосома *D. armeniaca* интерпретирована как половая Z-хромосома. Отметим, что половая Z-хромосома видов родов *Takydromus*, *Gallotia*, *Eremias* отнесена к средней размерной группе кариотипа, 12–13 по длине (Olmo *et al.*, 1986; Lisachov *et al.*, 2019). Перечисленные факты ясно указывают на трудности в решении вопросов идентификации половых хромосом лацертидных ящериц и на необходимость дальнейшего детального сравнительного анализа половых хромосом разных групп семейства и ящериц в целом.

Следует напомнить, что предшествующие цитогенетические и молекулярно-цитогенетические работы убедительно продемонстрировали существенную роль половых Zw-хромосом в филогенетических ограничениях возникновения партеногенеза в роде *Darevskia* (Куприянова, 1989, 1992, 2010; Куприянова, 1997, 1999). Эти факты указывали также на то, что “балансовая” гипотеза перехода гибрида к однополую способу размножения, предложенная ранее (Moritz *et al.*, 1989, 1992a), не учитывала все факторы возникновения однополых ящериц (Куприянова, 1997, 1999).

В связи с тем значением, которое имеют половые Zw-хромосомы в успешной гибридизации ящериц рода *Darevskia* и в переходе возникающих гибридов к партеногенетическому типу мейоза, мы вновь проанализировали опубликованные ранее данные о кариотипе редкой мужской особи

партеногенетического гибридного вида *D. armeniaca* (Darevskii, Kupriyanova, 1982). В отличие от многочисленных триплоидных гибридов, появляющихся в симпатрических популяциях между партеногенетическими и обоеполюми видами, редкий самец был отловлен в “чистой” популяции *D. armeniaca* (район г. Степанаван, Армения). Хромосомные исследования показали полное совпадение кариотипа самца с таковым у самок этой и других популяций вида: диплоидное число хромосом  $2n = 38$ , среди которых присутствовали половые Zw-хромосомы (рис. 4). В результате был сделан вывод о нарушении взаимодействия половых Zw-хромосом в гибридном геноме *D. armeniaca* и об инверсии пола у Zw-особи. Одновременно были установлены цитологические нарушения в течение мейоза особи: в расхождении гомеологов в мейотическом делении I и в образовании анеуплоидных сперматоцитов II порядка, сперматид и сперматозоидов и в нарушении процессов спермиогенеза. В течение мейоза особи на стадии диакинеза профазы I мейоза были сформированы 19 бивалентов. Среди них выделен пятый-шестой по размеру бивалент, предположительно образованный половыми хромосомами, и отмечены особенности его морфологии. Большой элемент “бивалента”, вероятно, представлен крупной Z-хромосомой и небольшой элемент, вероятно, w-микрохромосомой (рис. 5). Плотной конъюгации этих хромосом не наблюдается, можно отметить ассоциацию концов w микрохромосомы с интеркалярным районом Z хромосомы и значительный размер w микрохромосомы, возможно за счет ее деконденсации.

Следует напомнить, что определенный спектр цитогенетических, геномных и функциональных нарушений был установлен и у гибридных партеногенетических самок рода *Darevskia*. В связи с этим был сделан важный вывод, что, несмотря на цито- и генетическую близость родительских видов, у гибридных партеногенетических видов наблюдается нестабильность их гибридных геномов. В результате “гибридная” нестабильность и рекомбинационный обмен в профазе I мейоза могут служить механизмами генетической изменчивости партеногенетических видов рода (Куприянова, 1989, 1992, 2010; Куприянова, 1997, 1999, 2014). Например, обнаруженные у *D. armeniaca* редкие аллели по белковым системам (MacCullach *et al.*, 1995), варибельность и мутации определенного типа по локусам микросателлитной ДНК этих партеногенетических видов (Ryskov, 2008; Vergun *et al.*, 2014; Girnyk *et al.*, 2018) могут быть объяснены указанными цитогенетическими механизмами (Куприянова, 2010; Куприянова, 2014).



**Рис. 4.** Метафазные пластинки клеток крови *Darevskia armeniaca* (самец) – стандартное окрашивание Giemsa (Darevskii, Kupriyanova, 1982, с изменениями)  $2n = 38$  A:  $34A + 2m + Zw$  (половые хромосомы). Стрелка указывает на половую w-микрочромосому.

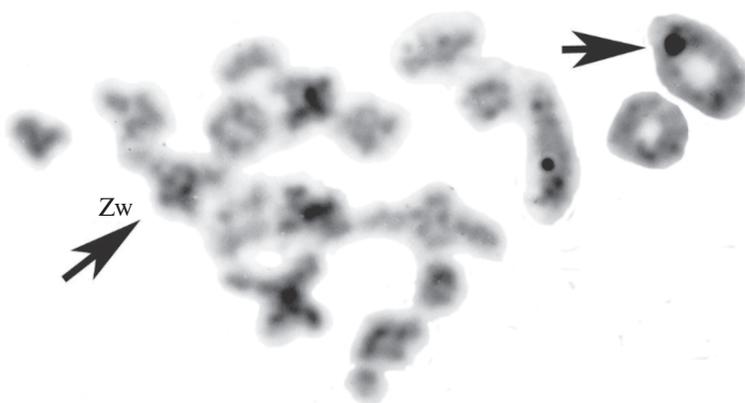
#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные о раннем оогенезе у самок гибридного партеногенетического вида *D. armeniaca* ( $2n = 38$ ) свидетельствуют о типичном течении ранних стадий мейоза и прохождении ранней профазы I мейоза. На стадии пахитены–диплотены происходит формирование 19 СК элементов и позднее 19 бивалентов гомеологичных хромосом. Это свидетельствует о том, что в мейоз вступает ооцит с диплоидным числом хромосом. Таким

образом, полученные факты подтверждают многочисленные сведения о том, что механизмы мейоза у партеногенетических ящериц родов *Aspidoscelis* и *Darevskia* различны. У ящериц рода *Darevskia* в ходе оогенеза в последних премеитических митозах не происходит эндоредупликации хромосом и, следовательно, удвоения числа хромосом до  $4n$ . В течение раннего мейоза в диплоидном ооците на стадии пахитены–диплотены образуется гаплоидное число СК бивалентов ( $n = 19$ ). Полученные данные вновь подтверждают цито- и генетическую близость родительских видов гибридного партеновида *D. armeniaca*, образование в мейозе СК-бивалентов гомеологичных хромосом и возможность рекомбинационных обменов. Вместе с тем они указывают на гетероморфность в цитогенетической структуре некоторых аутохромосом и половых митотических хромосом, особую морфологию их СК-бивалентов и у переопределенного самца – на специфическую морфологию и структуру полового бивалента с “деконденсированной” w-хромосомой и с типом ассоциации половых хромосом. Разные типы полоопределяющих механизмов отмечены у ящериц: у *Aspidoscelis* самки характеризуются гомоморфными XX-половыми хромосомами, тогда как у *Darevskia* – гетероморфными Zw-половыми хромосомами.

Цитологические характеристики и особенности мейоза более поздних стадий оогенеза *D. armeniaca* и других партеногенетических видов рода *Darevskia* до конца не исследованы. Механизмы восстановления диплоидного числа хромосом у кавказских партеногенетических видов, а также механизмы поддержания их гетерозиготности и системы половых Zw-хромосом – цель дальнейших исследований авторов.

Авторы выражают благодарность А.П. Рыскову за ценные замечания, внимание к работе и оказанную помощь при подготовке рукописи.



**Рис. 5.** Мейотические пластинки гонад *D. armeniaca* (самец) – диакинез, стандартное окрашивание Giemsa (Darevskii, Kupriyanova, 1982, с изменениями)  $n = 19$ . Стрелки указывают на первый (меньшего размера) бивалент и пятый (большого размера) половой бивалент, образованный предположительно половыми хромосомами Z и w.

Работа выполнена при финансовой поддержке ЗИН РАН (грант № АААА-А19-119020590095-9) и РФФИ (гранты 17-00-00427, 17-00-00430).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Куприянова Л.А. Некоторые цитогенетические закономерности сетчатого видообразования однополых видов ящериц (Reptilia, Lacertidae) и других групп позвоночных животных // Цитология. 1997. Т. 39. № 12. С. 1089–1108.
- Куприянова Л.А. Генетическое разнообразие гибридных у однополых видов и форм рода *Lacerta* (Reptilia, Lacertidae): его возможные цитогенетические механизмы, цитогенетика мейоза природных полиплоидных форм // Цитология. 1999. Т. 41. № 12. С. 1038–1047.
- Куприянова Л.А. Концепция гибридного видообразования позвоночных животных: комплексные исследования однополых видов рептилий // Тр. ЗИН РАН. 2014. Т. 318. № 4. С. 382–390.
- Куприянова Л.А., Бёме В. Живородящая ящерица (*Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823), Lacertidae) из северо-восточных и центральных районов Европы: внутривидовое кариотипическое разнообразие // Зоол. журн. 2012. Т. 91. № 11. С. 1428–1432.
- Куприянова Л.А., Руди Е.П. Сравнительно-кариологический анализ популяций живородящей ящерицы (*Lacerta vivipara*, Lacertidae, Sauria) // Зоол. журн. 1990. Т. 69. № 6. С. 93–101.
- Сафронова Л.Д., Куприянова Л.А. Метафазные и мейотические хромосомы, синаптонемные комплексы (СК) живородящей ящерицы (*Zootoca vivipara*, Lacertidae) // Генетика. 2016. Т. 52. № 11. С. 1311–1317.
- Стегний В.Н. Генетика сальтационного видообразования и системные мутации. Томск: Издательский дом ТГУ, 2019. 264 с.
- Черфас Н.Б. Основные итоги цитогенетического анализа однополых и двуполовых форм серебряного карася // Генетика, селекция и гибридизация рыб. М.: Наука, 1969. С. 85–97.
- Cuellar O. Reproduction and the mechanism of meiotic restitution in the parthenogenetic lizard *Cnemidophorus uniparens* // J. Morph. 1971. V. 133. № 2. P. 139–165.
- Darevskii I.S., Kupriyanova L.A. Rare males in parthenogenetic lizard *Lacerta armeniaca* Méhely // Vertebr. Hung. 1982. V. 21. P. 69–75.
- Dresser M., Moses M. Synaptonemal complex karyotyping in spermatocytes of the Chinese hamster (*Cricetulus griseus*). IV. Light and electron microscopy of synapsis and nucleolar development by silver staining // Chromosoma. 1980. V. 76. P. 1–22.
- Girnyk A., Vergun A., Semyenova S.K., Guliaev A., Arakelyan M., Danielyan F., Martirosyan I., Murphy R., Ryskov A.P. Multiple interspecific hybridization and microsatellite mutations provide clonal diversity in the parthenogenetic rock lizard *Darevskia armeniaca* // BMC Genomics. 2018. V. 19. № 979. DOI.org/10.1186/s12864-018-5359-5.
- Kupriyanova L. Cytogenetic evidence on genome interaction in hybrid *Lacerta*. Evolution and ecology of unisexual vertebrates // Bull. New York State Museum. Albany. 1989. V. 466. P. 236–239.
- Kupriyanova L. Diversity in parthenogenetic lacertid lizards: cytogenetic studies // Proc. 6th Ordinary General Meeting of the Societas Europaea Herpetologica. Budapest: SHE, 1992. P. 273–279.
- Kupriyanova L. Structure, localization and stability of chromosome in karyotype evolution in lizards of the Lacertidae family // Rus. J. Herpetol. 1994. V. 1. P. 1–12.
- Kupriyanova L. Cytogenetic and genetic trends in the evolution of unisexual lizards // Cytogen. Gen. Res. 2010. V. 127. P. 273–279.
- Lisachov A.P., Galkina S.A., Saifitdinova A.F., Romanenko S.A., Andreyushkova D.A., Trifonov V.A., Borodin P.M. Identification of sex chromosomes in *Eremias velox* (Lacertidae, Reptilia) using lampbrush chromosome analysis // Comp. Cytogen. 2019. V. 13. № 2. P. 121–132. <https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v13i2.34116>
- Lutes A.A., Neaves W.B., Baumann D.P., Wiegrabe W., Baumann P. Sister chromosome pairing maintains heterozygosity in parthenogenetic lizards // Nature. 2010. V. 11. № 464(7286). P. 283–286.
- MacCulloch R.D., Murphy R.W., Kupriyanova L.A., Darevsky I.S., Danielyan F.D. Clonal variation in the parthenogenetic rock lizard *Lacerta armeniaca* // Genome. 1995. V. 38. P. 1057–1060.
- Moritz C., Wright J.W., Brown C.M. Mitochondrial DNA analysis and the origin and relative age of parthenogenetic *Cnemidophorus*: phylogenetic constraints on hybrid origins // Evolution. 1992a. V. 46. P. 184–192.
- Moritz C., Uzzell T., Spolsky C., Hotz H., Darevsky I., Kupriyanova L., Danielyan F. The material ancestry and approximate age of parthenogenetic species of Caucasian rock lizards (*Lacerta*: Lacertidae) // Genetica. 1992b. V. 87. P. 53–62.
- Moritz C., Brown W.M., Densmore L.D., Wright J., Vyas D., Donnellan S., Adams M., Baverstock P. Genetic diversity and the dynamics of hybrid parthenogenesis in *Cnemidophorus* (Teiidae) and *Heteronotia*, (Gekkonidae) // Bull. New York State Museum. Albany. 1989. V. 466. P. 87–112.
- Murphy R., Darevsky I., Kupriyanova L., MacCulloch R., Fu J. A fine line between sex and unisexuality: the phylogenetic constraints on parthenogenesis in lacertid lizards // Zool. J. Linn. Soc. 2000. V. 130. P. 527–549.
- Odierna G., Aprea G., Capriglione T. Progressive differentiation of the W sex chromosome between oviparous and viviparous populations of *Zootoca vivipara* (Reptilia, Lacertidae) // Ital. J. Zool. 1998. V. 65. P. 295–302.
- Olmo E., Odierna G., Cobror O. C-band variability and phylogeny of Lacertidae // Genetica. 1986. V. 71. P. 63–74.
- Petrosyan V.G., Osipov F.A., Bobrov V.V., Dergunova N.N., Danielyan F.D., Arakelyan M.S. New records of *Darevskia armeniaca* (Méhely, 1909) and *Darevskia valentini* (Boettger, 1892) (Squamata, Sauria, Lacertidae) from Armenia and updated geographic distribution maps // Check List. 2019a, V. 15. P. 21–31.
- Petrosyan V., Osipov F., Bobrov V., Dergunova N., Kropachev I.I., Danielyan F., Arakelyan M. New records and geographic distribution of the sympatric zones of unisexual and bisexual rock lizards of the genus *Darevskia* in Armenia and adjacent territories // Biodiversity Data Journal,

2020. № 8. e56030.  
<https://doi.org/10.3897/BDJ.8.e56030>.
- Petrosyan V., Osipov F., Bobrov V., Dergunova N., Nazarenko E., Omelchenko A., Danielyan F., Arakelyan M. Analysis of geographical distribution of the parthenogenetic rock lizard *Darevskia armeniaca* and its parental species (*D. mixta*, *D. valentini*) based on ecological modeling // *Salamandra*, 2019b. V. 55. № 3. P. 173–190.
- Ryskov A.P. Genetically unstable microsatellite containing loci and genome diversity in clonally reproduced unisexual vertebrates / *International Review of Cell and Molecular Biology* / Ed. Jeon K.W. N.Y. Acad. Press, 2008. V. 270. P. 319–349.
- Skikulnath K., Matsubara K., Uno Y., Nishida C., Olsson M., Matsuda Y. Identification of the linkage group of the Z sex chromosomes of the sand lizard (*Lacerta agilis*, Lacertidae) and elucidation of karyotype evolution in lacertid lizards // *Chromosoma*. 2014. V. 123. P. 563–575.
- Spangenberg V., Arakelyan M., Galoyan E., Pankin M., Petrosyan R., Stepanyan I., Grishaeva T., Danielyan F., Kolomiets O. Extraordinary centromeres: differences in the meiotic chromosomes of two rock lizards of species *Darevskia portschenskii* and *Darevskia raddei*. 2019. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.6360>
- Vergun A.A., Martirosyan I.A., Semyenova S.K., Omelchenko A.V., Petrosyan V.G., Lazebny O.E., Tokarskaya O.N., Korchagin V.I., Ryskov A.P. Clonal diversity and clone formation in the parthenogenetic caucasian rock lizard *Darevskia dahlia* // *PLoS One*. 2014. e91674. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091674>

## Oogenesis (Prophase 1 of Meiosis) and Mitotic Chromosomes of Parthenogenetic Species *Darevskia armeniaca* (Family Lacertidae)

L. A. Kupriyanova<sup>1</sup>, L. D. Safronova<sup>2</sup>, V. B. Sicheva<sup>2</sup>, F. D. Danielyan<sup>3</sup>, and V. G. Petrosyan<sup>2, #</sup>

<sup>1</sup>Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, University embankment 1, St. Petersburg, 199034 Russia

<sup>2</sup>Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Leninskyi prosp. 33, Moscow, 119071 Russia

<sup>3</sup>Yerevan State University, 1 Alex Manoogian, Yerevan, 0025 Armenia

#e-mail: [vgpetrosyan@gmail.com](mailto:vgpetrosyan@gmail.com)

In parthenogenetic hybrid *Darevskia armeniaca* species the way of early oogenesis and early meiosis were analyzed. It has for the first time been shown that the number of synaptonemal complexes (SCs) of bivalents during the stages of early pachytene–diplotene of the meiotic prophase 1 is constantly equal to haploid number, 19. The SC karyotype is presented. The results of comparative molecular-cytogenetic (C/CMA<sub>3</sub>/DAPI) analysis of the mitotic chromosomes ( $2n = 38: 34A + 2m + Zw$ -sex chromosomes) of parthenogenetic females and of the meiotic  $Zw$ -sex chromosomes ( $n = 19$  bivalents) of male *D. armeniaca* specimen with an inverted have been presented. Finally the obtained results demonstrate a lacking of premeiotic endoreplication of chromosomes, standard early stages of meiosis and forming haploid number of SC-bivalents ( $n = 19$ ) of homeological chromosomes in *D. armeniaca*.

УДК 579.67

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МОЛОЧНО-КИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ПРИ РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ СОВМЕСТНОГО ВЫРАЩИВАНИЯ

© 2021 г. А. Исраелян<sup>\*,@</sup>, К. Карапетян<sup>\*\*</sup>, Л. Арстамян<sup>\*</sup>, Л. Алексанян<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Арцахский научный центр государственная некоммерческая организация, ул. Тигран Меци, 26, Степанакерт, Арцах, Нагорно-Карабахская Республика

<sup>\*\*</sup>Научно-производственный центр “Армбиотехнология” НАН Республики Армения, ул. Горджяна, 14, Ереван, 0056 Армения

@E-mail: arevik\_israelyan@mail.ru

Поступила в редакцию 06.03.2019 г.

После доработки 11.06.2020 г.

Принята к публикации 02.12.2020 г.

С целью получения заквасок для новых кисло-молочных продуктов исследовано влияние условий выращивания (температуры, соотношения количества вносимых молочнокислых бактерий (МКБ)) на взаимодействие МКБ с пробиотическими свойствами. Показано проявление органолептических, антимикробных свойств при использовании композиций МКБ различной родовой и видовой принадлежности.

DOI: 10.31857/S0002332921030073

Пищевые привычки людей, живущих в разных странах, в разных регионах внутри страны, и даже разных религиозных групп развивались в течение тысяч лет и значительно различаются. Кисло-молочные продукты (КМП) питания уже давно ассоциируются с различными демографическими группами и являются неотъемлемой частью их этноса (Carr *et al.*, 2002; Avreljia, Walter, 2010).

Один из самых распространенных методов сохранения биоразнообразия микроорганизмов и использования их органолептических и питательных свойств – изучение микрофлоры национальных традиционных КМП и создание на основе выделенных бактерий (единичных или ассоциированных) новых продуктов (Tajabadi *et al.*, 2009). Многие традиционные КМП производились и производятся в Азии, Африке, на Ближнем Востоке, в Северной и Восточной Европе и в настоящее время используются многими учеными для исследования их микрофлоры и создания новых КМП для функционального питания. Показано, что микрофлора ферментированных продуктов варьирует от одного региона к другому, зависит от климатических условий области (Bettache, Mebrouk, 2004; Mennane *et al.*, 2007; Dalgalarondo *et al.*, 2009; Tajabadi *et al.*, 2009).

Достаточно хорошо изучена микрофлора Кавказского национального КМП мацуна (Matsoon, Мазунинская, мацони, мацун). Мацун надо рас-

сматривать как аналог йогурта, он готовится путем ферментации коровьего, овечьего, козьего, буйволового молока или их смеси молочнокислыми бактериями (МКБ). Показано, что микробная композиция мацуна различается в различных кавказских областях, зависит как от региона, так и от типа молока, но очень стабильна и характерна для каждого региона, что позволяет сохранять и передавать уникальность региональной микрофлоры мацуна (Afrikan, 2012; Bokulich *et al.*, 2015). Исследования по идентификации микрофлоры мацуна в различных регионах Кавказа, проведенные в последние годы, показали, что виды *Lactococcus* и *Enterococcus* встречаются во многих образцах мацуна, приготовленного из молока разных домашних животных (Bokulich *et al.*, 2015).

В отличие от болгарского кислого молока, содержащего *Lactobacillus delbrueckii* подвид *bulgaricus* и *streptococcus*, микрофлора мацуна, полученного путем ферментации коровьего молока, включает в себя различные виды микроорганизмов и их симбиотические ассоциации. Учеными Грузии выделены и описаны следующие МКБ мацуна: *Lactobacillus delbrueckii* – подвид *lactis*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* – подвид *lactis*, *L. lactis* – подвид *diacetylactis*, *L. lactis* – подвид *cremoris*, *Enterococcus durans* (Merabishvili, Chanishvili, 2001). Штамм *L. bulgaricus* не был обнаружен. В образцах мацуна из различных регионов Арме-

нии встречаются и другие виды бактерии, в том числе *Lactobacillus helveticus*, *L. plantarum*, *L. paracasei* и *Leuconostoc lactis* (Karapetyan, 2011; Tkhruni et al., 2013), а также *Geotrichum candidum*, *Saccharomyces*, *Candida* и другие виды дрожжей (Afrikan, 2012).

Исследование пробиотических свойств эндемичных штаммов МКБ, выделенных из КМП из различных регионов Арцаха, показало, что МКБ представлены в основном различными видами рода *Enterococcus* (Israyelyan et al., 2016; Karapetyan et al., 2017). В последние годы научный интерес представляет создание композиций из нескольких штаммов МКБ, имеющих ряд полезных свойств, для получения новых КМП для функционального питания.

Цель работы – подбор композиций с использованием исследованных эндемичных штаммов МКБ с некоторыми пробиотическими свойствами для создания новых КМП.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Объекты исследования и условия роста.** Объектами исследования были культуры МКБ, выделенные из разных образцов национального КМП мацуна из натуральных хозяйств различных регионов Армении и Арцаха и исследованные нами в течение 2005–2017 г. Серийно разведенные образцы мацуна наносили на чашки Петри с селективной питательной средой De Man, Rogosa and Sharpe (MRS-агар) для лактобактерий или гидролизованном молочном агаром (1.2%) и культивировали при 37°C. Были отобраны морфологически идентичные единичные колонии каждого штамма МКБ и получены чистые культуры, которые были охарактеризованы в соответствии с описанными методами (Holt et al., 1994; Roissart, Luquet, 1994). Чистые культуры МКБ хранились в замороженном виде при –20°C в MRS – бульоне или в молоке с содержанием 40% глицерина. Для выращивания МКБ в качестве инокулята использовали 6–8 ч культуры, которые вносились в питательные среды (10% объема среды). Культуры выращивали в термостате при 37 и 42°C.

Титр клеток (число жизнеспособных клеток МКБ) определяли методом посева на питательные среды (чашечный метод Коха). Ряд последующих 10-кратных разведений отобранных проб готовились в пробирках с физиологическим раствором. В чашки Петри с соответствующей агаризованной питательной средой вносили по 0.1 мл последнего и предпоследнего разведений. Засеянные чашки Петри (на каждое разведение по 2–3 чашки) инкубировали в термостате при 37°C.

Число бактерий рассчитывали через 2–3 сут. Подсчитывали число формирующихся колоний, принимая во внимание, что каждая колония – потомство одной жизнеспособной клетки (Биргер, 1982).

Так как колонии разных штаммов МКБ при выращивании на агаризованных питательных средах различаются по цвету, размерам, консистенции, то после их совместного выращивания число клеток бактерий каждого вида также определяли чашечным методом Коха путем подсчета числа колоний каждого штамма в отдельности. Для культивирования штаммов МКБ применяли следующие питательные среды:

№ 1. MRS – бульон (Merck, Германия; ISO, Италия; HiMedia, Индия);

№ 2. Молоко (обезжиренное, 1.5%-ная жирность);

№ 3. Питательную среду на основе подтвороженной сыворотки с добавлением солей (% , ±0.2): (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-0.8, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-0.1, MgSO<sub>4</sub>-0.2, дрожжевой экстракт-0.3, пептон-0.3, MnSO<sub>4</sub>-0.05, CH<sub>3</sub>COONa · 3H<sub>2</sub>O-0.2, pH 6.5 ± 0.2 (Tkhruni et al., 2015).

Кислотность культуральной жидкости при раздельном и совместном выращивании штаммов МКБ выражали в градусах Тернера (° T). Градус Тернера показывает число миллилитров 0.1 н. раствора гидроксида натрия (или гидроксида калия), необходимое для нейтрализации 100 мл или 100 г продукта.

Для идентификации штаммов МКБ был применен метод секвенирования генов 16 S rRNA с использованием универсальных праймеров для Enterobacteriaceae и маркера Genladder (100 bp, plus 1.5 kb, 50 µg, GENAXXON, bioscience) (Weisburg et al., 1991). Штаммы были депонированы в отделении Центра депонирования микробов (ЦДМ) при научно-производственном центре (НПЦ) «Армбиотехнология» НАН Республики Армения.

**Тест культуры.** Для определения антимикробных свойств МКБ были использованы условно-патогенные бактерии *Salmonella typhimurium* G38 и *Bacillus subtilis* G17-89, находящиеся в коллекции микроорганизмов НПЦ «Армбиотехнология» НАН РА.

**Определение антибактериальной активности.** Антимикробную активность бесклеточной культуральной жидкости (КЖ) определяли на тест-культурах с использованием методов диффузии в агар и серийных разведений (Биргер, 1990). На поверхность газона с тест-культурой (2.2 × 10<sup>6</sup> КОЕ/мл) наносили 20 мкл исследуемого образца. Антимикробную активность оценивали измерением раз-

**Таблица 1.** Антимикробная активность культуральной жидкости при отдельном и совместном выращивании штаммов молочнокислых бактерий

Композиции молочнокислых бактерий	Число клеток, КОЕ/мл	Кислотность, °Т	Антимикробная активность культуральной жидкости (рН 4.5), АЕ/мл	
			<i>Bacillus subtilis</i> G17-89	<i>Salmonella typhimurium</i> G 38
<i>L. rhamnosus</i> 2012	$1.0 \times 10^{10}$	380	900	400
<i>L. acidophilus</i> 1991	$1.4 \times 10^9$	320	1600	500
<i>E. faecium</i> 64	$4.0 \times 10^9$	140	300	300
<i>S. thermophilus</i> 103	$1.6 \times 10^9$	120	300	300
<i>S. lactis</i> 87	$5.7 \times 10^9$	150	700	500
<i>L. paracasei</i> 236	$4.0 \times 10^9$	340	700	1000
<i>L. rhamnosus</i> 2012 + <i>L. acidophilus</i> 1991	$5.0 \times 10^7$	450	1300	800
	$4.6 \times 10^8$			
<i>L. rhamnosus</i> 2012 + <i>L. paracasei</i> 236	$1.0 \times 10^9$	440	900	900
	$1.1 \times 10^9$			
<i>L. rhamnosus</i> 2012 + <i>E. faecium</i> 64	$2.5 \times 10^9$	420	1000	1200
	$1.8 \times 10^9$			
<i>L. rhamnosus</i> 2012 + <i>S. thermophilus</i> 103	$0.9 \times 10^9$	410	1200	900
	$8.0 \times 10^7$			
<i>L. paracasei</i> 236 + <i>S. thermophilus</i> 103	$4.4 \times 10^9$	320	1000	1000
	$4.0 \times 10^7$			
<i>L. paracasei</i> 236 + <i>E. faecium</i> 64	$4.6 \times 10^9$	340	700	1100
	$5.6 \times 10^8$			
<i>E. faecium</i> 64 + <i>S. thermophilus</i> 103	$8.7 \times 10^7$	180	400	400
	$2.4 \times 10^9$			
<i>S. thermophilus</i> 103 + <i>S. lactis</i> 87	$2.6 \times 10^9$	180	1000	1000
	$1.9 \times 10^9$			

Примечание. °Т – кислотность, выраженная в градусах Тернера; для табл. 1–4.

меров зон ингибирования роста тест-культуры (диаметр, мм) после 24 ч инкубирования в термостате при 30°C. Активность выражали в активных единицах (АЕ/мл) (Parente *et al.*, 1995). Антимикробную активность при совместном выращивании определяли после 48 ч выращивания МКБ.

**Подбор композиций МКБ для создания новых КМП.** Были использованы эндемичные штаммы МКБ с некоторыми пробиотическими свойствами (Shenderov, 2013) разной родовой и видовой принадлежности, а также стандартные методы получения КМП согласно ГОСТ РФ (ГОСТ РФ

**Таблица 2.** Влияние температуры выращивания на вкусовые качества кисло-молочного продукта при выращивании композиций из двух штаммов

Композиция штаммов молочно-кислых бактерий	Соотношение молочно-кислых бактерий, %	Температура выращивания, °С					
		30		37		42	
		вкус, консистенция	°Т	вкус, консистенция	°Т	вкус, консистенция	°Т
<i>S. thermophilus</i> 103 + <i>S. lactis</i> 87	50	Горечь, плотная	40	Вкусный, плотная	55	Вкусный, плотная	55
	50						
<i>S. thermophilus</i> 103 + <i>S. lactis</i> 87	60	То же	40	То же	50	То же	55
	40						
<i>S. thermophilus</i> 103 + <i>S. lactis</i> 87	40	Горечь, слабая	60	Вкусный, рыхлая	60	Вкусный, рыхлая	65
	60						
<i>S. thermophilus</i> 103 + <i>S. lactis</i> 87	70	Горечь, плотная	55	Невкусный, плотная	55	Горечь, плотная	55
	30						
<i>S. thermophilus</i> 103 + <i>S. lactis</i> 87	30	Горечь, слабая	40	Невкусный, слабая	40	Горечь, слабая	45
	70						

**Таблица 3.** Влияние температуры выращивания на вкусовые качества кисло-молочного продукта при выращивании композиций из трех штаммов

Композиция штаммов	Соотношение молочно-кислых бактерий, %	Температура выращивания, °С					
		30		37		42	
		вкус, консистенция	°Т	вкус, консистенция	°Т	вкус, консистенция	°Т
<i>L. acidophilus</i> 1991 + <i>S. thermophilus</i> 103 + <i>S. lactis</i> 87	40	Горечь, плотная	50	Сладкий, плотная	55	Вкусный, плотная	55
	30						
	30						
<i>L. acidophilus</i> 1991 + <i>S. thermophilus</i> 103 + <i>E. durans</i> M 44	40	То же	60	Горечь, плотная	60	То же	50
	20						
	20						
<i>S. thermophilus</i> 103 + <i>S. lactis</i> 87 + <i>E. durans</i> M 42	30	Не вкусный, слабая	60	Кислый, рыхлая	65	Не вкусный, рыхлая	45
	30						
	30						

55577, 2013). Органолептическая оценка была проведена согласно ГОСТ Армении 4959.

**Статистический анализ.** Приведены данные по трем повторностям каждого эксперимента. После сбора данных был проведен статистический анализ с использованием компьютерной программы Microsoft Word 10, Exele 2010. Полученные данные действительны для  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что при совместном выращивании МКБ возможны синергизм или антогонизм между культивируемыми штаммами. Были использованы штаммы МКБ, обладающие некоторыми пробиотическими свойствами (антиоксидантной и антимицробной активностью, высокой степенью адгезии на клетки эпителия человека, устой-

**Таблица 4.** Совместное выращивание пробиотических штаммов различной видовой принадлежности (молоко 1.5%, 42°C)

Источник выделения молочно-кислых бактерий (молоко)	Время сквашивания, ч	Кислотность, °Т	Число клеток, КОЕ/мл	Оценка органолептических показателей, бал
<i>E. durans</i> P 13 (корова) + + <i>L. helveticus</i> G5' (буйволица)	5.0	130	$3.0 \times 10^8$ $4.0 \times 10^8$	29
<i>E. durans</i> P 13 (корова) + + <i>E. faecium</i> КА 3 (коза)	5.0	110	$4.0 \times 10^9$ $6.0 \times 10^9$	26
<i>E. durans</i> P 13 (корова) + + LAB sp. KE 1 (ослица)	6.0	125	$3.5 \times 10^8$ $3.5 \times 10^8$	27
<i>E. durans</i> P 13 (корова) + + <i>E. faecium</i> KV 15-1 (овца)	6.0	120	$2.0 \times 10^8$ $1.2 \times 10^8$	25

чивостью к ферментам и различным значениям pH среды, различным концентрациям желчи) (Karapetyan, 2011; Tkhruni *et al.*, 2013; Israyelyan *et al.*, 2016). Результаты, полученные после совместного выращивания некоторых штаммов с пробиотическими свойствами, выделенных из мацуна на основе коровьего молока, приведены в Т. 1 (37°C, 48 ч, среда на основе подтвороженной сыворотки).

При совместном выращивании антогонизм роста в композициях наблюдается между штаммами *L. rhamnosus* 2012 + *S. thermophilus* 103, *E. faecium* 64 + *S. thermophilus* 103, *L. paracasei* 236 + *S. thermophilus* 103 и *L. rhamnosus* 2012 + *L. acidophilus* 1991, а синергизм роста – в комбинации между штаммами *L. rhamnosus* 2012 + *L. paracasei* 236, *L. rhamnosus* 2012 + *E. faecium* 64 и *S. thermophilus* 103 + *S. lactis* 87. Антимикробные активности разных штаммов при раздельном выращивании различаются. Увеличение антимикробной активности отмечено при комбинации использования штаммов *L. rhamnosus* 2012 + *E. faecium* 64, *L. rhamnosus* 2012 + *L. paracasei* 236, *L. rhamnosus* 2012 + *E. faecium* 64, *L. paracasei* 236 + *E. faecium* 64 и *L. rhamnosus* 2012 + *L. acidophilus* 1991 и *S. thermophilus* 103 + *S. lactis* 87.

Как видно из приведенных данных, при совместном выращивании наблюдаемые различия во взаимодействии между штаммами, антимикробная активность не связаны с родовой и видовой принадлежностью изучаемых штаммов. Исследование влияния разных параметров выращивания (температуры, соотношения количеств вносимых культур) на проявление органолептических пока-

зателей при совместном выращивании в молоке показано на примере двух штаммов *S. thermophilus* 103 + *S. lactis* 87, выделенных из мацуна коровьего молока и обладающих анимикробной активностью. Отбор был основан также на том, что закваски каждого штамма в отдельности имели сладковатый вкус, приятный запах, высокую скорость сквашивания (Т. 2).

Как видно из приведенных данных, при использовании композиции штаммов *S. thermophilus* 103 + *S. lactis* 87 в соотношениях 50 : 50 и 60 : 40 при температуре культивирования 37°C вкусовые качества КМП и текстура не отличаются от показателей культивирования при 42°C, а при культивирования при 30°C вкусовые качества КМП неприятные. Образование сгустка наблюдалось после 5–6 ч выращивания. Выращивание при повышенной температуре влияет на вкус полученного продукта. Полученные данные показывают, что характеристика образуемого сгустка также зависит от соотношения МКБ в композиции штаммов. При выращивании композиции из трех штаммов *L. acidophilus* 1991 + *S. thermophilus* 103 + *S. lactis* 87, при соотношении штаммов 40 : 30 : 30 вкусовые качества КМП оказались положительными при температуре культивирования 42°C. Вкусовые качества КМП и текстура отличаются от показателей культивирования при 30 и 37°C (Т. 3).

На проявление органолептических свойств влияют температура выращивания, соотношение в композиции используемых МКБ разной родовой и видовой принадлежности.

Ранее нами было показано, что бактерии, выделенные из молока ослиц, по своим пробиотическим свойствам существенно отличаются от МКБ, выделенных из молока остальных домашних животных (Israyelyan, 2018). В Т. 4 приведены данные по совместному выращиванию штаммов различной родовой и видовой принадлежности, выделенных из мацуна на основе молока разных домашних животных. Полученные результаты показали, что в исследуемых вариантах композиций штаммов не было антагонизма роста. Кислотность и вкусовые характеристики *E. durans* P 13 и *L. helveticus* KG5' соответствовали ГОСТ РА. Проведенные опытно-производственные испытания позволили отработать технологию производства КМП на основе этих штаммов и получить РА ТУ 90025478.01.96-2017 г.

Таким образом, полученные результаты по совместному выращиванию штаммов МКБ, обладающими некоторыми пробиотическими свойствами различной родовой и видовой принадлежности, показали возможность использования штаммов, выделенных из мацуна на основе молока разных домашних животных (овец, буйволиц, коз, ослиц) для создания новых КМП функционального питания. Антагонизм роста и антимикробная активность при совместном выращивании зависят от композиций используемых штаммов и условий культивирования (температура и соотношение штаммов).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бургер М.О.* Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследований. М.: Изд-во 1982. С. 462.
- Бургер Р.* Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследований. М.: Изд-во 1990. С. 464.
- ГОСТ РФ 55577-2013. Продукты пищевые функциональные. Информация об отличительных признаках и эффективности. 06 сентября 2013 г. N 852-ст.
- Afrikian E.* Studies of lactic-acid bacteria in Armenia with emphasis on radio protective properties // *J. Environ.* 2012. V. 32. P. 256–268.
- Avrelia C., Walter C.* The role of functional foods, Nutraceuticals, and food supplements in intestinal health // *Nutrients J.* 2010. V. 2. P. 611–625.
- Bettache G., Mebrouk K.* Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goats' milk // *Afric. J. Biotechnol.* 2004. V. 3. P. 339–342.
- Bokulich N., Amiranashvili L., Chitchyan K., Ghazanchyan N., Darbinyan K., Gagelidze N., Sadunishvili T., Goginyan V., Kvesitadze G., Torok T., Mills D.* Microbial biogeography of the transnational fermented milk matsoni // *Food Microbiol.* 2015. P. 12–19.
- Carr F., Chill D., Maida N.* The lactic acid bacteria: a literature survey // *Critical Rev. Microbiol.* 2002. V. 28. P. 281–370.
- Dalgalarondo T.-M., Tolinacki M., Nikolic M., Lozo J., Begovic J., Gulahmadov S., Alekperovich Kuliev A., Chobert J., Haertlé T., Topisirovic L.* Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from Azerbaijani traditional dairy products // *Afr. J. Biotechnol.* 2009. V. 8. P. 2576–2588.
- Holt J.G., Krieg N.R. Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T.* *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 9th Edn. Baltimore, MA: Williams and Wilkins, 1994.
- Israyelyan A.* Comparative characterization of lactic acid bacteria isolated from donkey's milk // *Europ. J. Biomed. Pharmac. Sci.* 2018. V. 5. Iss. 3. P. 65–69.
- Israyelyan A., Tkhruni N., Arstamyany L., Balabekyan Ts., Khachatryan T., Karapetyan K.* Comparative characterization of endemic lactic acid bacteria isolated from several regions of Armenia and Nagorno Karabakh Republics // *Biol. J. Armenia.* 2016. P. 50–57.
- Karapetyan K.J.* Comparative study of properties of some lactic acid bacteria and obtaining of antimicrobial preparations on their basis. PhD thesis, 2011.
- Karapetyan K., Tkhruni F., Israyelyan A., Yermolenko E., Verdyan A.* Comparative characterization of endemic lactic acid bacteria of Enterococcus genus // *Int. J. Sci. Technol. Res.* 2017. V. 6(7). P. 357–361.
- Mennane Z., Faid M., La gzouli M., Ouhssine M., Ely M., Chioui A., Berny E. Ennouali M., Khedid K.* Physico-chemical, microbial and sensory characterization of Moroccan Klila middle-east // *J. Sci. Res.* 2007. V. 2. P. 93–97.
- Merabishvili M., Chanishvili N.* Identification of the lactic acid bacterial cultures isolated from the samples of the caucasian matsoni // *Proc. Georg. Acad. Sci.* 2001. V. 27. P. 91–95.
- Parente E., Brienza C., Moles M., Riccardi A.* A comparison of methods for measurement of bacteriocin activity // *J. Microbiol. Meth.* 1995. V. 22. P. 95–108.
- Roissart H., Luquet FM.* Bactéries lactiques. Aspects fondamentaux et technologiques. Uriage, Lorica. 1994. 605 p.
- Shenderov B.* *Metabiotics*: Novel idea or natural development of probiotic conception // *J. Microbiol. Ecol. Health Disease.* 2013. V. 24. P. 1–6.
- Tajabadi E., Hejaazi M., Jafari P.* Selective screening of potential probiotic lactobacilli in traditional fermentative dairies // *Quarterly J. Biol. Sci.* 2009. V. 1. P. 41–47.
- Tkhruni F., Karapetyan K., Danova S., Dimova S., Karimpur F.* Probiotic properties of endemic strains of lactic acid bacteria // *J. Bio. Sci. Biotech.* 2013. V. 2. P. 109–115.
- Weisburg W., Barns S., Pelletier D.* 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study // *J. Bacteriol.* 1991. V. 173. P. 697–703.

**Interaction of Lactic Acid Bacteria under Different Conditions of Combined Growth****A. Israyelyan<sup>1, #</sup>, K. Karapetyan<sup>2</sup>, L. Arstamyan<sup>1</sup>, and L. Alexsanyan<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Artsakh Scientific Center State Non-Commercial Organization, ul. Tigran Metsi. 26, Stepanakert, Artsakh Nagorno Karabakh Republic*

<sup>2</sup>*Scientific and Production Center "Armbiotechnology" NSPO, National Academy of Science, ul. Gyurjyana, 14, Yerevan, 0056 Republic of Armenia*

<sup>#</sup>*e-mail: arevik\_israelyan@mail.ru*

For the obtaining of starters for new fermented dairy products, the effect of growing conditions (temperature, the ratio of the amount of lactic acid bacteria introduced) on the interaction of lactic acid bacteria (LAB) with probiotic properties has been investigated. The presence of organoleptic, antimicrobial parameters is shown during the use of compositions of LAB of different genus and species belonging.

УДК 574.3:57.017.647:57.018.42

## БИОРИТМЫ РОСТА ПРЕСНОВОДНОЙ ЖЕМЧУЖНИЦЫ *Margaritifera margaritifera* (Bivalvia, Margaritiferidae) ПОПУЛЯЦИЯ Р. НЕМИНА (КАРЕЛИЯ)

© 2021 г. А. А. Зотин\*, Е. П. Иешко\*\*, @

\*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, ул. Вавилова 26, Москва, 119334 Россия

\*\*Институт биологии КарНЦРАН,  
ул. Пушкинская 11, Петрозаводск, 185910 Россия

@E-mail: ieshkoep@gmail.com

Поступила в редакцию 26.08.2019 г.

После доработки 21.04.2020 г.

Принята к публикации 21.04.2020 г.

Проведено исследование индивидуального линейного роста 23 особей пресноводной жемчужницы *Margaritifera margaritifera* путем измерения последовательных годовых колец на поверхности раковины. Показано, что рост каждого моллюска может быть описан с помощью единого уравнения, частный случай которого – уравнение Берталанфи со средним коэффициентом замедления роста  $a = 0.048 \text{ год}^{-1}$  и коэффициентом начальных условий  $d = 5.3 \text{ мм/год}$ . Отмечено, что рост сопровождается тремя закономерными биоритмами с периодами 12.6, 6.4 и 4.0 года, причем два первых биоритма затухающие, последний имеет постоянную амплитуду. Установлено, что уменьшение амплитуды затухающих биоритмов может быть описано степенными уравнениями. Обсуждаются вопросы природы выявленных биоритмов.

DOI: 10.31857/S000233292103019X

Рост животных, как и многие другие биологические процессы, протекающие в онтогенезе, сопровождается биоритмами, часть из которых (экзогенные) опосредованы циклическими процессами в окружающей среде, часть (эндогенные) не зависят от внешних ритмов. Появление таких эндогенных биоритмов соответствует современным представлениям термодинамики нелинейных процессов, которая рассматривает живые организмы как неравновесные диссипативные структуры (Prigogine, Nicolis, 1971; Nicolis, 1972; Васильев, 1976; Зотин А.И., 1976; Лампрехт, 1976; Рубин, 1976; Nicolis, Prigogine, 1977; Haken, 1978; Зотин А.А., 2012). В таких структурах любой процесс, сопровождаемый избыточной диссипацией энергии, характеризуется ритмами, каждый из которых связан с определенным стационарным состоянием (Prigogine, 1972; Малек-Мансур и др., 1980).

При исследовании роста животных обнаружено от 1 до 3 биоритмов в зависимости от характерного времени процесса (Зотин А.А., 2009, 2020; Зотин, Клейменов, 2013). Так, при ежесуточных измерениях у многих видов животных выявлены биоритмы роста с периодом 2 нед. (Сипачев, 1970). Для промежутков времени, сопоставимых с продолжительностью жизни особей, описаны два биоритма удельной скорости роста, один из кото-

рых мы связываем с текущим стационарным состоянием живой системы (гомеостаз), другой – с конечным стационарным состоянием, к которому организм стремится на протяжении всей жизни (гоморез) (Зотин, 1974; Зотин, Зотина, 1993; Zotin, Zotin, 1996, 1997).

Определение биоритмов роста сталкивается с трудностями, связанными с необходимостью изучения большого периода онтогенеза с частотой измерений, позволяющей надежно выявлять биоритм. Период между измерениями должен быть по крайней мере в 3 раза меньше периода биоритма. Один из видов, о котором можно получить сведения, позволяющие обнаружить и охарактеризовать биоритмы роста, – пресноводный двустворчатый моллюск *Margaritifera margaritifera*. Представители этого вида часто живут >100 лет, а наличие годовых колец на поверхности раковины дает возможность исследовать закономерности и особенности роста и связанных с ним биоритмов в природных популяциях. Ранее были проведены исследования биоритмов в индивидуальном онтогенезе пресноводных жемчужниц из популяций рек Сюскюяньйоки, Ливойоки, Кереть (Карелия), Варзуга (Мурманская обл.) (Зотин, 2009, 2020; Зотин, Иешко, 2017, 2018; Zotin *et al.*, 2018).

Цель работы – определить параметры индивидуального линейного роста и связанных с ростом биоритмов для популяции *M. margaritifera* р. Немина (Карелия).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Створки раковин вынесенных на берег в результате весеннего половодья погибших двустворчатых моллюсков пресноводной жемчужницы *M. margaritifera* L. собирали в русле и на берегах р. Немина (бассейн Онежского оз., Карелия). Всего были исследованы раковины 23 моллюсков. Верхний конхиолиновый слой удаляли путем кипячения створок в 1 М растворе КОН в течение 10 мин. В результате годовые кольца роста на среднем призматическом слое стали отчетливо видны. Изображения раковин получали путем их сканирования на сканере HP ScanJet 5400c (Китай). Длину каждого неповрежденного годового кольца измеряли с помощью программы Excel с точностью 0.1 мм.

Было использовано единое уравнение роста, частный случай которого – уравнение Бергаланфи (Zotin, 2015):

$$dL_t/L_t dt = V_0(1-a)^t, \quad (1)$$

где  $L_t$  – длина годового кольца в возрасте  $t$ ;  $V_0$  – начальная скорость роста;  $a$  – коэффициент, определяющий замедление роста.

Данные аппроксимировали рекуррентной формой уравнения (1)

$$\Delta L = -aL_t + d, \quad (2)$$

где  $\Delta L$  – прирост длины раковины за год, следующий за возрастом  $t$ ;

$d = -V_0/\ln(1-a) + L_0$  ( $L_0$  – размер раковины в возрасте  $t=0$ ).

Коэффициенты уравнения (2) сравнивали с помощью регрессионного анализа. Пригодность использования этого уравнения оценивали с помощью критерия нелинейности (Зотин, 2000).

Возраст моллюска ( $T$ ) вычисляли, суммируя возраст первого измеренного годового кольца ( $T_1$ ) и число распознаваемых годовых колец на поверхности раковины. Возраст первого измеренного годового кольца рассчитывали с помощью аналитической формы уравнения (1):

$$T_1 = \log_{(1-a)}(1 - aL_1/d),$$

где  $L_1$  – длина первого измеренного годового кольца. Необходимость такого способа определения возраста связана с тем, что почти у всех моллюсков прирастуемая зона раковины корродирована и часть годовых колец не детектируется. Полученные данные сглаживали кубическими сплайнами, после чего строили временной ряд зависимости относительной скорости роста  $dL/Ldt$

от возраста годового кольца с использованием программы Matlab (версия 7.3.0.267, The MathWorks Inc, США).

Выявление основного тренда и биоритмов проводили методом сингулярного спектрального анализа с помощью программы “Гусеница” (версия 3.40, разработана компанией GistaT Group, Россия), причем с выбором опции “без центрирования”. Выбор опции “длина гусеницы” (“длина окна”) осуществляли следующим образом: если число измеренных годовых колец не превышало 24, то использовали длину окна, равную округленной до целого числа половины измеренных колец; в противном случае брали длину окна 12. Ритмы с периодом <3 лет считали “стохастическим шумом”. Период биоритмов определяли, вычисляя среднее значение удвоенных промежутков времени между последовательными локальными экстремумами. Амплитуду биоритмов ( $A$ ) вычисляли как половину разницы между значениями последовательных локальных экстремумов.

Зависимость амплитуды биоритмов ( $A$ ) от возраста ( $t$ ) аппроксимировали степенным уравнением

$$A = bT^c, \quad (3)$$

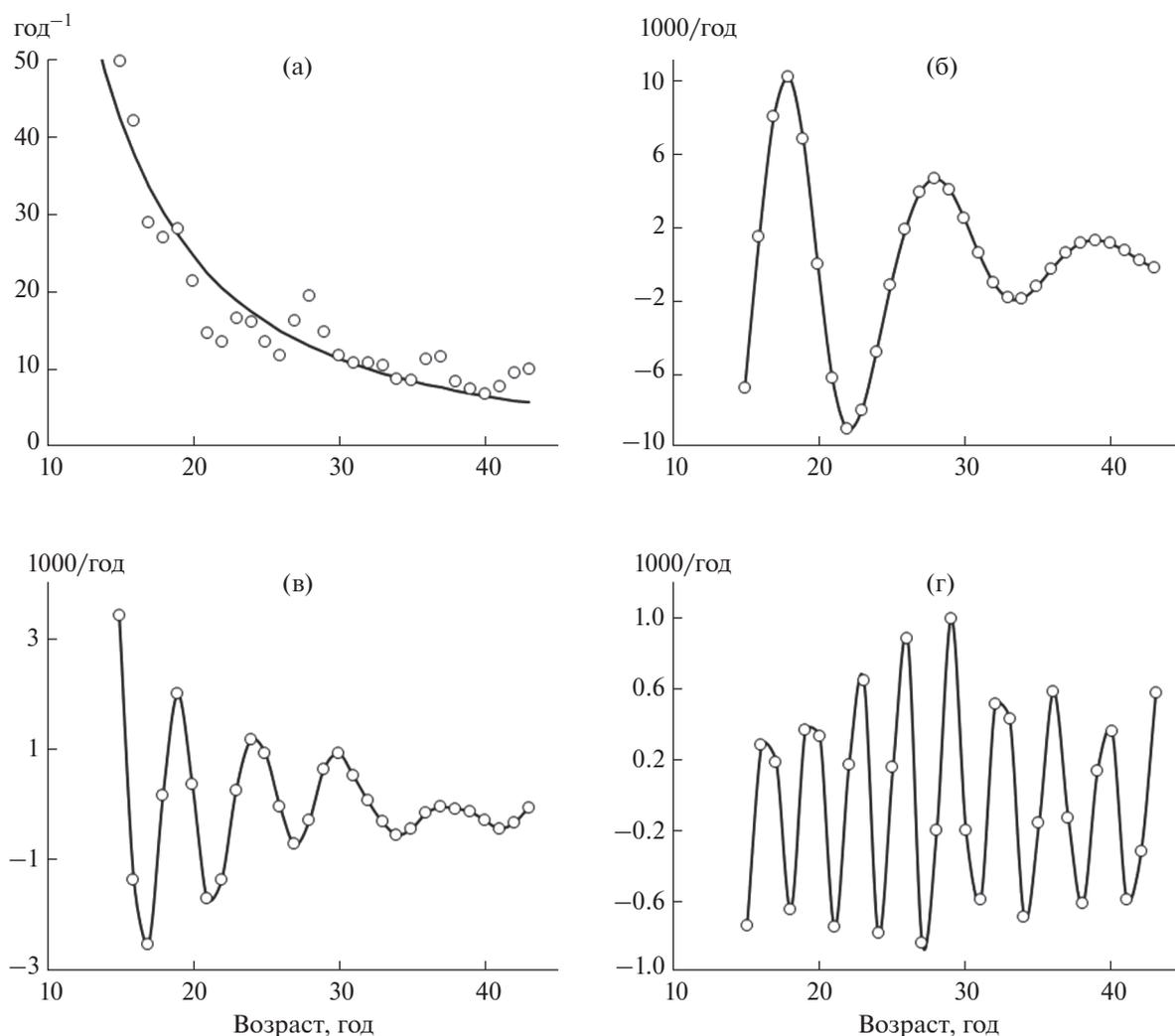
где  $T$  – возраст достижения экстремума;  $b, c$  – коэффициенты.

Аппроксимацию уравнениями (1)–(3) проводили с использованием программы Matlab.

Периоды биоритмов в онтогенезе отдельных моллюсков и средние значения периодов у разных особей сравнивали методом дисперсионного анализа (ANOVA). Статистические распределения, составленные из средних значений параметров, рассчитанных для разных моллюсков, сравнивали с нормальным распределением по критерию  $\chi^2$ . Во всех случаях, когда вычисляли средние значения, вычисляли также стандартную ошибку среднего. Связь параметров роста моллюсков р. Немина и полученных ранее параметров для других популяций *M. margaritifera* со среднегодовой температурой воздуха в месте обитания оценивали с помощью коэффициента корреляции (Ивантер, Коросов, 2010). Данные по среднегодовой температуре воздуха взяты с сайта CLIMATE-DATA.ORG. 2019. <https://ru.climate-data.org/>

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основная тенденция линейного роста отдельных особей *M. margaritifera* хорошо описывается уравнением (2) (рис. 1а). Коэффициенты  $a$  этого уравнения, определяющие замедление роста, варьируют у разных моллюсков от 0.032 до 0.077 год<sup>-1</sup>. Тем не менее эти различия не достоверны (табл. 1). Вариационные ряды, составленные из значений



**Рис. 1.** Пример разложения временного ряда методом сингулярного спектрального анализа для индивидуального линейного роста *Margaritifera margaritifera*. Особь № 22. а – зависимость относительной скорости роста  $dL/(Ldt)$  от возраста моллюска; точки – экспериментальные данные; кривая – аппроксимация уравнением (1). б–г – закономерные биоритмы с периодами 12.6, 6.4 и 4.0 года соответственно; кривые – сглаживание кубическими сплайнами.

коэффициентов уравнения (2), согласно критерию  $\chi^2$  распределены нормально. Их средние значения  $a = 0.062 \pm 0.003 \text{ год}^{-1}$ ,  $d = 8.9 \pm 0.3 \text{ мм/год}$  могут быть использованы для характеристики популяции р. Немина при межпопуляционных и межвидовых исследованиях.

Сингулярный спектральный анализ показывает, что основные тренды изменения размеров раковин практически не отличаются от кривой, полученной после аппроксимации уравнением роста (1) для всех исследованных особей. Уже при анализе кинетики удельной скорости роста в индивидуальном развитии *M. margaritifera* становится очевидным наличие биоритмов, сопровождающих основной тренд (рис. 1а).

Более отчетливыми биоритмы становятся после выделения волновых составляющих методом

сингулярного спектрального анализа. У всех особей выявлено до трех закономерных биоритмов, различающихся по частоте колебаний (табл. 1; рис. 1б–1г). У двух моллюсков не обнаружены наиболее низкочастотные биоритмы. Это, по-видимому, связано с тем, что числа измеренных годовых колец недостаточно для их выявления.

Периоды биоритмов достоверно не различаются как на протяжении онтогенеза отдельных особей, так и у разных особей. В среднем они равны  $12.6 \pm 0.8$ ,  $6.4 \pm 0.2$  и  $4.0 \pm 0.1$  года.

Биоритмы с периодами 12.6 и 6.4 года затухающие. Сравнительный анализ амплитуды биоритма показывает, что первоначально амплитуда с периодом 12.6 года превышает соответствующее значение для биоритма с периодом 6.4 года, но снижение амплитуды в первом случае идет быст-

**Таблица 1.** Индивидуальные размерные, возрастные и ростовые характеристики *Margaritifera margaritifera*

№ особи	<i>n</i>	<i>L</i> , мм	<i>T</i> , год	<i>a</i> , год <sup>-1</sup>	<i>d</i> , мм/год	<i>m</i> <sub>1</sub>	<i>P</i> <sub>1</sub> , год	<i>m</i> <sub>2</sub>	<i>P</i> <sub>2</sub> , год	<i>m</i> <sub>3</sub>	<i>P</i> <sub>3</sub> , год
1	22	107.2	29	0.077 ± 0.006	9.2 ± 0.5	2	14.0	5	7.5 ± 1.0	11	4.0
2	35	131.1	50	0.077 ± 0.005	10.3 ± 0.5	6	10.4 ± 1.2	10	6.7 ± 0.6	16	4.0 ± 0.2
3	25	118.5	32	0.077 ± 0.004	9.8 ± 0.4	4	10.0 ± 1.2	7	6.3 ± 0.3	13	3.7 ± 0.2
4	12	101.1	16	0.075 ± 0.017	11.0 ± 1.2	—	—	4	5.3 ± 0.7	5	3.5 ± 0.5
5	24	107.8	31	0.073 ± 0.008	8.7 ± 0.6	3	18.0 ± 4.0	7	6.7 ± 1.1	11	4.2 ± 0.4
6	23	118.9	33	0.072 ± 0.006	9.4 ± 0.6	3	20.0 ± 6.0	7	7.0 ± 0.9	12	3.6 ± 0.2
7	22	115.5	28	0.072 ± 0.01	9.5 ± 0.8	5	9.0 ± 0.6	6	6.8 ± 2.9	11	3.8 ± 0.4
8	24	110.3	31	0.071 ± 0.009	8.8 ± 0.7	4	9.3 ± 0.7	6	6.8 ± 1.4	9	4.5 ± 0.3
9	17	120.2	36	0.071 ± 0.008	9.2 ± 0.7	3	14.0	4	8.0	8	4.0
10	22	112.2	28	0.068 ± 0.009	8.8 ± 0.7	3	16.0 ± 4.0	5	7.5 ± 1.3	9	4.3 ± 0.3
11	18	116.9	24	0.067 ± 0.011	9.7 ± 0.9	2	18.0	4	7.3 ± 0.7	7	4.3 ± 0.3
12	19	114.6	25	0.066 ± 0.006	9.2 ± 0.5	2	18.0	6	6.4 ± 0.4	7	4.3 ± 0.8
13	19	121.2	26	0.065 ± 0.010	9.6 ± 0.9	3	9.0 ± 1.0	7	5.3 ± 0.4	9	3.8 ± 0.3
14	24	124.5	29	0.062 ± 0.008	9.1 ± 0.7	4	9.3 ± 0.7	9	5.0 ± 0.4	12	3.8 ± 0.2
15	43	127.0	54	0.061 ± 0.004	7.9 ± 0.5	6	12.0 ± 3.0	14	5.8 ± 0.6	19	4.3 ± 0.3
16	24	117.1	34	0.054 ± 0.009	7.5 ± 0.8	3	12.0 ± 2.0	6	6.4 ± 0.4	12	3.6 ± 0.2
17	21	101.4	32	0.054 ± 0.007	6.6 ± 0.6	5	8.5 ± 0.5	6	5.2 ± 0.5	11	3.6 ± 0.4
18	8	82.8	12	0.053 ± 0.022	9.9 ± 1.2	—	—	2	6.0	3	4.0 ± 2.0
19	19	129.9	26	0.053 ± 0.011	9.1 ± 1.0	3	11.0 ± 1.0	8	4.9 ± 0.4	8	4.3 ± 0.3
20	24	123.6	30	0.052 ± 0.009	8.0 ± 0.8	2	18.0	8	6.3 ± 0.9	12	4.0 ± 0.4
21	18	134.8	25	0.042 ± 0.009	8.7 ± 0.9	3	12.0 ± 4.0	6	6.4 ± 0.7	8	4.0 ± 0.4
22	15	116.9	21	0.041 ± 0.016	8.5 ± 1.3	3	9.0 ± 1.0	4	7.3 ± 1.3	6	4.0
23	13	116.4	38	0.032 ± 0.014	5.3 ± 1.4	2	8.0	4	6.0	5	4.5 ± 0.5

Примечание. *n* — число измеренных годовых колец; *L* — длина раковины; *T* — возраст особи; *a*, *d* — коэффициенты уравнения роста (2); *m*<sub>1</sub>, *m*<sub>2</sub>, *m*<sub>3</sub> — число локальных экстремумов; *P*<sub>1</sub>–*P*<sub>3</sub> — период биоритма, биоритмы со средними периодами 12.6, 6.4, 4.0 года соответственно; “—” — биоритм не обнаружен.

рее, чем во втором, и к возрасту 20 лет амплитуды обоих биоритмов сравниваются. Снижение амплитуды этих биоритмов может быть аппроксимировано степенным уравнением (3) с коэффициентами для биоритма с периодом 12.6 года и *b* = 276 ± 153 тыс./год, *c* = -1.61 ± 0.48 (*n* = 8), *b* = 19 ± 6 тыс./год, *c* = -0.88 ± 0.24 (*n* = 16) для биоритма с периодом 6.4 года (рис. 2).

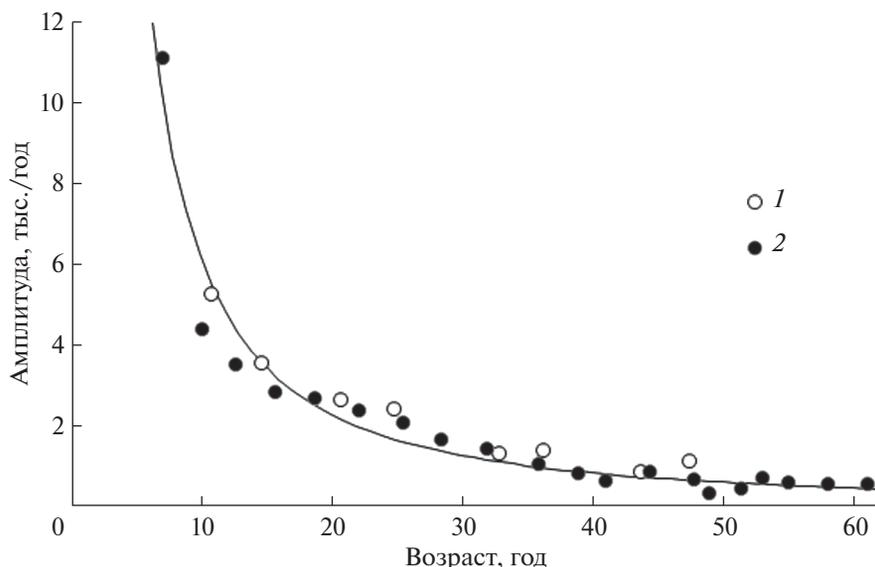
Биоритм с периодом 4.0 года имеет постоянную амплитуду со средним значением 1.1 ± 0.2 тыс./год.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для характеристики роста двустворчатых моллюсков обычно используют так называемую константу роста (*k*) из уравнения Берталанфи (Алимов, 1981; Вауег, 1992; Зюганов и др., 1993). Мы предпочитаем использовать вместо нее другую константу, названную нами коэффициентом замедления роста (*a*), связанную с константой роста зависимостью *a* = 1 + ln*k*. Отметим, что если *k*

близка к 0, то коэффициенты *a* и *k* приблизительно равны. Коэффициент *a* выгодно отличается от константы роста *k* тем, что его статистическое распределение близко к нормальному, он входит в рекуррентную форму (2) в качестве коэффициента регрессии и, следовательно, может быть использован для сравнительных целей с помощью стандартных статистических методов.

Для изученных моллюсков среднее значение *a* равно 0.062, а следовательно, *k* = 0.064. Константа роста *k* согласно опубликованным ранее данным варьирует для разных популяций *M. margaritifera* от 0.02 до 0.11 (Алимов, 1981; Bauer, 1992; Зюганов и др., 1993; Hastie *et al.*, 2000; San Miguel *et al.*, 2004; Dunca *et al.*, 2011; Зотин, Иешко, 2017). Таким образом, значение константы роста для популяции р. Немина близко к среднему значению для всех популяций, т.е. свидетельствует о том, что условия среды обитания моллюсков в р. Немина близки к оптимальным.



**Рис. 2.** Зависимость средних значений амплитуды биоритмов от возраста моллюсков. 1, 2 – биоритмы с периодами 12.6 и 6.4 года соответственно. Кривая – аппроксимация степенным уравнением (3).

В предыдущих работах, где определялись параметры биоритмов для популяций рек Кереть, Сюскюяййоки и Ливойоки (Карелия), мы не смогли выявить низкочастотные биоритмы (Зотин, 2009; Зотин, Иешко, 1918; Zotin *et al.*, 2018). Это, по-видимому, связано с тем, что, во-первых, у некоторых особей число видимых годовых колец слишком мало, чтобы биоритм стал явным; во-вторых, в этих работах была слишком малая длина окна при использовании программы “Гусеница”. Увеличение длины окна до значений, приведенных выше, позволяет выявить низкочастотные биоритмы и биоритмы со средней частотой (Зотин, 2020). Для всех популяций эти биоритмы затухающие, причем уменьшение ампли-

туды с возрастом может быть описано степенным уравнением (3).

В табл. 2 приведены сведения о параметрах роста исследованных нами популяций *M. margaritifera* в реках Карелии и Мурманской обл. Видно, что такие параметры, как коэффициент замедления роста  $a$  и период биоритма со средней частотой ( $P_2$ ), уменьшаются с увеличением среднегодовой температуры воздуха ( $t$ ) в месте обитания. Соответствующие корреляционные отношения достоверно отличаются от 0:  $\eta(a/t) = 0.98 \pm 0.11$ ,  $p < 0.01$ ;  $\eta(P_2/t) = 0.92 \pm 0.23$ ,  $p < 0.05$ . В то же время средние значения периодов для низкочастотного ( $P_1$ ) и высокочастотного ( $P_3$ ) биоритмов остаются неизменными для всех популяций жемчужниц.

**Таблица 2.** Сравнительная характеристика параметров роста различных популяций *Margaritifera margaritifera* dfhf–fht

Река	$T$ , °C	$a$ , год <sup>-1</sup>	$P_1$ , год	$P_2$ , год	$P_3$ , год
Сюскюяййоки (61.7° с. ш.)	4.9	$0.114 \pm 0.003$ ( $n = 88$ )	$13.8 \pm 0.7$ ( $n = 44$ )	$6.0 \pm 0.1$ ( $n = 81$ )	$4.0 \pm 0.1$ ( $n = 88$ )
Немина (62.8° с. ш.)	2.3	$0.062 \pm 0.003$ ( $n = 23$ )	$12.6 \pm 0.8$ ( $n = 21$ )	$6.4 \pm 0.2$ ( $n = 23$ )	$4.0 \pm 0.1$ ( $n = 23$ )
Ливойоки (64.8° с. ш.)	0.7	$0.060 \pm 0.006$ ( $n = 32$ )	$13.8 \pm 1.2$ ( $n = 21$ )	$6.2 \pm 0.2$ ( $n = 28$ )	$4.0 \pm 0.1$ ( $n = 29$ )
Кереть (66.0° с. ш.)	0.1	$0.061 \pm 0.002$ ( $n = 11$ )	$13.8 \pm 1.5$ ( $n = 8$ )	$6.8 \pm 0.4$ ( $n = 11$ )	$4.0 \pm 0.1$ ( $n = 11$ )
Варзуга (66.7° с. ш.)	0.8	$0.048 \pm 0.001$ ( $n = 90$ )	$13.4 \pm 0.1$ ( $n = 50$ )	$6.8 \pm 0.1$ ( $n = 84$ )	$4.0 \pm 0.1$ ( $n = 90$ )

Примечание.  $t$  – среднегодовая температура воздуха;  $a$  – коэффициент замедления роста из уравнения (2);  $n$  – число особей;  $P_1, P_2, P_3$  – периоды низко-, средне- и высокочастотных биоритмов соответственно.

Согласно современной термодинамической теории для нелинейных диссипативных структур, к которым, в частности, относятся живые системы, характерно наличие нескольких стационарных состояний (Зотин, 2009; Zotin, 2014). Стремление к каждому стационарному состоянию сопровождается только одним затухающим ритмом с определенным характерным временем. В стационарном состоянии амплитуда ритма стабилизируется (Prigogine, 1972; Рубин, 1976; Малек-Мансур и др., 1980).

Использованное нами единое уравнение роста (1) по существу представляет собой уравнение релаксации системы к стационарному состоянию. Биоритмы будут описываться этим уравнением в случае, если  $(1-a)^t$  представляет собой комплексное число, действительная часть которого описывает эволюцию системы к стационарному состоянию, а мнимая часть характеризует ритм, сопровождающий этот процесс.

Низкочастотный биоритм с периодом  $\sim 12.6$  года аналогичен биоритму роста у морского двустворчатого моллюска *Crenomytilus grayanus* с периодом 10–15 лет (Золотарев, 1974). По мнению Золотарева, эти ритмы имеют экзогенную природу и опосредованы 11-летними солнечными циклами. Остальные два биоритма, по-видимому, эндогенные и не связаны с периодическими процессами во внешней среде. Вероятно, их природа зависит от термодинамических закономерностей.

Можно предположить, что затухающий биоритм со средней частотой связан с процессом стремления организма к конечному стационарному состоянию. Поэтому он затухает на протяжении всего онтогенеза и тесно связан с продолжительностью жизни особей. Известно, что продолжительность жизни *M. margaritifera* тем больше, чем выше широта места обитания (Baue, 1992), что, по-видимому, определяет увеличение периода биоритма со средней частотой с уменьшением среднегодовой температуры воздуха.

Биоритм с постоянным периодом 4 года, вероятно, связан с текущим стационарным состоянием, в котором биологическая система находится на протяжении всей жизни при условии неизменности окружающей среды (Зотин, 2009, 2012; Зотин, Клейменов, 2013). Постоянство амплитуды в этом случае логично связать со стабильностью среды обитания в р. Немина по крайней мере в последние 55 лет (время жизни жемчужниц).

Конечно, выявленные биоритмы могут иметь и другую, чисто биологическую природу. Например, они могут быть результатом реакции организма на какие-либо не известные нам периодические процессы в окружающей среде. Для получения окончательного ответа на этот вопрос необходимо провести дополнительные исследования на других популяциях и видах животных.

Работа выполнена А.А. Зотиным и Е.П. Иешко в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН, № 0108-2019-0003; финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0075).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алимов А.Ф. Функциональная экология пресноводных двустворчатых моллюсков. Л.: Наука, 1981. 248 с.
- Васильев В.А. Стационарные диссипативные структуры // Термодинамика биологических процессов. М.: Наука, 1976. С. 186–198.
- Золотарев В.Н. Многолетние ритмы роста раковин мидии Граяна // Экология. 1974. № 3. С. 76–80.
- Зотин А.А. Статистическая оценка параметров аллометрических уравнений // Изв. РАН. Сер. биол. 2000. № 5. С. 517–524.
- Зотин А.А. Закономерности роста и энергетического обмена в онтогенезе моллюсков: Автореф. дис. докт. биол. наук. М.: ИБР РАН, 2009. 30 с.
- Зотин А.А. Особенности реализации принципа наименьшей диссипации энергии в индивидуальном развитии // Изв. РАН. Сер. биол. 2012. № 3. С. 261–269.
- Зотин А.А. Биоритмы роста европейской жемчужницы *Margaritifera margaritifera* (Bivalvia, Margaritiferidae). Популяция р. Варзуга (Мурманская обл.) // Изв. РАН. Сер. биол. 2020. № 4. С. 393–400.
- Зотин А.А., Иешко Е.П. Сравнительный анализ роста *Margaritifera margaritifera* (Bivalvia) из разных популяций Карелии и Кольского полуострова // Изв. РАН. Сер. биол. 2017. № 1. С. 5–9.
- Зотин А.А., Иешко Е.П. Биоритмы роста пресноводной жемчужницы *Margaritifera margaritifera* (Bivalvia, Margaritiferidae). Популяция р. Сюскюяйюки (Карелия) // Онтогенез. 2018. Т. 49. № 4. С. 233–241.
- Зотин А.А., Клейменов С.Ю. Эндогенные биоритмы удельной скорости роста в индивидуальном развитии *Lymnaea stagnalis* (Lymnaeidae, Gastropoda) // Изв. РАН. Сер. биол. 2013. № 1. С. 5–14.
- Зотин А.И. Термодинамический подход к проблемам развития, роста и старения. М.: Наука, 1974. 183 с.
- Зотин А.И. Диссипативные структуры и  $\psi_u$ -функции // Термодинамика биологических процессов. М.: Наука, 1976. С. 203–205.
- Зотин А.И., Зотина Р.С. Феноменологическая теория развития, роста и старения организма. М.: Наука, 1993. 364 с.
- Зюганов В.В., Зотин А.А., Третьяков В.А. Жемчужницы и их связь с лососевыми рыбами. М.: ЦНИИТЭИ-легпром, 1993. 134 с.
- Ивантер Э.В., Коросов А.В. Элементарная биометрия. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2010. 104 с.
- Лампрехт И. Диссипативные структуры в физике, химии и биологии // Термодинамика биологических процессов. М.: Наука, 1976. С. 175–186.
- Малек-Мансур М., Николис Г., Пригожин И. Неравновесные фазовые переходы в химических системах //

- Термодинамика и кинетика биологических процессов. М.: Наука, 1980. С. 59–83.
- Рубин А.Б. Термодинамика биологических процессов. М.: МГУ, 1976. 240 с.
- Супачев С.Г. Ритмичность роста животных. Тюмень: ТГПИ, 1970. 351 с.
- Bauer G. Variation in life span and size of the freshwater pearl mussel // *J. Animal Ecol.* 1992. V. 61. P. 425–436.
- Dunca E., Söderberg H., Norrgrann O. Shell growth and age determination in the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* in Sweden: natural versus limed streams // *Ferrantia*. 2011. V. 64. P. 48–58.
- Haken H. Synergetics. Introduction and advanced topics. Pt I. An introduction. Nonequilibrium phase transitions and self-organization in physics, chemistry and biology. Second enlarged edition. Heidelberg; New York: Springer-Verlag, 1978. 401 p.
- Hastie L.C., Young M.R., Boon P.J. Growth characteristics of freshwater pearl mussels, *Margaritifera margaritifera* (L.) // *Freshw. Biol.* 2000. V. 43. P. 243–256.
- Nicolis G. Fluctuations around non-equilibrium states in open non-linear systems // *J. Stat. Phys.* 1972. V. 6. № 2/3. P. 195–222.
- Nicolis G., Prigogine I. Self-organization in nonequilibrium systems: from dissipative structures to order through fluctuations. N.Y.: Wiley Intersci., 1977. 512 p.
- Prigogine I. La thermodynamique de la vie // *La Recherche*. 1972. T. 3. № 24. P. 547–562.
- Prigogine I., Nicolis G. Biological order, structure and instabilities // *Quart. Rev. Biophys.* 1971. V. 4. № 2/3. P. 107–148.
- San Miguel E., Monserrat S., Fernández C., Amaro R., Hermida M., Ondina P., Altaba C.R. Growth models and longevity of freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera*) in Spain // *Can. J. Zool.* 2004. V. 82. P. 1370–1379.
- Zotin A.A. Why linear thermodynamics does describe change of entropy production in living systems? // *Nat. Sci.* 2014. V. 6. P. 495–502.
- Zotin A.A. The united equation of animal growth // *Amer. J. Life Sci.* 2015. V. 3. № 5. P. 345–351.
- Zotin A.A., Zotin A.I. Thermodynamic bases of developmental processes // *J. Non-Equilib. Thermodyn.* 1996. V. 21. № 4. P. 307–320.
- Zotin A.A., Zotin A.I. Phenomenological theory of ontogenesis // *Int. J. Dev. Biol.* 1997. V. 41. № 6. P. 917–921.
- Zotin A.A., Murzina S.A., Ieshko E.P. Growth biorhythms in the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (Bivalvia, Margaritiferidae). Livojoki river population (Karelia) // *Knowl. Manag. Aquat. Ecosyst.* 2018. V. 419. P. 44–51.

## Growth Parameters of the Freshwater Pearl Mussel *Margaritifera margaritifera* (Bivalvia, Margaritiferidae) Nemina River Population (Karelia)

A. A. Zotin<sup>1</sup> and E. P. Ieshko<sup>2, \*</sup>

<sup>1</sup>Koltsov Institute for Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 26, Moscow, 119334 Russia

<sup>2</sup>Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, ul. Pushkinskaya 11, Petrozavodsk, 185910 Russia

\*e-mail: ieshkoep@gmail.com

Individual linear growth was studied in 23 specimens of the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* by measuring successive annual growth rings on the shell surface. It is demonstrated that the growth of each mussel can be described by a single equation, of which a particular case is the von Bertalanffy equation with an average growth deceleration coefficient of  $a = 0.048 \text{ year}^{-1}$  and a coefficient of initial conditions of  $d = 5.3 \text{ mm/year}$ . It is remarked that growth was accompanied by three regular biorhythms with periods of 12.6, 6.4, and 4.0 years, the first two being decaying biorhythms, while the latter had a constant amplitude. We ascertained that the decrease in the amplitude of the decaying biorhythms can be modeled by power equations. The nature of the detected biorhythms is discussed.

УДК 595.773.4:591.463:575.83

## ТРЕНДЫ ИЗМЕНЕНИЯ ФОРМЫ ПОСТГОНИТОВ В ЭВОЛЮЦИИ ЗЛАКОВЫХ МУХ РОДА *Meromyza* (Diptera, Chloropidae)

© 2021 г. А. А. Яцук\*, @, А. Ф. Сафонкин\*, Т. А. Триसेлева\*

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

@E-mail: sasha\_djedi@mail.ru

Поступила в редакцию 28.07.2020 г.

После доработки 03.08.2020 г.

Принята к публикации 03.08.2020 г.

Установлено, что злаковые мухи рода *Meromyza* по изменчивости локуса *COI* мтДНК разделяются на кластеры, которым соответствуют особенности морфологии передних отростков постгонитов (ПОП) в половом аппарате самцов. Исследованы направления изменения формы ПОП, сложившиеся в процессе эволюции группы. Для изучения путей преобразования формы ПОП у 24 видов из 7 кластеров проведено сравнение контуров ПОП эволюционно более молодых видов с видами, близкими к предковым гаплотипам кластера, с выделением трех групп видов. Использован подход наложения филогенетического дерева (программа MrBayes) на результаты исследования формы постгонитов методами геометрической морфометрии (программа MorphoJ). Определены три области, соответствующие выделенным группам видов, и область видов, близких к предковым гаплотипам. Сопоставлением результатов примененных методов выявлены общие микроэволюционные направления преобразования формы ПОП, связанные с изменением его выступающей части.

DOI: 10.31857/S0002332921030176

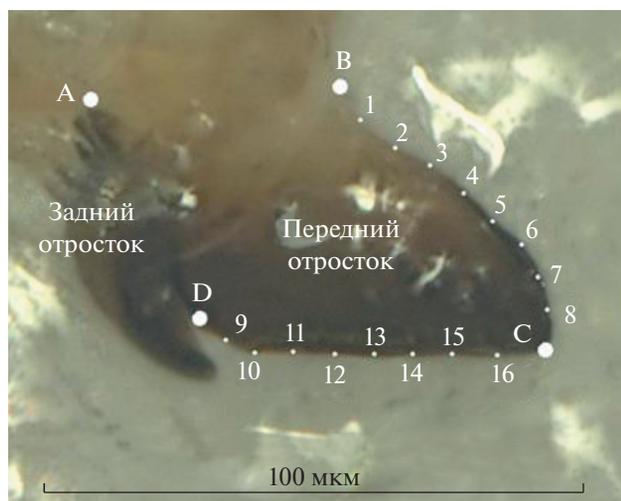
При изучении эволюции морфологических структур насекомых особое внимание уделяется анализу изменчивости структур полового аппарата. В последние годы появились работы по изучению макроэволюционных преобразований полового аппарата у двукрылых насекомых. Так, для высших Terphritoidea изучены направления изменений формы полового аппарата и его мускулатуры (Галинская, Овчинникова, 2015; Негроров и др., 2016). Преобразования формы эдеагуса в процессе дивергенции группы близкородственных видов изучены на мухах рода *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) (Куликов и др., 2004). Для изучения процесса формообразования требуется установить связь между изученными морфологическими структурами и филогенетическими отношениями исследуемых таксонов. Метод квадратированной парсимонии Мэддисона (Maddison, 1991) позволяет оценить степень соответствия морфометрических параметров между таксонами структуре тестируемого филогенетического дерева. Так, на примере мышей *Sylvaemus uralensis* Pallas, 1811 была показана связь между формой челюсти и межрасовыми взаимоотношениями (Городилова, 2011).

Мухи рода *Meromyza* (Meigen 1830) (Diptera, Chloropidae) являются хорошим модельным объектом для исследования закономерностей в изменении полового аппарата самцов благодаря характерной форме одного из его элементов — постгонита,

особенно его переднего отростка. Основываясь на изменчивости локуса *COI* мтДНК, показано, что виды рода разделяются на восемь кластеров (Сафонкин и др., 2016). Виды в кластерах соответствуют видам в группах, выделенным по морфологическим характеристикам переднего отростка постгонита. Наличие такой связи предполагает значимую роль постгонитов при копуляции из-за консервативности их структуры (Сафонкин и др., 2016; Яцук, Сафонкин, 2018). Различия между видами в форме постгонитов тесно связаны с различиями в размерах данных структур (Яцук, 2019). При сравнительном анализе структуры постгонитов были выявлены наиболее вариабельные части контура (Яцук, Сафонкин, 2018). Однако в данных исследованиях не рассматривали передний отросток постгонита как целостную морфологическую структуру, ограничиваясь изучением ее отдельных элементов.

В работе тестируется гипотеза об ограниченном числе трендов преобразования формы переднего отростка постгонитов.

Цель работы — выявление основных направлений преобразования формы передних отростков постгонитов в процессе эволюции злаковых мух рода *Meromyza*.



**Рис. 1.** Постгонит *Meromyza tshernovae*: схема расположения точек, отражающих контур переднего отростка постгонита. Точки А, В, С, D – реперные, 1–16 – промежуточные. А–В – линия прикрепления постгонита к гипандрию, В–(1–8)–С – верхний контур, D–(9–16)–С – нижний контур, А–D – задний контур.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования формы переднего отростка постгонитов взяты 24 вида злаковых мух рода *Meromyza*, входящих в пять кластеров из восьми известных (Сафонкин и др., 2016). Для анализа выбраны кластеры, включающие в себя более одного вида (жирным шрифтом выделены виды, близкие к предковому гаплотипу каждого кластера; в скобках указано число экземпляров) (Сафонкин и др., 2016):

I – кластер “saltatrix”: *M. acuminata* Fed. 1964 (10), *M. nigrofasciata* Hendel, 1938 (5), *M. pallida* Fed. 1964 (2), *M. saltatrix* L. 1761 (30), *M. sibirica* Fed. 1961 (6), *M. stackelbergi* Fed. 1967 (2), *M. tshernovae* Fed. 1971 (10);

II – кластер “pratorum”: *M. brevifasciata* Fed. 1974 (2), *M. conifera* Fed. 1971 (10), *M. jacutica* Fed. 1979 (2), *M. ornata* Wiedmann 1817 (2), *M. pratorum* Mg. 1830 (5);

III – кластер “variegata”: *M. bohémica* Fed. 1962 (2), *M. femorata* Macq. 1835 (5), *M. laeta* Mg., 1838 (3), *M. mosquensis* Fed. 1960 (5), *M. rufa* Fed. 1962 (2), *M. variegata* Mg. 1830 (5);

IV – кластер “zachvatkini”: *M. palposa* Fed. 1960 (2), *M. triangulina* Fed. 1960 (4), *M. zachvatkini* Fed. 1960 (5);

V – кластер “pluriseta”: *M. nigriseta* Fed. 1960 (10), *M. nigriventris* Macq. 1835 (5), *M. pluriseta* Pet. 1961 (5).

Первоначально выделенные кластеры “nigriseta” и “pluriseta” (Сафонкин и др., 2016) были объединены в один кластер из-за филогенетической близости составляющих их видов. Название кла-

стера “laeta” из работы Сафонкина с соавт. (Сафонкин и др., 2016) изменено на “variegata” из-за большей предполагаемой близости вида *M. variegata* по комплексу внешних признаков к предковому гаплотипу (Safonkin *et al.*, 2020).

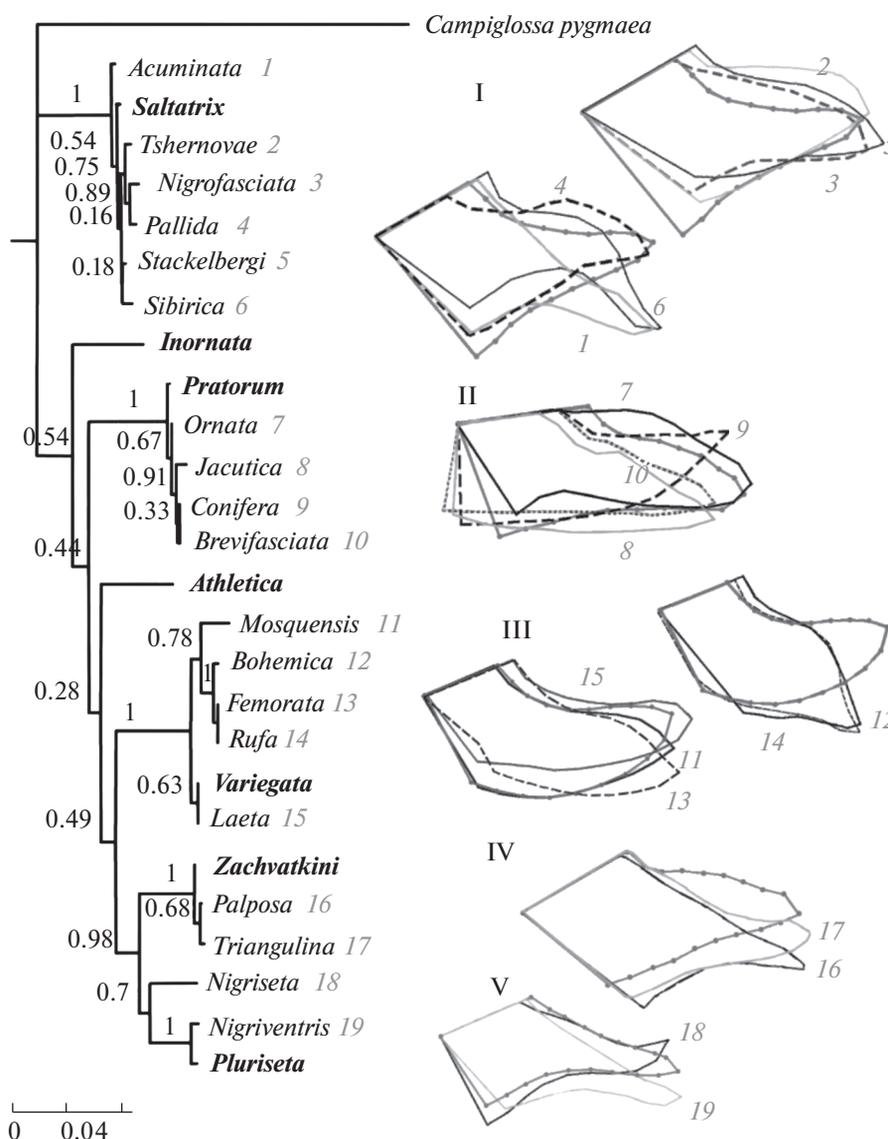
Для изучения формы постгониты вычленили из брюшка мухи и приклеивали на бумагу. С приготовленных препаратов на микроскопе VHX-1000 с объективом VH-Z100R/W (Keyence, Япония) при 1000-кратном увеличении были получены снимки внешних боковых сторон левого и правого постгонита каждой особи. По данным фотографиям была проведена геометрическая морфометрия с использованием пакета программ TPS (Rohlf, 2001a, b) и MorphoJ (Klingenberg, 2011). Для оцифровки формы в программе tpsDig2 были расставлены четыре реперные (landmarks) (А–D) и 16 промежуточных (semi-landmarks) (1–16) точек, отражающих контур переднего отростка постгонита (рис. 1). Во избежание ошибок при расстановке точек использованы усредненные значения по четырем повторностям.

Филогенетическое дерево построено в программе MrBayes 3.0 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003) (рис. 2) на основе анализа участка *COI* мтДНК у 26 видов злаковых мух с использованием модели GTR (1set nst=6 rates=gamma и invgamma для 990000 генераций при частоте записи параметров 100). Нуклеотидные последовательности зарегистрированы в GenBank (Триселева и др., 2014, Сафонкин и др., 2016, Safonkin *et al.*, 2020). В качестве внешней группы взят вид *Campiglossa pygmaea*.

Для изучения преобразования формы переднего отростка постгонита у конкретного вида по сравнению с видом, наиболее близким к предковому гаплотипу кластера, применен метод дискриминантного анализа. Для переднего отростка постгонита в кластере “pratorum” (рис. 2, II) характерна несклеротизованная область по нижнему краю постгонита (более выраженная у видов, близких к предковым гаплотипам), поэтому в сравнительном анализе использована форма контура склеротизованной части нижнего края. Для адекватного сравнения изменения формы объектов контуры передних отростков постгонитов совмещали по линии прикрепления к гипандрию (рис. 1, А–В).

Для определения общих направлений изменения формы постгонитов филогенетическое дерево было помещено в пространство форм, полученное с помощью анализа главных компонент (РСА). Порог значимости компоненты – 10% общей вариации, приходящейся на нее.

Оценка уровня филогенетического сигнала была проведена с помощью вычисления суммы квадратов парсимонии Мэддисона (squared-changed parsimony). Для этого были построены вспомогательные деревья с минимальной и максимальной длиной в программе Mesquite (Maddison, Maddison,



**Рис. 2.** Дендрограмма кластеризации, построенная в программе MrBayes, и схема изменения формы переднего отростка постгонита злаковых мух рода *Meromyza* между молодыми видами и видом, близким к гипотетическому предку по результатам дискриминантного анализа. Кластеры I–V – “saltatrix”, “pratorum”, “variegata”, “zachvatkini”, “pluriseta” соответственно. Вид, наиболее близкий к гипотетическому предку кластера, выделен жирным шрифтом и отмечен на схеме линией с точками. Цифры в основании ветвей – апостериорные вероятности. Цифра за названием вида соответствует контуру данного вида на схеме. Шкала – генетическая дистанция между гаплотипами. Внешняя группа – *Campiglossa pygmaea*.

2009) и вычислены индексы для оценки уровней гомоплазии (Consistency index (CI)) и синпоморфии (Retention index (RI)). В работе применяли метод ресэмплинга – перестановочный тест (кросс-валидация – 10 000).

Дополнительная статистическая обработка материала (*t*-критерий Стьюдента) проведена с помощью программы Statistica 10.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ главных компонент выявил 4 значимые компоненты, описывающие разнообразие

формы переднего отростка постгонита. Результаты метода наложения филогенетического дерева на пространство главных компонент представлены на диаграмме (рис. 3а–3в). Первая компонента (42% общей изменчивости) отражает общее растяжение контура (ABCD на рис. 1 и 3а–3в). Вторая компонента (23%) показывает степень изгибания его нижнего края (отрезок DC на рис. 1 и 3а), третья компонента (13%) демонстрирует изменение длины заднего края (отрезок AD на рис. 1 и 3б), а четвертая компонента (10%) показывает степень изгибания верхнего края (отрезок BC на рис. 1 и 3в).

При вычислении суммы квадратов парсимонии Мэдиссона с помощью перестановочного теста была оценена вероятность устойчивости деревьев с минимальной длиной ( $TL = 0.307$ ,  $p < 0.0001$ ), максимальной длиной ( $TL = 0.832$ ,  $p < 0.0001$ ) и байесовского дерева ( $TL = 0.317$ ,  $p < 0.0001$ ). Уровень гомоплазии данных низок, поскольку значение индекса CI близко к единице (0.97), а уровень синапоморфии высок, так как индекс RI тоже близок к единице (0.98). Это указывает на проявление отчетливого филогенетического сигнала, содержащегося в морфометрических данных. Результат наложения филогении, полученной байесовским методом, на пространство форм, представленный на графике (рис. 3а–в), показывает, что кластеры отделены один от другого, чем также подтверждается наличие филогенетического сигнала.

По расположению видов на диаграмме филогенетического дерева в пространстве форм выделяется несколько областей изменения формы (рис. 3а–3в). Первая область включает в себя виды *M. rufa*, *M. palposa*, *M. acuminata* и *M. sibirica*, сходные по утончению, наклону и изгибу выступающей части переднего отростка по отношению к виду, близкому к предковому гаплотипу (рис. 2, I, III, V). Вторая область (рис. 3а–3в) также объединяет виды из разных кластеров, сходные по наклону выступающей части переднего отростка постгонита: *M. tshernovae*, *M. nigrofasciata*, *M. stackelbergi* и *M. pallida* (рис. 2, I), *M. ornata* (рис. 2, II), *M. bohémica*, *M. femorata* (рис. 2, III), *M. triangulina* (рис. 2, IV) и *M. nigriventris* (рис. 2, V). Вторую область можно подразделить на две подобласти, в одну из которых входят *M. tshernovae*, *M. pallida* и *M. ornata* по особой степени изгибания верхнего края (подобласть 1 на рис. 3). Третья область (рис. 3) включает в себя виды *M. jacutica*, *M. conifera* и *M. brevifasciata*, близкие один к другому по степени изгибания нижнего края и изменениям по заднему контуру постгонитов (рис. 2, II). Сюда же по аналогичному изменению формы включается *M. nigriseta* (рис. 2, V). В отдельную область (рис. 3) входят виды *M. laeta*, *M. mosquensis*, *M. variegata*, *M. saltatrix*, *M. zachvatkini*, *M. pratorum* и *M. pluriseta*, наиболее близкие к предковым гаплотипам кластеров.

По результатам дискриминантного анализа типы изменения формы постгонитов внутри кластеров можно объединить в три группы, две из которых полностью совпадают с выделенными областями на диаграмме филогенетического дерева в пространстве форм, полученного с помощью анализа PCA. В группе 1 (*M. acuminata* и *M. sibirica*, *M. rufa*, *M. palposa*) выступающая часть становится узкой и направленной вниз. В группе 2 (*M. nigriventris*, *M. brevifasciata*, *M. jacutica*, *M. triangulina*, *M. nigrofasciata*, *M. stackelbergi*, *M. bohémica* и *M. femorata*) конец выступающей части направлен вниз. В группе 3 (*M. ornata*, *M. pallida* и

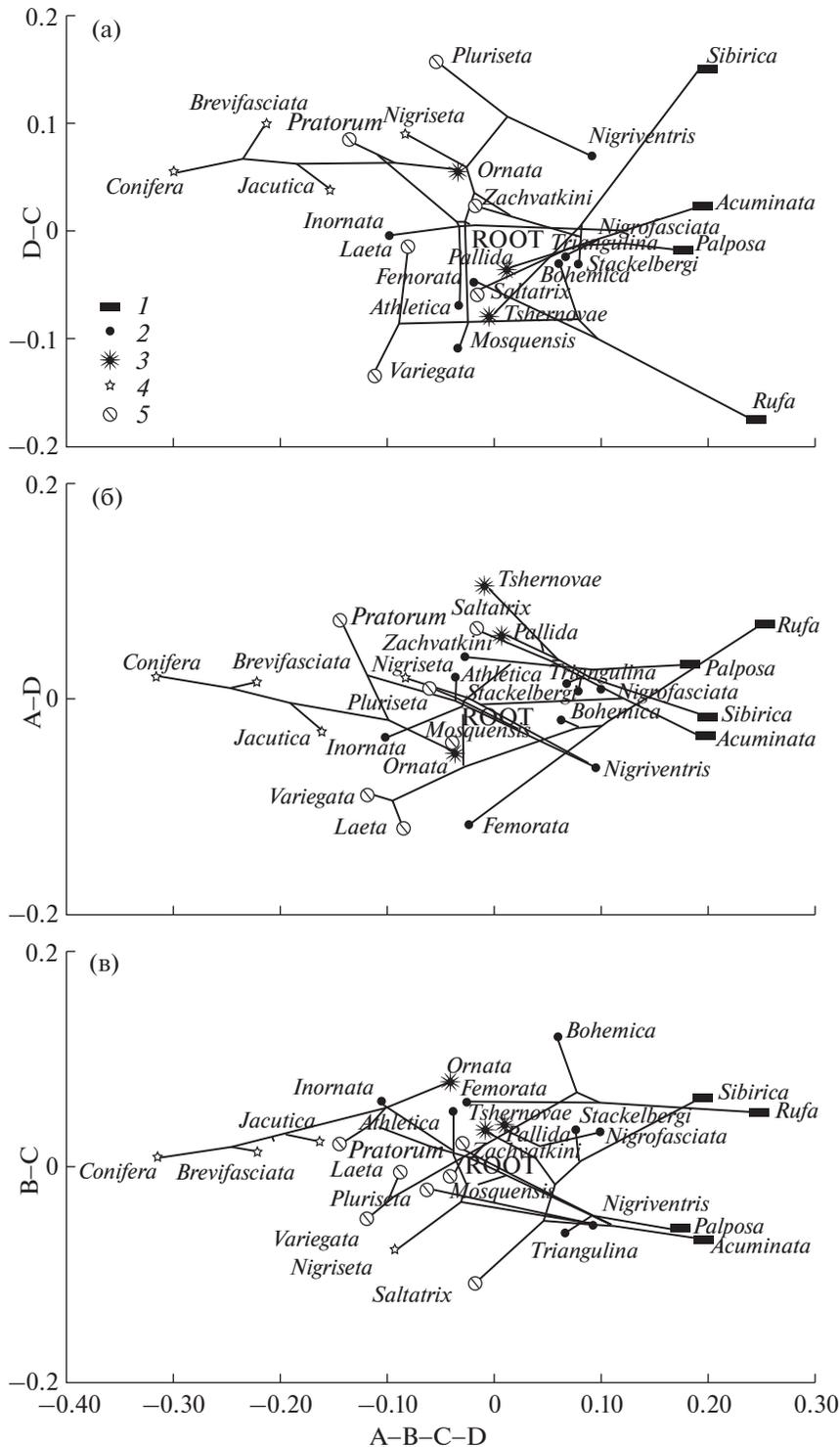
*M. tshernovae*) выступающая часть расширяется. Исключениями являются виды *M. conifera* и *M. nigriseta*, у которых конец выступающей части направлен вверх (рис. 2, II, V).

Исследование относительного вклада каждой из 20 точек контура (рис. 1) в общее изменение формы контура показало, что для видов группы 1 характерно смещение точки 5 от 2.1 до 8.54%, точки 12 от 0.5 до 0.9% и точки 13 от 0.7 до 5.1%. В результате происходит изгиб вниз выступающей части переднего отростка постгонита. Для видов группы 2 характерно смещение точки А от 0.06 до 0.46%. Положение данной точки влияет на ориентацию основной части постгонита относительно выступающей. Направления изменения формы постгонитов видов из групп 1 и 2, несмотря на сходную форму переднего отростка, достоверно различаются по относительному вкладу точки А ( $t = -2.28$ ,  $df = 10$ ,  $p < 0.48$ ). У видов из группы 3 в основном отмечается уровень вклада точки С от 5.80 до 2.34%. У представителей данной группы положение этой точки определяет положение конца выступающей части переднего отростка постгонита.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Морфологическое соответствие отдельных элементов половых структур самцов и самок, как было показано на некоторых видах двукрылых (Yassin, Orgogozo, 2013), или функционально активных элементов полового аппарата у чешуекрылых (Lepidoptera, Noctuidae, Tortricidae) (Mikkola, 2008; Сафонкин, 2010, 2012) предполагает быстрое изменение половых структур самца и самки в процессе эволюции с последующим действием стабилизирующего отбора. Как было показано ранее, размеры ПОП внутри кластера достоверно различаются. Благодаря изменениям формы, приводящей к изменению размера, существует комплементарность половых структур самца и самки одного вида. Данная комплементарность во многом определяет защиту генома вида от проникновения чужеродных генов на начальном этапе спаривания. Можно предположить, что передние отростки постгонитов самца как функционально активные элементы, с одной стороны, способствуют успешной морфологической совместимости структур половых аппаратов самца и самки, с другой — препятствуют спариванию особей, имеющих морфологические различия по данным структурам.

Анализ PCA выявил “горячие зоны”, ответственные за разделение видов (нижние и верхние края основной и выступающей частей, а также линия прикрепления постгонита). Видовые различия по активным точкам контура переднего отростка постгонита совпадают с таковыми, выявленными методом канонических переменных (CVA) (Яцук, Сафонкин, 2018).



**Рис. 3.** Диаграмма наложения филогенетического дерева мух рода *Meromyza* на пространство главных компонент. Ось абсцисс – общее растяжение контура (A–B–C–D). Ось ординат: а – изменение нижнего края (D–C), б – заднего края (A–D), в – верхнего края (B–C). Области изменения формы: 1 – I, 2 – II, 3 – II, подобласть 1, 4 – III, 5 – IV. Root – внешняя группа.

Наличие отчетливого филогенетического сигнала, связанного с формой постгонитов, значимость которого была определена методом квадратированной парсимонии Мэддисона, свидетельствует о воз-

можности прослеживания путей эволюции формы по полученным с помощью морфологического картирования графикам. Оценка взаимного расположения видов и кластеров относительно друг

друга при наложении филогенетического дерева на пространство форм позволяет, как было показано на мухах семейства Dolichopodinae (Чурсина, Негроров, 2018), найти общие эволюционные закономерности. Поскольку виды злаковых мух различаются по близости к предковым гаплотипам (Сафонкин и др., 2016), сопоставление изменчивости формы постгонитов с результатами молекулярно-генетического анализа по локусу *COI* мтДНК в пространстве форм позволяет обсуждать эволюционные тенденции преобразования формы передних отростков постгонитов внутри кластеров.

Обобщая результаты анализов CVA (Яцук, Сафонкин, 2018), PCA и дискриминатного анализа, можно предположить, что три выявленных направления изменения формы передних отростков постгонитов – основные стратегии изменения формы в процессе эволюции репродуктивного аппарата злаковых мух рода *Meromyza*. Однотипная изменчивость формы постгонитов у видов из разных кластеров (например, *M. palposa* и *M. acuminata*; *M. nigriventris* и *M. stackelbergi*) может свидетельствовать о существовании направленного отбора по изменению постгонитов в определенных “горячих зонах”.

Таким образом, проведенный анализ главных компонент в сопоставлении с филогенией рода на основе локуса *COI* мтДНК и результатами сравнения формы переднего отростка постгонитов демонстрируют ограниченное число стратегий изменения таковой в процессе эволюции злаковых мух.

Исследование выполнено при финансовой поддержке программы Президиума РАН № 41 “Биоразнообразие природных систем и биологические ресурсы России”.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Галинская Т.В., Овчинникова О.Г. Склериты и мускулатура гениталий самцов высших Tephritoidea (Diptera: Tephritidae, Otitidae, Ulidiidae и Platystomatidae) // Науч.-исслед. публикации. 2015. Т. 1. № 7(27). С. 30–34.
- Городилова Ю.В. Морфологическая изменчивость хромосомных рас малой лесной мыши: геометрическая морфометрия нижней челюсти // Материалы конф. молодых ученых “Экология: сквозь время и расстояние”. 11–15 апреля 2011 г. ИЭРиЖ УрО РАН. Екатеринбург: Голицынский, 2011. С. 212.
- Куликов А.М., Мельников А.И., Горностаев Н.Г., Лазебный О.Е., Митрофанов В.Г. Морфометрический анализ половых органов самцов видов-двойников *Drosophila virilis* Sturt. // Генетика. 2004. Т. 40. № 2. С. 180–194.
- Негроров О.П., Чурсина М.А., Селиванова О.В. Морфометрические признаки гипогиния Dolichopodidae (Diptera) и их значение для разработки систематики семейства // Зоол. журн. 2016. Т. 95. № 3. С. 314–326.
- Сафонкин А.Ф. Гипотеза “Ключ–замок” в свете влияния ионизирующего излучения на кутикулярные структуры гениталий всеядной листовертки (*Archips podana*, lepidoptera, tortricidae) // Зоол. журн. 2010. Т. 89. № 11. С. 1331–1339.
- Сафонкин А.Ф. Разнообразие сообщества листоверток: вклад репродуктивного поведения. М.: КМК, 2012. 136 с.
- Сафонкин А.Ф., Триसेлева Т.А., Яцук А.А., Акентьева Н.А. Эволюция постгонитов злаковых мух рода *Meromyza* (Diptera: Chloropidae) // Зоол. журн. 2016. Т. 95. № 11. С. 1334–1342.
- Триसेлева Т.А., Акентьева Н.А., Сафонкин А.Ф. Филогенетические отношения между группами злаковых мух рода *Meromyza* на основе генетического и морфологического анализа // Изв. РАН. Сер. биол. 2014. № 3. С. 213–218.
- Чурсина М.А., Негроров О.П. Филогенетический сигнал формы крыла в подсемействе Dolichopodinae (Diptera, Dolichopodidae) и их значение для разработки систематики семейства // Зоол. журн. 2018. Т. 97. № 4. С. 1–13.
- Яцук А.А. Морфологическое и генетическое разнообразие злаковых мух рода *Meromyza* Meigen, 1830 (Diptera, Chloropidae): Автореф. дис. канд. биол. наук. М.: ИПЭЭ РАН, 2019. 25 с.
- Яцук А.А., Сафонкин А.Ф. Закономерности изменения формы постгонитов у мух рода *Meromyza* (Diptera, Chloropidae) // Журн. общ. биологии. 2018. Т. 79. № 1. С. 18–27.
- Klingenberg C.P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometric // Mol. Ecol. Res. 2011. V. 11. P. 353–357.
- Maddison W.P. Squared-change parsimony reconstructions of ancestral states for continuous-valued characters on a phylogenetic tree // Syst. Zool. 1991. V. 40. P. 304–314.
- Maddison W.P., Maddison D.R. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.2. 2009. URL: <http://mesquiteproject.org> (дата обращения: 1.02.2020).
- Mikkola K. Lock-and-key mechanisms of the internal genitalia of the Noctuidae (Lepidoptera): How are they selected for? // Eur. J. Entomol. 2008. V. 105. P. 13–25.
- Rohlf F.J. TPSrelw: relative warps, version 1.23. [Электронный ресурс] // N.Y.: State Univ. at Stony Brook (program). 2001a. URL: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/> (дата обращения: 1.07.2016).
- Rohlf F.J. TPSdig, version 1.31. [Электронный ресурс] // N.Y.: State University at Stony Brook (program). 2001b. URL: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/> (дата обращения: 1.07.2016).
- Ronquist F., Huelsenbeck G.P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // Bioinformatics. 2003. V. 19. P. 1575–1574.
- Safonkin A.F., Yatsuk A.A., Triseleva T.A. Variability of the key features and revision of a group of closely related species of grassflies (Diptera, Chloropidae, *Meromyza*) // ZooKeys. 2020. V. 942. P. 65–75.
- Yassin A., Orgogozo V. Coevolution between male and female genitalia in the *Drosophila melanogaster* species subgroup // PLoS One. 2013. V. 8. № 2. e57158.

## Trends in Changes of the Form of Postgonites in the Evolution of Grass Flies of the Genus *Meromyza* (Diptera, Chloropidae)

A. A. Yatsuk<sup>1, #</sup>, A. F. Safonkin<sup>1</sup>, and T. A. Triseleva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Leninsky prosp. 33, Moscow, 119071 Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: sasha\_djedi@mail.ru*

Grass flies of the genus *Meromyza* grouped by the *COI* mtDNA locus into several clusters, which corresponds to the morphological characteristics of the anterior processes of postgonites (AP) in the male genital apparatus. In the present study, the strategies of changes in the form of AP that have developed during the evolution of the group were investigated. To study the ways of transformation of the AP form in 24 species from seven clusters, the AP contours of evolutionarily younger species were compared with species close to the ancestral haplotypes of the group. Three groups of species were revealed. The approach of applying the phylogenetic tree (MrBayes program) to the results of geometric morphometry (MorphoJ program) was used. The areas corresponding to the previously found species groups, and the area of the species close to the ancestral haplotypes were identified on the phylogenetic tree placed in the shape space. The comparison of the results of the applied methods showed common microevolutionary directions in the transformation of the AP form associated with transformation of its projecting part (PAP).

ФИЗИОЛОГИЯ  
ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

УДК 599.325:591.32

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ДИВЕРСИФИКАЦИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКИ  
СХОДНЫХ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА  
У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ Muroidea

© 2021 г. Е. И. Наумова\*, @, Т. Ю. Чистова\*, А. А. Варшавский\*, Г. К. Жарова\*

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

@E-mail: einaumova@gmail.com

Поступила в редакцию 10.12.2019 г.

После доработки 20.03.2020 г.

Принята к публикации 20.03.2020 г.

Рассмотрены возможные пути функциональной компенсации морфологически однородного пищеварительного тракта у грызунов с разной пищевой специализацией. У пяти видов песчанок *Psamotomys obesus*, *Meriones crassus*, *Gerbillus henleyi*, *G. allenbyi*, *G. dasyurus* изучены структура эпителиальной поверхности желудка и кишечника и особенности ее колонизации микроорганизмами. Получены данные по морфологическому разнообразию пристеночной микробиоты, подкрепленные результатами выполненных ранее микробиологических исследований. Выявлены видовые различия в кислотности желудочного содержимого, связанные с пищевыми предпочтениями. Обнаружены различия в активности микробного фермента эндогликаназы, отражающей роль целлюлозосодержащих кормов в питании грызунов. Дана оценка значения микробиоты в функциональной адаптации к роду пищи, реализующейся на фоне морфологической однородности пищеварительного тракта.

DOI: 10.31857/S0002332921020089

Полужелезистый желудок — обязательный атрибут пищеварительного тракта всех мышевидных грызунов (Muroidea) независимо от их пищевых предпочтений. Ороговение части желудочного эпителия возникло у грызунов в результате эволюционного взаимодействия животных с микроорганизмами, необходимыми для переваривания растительной пищи. Морфология полужелезистого желудка крайне разнообразна и обычно сопряжена с ролью целлюлозосодержащих кормов в питании грызунов (Воронцов, 1967, 1982). У полевок (Microtinae), высокоадаптированных к зеленоядности грызунов, сформирован двухкамерный желудок. Безжелезистая часть желудка у представителей этой группы обособлена в отдельную камеру, а железы либо занимают всю правую половину желудка, либо сконцентрированы в центральной части (дискожелезистый желудок). Но в некоторых случаях у полевок не наблюдается очевидной связи между структурой желудка и кишечника и пищевой специализацией. Например, обладатели дискожелезистого желудка *Microtus arvalis* и *Ellobius talpinus* потребляют корма с разным содержанием клетчатки (Наумова, 1981; Наумова и др., 2018).

В другой группе грызунов — у песчанок Gerbillidae — пищевая специализация также не отразилась существенно на морфологии желудка и кишечника (Behmann, 1973; Наумова, 1981; Snipes,

1982; Наумова и др., 2011). Для всех песчанок характерны однокамерный полужелезистый желудок и слепая кишка с однотипным строением илеоцекального соединения. К основным морфологическим особенностям, обеспечивающим адаптацию отдельных видов группы к определенным кормам, относятся размерные показатели отделов кишечника (Наумова и др., 2011). Однако до сих пор не раскрыты функциональные аспекты пищевых адаптаций песчанок, сходных с полевками по диапазону пищевой специализации, но обитающих в отличие от полевок в условиях ограниченных кормовых ресурсов, высокой температуры и дефицита влаги. Очевидно, что с помощью только морфоэкологических методов исследования невозможно расшифровать глубину адаптаций животных к меняющимся условиям среды. Понимание широты функциональной роли кишечной микробиоты в разных сторонах жизнедеятельности хозяина намечилось только в последние два десятилетия благодаря использованию в исследованиях микробиологических, биохимических и других методов (Kohl *et al.*, 2011; Kohl, Carey, 2016).

Цель работы — на примере песчанок, однородной по строению пищеварительного тракта группы грызунов, включающей в себя виды с разной пищевой специализацией, выяснить функциональные

особенности микробиоты, обеспечивающие усвоение разных кормов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованы пять видов песчанок, обитающих в пустыне Негев: *Psammomys obesus*, *Meriones crassus*, *Gerbillus henleyi*, *G. andersoni*, *G. dasyurus* (по 2–4 особи каждого вида). Эти грызуны классифицированы как семяноядные (Bar *et al.*, 1984), за исключением *P. obesus*, потребляющих исключительно зеленые части растений (Daly, Daly, 1975). На сканирующем электронном микроскопе JSM 840 Å (Япония) исследован макро- и микрорельеф поверхности слизистой преджелудка, слепой и ободочной кишок. Для подготовки препаратов образцы тканей промывали изотоническим раствором сахаразы и фиксировали 3%-ным глутаральдегидом. После обработки спиртами и ацетоном образцы высушивали на воздухе и напыляли золотом. С помощью универсальной индикаторной бумаги определяли кислотность желудочного содержимого в вершине свода, в безжелезистой части желудка рядом с пограничной складкой, в области фундальных желез и пилорусе, а также в теле слепой кишки.

У песчанок *P. obesus*, *M. crassus*, *G. andersoni*, *G. dasyurus* измеряли активность микробного фермента эндоглюканазы вискозиметрическим методом (Синицын и др., 1990), применение которого в исследованиях активности ферментов целлюлазного комплекса позволяет получить результаты, пригодные для сравнения с опубликованными ранее данными. Образцы химуса преджелудка, слепой и ободочной кишок помещали во взвешенные пробирки Эппендорфа, содержащие 1 мл 86%-ного глицерина (исследовано девять особей); массу пробы определяли повторным взвешиванием. Разведочный графический анализ результатов измерения эндоглюканазной активности проводился в среде R (R Core Team, 2019) с использованием графического интерфейса RKWard (Friedrichsmeier, 2018). Для первичной обработки данных применялись как базовые, так и дополнительные пакеты R, в первую очередь dplyr (Wickham *et al.*, 2019) и tidyr (Wickham, Henry, 2019) для первичной обработки данных, ggplot2 (Wickham, 2016) для создания графиков, а также функции оригинальной разработки.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

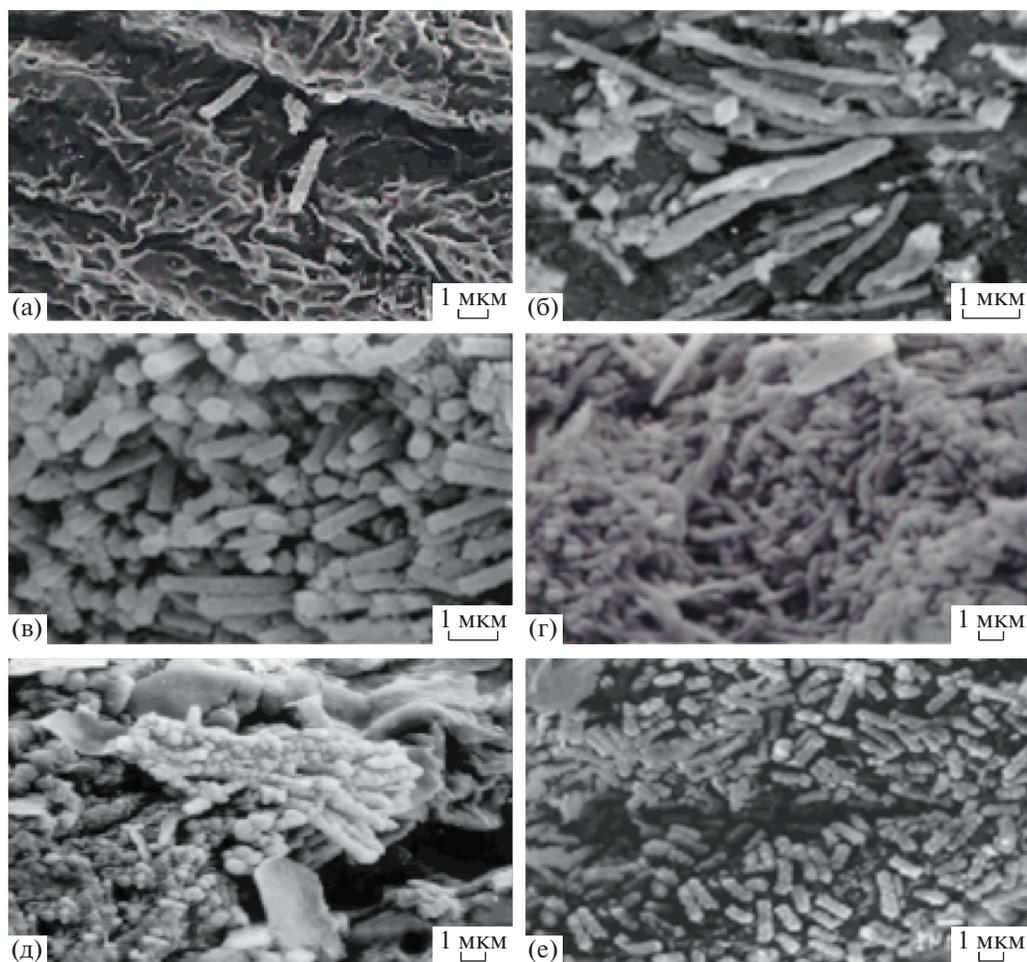
*Поверхность эпителия и ассоциированные с ним микробные сообщества.* Поверхность ороговевающей складки разного размера, из которых крупные меняют свою конфигурацию благодаря перистальтике и сглаживаются по мере заполнения желудков. Мелкие складки, образованные поверхностными слоя-

ми эпителия, присутствуют постоянно и создают мелкий сетчатый рельеф (рис. 1), который может изменяться благодаря постепенному слушиванию поверхностных эпителиальных клеток. Подобная архитектура поверхности эпителия преджелудка характерна для всех исследованных видов песчанок.

Преджелудок грызунов, а также слепая и ободочная кишки обильно заселены симбионтами, часть которых во избежание вымывания проходящим по пищеварительному тракту содержимым прикрепляется к эпителиальной поверхности. Обзор исследований нормальных микробиот грызунов (выполненных в основном на мышах и крысах), содержащихся на коммерческих гранулированных кормах, показал, что их состав универсален (Tannock, 1997). Согласно имеющимся данным у исследованных видов мышевидных грызунов в проксимальных отделах пищеварительного тракта обычно доминируют лактобациллы, у которых развит механизм прикрепления к ороговевающему эпителию, в дистальных отделах — энтерококки и *Escherichia coli*. Хотя детальные исследования микробиоты у разных видов диких грызунов проводились редко, есть основания считать, что многие виды Muroidea имеют специфическую микрофлору (Perrin, Kokkinn, 1985; Naumova, 1990). Визуальное обследование на сканирующем электронном микроскопе ассоциаций бактерий, колонизирующих эпителий пищеварительного тракта песчанок, показало их большое разнообразие даже по чисто морфологическим признакам.

У *P. obesus* ассоциированная с эпителием преджелудка микробиота представлена в основном бациллами и веретенообразными бактериями. Бациллы длиной 1–2 мкм присутствуют в составе микробиоты у всех исследованных видов песчанок, но особенно обильно они колонизируют эпителий у *M. crassus* и *G. henleyi*. В составе ассоциированной с эпителием микробиоты преджелудка у *G. andersoni* встречаются коринеморфные бактерии и у *G. dasyurus* — кокки. В целом у всех видов песчанок в преджелудке преобладают ассоциированные с эпителием бациллы.

На поверхности слизистой слепой кишки видны открытые крипты (рис. 2); слизистая вокруг устьев крипт образует концентрические складки. Микробиота слизистой слепой кишки представлена у всех песчанок в основном веретеновидными бактериями и кокками, у *G. andersoni* встречаются нитевидные бактерии. В ободочной кишке наибольшая плотность бактерий наблюдается на поверхности слизистой мезентериальной стенки, а на косых складках бактерии сконцентрированы в устьях крипт (рис. 3). У *P. obesus* микробиота ободочной кишки разнообразнее по сравнению с микробиотой преджелудка и слепой кишки. У этого вида в ободочной кишке преобладают круп-



**Рис. 1.** Эпителий преджелудка песчанок. а, б – *P. obesus*; в – *M. crassus*; г – *G. dasyurus*; д – *G. andersoni*; е – *G. henleyi*; для рис 1, 3.

ные (4–5 мкм) бациллы и изогнутые палочковидные бактерии, у *M. crassus* – веретеновидные бактерии и кокки. У трех видов *Gerbillus* слизистая колонизирована наиболее разнообразными по форме бактериями; у *G. andersoni* и *M. crassus* встречаются еще и очень крупные (>19 мкм) палочковидные бактерии.

**Кислотность содержимого желудка и слепой кишки.** В своде преджелудка близкая к нейтральной среда отмечена у зеленоядной и самой крупной песчанки *P. obesus*, причем кислотность поддерживается относительно равномерной во всем преджелудке, чуть изменяясь в сторону увеличения вблизи границы с железистой частью. В зоне фундальных желез кислотность резко повышается и достигает максимума (рН 1.0) в антральной части, обеспечивая очень высокий градиент (табл. 1). У остальных видов в преджелудке преобладает слабощелочная среда (рН 4.0–5.0), но в антральной части также поддерживается высокая кислотность. И только у мелкой семенной *G. henleyi* не наблюдается большого перепада кислотности от

свода до антрума, а также резкой границы, создающей разные условия среды в преджелудке и железистой части желудка. В зоне фундальных желез и антруме постоянно у всех видов отмечается высокая кислотность (рН 1.0–2.0). В слепой кишке рН среды очень стабильна и у всех исследованных видов песчанок слабощелочная. Только *G. henleyi* отличается более низким значением рН в слепой кишке.

**Эндогликоказы.** Эндогликоказная активность (ЭА), характеризует гидролиз аморфных β-глюканов, топографически связанных с клетчатковыми волокнами, и обеспечивает доступность этих волокон для дальнейшего гидролиза. На диаграмме (рис. 4) приведены значения ЭА микросимбионтов, населяющих преджелудок, а также слепую и ободочную кишки у четырех видов песчанок, и для сравнения аналогичные данные по двум видам полевок *Microtus* sp., полученные на больших выборках (Варшавский и др., 2004). Усреднение данных, полученных на небольшом материале, позволяет принимать во внимание только порядок значений. Тем не менее уже на

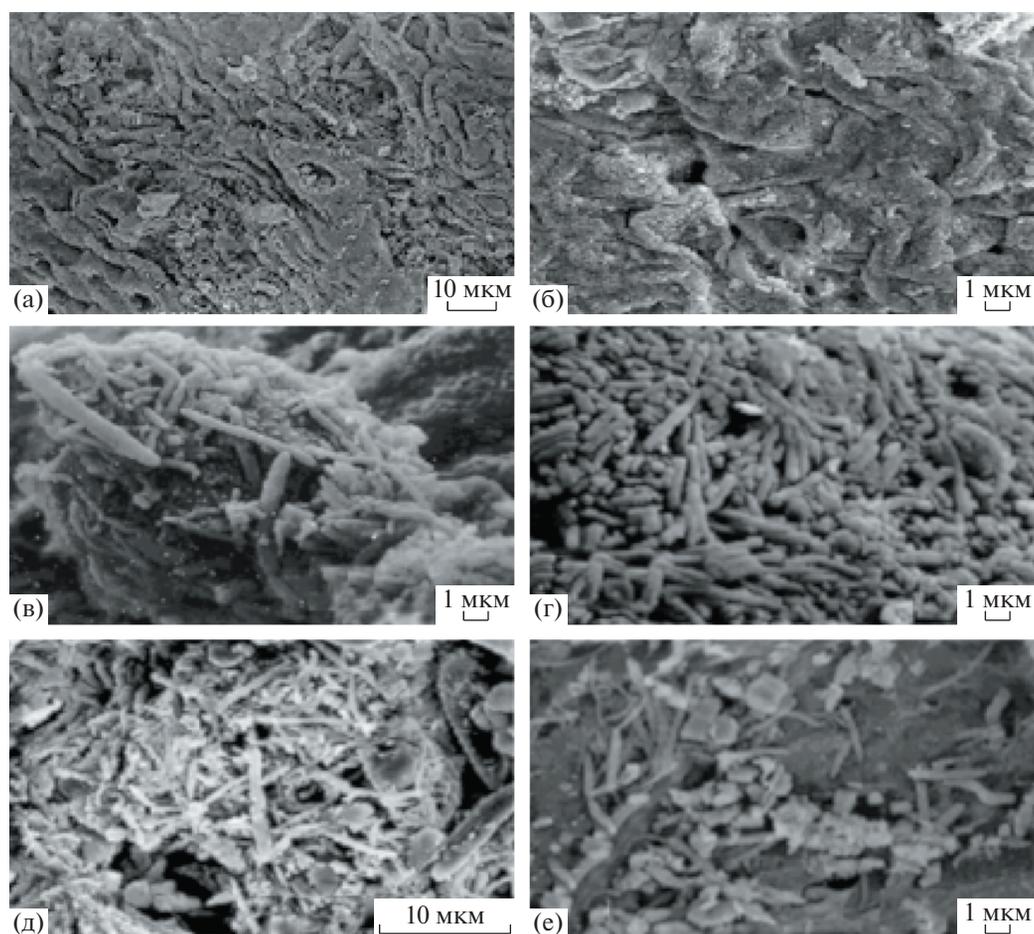


Рис. 2. Эпителий слепой кишки песчанок. а – *P. obesus*; б, в – *M. crassus*; г – *G. dasyurus*; д – *G. andersoni*; е – *G. henleyi*.

полученном материале можно отметить некоторые общие характеристики ЭА у полевок и песчанок. В преджелудке у всех исследованных видов

песчанок, кроме *G. dasyurus*, ЭА составляет 0.85–2.15 мкмоль/мин, что близко к средним значениям для серых полевок. Нулевые значения ЭА в

Таблица 1. Кислотность содержимого желудка и слепой кишки песчанок (рН)

Вид	n	Желудок				Слепая кишка
		свод	пограничная зона	зона фундальных желез	анtrum	
<i>P. obesus</i>	4	5.88 (5.0–7.0)	5.00 (4.0–6.0)	1.00 (1.0)	1.00 (1.0)	7.00 (7.0)
<i>M. crassus</i>	4	4.75 (4.0–5.0)	4.25 (4.0–5.0)	1.50 (1.0–3.0)	1.50 (1.0–3.0)	7.00 (7.0)
<i>G. dasyurus</i>	3	4.33 (4.0–5.0)	4.50 (4.0–5.0)	1.83 (1.0–2.5)	1.00 (1.0)	7.00 (7.0)
<i>G. andersoni</i>	2	5.00 (5.0)	5.00 (5.0)	1.50 (1.0–2.0)	1.00 (1.0)	7.00 (7.0)
<i>G. henleyi</i>	2	4.00 (4.0)	–	3.00 (3.0)	1.50 (1.0–2.0)	6.25 (6.0–6.5)

Примечание. n – число зверей, “–” – отсутствие данных.

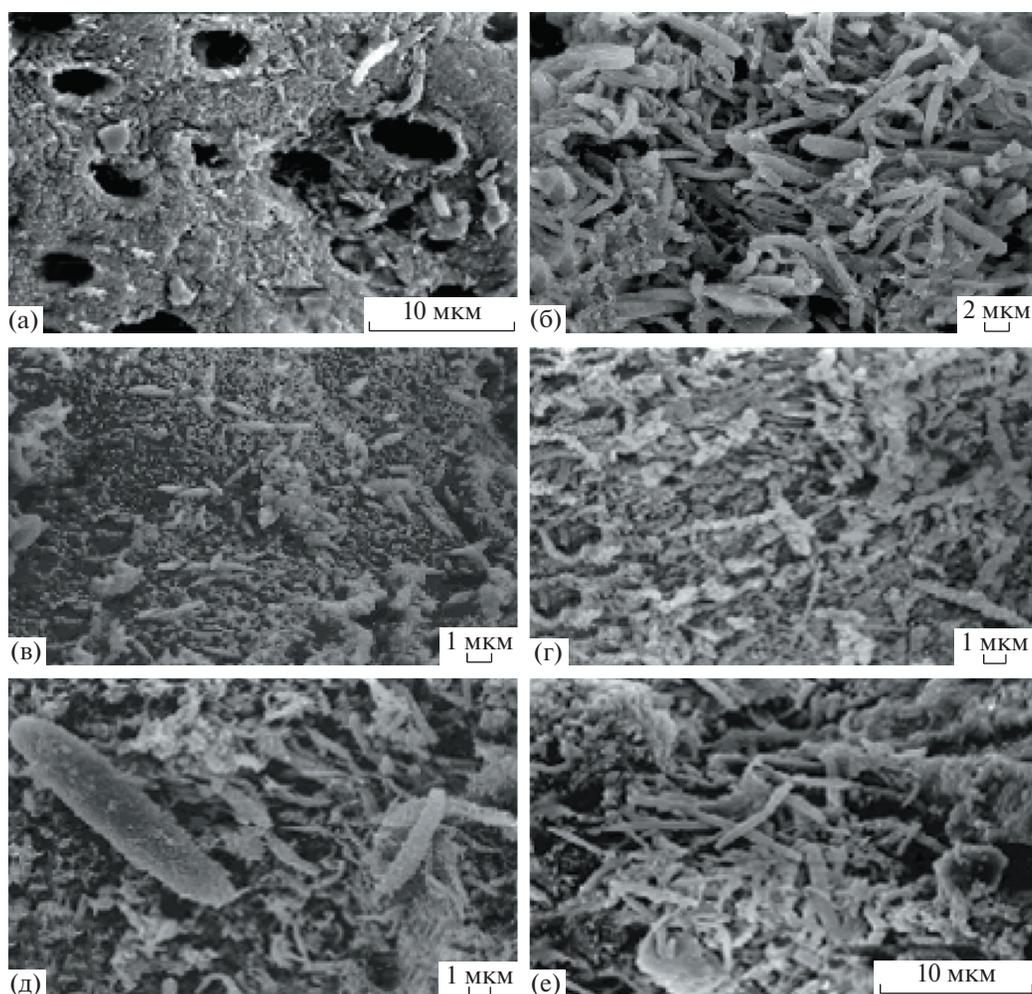


Рис. 3. Эпителий ободочной кишки песчанок.

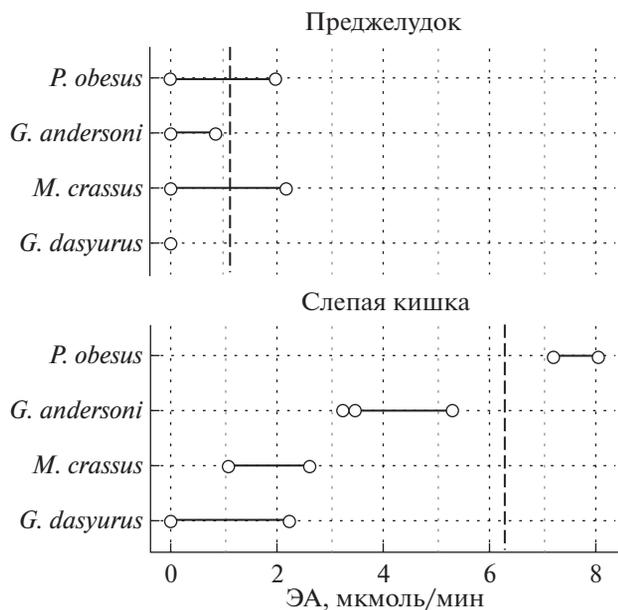
преджелудке обычны для всех исследованных нами видов. Разброс значений ЭА в слепой кишке составляет 1.07–8.01 мкмоль/мин. Неожиданно высокие значения ЭА, сопоставимые с аналогичными показателями у высокоспециализированных травоядных полевок, были выявлены у *P. obesus*. Значения ЭА у всех исследованных видов максимальны в слепой кишке.

В целом активность эндогликаназы в пищеварительном тракте исследованных видов песчанок соответствует полученным ранее данным по распределению и локализации целлюлаз у прочих видов мелких млекопитающих-фитофагов: минимальная активность проявляется в преджелудке, максимальная – в слепой кишке и промежуточная – в ободочной. Исключением в данном случае является *P. obesus*.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

**Питание.** Диапазон пищевой специализации в пределах группы песчанок достаточно широк –

от семяядных до зеленоядных. Большинство видов песчанок, населяющих пустыни Малой и Центральной Азии, относятся к группе потребителей концентрированных кормов, но периодически в небольших количествах употребляют в пищу травянистые корма (Abramsky, 1989). Исключение составляют *Rhombomys opimus* и *P. obesus*, толерантные к содержанию в растениях структурных углеводов (Daly, Daly, 1973; Федорова, Дубровский, 1987; Degen *et al.*, 2000). Формирование органов пищеварения в этой группе грызунов было связано с освоением скудной растительной кормовой базы пустынь и полупустынь в условиях дефицита воды. Однокамерный полужелезистый желудок, характерный для песчанок, априори считался менее приспособленным к усвоению клетчатковых кормов, чем двухкамерный желудок, развитый у полевок. Увеличение площади ороговевающего эпителия в однокамерном желудке длительное время рассматривалось как адаптация к возрастанию роли клетчатковых кормов в питании грызунов. Однако просмотр большого числа желудков песчанок



**Рис. 4.** Эндоглоканальная активность (ЭА) в преджелудке и слепой кишке песчанок *P. obesus*, *G. andersoni*, *M. crassus*, *G. dasyurus*. Вертикальной штриховой линией показаны медианы значений ЭА серых полевок *Microtus* sp.

показал, что соотношение площадей железистого и ороговевающего эпителиев весьма изменчиво и в большой степени зависит от характера наполнения желудка и распределения в нем пищевой массы. Адаптации к кормам, различающимся по химическому составу и пищевой ценности, у песчанок реализуются не только путем оптимизации размеров отделов кишечника, ответственных за усвоение концентрированных или клетчатковых кормов, но и благодаря специфике функционирования микробных сообществ и эндогенной секреции.

Один из главных показателей, влияющих на структуру микробных сообществ, – качественный состав корма. Так, изменение диеты у лабораторных мышей вносит существенные изменения в микробное разнообразие (Carmody *et al.*, 2015). У отловленных в природе грызунов при содержании в неволе сохраняется до 64% видов естественной микробиоты (Kohl, Dearing, 2014). Кроме того, состав микробных сообществ во многом определяется заселением пищеварительного тракта транзитными бактериями, ассоциированными с потребляемыми в пищу растениями (Kuznetsova *et al.*, 2013). Подобную взаимосвязь микробиоты с особенностями потребляемых кормов подтверждает и полученная на примере песчанок визуализация морфологического разнообразия ассоциированных с эпителием бактерий, и ферментативная активность микробных сообществ.

**Состав микробных сообществ.** Млекопитающие в зависимости от пищевой специализации являются убежищем для микробных сообществ разного так-

сономического состава и функций (Ley *et al.*, 2008; Muegge *et al.*, 2011). Ороговевающий эпителий преджелудка и слизистая толстого отдела кишечника образуют оптимальный для бактериальной колонизации микрорельеф. Микроячейки эпителия преджелудка и косые складки керкрингова рельефа предохраняют бактерий от вымывания при продвижении содержимого. Продемонстрированное у песчанок морфологическое разнообразие микробиоты желудка и кишечника подтверждено также микробиологическими исследованиями (Kuznetsova *et al.*, 2013). Из разных органов пищеварительного тракта песчанок были выделены представители родов *Bacillus*, *Arthrobacter* и других коринеморфных бактерий, целлюлолитические бактерии родов *Mycobacteriales*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Bacteroides* и *Aquaspirillum*. Все эти бактерии были изолированы как доминантные члены сообществ, тогда как *Lactobacillus*, представители родов *Enterobacteriaceae*, *Bifidobacteria* и некоторые другие составили 1% всех микроорганизмов, обнаруженных в пищеварительном тракте песчанок. *B. megaterium* и *Bacteroides* – обычные обитатели пищеварительного тракта животных (Наумова и др., 2005).

В более ранних исследованиях было выяснено, что исследованные виды песчанок различаются по количественному соотношению обнаруженных представителей разных родов бактериальных сообществ (Kuznetsova *et al.*, 2013). У *M. crassus* численность представителей отряда *Mycobacteriales* в преджелудке и ободочной кишке оказалась достаточно существенной; во всех обследованных органах желудочно-кишечного тракта были обнаружены в большом количестве грамотрицательные бактерии рода *Aquaspirillum*. *Staphylococcus* и *Micrococcus* также были найдены в преджелудке, слепой и ободочной кишках *M. crassus*. Возможно, одна из причин скудной колонизации эпителия преджелудка у *P. obesus* – локализация целлюлолитических бактерий в полости органа непосредственно на субстрате. Аналогичный низкий уровень колонизации наблюдался и в желудке зеленоядной *R. opimus* (Наумова, 1999). Именно это обстоятельство можно рассматривать как важный механизм адаптаций к составу кормов. У млекопитающих-фитофагов разной таксономической принадлежности были обнаружены различия в составе микробиоты с использованием молекулярно-генетических методов (Kohl *et al.*, 2011). Известно также, что микробные сообщества пищеварительного тракта могут выступать как естественный буфер пищеварения в условиях сезонных флуктуаций качества кормовых растений (Fon, Nsachlaj, 2012). Специфические отношения хозяев и их микробных сообществ могут формироваться при сезонной смене условий окружающей среды обитания (Carey, Duddleston, 2014).

**Кислотность.** На микробную колонизацию могут влиять не только состав нутриентов и физи-

ческие свойства содержимого пищеварительного тракта, доступ кислорода, но и уровень рН. Кислотность содержимого у грызунов в значительной степени зависит от структуры желудка (Kohl *et al.*, 2013). Двухкамерный желудок полевок лучше, чем однокамерный, обеспечивает контрастный градиент рН, необходимый для создания разных условий пищеварения — аллоэнзиматических и симбионтных. Заметный градиент кислотности был отмечен для зеленоядной полевки Бранта *Microtus brandtii*, обладающей двухкамерным желудком (Наумова, Жарова, 1984). Однако в однокамерном полужелезистом желудке у песчанок может быть создан значительный градиент кислотности, составивший у самой крупной песчанки *P. obesus* 7 единиц рН. Высокий градиент кислотности у песчанок возникает благодаря разделительной роли пограничной и угловой складок (Наумова и др., 2011), а также верхнему положению преджелудка относительно железистой части у живого зверька. Градиент кислотности у мелких *Gerbillus* не такой резкий, как у более крупных видов из-за меньшей морфологической дифференцировки желудка.

Разный уровень рН в преджелудке у разных видов песчанок обеспечивает ферментацию разных растительных субстратов. В частности, уровень рН 6–7, отмеченный в содержимом преджелудка *P. obesus*, оптимален для ферментации гликанов; при рН 4–5 осуществляется первоначальный гидролиз протеина. Этим фактам соответствуют и различия в морфологии бактерий, колонизирующих безжелезистый эпителий, и разный уровень ЭА.

**Ферменты.** Структурные углеводы в большем или меньшем количестве содержатся в любой растительной пище. В ходе эволюции в пищеварительном тракте у большинства растительноядных млекопитающих сформировался комплекс симбиотических микроорганизмов, способных гидролизовать клетчатку до простых биодоступных сахаров. Повышенный интерес к исследованию именно ЭА объясняется высоким содержанием аморфных  $\beta$ -глюканов в растительной пище (Рабинович и др., 2001) и их доступностью для бактериального разложения, что делает их легкоусвояемым нутриентом для хозяина. Бактерии разлагают целлюлозу с помощью высокомолекулярных внеклеточных структур, названных целлюлосомами (Рабинович, Мельник, 2000). Целлюлосомы можно рассматривать как молекулярные комплексы, состоящие из множества различных ферментов, разлагающих упорядоченные формы целлюлозы, и эндоглюканызы, гидролизующей глюкановые цепочки клетчатковых фибрилл (Tokuda *et al.*, 2005). Полученные нами результаты иллюстрируют высокую лабильность целлюлазных ферментных систем, сопряженную с особенностями питания и метаболизма хозяев. Так, в рационе семенных мелких песчанок гликаны не являются важным нутриентом, что

соответствует низкой ЭА у *Meriones* и *Gerbillus* в отличие от *P. obesus*, у которой ЭА в слепой кишке сопоставима с аналогичным показателем у зеленоядных полевок.

Большое морфологическое разнообразие ассоциированных с эпителием пищеварительного тракта бактерий предполагает возможность бактериального синтеза широкого набора ферментов, существенных для жизнеобеспечения хозяина. Микробиоценоз пищеварительного тракта песчанок — важное звено не только в углеводном питании песчанок. Одной из главных недавно выясненных функций микробных сообществ пищеварительного тракта грызунов оказалась азотфиксация (Наумова и др., 2000; Кузнецова и др., 2010; Kuznetsova *et al.*, 2013). Продуценты нитрогеназы разной таксономической принадлежности были обнаружены у нескольких видов мышевидных грызунов, в том числе и у трех видов песчанок с разной пищевой специализацией. До сих пор полностью не выяснена роль азотфиксирующих микроорганизмов в обеспечении хозяина азотом, но их участие в поддержании азотного баланса в биосфере очевидна.

Пищеварительный тракт обильно населен уреаалитическими симбионтами-прокариотами, осуществляющими гидролиз мочевины. У преимущественно семенной *Meriones meridianus* уреазная активность во всех органах пищеварительного тракта оказалась существенно выше, чем у предпочитающей зеленые корма *Microtus socialis* (Степанков и др., 2018). Функционирование уреалитиков может вносить значительный вклад в водный баланс животных, уменьшая потери влаги при выведении мочи из организма. В условиях аридного климата рециклизация азота снижает массу выводимой мочевины и, следовательно, массу выводимой воды (Brosh *et al.*, 1987; Freudenberg, Hume, 1993).

Травоядные песчанки, населяющие пустыни, покрывают потребность в воде, питаясь лиственной растительностью (Degen, 1997; Degen *et al.*, 1997) и обладая при этом достаточно вместительной слепой кишкой. Мелкие семенные виды получают воду путем окисления высококалорийных нутриентов, в процессе которого высвобождается мочевина, служащая субстратом для уреалитических бактерий.

**Адаптивная роль микробиоты.** Отсутствие ярких видовых особенностей в структуре пищеварительного тракта песчанок в значительной степени замаскировано функциональной спецификой микросимбионтов, населяющих их желудок и кишечник. Хотя функции микробиоты песчанок недостаточно изучены, очевидно, что накопление в желудке и кишечнике микробной массы снижает потребность животных в диетарном белке. Сложная архитектура поверхности слизистой слепой и ободочной кишок повышает эф-

фективность всасывания метаболитов микроорганизмов и воды. Судя по организации слизистой ободочной кишки этот отдел, как и у других *Muroidea*, обладает высокой сепараторной активностью, особенно у *P. obesus* (Naumova *et al.*, 2019). Эта функция уменьшает потерю микробного белка микроорганизмом хозяина благодаря скоплению микроорганизмов между косыми складками слизистой, что препятствует их вымыванию.

У млекопитающих-фитофагов взаимодействие с микроорганизмами играет важнейшую роль в жизнедеятельности хозяев. При участии микробиоты происходит синтез микробного протеина, повышающего пищевую ценность корма, который может происходить как путем азотфиксации (Наумова и др., 2000; Кузнецова и др., 2010), так и путем рециклизации азота мочевины (Kennedy, Hume, 1978; Вечерский и др., 2015). Важнейшая функция микроорганизмов заключается в использовании структурных углеводов в качестве нутриента, что подтверждается данными о переваримости целлюлозосодержащих кормов дневной песчанкой – самым активным потребителем зеленых частей пустынных растений. Этот показатель у *P. obesus* несколько ниже, чем у других зеленоядных грызунов (Batzli, Cole, 1979; Hammond, Wunder, 1991; Foley, Cork, 1992; Justice, Smith, 1992; Degen *et al.*, 2000). Помимо питательных веществ сочные зеленые части растений содержат достаточное количество влаги для поддержания жизнедеятельности в аридных условиях. Дефицит воды в местообитаниях песчанок – один из важнейших факторов, на базе которого реализована структурная и функциональная специфика их пищеварительного тракта.

Структурные преобразования пищеварительного тракта двух широко распространенных групп мелких млекопитающих (песчанок и полевок), связанные с потреблением растительных кормов, имеют черты сходства и различий. Сходство заключается в формировании безжелезистой части желудка, илеоцекального соединения, частично изолирующего полость слепой кишки, и сепараторного механизма ободочной кишки – важнейшего регулятора продвижения разных фракций пищи. На фоне этого сходства заметна меньшая структурированность пищеварительного тракта песчанок по сравнению с таковой у полевок, что позволяет рассматривать песчанок как генерализованную группу грызунов-фитофагов, в меньшей степени, чем полевки, специализирующуюся на питании целлюлозосодержащими кормами. Песчанки, в строении пищеварительного тракта которых нет четко выраженных видовых различий, с помощью микробиоты адаптированы к особенностям кормовой базы аридных территорий, характеризующейся нестабильностью вегетации и плодородия кормовых растений и, что особенно важно, к дефициту влаги (Degen, 1997). Поэтому в

формировании стратегии питания и пищеварения важную роль играют физиологические адаптации к сезонной смене качественно различных кормов и удержанию в организме воды. Эти адаптации осуществляются с помощью симбиоза с микроорганизмами.

Авторы благодарят А. Дегена, М. Кама, И.С. Хохлову и Б.Р. Краснова за предоставленный материал и организацию работы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Варшавский А.А., Наумова Е.И., Тихонов И.А. Особенности функционирования целлюлолитических симбионтов в преджелудке и слепой кишке серых полевок (*Microtus arvalis* и *M. rossiaemeridionalis*) // Зоол. журн. 2004. Т. 83. № 11. С. 1299–1304.
- Вечерский М.В., Кузнецова Т.А., Степаньков А.А. Активность уреалитических микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте тетерева-косача *Lyrurus tetrix* // Докл. РАН. 2015. Т. 462. № 3. С. 114–116.
- Воронцов Н.Н. Эволюция пищеварительной системы мышеобразных грызунов. Новосибирск: Наука, 1967. 240 с.
- Воронцов Н.Н. Фауна СССР. Млекопитающие. Низшие хомякообразные (Cricetidae) мировой фауны. Ч. I. Морфология и экология // Фауна СССР. 1982. Т. 3. Вып. 6. Л.: Наука, 452 с.
- Кузнецова Т.А., Костина Н.В., Наумова Е.И., Умаров М.М. Микробная азотфиксация в пищеварительном тракте песчанок Калмыкии (*Meriones tamariscinus* и *Meriones meridianus*) // Изв. РАН. Сер. биол. 2010. № 5. С. 560–563.
- Наумова Е.И. Функциональная морфология пищеварительной системы грызунов и зайцеобразных. М.: Наука, 1981. 262 с.
- Наумова Е.И. Эволюционные пути освоения грызунами растительной кормовой базы // Экология в России на рубеже XXI века. М.: Науч. мир, 1999. С. 181–212.
- Наумова Е.И., Жарова Г.К. Пищевая специализация и особенности желудочной секреции у млекопитающих // Докл. АН СССР. 1984. Т. 275. № 5. С. 1256–1260.
- Наумова Е.И., Жарова Г.К., Чистова Т.Ю. Изолирующие структуры пищеварительного тракта песчанок (*Gerbillidae*, *Rhombomys*, *Meriones*) и их функциональное значение // Изв. РАН. Сер. биол. 2011. № 4. С. 1–8.
- Наумова Е.И., Жарова Г.К., Чистова Т.Ю., Кузнецова Т.А. Функциональная и размерная характеристика пищеварительного тракта обыкновенной слепушонки *Ellobius talpinus* // Изв. РАН. Сер. биол. 2018. № 4. С. 1–7.
- Наумова Е.И., Кузнецова Т.А., Жарова Г.К., Чистова Т.Ю., Варшавский А.А. Млекопитающие-фитофаги как доноры целлюлозоразлагающих микроорганизмов для культивирования в ресурсных целях // Фундаментальные основы управления биологическими ресурсами. М.: КМК, 2005. С. 471–486.

- Наумова Е.И., Ушакова Н.А., Мещерский И.Г., Костина Н.В., Умаров М.М. Азотфиксация – новый феномен в питании грызунов // Изв. РАН. Сер. биол. 2000. № 1. С. 341–343.
- Рабинович М.Л., Мельник М.С. Прогресс в изучении целлюлолитических ферментов и механизм биодеградации высокоупорядоченных форм целлюлозы // Успехи биол. химии. 2000. Т. 40. С. 205–266.
- Рабинович М.Л., Болобова А.В., Кондращенко В.И. Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Кн. 1. Древесина и разрушающие ее грибы. М.: Наука, 2001. 264 с.
- Синицын А.П., Черноглазов В.М., Гусаков А.В. Методы изучения и свойства целлюлолитических ферментов // Итоги науки и техники, сер. “Биотехнология”. М.: ВИНТИ, 1990. Т. 25. 152 с.
- Степаньков А.А., Кузнецова Т.А., Умаров М.М., Наумова Е.И., Вечерский М.В. Рециклизация мочевины у мышевидных грызунов // Изв. РАН. Сер. биол. 2018. № 1. С. 79–82.
- Федорова Н.М., Дубровский В.Ю. Интенсивность потребления пищи большой песчанкой (*Rhombomys opimus*) // Зоол. журн. 1987. Т. 66. № 10. С. 1561–1565.
- Abramsky Z. Communities of gerbilline rodents in sand dunes of Israel. Patterns in the Structure of Mammalian Communities / Eds Morris D.W., Abramsky Z., Fox B., Willig M.R. Lubbock: Special Publ. Museum, Texas Technol. Univ., 1989. V. 28. P. 205–217.
- Bar Y., Abramsky Z., Gutterman Y. Diet of gerbilline rodents in Israeli Desert // J. Arid. Environ. 1984. V. 7. P. 371–376.
- Batzli G.O., Cole F.R. Nutritional ecology of microtine rodents: digestibility of forage // J. Mammal. 1979. V. 60. P. 740–750.
- Behmann H. Vergleichend- und funktionell-anatomische Untersuchungen am Caecum und Colon myomorpher Nagetiere // Z. Wiss. Zool. Leipzig. 1973. Bd 186. № 3/4. S. 173–296.
- Brosh A., Shkolnik A., Choshniak I. Effects of infrequent drinking on the nitrogen metabolism of Bedouin goats maintained on different diets // J. Agric. Sci. Camb. 1987. V. 109. P. 165–169.
- Carey H.V., Duddleston K.N. Animal-microbial symbioses in changing Environment // J. Therm. Boil. 2014. V. 44. P. 78–84.
- Carmody R.N., Gerber G.K., Luevano J.M. Cr., Gatti D.M., Somes L., Svenson K.L., Turnbaugh P.G. Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota // Cell Host Microbe. 2015. V. 17. P. 72–84.
- Daly M., Daly S. Behavior of *Psammomys obesus* (Rodentia: Gerbillinae) in the Algerian Sahara // Ethology. 1975. V. 37. P. 298–321.
- Degen A.A. Ecophysiology of small desert mammals. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 1997. 296 p.
- Degen A.A., Kam M., Khokhlova I.S. Fiber digestion and energy utilization of fat sand rats (*Psammomys obesus*) consuming the chenopod *Anabasis articulata* // Physiol. Biochem. Zool. 2000. V. 73. № 5. P. 574–580.
- Degen A.A., Khokhlova I.S., Kam M., Nagy K.A. Body size, granivory and seasonal dietary shifts in desert gerbilline rodents // Funct. Ecol. 1997. V. 11. P. 53–59.
- Foley W.J., Cork S.G. Use of fibrous diets by small herbivores: how far the rule be “bent”? // Trends Ecol. Evol. 1992. V. 7. № 5. P. 159–162.
- Fon F.N., Nsachlai I.V. Seasonality of fibrolytic enzyme activity in herbivore microbial ecosystems // Afr. J. Agric. Res. 2012. V. 11. P. 13123–13130.
- Freudenberger D., Hume I. Effects of water restriction on digestive function in two macropodid marsupials from divergent habitats and the feral goat // J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol. 1993. V. 163. P. 247–257.
- Friedrichsmeier T. Rkward: Provides functions related to the RKWard GUI. 2018. URL: <https://rkward.kde.org>.
- Hammond K.A., Wunder B.A. The role of diet quality and energy need in the nutritional ecology of a small herbivore, *Microtus ochrogaster* // Physiol. Zool. 1991. V. 64. P. 541–567.
- Justice K.E., Smith F.A. A model a dietary fiber utilization by small mammalian herbivores, with empirical results for *Neotoma* // The Amer. Naturalist. 1992. V. 139. № 2. P. 398–416.
- Kennedy P., Hume I. Recycling of urea nitrogen to the gut of the tammar wallaby (*Macropus eugenii*) // Comp. Biochem. Physiol. A Physiol. 1978. V. 61. P. 117–121.
- Kohl K.D., Carey H.V. A place for host-microbe symbiosis in the comparative physiologist’s toolbox // J. Exp. Biol. 2016. V. 219. P. 3496–3504.
- Kohl K.D., Dearing M.D. Wild-caught rodents retain a majority of their natural gut microbiota upon entrance into captivity // Environ. Microbiol. Rep. 2014. V. 6. P. 191–195.
- Kohl K.D., Stengel A., Samuni-Blank M., Dearing M.D. Effect of anatomy and diet on gastrointestinal pH in rodents // J. Exp. Zool. Pt A. 2013. P. 1–5.
- Kohl K.D., Weiss R.B., Dale C., Dearing M.D. Diversity and novelty of the gut microbial community of an herbivorous rodent (*Neotoma bryanti*) // Symbiosis. 2011. V. 54. № 1. P. 47–54.
- Kuznetsova T.A., Kam M., Khokhlova I.S., Kostina N.V., Dobrovolskaya T.G., Umarov M.M., Degen A., Shenbrot G.I., Krasnov B.R. Desert Gerbils Affect Bacterial Composition of Soil // Microbiol. Ecol. 2013. V. 66. P. 940–949.
- Ley R.E., Hamady M., Lozupone C., Tarnbauch P.J., Ramey R.R., Bircher J.S., Schlegel M.L., Tucker T.A., Schrenzel M.D., Knight R., Gordon J.I. Evolution of mammals and their gut microbes // Science. 2008. V. 320. P. 1647–1651.
- Muegge B.D., Kuczynski J., Knights D., Clemente J.C., Gonzalez A., Fontana L., Henrissat B., Knight R., Gordon J.I. Diet drives convergence in gut microbiome functions across mammalian phylogeny and within humans // Science. 2011. V. 332. P. 970–974.
- Naumova E.I. Morphological and functional consequences of the coevolution of rodents with gastro-intestinal microbial endosymbionts // Belg. J. Zool. 1990. V. 120. № 2. P. 195–204.
- Naumova E.I., Chistova T.Yu., Zharova G.K., Kam M., Khokhlova I.S., Krasnov B.R., Degen A.A. Energy requirements, length of digestive tract compartments and body mass in six gerbilline rodents of the Negev Desert // Zoology. 2019. V. 137. P. 1–8.
- Perrin M.R., Kokkinn M.J. Comparative gastric anatomy of *Cricetomys gambianus* and *Saccostomus campestris*

- (Cricetomyinae) in relation to *Mystromys albicaudatus* (Cricetinae) // *S. Afr. J. Zool.* 1985. V. 21. P. 202–210.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2019. URL: <https://www.R-project.org/>.
- Snipes R.L.* Anatomy of the caecum of the gerbil *Meriones unguiculatus* (Mammalia, Rodentia, Cricetidae) // *Zoomorphology.* 1982. V. 100. № 3. P. 189–202.
- Tannock G.W.* Normal microbiota of the gastrointestinal tract of rodents // *Gastrointestinal microbiology.* V. I. Gastrointestinal ecosystems and fermentations / Eds Mackie R.I., White B.A. London: Chapman & Hall ITP, 1997. P. 187–215.
- Tokuda G., Lo N., Watanabe H.* Marked variations in patterns of cellulase activity against crystalline- vs. Carboxymethyl-cellulose in the digestive systems of diverse, wood-feeding termites // *Physiol. Entomol.* 2005. V. 30. № 4. P. 372–380.
- Wickham H.* Ggplot2: Elegant graphics for data analysis.: N.Y.: Springer-Verlag, 2016. URL: <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- Wickham H., Henry L.* Tidy: Tidy messy data. 2019. URL: <https://CRAN.R-project.org/package=tidy>.
- Wickham H., François R., Henry L., Müller K.* Dplyr: A grammar of data Manipulation. 2019. URL: <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>.

## Functional Diversity of Morphologically Similar Digestive Organs in Muroidea Species

E. I. Naumova<sup>1, #</sup>, T. Yu. Chistova<sup>1</sup>, A. A. Varshavskii<sup>1</sup>, and G. K. Zharova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Science Leninsky prosp. 33, Moscow, 119071 Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: einaumova@gmail.com*

In this paper, we examine possible ways of functional adjustment of morphologically similar digestive organs in rodents of different food specialization. We studied the structure of stomach and gut epithelial surface and features of associated microbial colonies in five gerbil species: *Psammomys obesus*, *Meriones crassus*, *Gerbillus henleyi*, *G. allenbyi* and *G. dasyurus*. The data on morphological diversity of mucosa-associated microbiota was obtained and confirmed by the results of previous microbiology studies. Species differences in chymus acidity that are connected to food specialization were determined. Variety in endoglucanase microbial enzyme activity was also detected, which is crucial for rodents fed on cellulose-containing food. Finally, due to morphological similarities in rodents' digestive tract, the importance of microbiota in functional adaptation to food was estimated.

ФИЗИОЛОГИЯ  
ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

УДК 599.323.45:57.084.1:591.11:539.16:[614.876:54]

СПОСОБНОСТЬ НОВЫХ ДИАМИНОАЛКАНОВ И ИХ АДДИТИВНЫХ  
СОЛЕЙ, ЭФФЕКТИВНЫХ ПО ТЕСТУ ВЫЖИВАНИЯ МЫШЕЙ,  
К ЗАЩИТЕ СИСТЕМЫ КРОВИ ПРИ КОСТНОМОЗГОВОЙ  
ФОРМЕ ОСТРОЙ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ

© 2021 г. Э. А. Тарахтий\*, @, Р. И. Ишметова\*\*

\*Институт экологии растений и животных УрО РАН, ул. 8 Марта, 202, Екатеринбург, 620144 Россия

\*\*Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН,  
ул. С. Ковалевской/Академическая, 22/20, Екатеринбург, 620137 Россия

@E-mail: tar@ipae.uran.ru

Поступила в редакцию 25.05.2019 г.

После доработки 03.09.2019 г.

Принята к публикации 10.05.2020 г.

Изучен комплекс показателей системы крови мышей линии BALB/c с применением симметрично и несимметрично замещенных гетероциклическими аминами алканов, защитивших 85–100% особей после тотального воздействия  $\gamma$ -излучения  $^{137}\text{Cs}$  в минимально летальной дозе. Установлена способность веществ разной структуры защищать кроветворную ткань в экспериментах *in vivo* и *in vitro*. Выявлены различия постлучевой репопуляции клеток системы крови у защищенных мышей, имеющие связь с выживанием организма. Установлено, что ответная реакция на воздействие исследуемых веществ на уровне организма (острая токсичность, противолучевая активность, потребление кислорода организмом) и кроветворной ткани (изменение клеточности в кроветворных органах и периферической крови) зависит от структуры вещества (длины алифатической цепи, кислотной составляющей).

DOI: 10.31857/S0002332921030152

Система крови чутко реагирует на различные воздействия, играет важную роль в реакциях защиты организма, воздействуя на его реактивность и резистентность. При этом особенно важна оценка количественных изменений одновременно в разных ее отделах, что позволяет судить о реакции крови как единой целостной системы. Выраженность изменений показателей системы крови зависит от силы, длительности и специфического воздействия. В современном мире высокую опасность представляет влияние ионизирующих излучений. Мощнейший стрессогенный фактор для организма — лучевая болезнь. Биологическая сущность повреждения при лучевой болезни заключается в угнетении процессов клеточного обновления. В основе клеточно-тканевой патологии лежит повреждение прежде всего радиочувствительных быстро обновляющихся тканей. Степень поражения и темп восстановления кроветворения обуславливают шанс на выживание организма, а потому изучение пострадиационных гематологических показателей важно для оценки воздействия ионизирующих излучений на здоровье человека. Более полные сведения о процессах, происходящих в системе крови, могут быть получены

при одновременном исследовании периферической крови и кроветворных органов, поскольку количественные изменения любого элемента системы крови невозможны без вовлечения в процесс других компонентов (Физиология..., 1979; Горизонтов и др., 1983; Козинец и др., 2007).

В настоящее время для профилактики и лечения радиационных поражений не существует идеальных индивидуальных средств защиты. Несмотря на достигнутый прогресс в создании и изучении средств защиты (Ушаков, Васин, 2017; Финашов, Рафиков, 2017), требуются дальнейшие разработки, направленные на создание радиозащитных веществ, близких по своим показателям к “идеальному радиопротектору” (Гудков и др., 2015). Так называемый идеальный радиопротектор должен обладать высоким радиозащитным действием, обеспечивать наилучшие условия пострадиационного восстановления радиочувствительных тканей организма. При этом следует учитывать его молекулярную структуру, метаболические функции, терапевтические показатели.

Много ценных лекарственных веществ и радиозащитных соединений было выявлено в ряду азотсодержащих гетероциклов (Беленькая и др.,

1978; Владимиров и др., 1989; Abele *et al.*, 2010), но практически не рассматривались производные N,N-дипиперидилалканов (Ермакова и др., 1987; Гололомзин и др., 1990).

Цель работы – установить способность ряда новых симметрично и несимметрично замещенных гетероциклическими аминами алканов, проявивших высокую (85–100%) противолучевую активность по тесту выживания мышей при костно-мозговой форме гибели острой лучевой болезни, защитить систему крови в экспериментах *in vivo* и *in vitro*, определить пути радиозащитного действия.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили мыши BALB/c 3–4-месячного возраста, массой тела  $22.5 \pm 2.1$  (линейное разведение в виварии лаборатории радиобиологии Института экологии растений и животных УрО РАН). Изучали способность защищать систему крови мышей новых диаминоалканов и их аддитивных солей, эффективных по тесту выживания в экспериментах *in vivo* и *in vitro* при костно-мозговой форме острой лучевой болезни (ЛД<sub>98–100/30</sub> или К1, а также ЛД<sub>50/30</sub> или К2) на примере 1,3-дипиперидинопропан диаскорбината (I), 1,3-дипиперидинопропан диаскорбата (II), 1,3-дипиперидинопропан дисалицилата (III), 1-(азепан-1-ил)-3-(пирролидин-1-ил)-пропан-2-ола (IV), синтезированных в лаборатории детоксицирующих средств Института химии УНЦ АН СССР (сейчас лаборатория гетероциклических соединений, Институт органического синтеза УрО РАН). Эталонном сравнения служил гамма-фос или меркамин.

Предварительно оценивали острую токсичность: вещества вводили в дозах от переносимых до летальных внутрибрюшинно в объеме 0.2 мл/20 г массы тела. Мышей и органы взвешивали на торсионных весах (тип WT, Метронекс, Польша) с точностью до одной десятой. По данным зависимости гибели мышей от дозы вещества с помощью пробит-метода (Finney, 1971) вычисляли дозы, составляющие ЛД<sub>16, 50, 84</sub> (табл. 1).

Облучение контрольных и защищенных мышей проводили на установке Игур-1 (Россия), снабженной четырьмя источниками <sup>137</sup>Cs, мощность дозы 1.21 Гр/мин. Для контрольных мышей по данным о зависимости гибели мышей от дозы облучения вычисляли ЛД<sub>16, 50, 84</sub> (для самок – 7.3, 7.5, 7.7, самцов – 6.8, 7.3, 7.5 Гр), на основе которых экспериментальным путем находили максимально переносимую дозу (ЛД<sub>98–100/30</sub>, 8 Гр), используемую для оценки противолучевой активности веществ. Вещества вводили внутрибрюшинно или перорально первоначально в дозе 1/2 ЛД<sub>16</sub>. Эффект оценивали по доле выживших мышей на 30-е сут

после воздействия  $\gamma$ -излучения <sup>137</sup>Cs в дозе 8 Гр (табл. 1), а также по значению фактора уменьшения дозы (ФУД) – отношению полулетальных доз (ЛД<sub>50</sub>) с введением веществ и без введения, вычисленных с помощью пробит-метода.

Эффект веществ I–IV на системе крови сравнивали при сопоставимых условиях применения: в эквимолярных количествах – 1/2 ЛД<sub>16</sub> (844, 455, 365 и 227 мг/кг) внутрибрюшинно за 60 мин до воздействия  $\gamma$ -излучения <sup>137</sup>Cs в дозе 8 Гр, мощность дозы 1.18 Гр/мин. На 1, 4, 10, 16, 24, 30-е сут после облучения определяли концентрацию лейкоцитов и эритроцитов в крови на гемоанализаторе (Celloscope 401, Lars Ljungberg & Co, Швеция) по прилагаемым методикам. Готовили мазки крови, после окрашивания методом Паппенгейма определяли состав форменных элементов (Тодоров, 1966). Далее мышей умерщвляли дислокацией шейных позвонков, извлекали костный мозг бедренной кости, селезенку, тимус, паховый лимфатический узел, готовили суспензию (Тарахтий, 1968), подсчитывали число ядерных клеток в камере Горяева, полученные данные пересчитывали на орган.

Определяли способность клеток костного мозга к образованию колониеобразующих единиц на селезенке (КОЕс) в опытах *in vivo* и *in vitro*. При воздействии *in vivo* донорами костного мозга служили контрольные и защищенные мыши. Последним внутрибрюшинно вводили вещества в дозе 1/2 ЛД<sub>16</sub> (844, 455, 365 и 227 мг/кг) за 60 мин до воздействия  $\gamma$ -излучения <sup>137</sup>Cs в дозе 8 Гр (мощность дозы 1.14 Гр/мин). На 1, 4, 10, 16, 22, 30-е сут после облучения у доноров забирали костный мозг и готовили суспензию. В опытах *in vitro* готовили суспензию костного мозга интактных мышей, добавляли вещества в дозе 1/2 ЛД<sub>16</sub> (84.4, 45.5, 36.5 и 22.7 мг/мл), подвергали воздействию  $\gamma$ -излучения <sup>137</sup>Cs в дозе 3 Гр (мощность дозы 1.14 Гр/мин). В обоих вариантах опыта суспензию готовили на холоду на основе среды 199. Суспензию, содержащую 10<sup>6</sup> клеток в объеме 0.5 мл, вводили внутривенно реципиентам (13–15 особей) через 1 ч после облучения в дозе 8 Гр. На 9-е сут мышшей умерщвляли дислокацией шейных позвонков, извлекали селезенку, фиксировали в жидкости Буэна, подсчитывали число КОЕс, данные выражали на  $1 \times 10^6$  клеток (Till, McCulloch, 1961).

Чтобы выявить пути радиозащитного действия веществ, исследовали в динамике (5, 15, 30, 60, 90, 120, 240, 300 мин) поглощение кислорода организмом (Трегубенко и др., 1984) при введении внутрибрюшинно веществ I–IV необлученным мышам в дозе 1/2 ЛД<sub>16</sub> (844, 455, 365 и 227 мг/кг соответственно). Каждую мышь помещали в замкнутую систему прибора на 5 мин и фиксирова-

Таблица 1. Токсичность и радиозащитная активность веществ

Вещество	Токсичность, ммоль/кг (мг/кг)			Противолучевая активность				
	ЛД <sub>16</sub>	ЛД <sub>50</sub>	ЛД <sub>84</sub>	доза, ммоль/ кг (мг/кг)	время, мин	выживан ие, %	СПЖ, сут	число живот ных
1,3-дипиперидилпропан диаскорбинат (I)	3.29 (1851)	3.66 (2059)	4.07 (2290)	1.5 (844)	60	100	>30	46
				1.65 (928)	90	95	15	21
				1.65 (928)	120	90	23.5	20
				30	100	>30	20	
				60	97.8	18	40	
				120	100	>30	20	
1,3-дипиперидилпропан ол-2 диаскорбинат (Ia)	3.27 (1892)	3.35 (1938)	3.46 (2002)	1.5 (868)	30	70	9.2	20
				45	100	>30	20	
				60	95	17	40	
				120	60	17.1	20	
1,5-дипиперидилпентан диаскорбинат (II)	1.54 (910)	1.80 (1063)	2.08 (1228)	0.77 (455)	15	92.9	11.4	28
				30	95	10	40	
				60	91.7	12.4	60	
				120	100	>30	20	
				180	80	19.3	20	
1,3-дипиперидилпропан дисалицилат (III)	>0.41 (предел раство- римости/ 1 мл)	>0.75 нет гибели	0.75 (365)	30	85	8	20	
				45	100	>30	20	
				60	100	>30	20	
				60	90	24	20	
1-(азепан-1-ил)-3-(пирро лидин-1-ил)-пропан-2-ол (IV)	1.51 (452)	1.78 (533)	1.99 (596)	0.76 (227)	60	85.4	18.8	41
				90	73.7	16.0	19	
Гаммафос		4.17 (1119)		1.49 (400)	30	100	>30	50
Меркамин				(150)	30	88.9	17.3	39
K1 8 Гр (ЛД <sub>98-100/30</sub> )	Физиологический раствор				30 и 60	0–2.5	9.7 ± 0.8	485
K2 7.5 Гр (ЛД <sub>50/30</sub> )	0.2 мл/20 г массы тела							

Примечание. ЛД – летальная доза, K1 и K2 – контрольные мыши при воздействии летальной и полублетальной доз облучения соответственно, СПЖ – средняя продолжительность жизни опытных мышей.

ли поглощение кислорода. Результаты (от 4–7 мышей на точку) выражали в процентах исходного значения, принятого за 100%.

Данные исследований анализировали с помощью методов многомерной статистики (*STATISTICA*, 2001), используя пакет программ “Statistica for Windows”, версия 6 (дискриминантный и дисперсионный методы). Значения *F*-критерия в дискриминантном анализе указывают на статистическую значимость дискриминации между совокупностями переменных, в дисперсионном – на различия параметров контрольных и опытных особей,

для оценки использован Tukey-тест для разного числа животных при  $p < 0.05$ . Квадрат расстояния Махаланобиса в дискриминантном анализе определяет принадлежность точек переменной к центру их множества.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Токсичность и противолучевая активность веществ I–IV представлены в табл. 1. По сравнению с широко изученным меркамином радиозащитный эффект испытуемых веществ при введении

**Таблица 2.** Результаты дискриминантного анализа совокупности показателей облученных и защищенных мышей ( $p < 0.05$ )

Группа опыта	I	II	IV	Меркамин	K2	K1	И	III
I		7.842	14.312	11.285	11.450	6.907	12.325	17.353
II	17.446		9.493	12.033	7.836	8.896	9.436	14.168
IV	11.749	22.730		16.509	21.997	15.330	20.109	30.392
Меркамин	6.889	26.279	12.881		24.977	13.703	20.810	22.863
K2	6.503	16.781	16.230	13.170		6.624	21.393	7.954
K1	4.168	19.367	11.855	7.711	3.447		26.470	6.314
Исход	6.278	19.654	13.658	9.752	9.118	12.221		33.809
III	11.298	31.518	24.951	13.956	4.518	3.810	17.220	

Примечание. Над диагональю  $F_{11, 279}$  – значения, под диагональю – квадрат расстояния Махаланобиса, исход – интактные мыши.

внутрибрюшинно за 3 ч выше (до 100% выживших мышей против 60% у меркамина). Из исследованных веществ менее токсичен диаскорбинат I, содержащий в алифатической цепи 3 C-атома, чем диаскорбинат II с 5 C-атомами, а также вещества III и IV.

Потребление кислорода организмом испытуемые соединения снижают в разной степени. В большей степени на потребление кислорода воздействует вещество I. Значение показателя уменьшается до 20% исходного ( $p < 0.05$ ) и удерживается на этом уровне в период 15–90 мин, составляет 40% к 120-й мин. Эффект вещества I в первые 30 мин не отличается от такового меркамина ( $p > 0.05$ ), у которого значение 40% достигает к 60-й мин, в течение 60–120 мин удерживается на уровне 50%, к 300-й мин медленно приближается к исходному значению. Динамика изменения исследуемого показателя у мышей, защищенных веществом II, сходна с таковой вещества I, но протекает на более высоком уровне (50–60% исходного в течение 120 мин). Потребление кислорода у защищенных веществами III и IV снижается кратковременно (в первые 15 мин) и в меньшей мере (50–60% исходного), к 30-й мин достигает контрольных значений (80–100%). Испытанные нами сосудосуживающие адреналин (10 мг/кг) и мезатон (10 мг/кг) снижают потребление кислорода соответственно до 58 и 48% и кратковременно (15–30 мин). В условиях нашего эксперимента значения радиозащитной активности мезатона и меркамина составили 57 и 89% (табл. 1). Как видно, вклад сосудосуживающего действия в изменчивость потребления кислорода организмом и радиозащитную активность невелик.

Защищают ли испытуемые вещества кроветворную систему при костномозговой форме острой лучевой болезни? Биологическая сущность повреждения при острой лучевой болезни заключается в угнетении процессов клеточного обновления. В ос-

нове клеточно-тканевой патологии лежит повреждение прежде всего радиочувствительных быстро обновляющихся тканей. Наиболее важную роль играет кроветворная система, степень поражения и темп восстановления которой обуславливают шанс на выживание организма, что повлияло на выбор кроветворной ткани в качестве объекта для решения поставленной задачи.

Для установления связи между радиозащитным действием веществ и вкладом исследуемых показателей в выживание организма с помощью дискриминантного анализа по комплексу параметров облученных и защищенных животных были установлены различающиеся группы ( $p < 0.05$ ) защищенных и облученных незащищенных (K1 и K2) мышей (табл. 2). Параметры, включенные в дисперсионный анализ, приведены в табл. 3 и 4. Значимые в дискриминации веществ показатели в плоскости двух главных компонент сформировали группы, отражающие различия эффектов веществ. В первую каноническую дискриминантную функцию (КДФ 1, объясняет 42.4% дисперсии) наибольший вклад вносят число клеток костного мозга, содержание миелоцитов, юных и сегментоядерных нейтрофилов, во вторую (КДФ 2, объясняет 23.3% дисперсии) – число лимфоцитов и моноцитов. Менее значим вклад массы тела и селезенки, числа лейкоцитов. Согласно квадрату расстояния Махаланобиса защищенные веществом I максимально приближены к группе интактного контроля (табл. 2). Схожие результаты были получены при дискриминантном анализе только форменных элементов крови.

С помощью дисперсионного анализа установлена изменчивость показателей системы крови в зависимости от применения испытуемых веществ ( $R-P_{0.05, 193} = 7.845$ ,  $p < 0.0001$ ) и сроков исследования ( $R-P_{0.05, 20, 233} = 9.158$ ,  $p < 0.0001$ , где  $R-P_{0.05}$  – критерий, использующий  $F$ -статистику для аппроксимации  $\lambda$ -Уилкса).

**Таблица 3.** Изменчивость показателей системы крови, массы тела и селезенки мышей под воздействием  $\gamma$ -излучения  $^{137}\text{Cs}$  и веществ I–IV

Вещество	Срок, сут	Масса тела, г	Масса селезенки, мг	Спленоциты, млн	Кариоциты, млн	Лейкоциты, тыс.
Исходное	0	22.3 ± 0.2	139.6 ± 2.9	227.9 ± 6.8	17.8 ± 0.6	8.3 ± 0.4
I	1	20.7 ± 1.5	60.2 ± 5.8	41.8 ± 8.8*	6.5 ± 1.2*	1.5 ± 0.8*
	4	18.8 ± 0.9	31.5 ± 3.0*	18.0 ± 5.6*	1.2 ± 0.2*	0.9 ± 0.3*
	10	17.9 ± 1.3	35.7 ± 2.4	16.0 ± 3.6*	2.5 ± 0.9*	0.3 ± 0.2*
	16	19.4 ± 2.6*	192.5 ± 83	211.5 ± 123*	5.5 ± 2.1*	1.7 ± 1.1*
	24	21.7 ± 1.5	180.3 ± 97	244 ± 53.8*	12.7 ± 2.6	10.7 ± 4.6*
	30	21.2 ± 1.3	159.5 ± 4.7*	212.3 ± 9.4*	15.7 ± 3.8*	10.5 ± 4.4*
II	1	20.3 ± 0.7	66.8 ± 3.8'	38.5 ± 3.5'	4.6 ± 0.2'	2.8 ± 0.3'
	2	21.1 ± 1.0	51.3 ± 2.2	19.4 ± 1.5*	1.6 ± 0.2	3.5 ± 0.4
	4	20.0 ± 0.4	45.2 ± 1.8	16.3 ± 2.9'	1.0 ± 0.1'	0.4 ± 0.1*'
	10	19.5 ± 0.4'	39.9 ± 2.3'	13.0 ± 1.2'	1.6 ± 0.3	0.4 ± 0.03
	16	19.3 ± 0.7'	180.5 ± 4.2'	208.6 ± 2.2'	9.6 ± 1.9'	3.5 ± 0.4*'
	24	21.3 ± 0.8	199.9 ± 20'	202.2 ± 8.7'	19.1 ± 6.0*	7.2 ± 0.6*
	30	22.2 ± 1.1	158.5 ± 4.2'	159.3 ± 4.1'	17.1 ± 0.9'	9.3 ± 4.1
III	1	20.7 ± 1.5	55.1 ± 3.8	60.3 ± 9.7'	5.6 ± 2.6'	4.0 ± 2.1
	4	17.4 ± 1.6	37.8 ± 6.0	38.1 ± 8.5°	1.9 ± 0.7°	0.7 ± 0.3*°
	10	17.8 ± 2.5	44.6 ± 10.2	45.5 ± 1.3°	2.0 ± 1.3°	0.6 ± 0.1°
	16	16.2 ± 2.1'	100.3 ± 52'	149.9 ± 81*°	2.0 ± 1.1*'	1.8 ± 0.3°
	24	21.2 ± 2.1	274.9 ± 40°	373.4 ± 62°	11.4 ± 0.9	13.6 ± 3.7°
	30	21.6 ± 1.9	245.3 ± 46'	480.4 ± 49*°	10.6 ± 2.8*°	13.8 ± 3.6*°
IV	1	19.9 ± 1.3	51.8 ± 4.8'	37.9 ± 11.5°	6.7 ± 1.8	7.7 ± 0.8*°
	4	18.4 ± 0.5	31.1 ± 3.0"	11.4 ± 5.0°"	1.0 ± 0.3"	0.7 ± 0.2*°
	16	14.9 ± 1.2 *°	100.4 ± 32°"	75.9 ± 41.4°"	3.7 ± 2.7'	0.4 ± 0.3*°
	30	21.2 ± 1.1	178.7 ± 38°"	180.2 ± 44.4°	18.5 ± 8.1	8.1 ± 5.8
Меркамин	1	20.5 ± 0.9	56.3 ± 8.2	30.8 ± 5.2°	9.8 ± 4.1°	2.5 ± 1.2°
	4	20.5 ± 1.1	43.5 ± 5.4°"	32.7 ± 10.6°"	6.8 ± 4.0*° "	1.6 ± 0.9*°
	10	19.7 ± 0.3	51.8 ± 6.2	36.3 ± 18.2'	12.8 ± 0.5*°	3.1 ± 1.1*°
	16	20.7 ± 1.3°"	105.0 ± 12.9	66.6 ± 35.5'	12.9 ± 12.4*	4.9 ± 0.5*°
	24	20.3 ± 1.1	110.0 ± 6.6°	174.3 ± 24°	12.9 ± 4.9	7.0 ± 2.6°
	30	19.6 ± 0.5	125.4 ± 12.4°"	87.5 ± 12.9°"	20.1 ± 4.7°	5.4 ± 2.4°
K1	4	18.4 ± 1.3	36.1 ± 8.4	35.4 ± 9.7°"	1.2 ± 0.5	4.6 ± 1.1*°
	10	14.2 ± 1.7*°	47.3 ± 12.4	19.7 ± 4.5°	2.7 ± 0.2*'	4.1 ± 1.3*°
	16	14.1 ± 0.5*°	137.4 ± 81.2	167.3 ± 71°"	2.3 ± 1.3°"	0.5 ± 0.4°
K2	1	20.4 ± 1.0	59.6 ± 4.2	46.2 ± 4.0	6.2 ± 1.0*	4.5 ± 0.8*°
	4	20.2 ± 1.1	44.0 ± 5.4*°	31.1 ± 5.3°"	1.6 ± 0.3	2.9 ± 0.5*°
	10	17.8 ± 1.5	38.8 ± 15.3	32.1 ± 2.8'	2.7 ± 0.8*	4.5 ± 1.2*°
	16	19.3 ± 2.2° "	231.1 ± 7.7°"	294.4 ± 6.7°"	5.4 ± 3.9°"	7.2 ± 4.5*°
	24	20.8 ± 1.1	257.8 ± 30'	334.2 ± 51'	16.4 ± 2.9*	7.7 ± 4.2
	30	20.4 ± 1.2	156.21 ± 21°	190.2 ± 32°	14.9 ± 8.6*	12.1 ± 4.0

Примечание. Приведены среднеарифметические значения и ошибки среднего, здесь и в табл. 4;  $p < 0.05$  в сопоставимые сроки исследования: \* – I, ' – II, ° – III, " – IV, ° – K1. Исходное – интактный контроль.

Таблица 4. Содержание форменных элементов крови в динамике у мышей под воздействием  $^{137}\text{Cs}$  и веществ I–IV

Вещество	Срок, сут	Состав форменных элементов крови, %										лимфоциты	n
		миелоциты	метамиелоциты (юные)	палочкоядерные	сегментоядерные	эозинофилы	моноциты	лимфоциты	n				
I	Исходное	0.88 ± 0.12	3.13 ± 0.27	24.03 ± 1.29	2.00 ± 0.23	2.88 ± 0.27	66.79 ± 1.94	83					
	1*	0.92 ± 0.2	4.04 ± 0.41	22.57 ± 1.63*	0.73 ± 0.16	1.83 ± 0.41	69.17 ± 0.82*	6					
	1	7.08 ± 0.41*	6.42 ± 0.20*	40.13 ± 1.47	0.75 ± 0.16*	2.64 ± 0.12*	38.53 ± 1.14*	6					
	4	2.99 ± 0.12*	1.24 ± 0.16*	24.68 ± 1.06*	0 ± 0	1.24 ± 0.12*	69.55 ± 2.45*	6					
	10	4.47 ± 0.16*	0 ± 0*	20.04 ± 1.59*	0.33 ± 0.07*	2.28 ± 0.12*	72.55 ± 1.92*	6					
	16	4.28 ± 0.20*	2.9 ± 0.33*	32.78 ± 0.65	2.27 ± 0.12*	4.68 ± 0.33*	51.51 ± 1.35*	6					
II	24	2.30 ± 0.41*	1.37 ± 0.61*	67 ± 6.12	1.53 ± 0.2	1.21 ± 0.24*	24.01 ± 2.04*	6					
	30	2.54 ± 0.53	0.93 ± 0.41*	65.49 ± 0.94	1.27 ± 0.08	1.52 ± 0.25*	28.14 ± 2.86*	6					
	1	4.36 ± 0.7*	7.05 ± 0.99**	40.08 ± 3.16	0.77 ± 0.37'	2.67 ± 0.28'	38.57 ± 2.63**	6					
	4	3.19 ± 0.51'	0.19 ± 0.19'	25.32 ± 3.50	0 ± 0	1.11 ± 0.38'	69.01 ± 3.88	6					
	10	4.96 ± 0.98	0.19 ± 0.19*	17.75 ± 3.18'	0.19 ± 0.19'	2.24 ± 0.52	74.67 ± 3.16	6					
	16	4.29 ± 0.7	3.03 ± 1.40**	32.88 ± 1.95	2.29 ± 0.53'	4.79 ± 1.13'	51.14 ± 2.23'	6					
III	24	2.31 ± 0.52	1.28 ± 0.77**	65.38 ± 5.57	1.53 ± 0.25'	1.18 ± 0.31	25.75 ± 5.59'	6					
	30	2.37 ± 0.34	0.84 ± 0.20**	62.87 ± 4.42	1.39 ± 0.21'	1.62 ± 0.34'	30.00 ± 4.37'	6					
	1	0 ± 0**	2.48 ± 0.42**	74.00 ± 3.08*	1.66 ± 0.22** <sup>o</sup>	1.17 ± 0.40**	20.70 ± 2.79** <sup>o</sup>	6					
	4	0.33 ± 0.3**	0 ± 0**	31.83 ± 2.55*	0 ± 0	0.83 ± 0.30	67.00 ± 2.58	6					
	10	3.79 ± 0.77*	0.41 ± 0.26*	29.23 ± 3.28'	0 ± 0**	1.45 ± 0.61*	65.12 ± 3.44	6					
	16	3.87 ± 0.37	12.30 ± 1.3** <sup>o</sup>	35.38 ± 3.69	0 ± 0**	3.97 ± 0.52	36.77 ± 2.57 <sup>o</sup>	6					
IV	24	1.88 ± 0.94	12.01 ± 2.37**	25.41 ± 2.65**	0 ± 0'	1.26 ± 0.19	7.19 ± 2.67**	6					
	30	2.92 ± 0.70	7.54 ± 0.86** <sup>o</sup>	64.08 ± 0.92	0.31 ± 0.20'	2.70 ± 0.29** <sup>o</sup>	10.29 ± 2.20**	6					
	1*	1.00 ± 0.50	0.50 ± 0.30	7.25 ± 2.30	0.50 ± 0.30*	0 ± 0*	92.80 ± 2.70	6					
	1	0 ± 0**	2.72 ± 0.2**	44.61 ± 3.67	0.25 ± 0.1 <sup>o</sup>	0.75 ± 0.1**	53.13 ± 3.9** <sup>o</sup>	6					
	4	6.28 ± 1.63**	5.03 ± 0.16**	20.16 ± 4.49	0 ± 0	2.04 ± 0.53**	71.02 ± 7.75	6					
	16	1.88 ± 0.41*	15.11 ± 1.6** <sup>o</sup>	19.21 ± 3.27	0 ± 0*	0 ± 0**	63.46 ± 7.7** <sup>o</sup>	6					
Меркамин	30	0.77 ± 0.31	1.80 ± 0.24 <sup>o</sup>	53.89 ± 3.27	4.64 ± 0.53'	1.29 ± 0.2 <sup>o</sup>	31.94 ± 2.85	6					
	1	3.27 ± 0.70*	1.91 ± 0.34*	56.95 ± 5.39*	2.00 ± 0.54*	0.73 ± 0.24*	29.07 ± 5.29*	11					
	4	3.74 ± 1.03	3.00 ± 1.47*	36.90 ± 2.75*	0.25 ± 0.25	4.24 ± 1.89*	46.14 ± 4.84*	4					
	10	3.33 ± 0.64	3.49 ± 0.86*	54.13 ± 4.24*	2.50 ± 0.51	1.25 ± 0.35*	25.81 ± 2.90*	12					
	16	5.33 ± 0.88	4.67 ± 0.67	33.67 ± 2.60	3.00 ± 1.00	1.33 ± 0.67*	44.00 ± 0.58	3					
	24	2.50 ± 0.49	1.25 ± 0.63	59.72 ± 3.81	4.01 ± 0.83	0.75 ± 0.25	27.53 ± 3.22*	4					
K2	30	3.36 ± 1.35	5.37 ± 1.47	34.56 ± 5.39	6.38 ± 1.36	1.34 ± 0.67	42.29 ± 0.71*	3					
	1	0 ± 0	0.33 ± 0.33	81.60 ± 3.71*	0.17 ± 0.17*	0.91 ± 0.35*	15.59 ± 3.04*	12					
	4	2.17 ± 0.54	4.17 ± 1.08	18.50 ± 2.51*	0 ± 0	2.83 ± 0.54	70.00 ± 2.97	6					
	10	2.47 ± 0.44	3.97 ± 0.70	17.10 ± 1.67	0.27 ± 0.10	2.56 ± 0.45	67.36 ± 2.1*1	23					
	16	2.45 ± 0.52	6.23 ± 0.71	35.64 ± 4.35	0.15 ± 0.08*	1.76 ± 0.53*	44.03 ± 5.35	11					
	24	0.66 ± 0.17*	4.31 ± 0.52*	64.99 ± 2.83	0.32 ± 0.32	2.53 ± 0.52*	17.40 ± 2.70	12					
30	1.11 ± 0.22	3.16 ± 0.40	63.53 ± 2.51	1.53 ± 0.43	1.67 ± 0.42	20.60 ± 2.69*	12						

Примечание.  $p < 0.05$  между группами веществ в соответствующие сроки: \* – I, \* – II, ° – III. Исходн – интактный контроль. 1\* – влияние веществ на показатели крови необлученных мышей.

Анализируя в динамике изменчивость показателей у защищенных и контрольных мышей, выявлено резкое снижение числа клеток в кровеносных органах и крови на 1-е и 4-е сут, возрастание в последующие сроки у защищенных, у незащищенных (K1) восстановления нет (табл. 3). На 4-е сут больше клеток в костном мозге только у защищенных меркамином относительно других веществ ( $p < 0.05$ ), на уровне нормы сохраняет число лейкоцитов на 1-е сутки вещество IV, что выше ( $p < 0.05$ ), чем у защищенных веществом I и меркамином (табл. 3).

Различия в эффекте веществ проявляются в большей мере на стадии нарастания числа клеток (16–30-е сут, табл. 4). К 16-м сут число клеток в костном мозге у защищенных веществами III и IV минимально и меньше, чем в группах веществ I, II и меркамина ( $p < 0.05$ ). С нарастанием числа клеток в костном мозге до исходного значения к 30-м сут различий между эффектом соединений I–IV не найдено. В целом для веществ данного ряда (>40 соединений) установлена связь ( $r = 0.76$ ,  $p < 0.02$ ) концентрации клеток костного мозга и выживания мышей. На костном мозге эффект меркамина выше на 10-е сут относительно защищенных веществом I ( $p < 0.01$ ), на 16-е сут – веществами III и IV ( $p < 0.001$ ), на 30-е – веществами I и III ( $p < 0.01$ ), также превысило исходные значения ( $p < 0.05$ ) число эритроцитов в крови (14.8 против 10.2 млн./мкл).

Вещество III проявило минимальный эффект на костном мозге, но более эффективно на селезенке: число ядерных клеток и масса селезенки на 24-е и 30-е сут (при  $p < 0.05$ ) превысило значения не только незащищенного контроля (K2), но и всех групп защищенных мышей. Исходных значений к концу наблюдения достигает число лейкоцитов ( $10.87 \times 10^9/\text{л}$ ) и эритроцитов ( $9.45 \times 10^{12}/\text{л}$ ) в крови под влиянием диаскорбината 1,3-дипиперидилпропанола-2 (Ia), содержащего в отличие от вещества I ОН-группу во втором положении алкильной цепи.

Меркамин, максимально защищающий костный мозг, проявляет на селезенке минимальный эффект (табл. 3), в крови насчитывается лишь 65% лейкоцитов, не восстанавливается масса селезенки и тимуса. Однако значения ряда показателей на 4-е сут выше, чем у незащищенного контроля (K1): масса селезенки (43.5 против 36.1 мг), масса (25.9 против 3.9 мг) и число клеток ( $4.7$  против  $1.1 \times 10^6/\text{орган}$ ) тимуса ( $p < 0.05$ ). На основе этих данных можно полагать, что наибольший вклад в радиозащитный эффект вещества III вносит селезенка.

Не одинаковы степень проявления и сроки наступления изменений массы тела как интегрального показателя у защищенных мышей: если минимальные значения (18–19 г) отмечены на 8-е и

10-е сут с веществами I и II, то в случае веществ III и IV масса тела снижается в более отдаленный срок (16-е сут) и в большей мере (15–16 г), при этом не отличаясь на 8-е и 10-е сут от первых.

Таким образом, эффект защиты на кровеносных органах к концу исследования практически не различается в случае применения веществ I–III, сопоставим с данными незащищенного контроля K2. Вещество III в большей мере защищает селезенку, чем костный мозг, где число клеток с 22-х сут и до конца наблюдения в 1.5–2 раза превышает исходный уровень. Несколько ниже эффект вещества IV, что соответствует эффекту по тесту выживания мышей.

При оценке состава форменных элементов крови у интактных мышей основную долю (66.79%) составляют лимфоциты, меньшую (28.32%) – нейтрофилы, оставшуюся (5%) – другие клетки (табл. 4). Анализируя изменчивость разных типов клеток в динамике, отмечены две волны (1-е и 24-е сут) разнонаправленной реакции нейтрофилов и лимфоцитов: увеличение числа нейтрофилов и снижение числа лимфоцитов. Изменчивость числа лимфоцитов и нейтрофилов обратно зависима ( $r = -0.85$ ). Соотношение этих типов клеток сохраняется вплоть до 30-х сут.

Содержание нейтрофилов в большей мере подвержено изменениям под воздействием веществ III и IV. Различий в эффекте веществ I и II не выявлено, что может свидетельствовать в пользу сопоставимого их действия. Так, в случае веществ I и II снижено содержание сегментоядерных нейтрофилов на 4-е и 10-е сут, возрастает с 16-х сут, превышая исходные значения на 24-е и 30-е сут ( $p < 0.05$ ). У мышей, защищенных веществом III, уже на 1-е сут сегментоядерных нейтрофилов больше, чем в случае вещества IV ( $p < 0.05$ ); у последних с 16-х по 30-е сут их меньше, чем у защищенных веществом II ( $p < 0.05$ ). При этом с веществом IV и в случае K2 увеличивается время проявления изменений относительно веществ I и II.

Существенным оказалось влияние соединений на клетки нейтрофильного ряда, доля которых невелика. Так, на 1-е сут возросло число миелоцитов, юных и палочкоядерных у мышей, защищенных веществами I и II по сравнению с веществами III и IV ( $p < 0.05$ ), схожая картина была отмечена у защищенных меркамином (табл. 4). Больше миелоцитов найдено и на 16-е и 30-е сут у защищенных веществами I–III, чем у получивших вещество IV ( $p < 0.05$ ). Следует отметить, что вещество I, введенное интактным мышам, стимулирует увеличение доли миелоцитов на 1-е сут (0.8 против 0.26% в норме), практически сохранения соотношение сегментоядерных и лимфоцитов. Возрастает доля миелоцитов у интактных мышей и с веществом IV, но в крови преобладают лимфоциты. У облученных и защищенных веществом IV

**Таблица 5.** Колониеобразующая способность клеток костного мозга контрольных и защищенных мышей в эксперименте *in vivo*

Вещество	Сроки исследования, сут					
	1	4	10	16	22	28
I	0	7.04 ± 1.4	45.9 ± 3.7	52.7 ± 2.3	61.4 ± 6.8	38.6 ± 3.6
III	0.78 ± 0.2	14.9 ± 1.5	32.3 ± 2.2	62.8 ± 2.6	66.2 ± 2.8	68.1 ± 3.7
IV	3.6 ± 0.7	16.4 ± 2.4	—	35.8 ± 1.9	—	55.2 ± 2.7
K1	0.9 ± 0.5	0.6 ± 0.2	—	0.4 ± 0.1	—	—
Меркамин	—	9.7 ± 3.4	—	—	—	—

Примечание.  $p < 0.05$ : K1: 4-е, 16-е сут  $\neq$  I, III, IV. Число КОЕ/1  $\times 10^6$  введенных клеток. “—” — нет данных.

на 16-е сут возросло значение отношения палочкоядерные/сегментоядерные (0.78 против 0.13 исходного), что характеризует патологию крови (Гаркави и др., 1990).

Содержания моноцитов между группами опыта не различаются ( $p > 0.05$ ), отмечен их рост, особенно заметный на 8-е и 16-е сут. В разгар лучевой патологии такой ответ может быть направлен на развитие защитных реакций и поддержание гомеостаза. Кроме того, продукты выделения моноцитов способны активировать пролиферативные процессы в кроветворной ткани. В составе лейкоцитов к концу наблюдения преобладают клетки нейтрофильного ряда, в основном сегментоядерные, т.е. при практически полном достижении исходного уровня концентрации лейкоцитов состав форменных элементов еще не восстановился. Изменение состава и структуры лейкоцитов находят у мышей после воздействия острого рентгеновского излучения (Кузнецова и др., 2014).

Способны ли испытуемые вещества защищать непосредственно клетки или их влияние опосредовано? Ответ на этот вопрос мы получили путем оценки КОЕс клеток костного мозга в экспериментах *in vivo* (табл. 5) и *in vitro*. Было установлено, что клетки костного мозга защищенных мышей-доноров способны к образованию КОЕ в зависимости от используемого вещества и срока наблюдения (при  $p < 0.03$  для веществ I и IV  $r = 0.91$  и  $0.99$ , для вещества III  $r = 0.78$ ,  $p < 0.06$ ). Костный мозг защищенных доноров на 1-е сут образует минимальное число КОЕ, к 4-м сут заметно увеличивается с веществами III и IV, минимально у получивших вещество I и меркамин. Однако с 10-х по 16-е сут число КОЕ резко возрастает с веществом I, в меньшей мере с веществом III, продолжает нарастать вплоть до 30-х сут на более низком уровне с веществом IV. Не образует колоний костный мозг контрольных незащищенных (K1) мышей.

Способность клеток костного мозга к образованию колоний выявлена и в экспериментах *in vitro*, где влияние функций организма исключено. Вещества, введенные в клеточную суспензию в эквиво-

лярных количествах, способствуют образованию КОЕ на селезенке реципиентов. Было найдено  $12.7 \pm 3.9$  КОЕ в случае применения вещества III,  $21.5 \pm 4.9$  с веществом Ia и наименьшее число КОЕ ( $6.4 \pm 0.6$ ) с веществом I против  $2.1 \pm 0.6$  облученной суспензии без введения веществ.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При костномозговой форме острой лучевой болезни решающую роль в противолучевом действии веществ играет способность активировать процессы пострадиационной репопуляции всей системы крови. Биологическая активность веществ зависит от многих факторов, среди которых можно отметить особенности структуры, влияющие на биотрансформацию в условиях *in vivo*, поведение в желудочно-кишечном тракте, скорость экскреции из организма, что может определять их разный вклад в защиту кроветворных органов. Свидетельством этого может служить разный эффект соединения III на костном мозге и селезенке, но близкий и сопоставимый эффект веществ I и II. В этой связи изучение механизма их действия в клеточных модельных системах исключает влияние функций организма. Действительно, испытуемые вещества не только создают условия, способствующие восстановлению численности клеток, но и непосредственно защищают структуры клетки, о чем свидетельствует способность клеток костного мозга к образованию КОЕ *in vitro*.

Увеличение числа клеток в костном мозге и селезенке связано не просто с восстановлением их численности, но и с изменением состава клеток. Об этом свидетельствует разная способность клеток костного мозга к образованию КОЕ *in vivo* в зависимости от срока исследования и применяемого вещества, а также состав клеток крови, изменяющийся в динамике. При наблюдаемом опустошении клеточности кроветворных органов уже с 1-х сут в крови возрастает содержание миелоцитов и метамиелоцитов в группах веществ I и II, а также меркамина. Значимость этих клеток наряду с костным мозгом в выживании организма

показана с помощью дискриминантного анализа. Однако при способности вещества IV стимулировать увеличение содержания миелоцитов у интактных мышей на 1-е сут, у защищенных мышей их доля возросла лишь на 4-е сут с дальнейшим их снижением вплоть до 30-х. Такой сдвиг во времени можно связать с минимальной концентрацией лейкоцитов на 4–16-е сут, в крови преобладают лимфоциты, можно полагать долгоживущие, полный состав клеток отмечен лишь на 30-е сут. В случае вещества III отсутствие юных клеток на 1–4-е сут можно связать с задержкой поступления их в кровь. Существенное увеличение на 10-е и 16-е сут миелоцитов, на 16-е и 24-е метамиелоцитов и сегментоядерных вплоть до 30-х сут можно связать с возрастанием концентрации клеток в кроветворных органах и крови. В отличие от веществ III и IV у мышей, получивших вещества I и II, наличие всех типов клеток во все сроки наблюдения свидетельствует о большей их радиозащитной активности.

Несмотря на то что численность моноцитов между группами опыта не различается статистически значимо, повышение их содержания в отдельные сроки может быть направлено на поддержание клеточного иммунного гомеостаза организма, а продукты их выделения способны активировать пролиферативные процессы в кроветворной ткани. Можно полагать, что повышение их числа на 16-е сут в случае веществ I–III способствует увеличению числа миелоцитов и юных нейтрофилов, а в случае соединения II и значения отношения палочкоядерные/сегментоядерные, что можно считать свидетельством усиления функции кроветворения в органах.

В противолучевом эффекте веществ определенную роль играет сопряженная изменчивость показателей крови и кроветворных органов, как один из способов регуляции функций кроветворной системы. Кроветворную функцию в случае соединения III после 16-х сут в большей мере выполняет селезенка, чем костный мозг, где ее масса, число клеток в органе вдвое превышают исходные значения. О роли селезенки в кроветворении свидетельствуют данные литературы: показано, что выделенная РНК из лимфоидных клеток обладает выраженным активирующим действием на процессы репаративной регенерации кроветворной ткани (Тишевская и др., 2015).

Нарастающее число клеток в системе крови защищенных мышей имеет качественно иные характеристики, чем у мышей, не получивших защиты. Это подтверждает способность клеток костного мозга к образованию КОЕ *in vivo* и *in vitro*, способность к дальнейшей репопуляции клеточности, превышающей, например, у защищенных веществами I и II уровень клеточности костного мозга незащищенного контроля K2, тогда как отсут-

ствует репопуляция у незащищенного контроля K1. Снижение постлучевых изменений показателей системы крови и увеличение выживания после облучения с применением противолучевых средств было установлено на крупных животных (Бударков и др., 2018).

О способности соединений I–IV защищать систему крови облученных мышей свидетельствуют сопоставимые значения показателей системы крови защищенных облученных в летальной дозе (ЛД<sub>98–100/30</sub>) и незащищенных особей, облученных в полублетальной дозе (ЛД<sub>50/30</sub>). Испытуемые вещества снижают лучевую нагрузку на организм, что характеризует ФУД: максимальное значение (1.28) получено для веществ I и Ia, ниже с веществами III и IV (1.2 и 1.1 соответственно). Эффект веществ характеризует и терапевтический индекс (отношение токсической ЛД<sub>50</sub> к радиозащитной), чем больше его величина, тем безопаснее их использование. По этому показателю предпочтительно вещество I: его значение составляет 4.9 против 2.0 и 2.34 веществ II и IV.

Среди испытуемых веществ наибольшее внимание по всем изученным параметрам привлекает 1,3-дипиперидилпропан диаскорбинат (вещество I). Механизм его радиозащитного действия обусловлен комплексом факторов, среди которых отмечено снижение потребления кислорода организмом. Под действием острой гипоксии и нарушении тканевого дыхания “в клетках развивается восстановительный стресс, как неизбежный и необходимый компонент для формирования повышенной радиорезистентности организма, в том числе под действием радиопротекторов” (Васин и др., 2018). Не исключена роль в структуре вещества аскорбиновой кислоты, влияющей на окислительно-восстановительные процессы в клетках. Чем значительнее вещества снижают окислительно-восстановительный потенциал клеток, тем выше их радиозащитное действие (Тарумов и др., 2012). В некоторой степени механизм радиозащитного действия вещества I можно сравнивать с влиянием меркамина, защита которого протекает по гипоксическому пути (Тарумов и др., 2012), и он способен изменять окислительно-восстановительный потенциал клеток костного мозга (Рождественский и др., 2017). Высокий противолучевой эффект вещества II, но снижающего потребление кислорода в меньшей степени, протекает скорее по второму пути.

Отмеченные эффекты под воздействием веществ на уровне организма соответствуют такому на уровне клетки. Результаты опытов *in vivo* и *in vitro* дают основание полагать, что один из механизмов защиты и выживания животных — способность длительно ингибировать синтез ДНК. Подтверждением этого в случае вещества I может служить минимальное число КОЕ на 1-е и 4-е сут и существенное возрастание в последующие сро-

ки, а также уменьшение повреждения структур клеток, основанное на данных опыта *in vitro*, что сопоставимо с ранее опубликованными данными (Владимиров и др., 1997; Новикова и др., 1980). Малое число КОЕ в начальные сроки наблюдения в случае вещества I и меркамина не исключает их общих путей в механизме радиозащитного действия. Повреждение ДНК клеток костного мозга под воздействием ионизирующего излучения доказано, выявлены механизмы ее восстановления (Ху, 2017).

Предполагаемая схема механизма действия изучаемых веществ соответствует основным известным в литературе механизмам. Это индукция гипоксии в организме, изменение окислительно-восстановительных процессов, защита жизненно важных биомолекул, обратимое ингибирование синтеза ДНК, ускорение регенерации системы кроветворения. Реакционным центром, определяющим ход первичных радиационно-химических процессов соединений I–IV, можно считать алифатическую цепь, гетероциклический амин, кислотную составляющую. Представленные соединения от широко изученных серосодержащих отличается низкая токсичность, высокая противолучевая активность, длительное время действия, отсутствие побочных проявлений в дозах до ЛД<sub>16</sub>.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые симметрично и несимметрично замещенные гетероциклическими аминами алканы, проявившие высокий (85–100%) и длительный (до 3 ч) противолучевой эффект при костномозговой форме острой лучевой болезни (воздействии  $\gamma$ -лучей <sup>137</sup>Cs в дозе СД<sub>98–100/30</sub>), доказали способность защищать систему крови мышей в экспериментах *in vivo* и *in vitro*.

О защите системы крови на уровне организма свидетельствуют сходные концентрации клеток в органах и крови у защищенных мышей при ЛД<sub>100/30</sub> и незащищенного контроля при ЛД<sub>50/30</sub>, на уровне клетки – способность клеток костного мозга образовывать КОЕ *in vitro*, где исключено влияние функций организма.

Вещества I–IV снижают лучевую нагрузку на организм, что отражает значение ФУД, максимальное (1.28) у вещества I. Радиозащитные эффекты соединений, установленные на системе крови и организма, сопоставимы.

Различимые скорости процессов постлучевой репопуляции системы крови под воздействием веществ наряду с проявлениями токсических, противолучевых свойств, способностью изменять потребление кислорода организмом дают основание считать, что в ходе первичных радиационно-химических процессов определяющую роль игра-

ют алифатическая цепь, гетероциклический амин и кислотная составляющая.

Среди исследованных соединений привлекает внимание 1,3-дипиперидинопропан диаскорбинат (вещество I). Его высокое (выживает 100% мышей при ЛД<sub>100/30</sub>) и длительное (>3 ч) противолучевое действие обусловлено комплексом факторов: вещество понижает потребление кислорода, способствует сохранности кроветворного пула, максимально ускоряет репопуляцию клеток в кроветворных органах и крови, способно защищать структуры клетки, в нетоксических дозах не вызывает видимых побочных проявлений.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Беленькая И.А., Славачевская Н.М., Стрельников Ю.Е., Просыпкина А.П. Изыскание радиозащитных средств среди гетероциклических соединений (обзор) // Хим-фарм. журн. 1978. Т. 12. № 10. С. 25–33.
- Бударков В.А., Грехова Н.В., Козьмин Г.В. Оценка лечебной эффективности продигозана в опытах на облученных овцах // Радиц. биология. Радиоэкология. 2018. Т. 58. № 4. С. 363–372.
- Васин М.В., Ушаков И.Б., Бухтияров И.В. Стресс-реакция и состояние биохимического шока как взаимосвязанные и неизбежные компоненты при формировании повышенной радиорезистентности организма в условиях острой гипоксии // Изв. РАН. Сер. биол. 2018. № 1. С. 83–92.
- Владимиров В.Г., Красильников И.И., Арапов О.В. Радиопротекторы: структура и функция. Киев: Наук. думка, 1989. 264 с.
- Владимиров В.Г., Чупахин О.Н., Новикова А.П., Егорова Л.Г., Либикова Н.И., Перова Н.М., Стрельников Ю.Е., Шарова Л.А. Радиозащитная активность аминоарилтриазолов и некоторые механизмы их действия // Радиобиология. 1987. Т. 26. № 4. С. 528–532.
- Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколов М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов н/Д.: Изд-во Рост. ун-та, 1990. 224 с.
- Голомолзин Б.В., Тарахтий Э.А., Мудрецова И.И., Федосова В.Н., Латош Н.И., Ермакова М.И., Сидельковская Ф.П., Пономаренко В.А. Синтез и радиозащитные свойства 1,3-бис-циклоалкилениминопропанолов-2 // Хим-фарм. журн. 1990. Т. 24. № 11. С. 31–34.
- Горизонтов П.Д., Белоусова О.И., Федотова М.И. Стресс и система крови. М.: Медицина, 1983. 239 с.
- Гудков С.В., Попова Н.Р., Брусков В.И. Радиозащитные вещества: история, тенденции и перспективы // Биофизика. 2015. Т. 60. Вып. 4. С. 801–811.
- Ермакова М.И., Белова И.М., Латош Н.И., Тарахтий Э.А., Трегубенко И.П., Семенов Д.И. Синтез, радиопротекторная активность дигидрохлоридов N,N-дипиперидилалканов // Хим-фарм. журн. 1987. Т. 21. № 6. С. 699–702.
- Козинец Г.И., Высоцкий В.В., Захаров В.В., Оприщенко С.А., Погорелов В.М. Кровь и экология. М.: Практ. медицина, 2007. 432 с.

- Кузнецова Е.А., Заичкина С.И., Сирота Н.П., Абдулаев С.А., Розанова О.М., Антикаева Г.Ф., Сорокина С.С., Романченко С.П., Смирнова Е.Н. Индукция редко- и плотноионизирующими излучениями повреждений ДНК в лейкоцитах крови и цитогенетических повреждений в полихроматофильных эритроцитах костного мозга мышей и их потомков // Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т. 54. № 4. С. 341–349.
- Новикова А.П., Постовский И.Я., Трегубенко И.П., Тарахтий Э.А., Пучкова С.М. Радиозащитные вещества некоторых производных тиазола // Теоретические основы противолучевой защиты и принципы изыскания новых радиопротекторов. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1980. С. 20–22.
- Рождественский Л.М., Федотова М.И., Романов А.И., Белоусова О.И. О путях реализации и механизмах противолучевого действия РС-10, меркамина и мексамина // Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т. 57. № 5. С. 540–544.
- Тарахтий Э.А. Количественные изменения клеток кроветворных органов под воздействием ионизирующего излучения // Радиобиология. 1968. Т. 8. № 4. С. 514–518.
- Тарумов Р.А., Башарин В.А., Гребенюк А.Н. Противолучевые свойства современных антиоксидантов // Биомед. журн. Medline.ru [Электронный ресурс]. 2012. Т. 13. Ст. 57. С. 682–700. URL: <http://www.medline.ru/public/art/tom13>.
- Трегубенко И.П., Тарахтий Э.А., Чибиряк М.В., Голомолзин Б.В., Егорова Л.Г., Бартель Л.А. К вопросу о механизме действия диалкиламиноэтилтиольных производных пиримидина и хиназолина // Радиобиология. 1984. Т. 24. № 6. С. 838–846.
- Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Бабаева А.Г., Захаров Ю.М., Козлова Н.И., Болотов А.А. Влияние суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки на эритропоэз при экспериментальной полицитемии // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2015. Т. 101. № 4. С. 451–461.
- Тодоров Й. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. Изд. 5-е // София: Медицина и физкультура, 1966. 1038 с.
- Ушаков И.Б., Васин М.В. Лекарственные средства и природные антиоксиданты как компоненты противорадиационных контрмер в космических полетах // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2017. Т. 62. № 4(62). С. 66–78.
- Физиология системы крови. Физиология эритропоэза. Л.: Наука, 1979. 360 с.
- Финашов Л.В., Рафиков У.М. Анализ литературных данных о перспективных радиопротекторах, разработанных в Соединенных Штатах Америки // Вопр. радиац. безопасности. 2017. № 2. С. 75–81.
- Abele E., Abele R., Golomba L., Višņevska J., Beresneva T., Rubina K., Lukevics E. Oximes of six-membered heterocyclic compounds with two or three heteroatoms. II. Reactions and biological activity // Химия гетероцикл. соединений. 2010. № 8. С. 1123–1153.
- Finney D.J. Probit Analysis. 3d ed. London: Camb. Univ. Press., 1971. 333 pp.
- STATISTICA: (data analysis software system). Tulsa StatSoft, Inc., 2001. URL: [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- Till J.E., McCulloch E.A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells // Radiat. Res. 1961. V. 14. P. 213–222.
- Xu F., Li X., Yan L., Yuan N., Ang Y., Cao Y., Xu L., Zhang X., Ge C., An N., Jiang G., Xie J., Zhang H., Jiang J., Yao L., Zhang S., Wang J., Zhou D. Autophagy promotes the repair of radiation-induced DNA damage in bone marrow hematopoietic cells via enhanced stat3 signaling // Radiat. Res. 2017. V. 187. № 3. P. 382–396.

## Ability of New Diaminoalkanes and Their Additive Salts, Effective in the Mouse Survival Test, to Protect the Blood System in the Bone Marrow Form of Acute Radiation Disease

E. A. Tarakhtii<sup>1, #</sup> and R. I. Ishmetova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Plants and Animal Ecology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, ul. Vos'mogo Marta 202, Yekaterinburg, 620144 Russia

<sup>2</sup>Postovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, ul. S. Kovalevskoy 22/20, Yekaterinburg, 620137 Russia

<sup>#</sup>e-mail: [tar@ipae.uran.ru](mailto:tar@ipae.uran.ru)

A complex of parameters of the blood system of BALB/c mice was studied using alkanes symmetrically and asymmetrically substituted with heterocyclic amines, which protected 85–100% of mice after total exposure to <sup>137</sup>Cs  $\gamma$ -radiation at a minimum lethal dose. The ability of substances of different structure to protect hematopoietic tissue in *in vivo* and *in vitro* experiments has been established. Differences in the rates of post-radiation repopulation of blood cells in protected mice were revealed, which are associated with the survival of the organism. It was found that the response to the effect of the investigated substances at the level of the organism (acute toxicity, anti-radiation activity, oxygen consumption by the body) and hematopoietic tissue (changes in cellularity in the hematopoietic organs and peripheral blood) depends of the structure of substance (of length of the aliphatic chain, acidic component).

УДК 616-001.41

## ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА 90 БЕТА (БТШ90β) НА СКОРОСТЬ РАНОЗАЖИВЛЕНИЯ У МЫШЕЙ

© 2021 г. В. К. Жалимов\*, @, Ю. Ю. Скарга\*, Ю. В. Грицына\*\*, О. С. Моренков\*

\*Институт биофизики клетки РАН, Федеральный исследовательский центр “Пушкинский научный центр биологических исследований РАН”, ул. Институтская, 3, г. Пущино, Московская обл., 142290 Россия

\*\*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, ул. Институтская, 3, г. Пущино, Московская обл., 142290 Россия

@E-mail: vitaly.zhalimov@gmail.com

Поступила в редакцию 12.07.2019 г.

После доработки 06.08.2020 г.

Принята к публикации 09.11.2020 г.

Отмечено, что альфа-изоформа белка теплового шока 90 (БТШ90α) играет важную роль в ранозаживлении, оказывая стимулирующее действие на миграцию и инвазию клеток в области раны, а роль бета-изоформы БТШ90 (БТШ90β) в процессе ранозаживления до конца не определена. Получен и охарактеризован рекомбинантный БТШ90β человека, экспрессированный в *Escherichia coli*. С использованием эксцизионной модели ранозаживления на мышах, установлено, что внесение в раневую область очищенного рекомбинантного БТШ90β приводит к увеличению скорости ранозаживления на 28% по сравнению с контролем. Это позволяет рассматривать БТШ90β в качестве перспективного препарата ранозаживляющего действия.

DOI: 10.31857/S0002332921030188

В настоящий момент ~25% больных сахарным диабетом страдают от хронических ран, включая язвы с преимущественно венозным стазом, пролежни и диабетические (нейропатические) язвы (Crandall, 2003; Singh *et al.*, 2005; Sen *et al.*, 2009). При этом отсутствуют эффективные методы лечения таких хронических ран.

Долгое время считалось, что различные факторы роста могут быть использованы для ускорения процесса ранозаживления (Nom, Maisel, 1992). Однако оказалось, что такого рода препараты могут стимулировать злокачественные опухоли у пациентов, в связи с чем в настоящее время только препарат человеческого рекомбинантного тромбоцитарного фактора роста (PDGF-BB) допущен к применению ВОЗ и FDA (LeGrand, 1998). Тем не менее даже после применения этого препарата сохраняется риск стимулирования развития злокачественных неоплазий (Cheng *et al.*, 2011). В настоящее время не прекращается поиск других безопасных стимуляторов процесса ранозаживления у пациентов с хроническими незаживающими ранами (например, при диабетах и ожогах).

В литературе подробно описаны ранозаживляющие свойства внеклеточного БТШ90α, основанные на ускорении миграции фибробластов, кератиноцитов и эндотелиальных клеток (Li *et al.*, 2007; Woodley *et al.*, 2009, 2015; Cheng *et al.*, 2011).

Секрецию и/или транслокацию БТШ90 на поверхность клеточной мембраны стимулируют различные стрессовые воздействия: окислительный стресс (Liao *et al.*, 2000), гипоксия (Li *et al.*, 2007; Ramteke *et al.*, 2013; Dong *et al.*, 2016), тепловой шок (Clayton *et al.*, 2005), повреждение ДНК вследствие ионизирующего облучения (Yu *et al.*, 2006), влияние химиотерапевтических агентов (Yang *et al.*, 2008; Lv *et al.*, 2012), ростовых факторов (Cheng *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2009; Song *et al.*, 2010; Gopal *et al.*, 2011), а также сигнальных молекул (Lei *et al.*, 2007). Стимуляция мембранной экспрессии и секреции БТШ90 клетками при стрессовых воздействиях свидетельствует в пользу важной протекторной роли внеклеточного БТШ90. Подтверждение роли внеклеточного БТШ90 в ранозаживлении продемонстрировано в экспериментах *in vivo*, свидетельствующих, что внеклеточный БТШ90 стимулирует реэпителизацию и застание ран у мышей гораздо эффективнее, чем препарат человеческого рекомбинантного тромбоцитарного фактора роста (Li *et al.*, 2007; Cheng *et al.*, 2011).

На модели застания кожного покрова у мышей и свиней показано, что нанесение в область раны фрагмента рекомбинантного БТШ90α (F-5-фрагмент, аминокислоты с 236-й по 350-ю) существенно снижало время застания раны как у нормальных, так и у диабетических животных

(Cheng *et al.*, 2011; O'Brien *et al.*, 2014). Кроме этого F-5 предотвращает прогрессирование ожоговой раны у свиней (Bhatia *et al.*, 2016).

Известно, что процесс ранозаживления у человека неотделимо связан с процессами миграции кератиноцитов и фибробластов в раневую область (Martin, 1997). Было показано, что БТШ90 $\alpha$  и БТШ90 $\beta$  участвуют в процессах миграции и инвазии клеток (Schmitt *et al.*, 2007; Tsutsumi, Neckers, 2007; Yang *et al.*, 2008; Sidera, Patsavoudi, 2009; Snigireva *et al.*, 2015). Миграция клеток – фундаментальный биологический процесс, характерный как для нормальных клеток (миграция клеток при ангиогенезе, морфогенезе, восстановлении и регенерации тканей, миграция моноцитов из крови в очаг инфекции), так и для опухолевых клеток (Condeelis *et al.*, 2005; Sahai, 2005; Yamaguchi *et al.*, 2005). Миграция клеток представляет собой сложный и многоэтапный процесс, состоящий из нескольких последовательных шагов: от воздействия на клетки специфических цитокинов (мотогенов, которые включают в себя каскад внутриклеточных сигналов, приводящих к изменениям цитоскелета), и контактных взаимодействий клеток с внеклеточным матриксом (ВКМ), а также между собой до приобретения клетками характерного “локомоторного” фенотипа и движения клеток по субстрату (Levine *et al.*, 1995; Lauffenburger, Hogwitz, 1996). Миграция клеток требует динамического взаимодействия между клетками и субстратом, к которому клетки прикреплены и по которому осуществляется миграция. Растущие выпячивания достигают ВКМ и связываются с ним посредством молекул адгезии (Bozzuto *et al.*, 2010). Инвазия – процесс миграции клеток через ВКМ. Инвазия нормальных клеток наблюдается в процессах эмбрионального развития, при ангиогенезе, в процессе инфильтрации очага воспаления макрофагами (Sordat *et al.*, 1990; Burger, Dayer, 2007). Три неотъемлемых компонента инвазивного роста – адгезия клеток на окружающие структуры ВКМ, протеолиз в месте адгезии и миграция клеток. В адгезии клеток на структуры ВКМ и в процессе миграции клеток принимают участие те же молекулярные механизмы, что и при обычной клеточной миграции. Протеолиз ВКМ в месте адгезии характерен только для инвазии, но не для миграции клеток. Инвазия клеток начинается с прикрепления к компонентам базальной мембраны или подлежащей соединительной ткани в зоне инвазивного роста клеток. Инвазирующие клетки разрушают окружающие структуры ВКМ, вырабатывая протеазы либо стимулируя выработку протеаз фибробластами. Далее инвазирующие клетки мигрируют по образовавшемуся “коридору” (Stetler-Stevenson *et al.*, 1993; Price *et al.*, 1997).

Различные стимулы, присутствующие в микроокружении регенерируемой ткани, усиливают

секрецию БТШ90. Ли с соавт. показали, что гипоксия и трансформирующий ростовой фактор  $\alpha$  (ТРФ $\alpha$ ) (появляется только при повреждении кожи) индуцируют секрецию БТШ90 $\alpha$ , но не БТШ90 $\beta$ , клетками кожи (Li *et al.*, 2007, 2012; Cheng *et al.*, 2008; Woodley *et al.*, 2009). Компоненты ВКМ, в том числе и фибронектин, также способны стимулировать секрецию БТШ90 эндотелиальными клетками в процессе ранозаживления (Song, Luo, 2010). Показано, что БТШ90 $\alpha$  усиливает миграцию дермальных фибробластов, кератиноцитов и эндотелиальных клеток, в том числе и ТРФ $\alpha$ -опосредованную миграцию кератиноцитов, и способствует реэпителизации ран (Li *et al.*, 2007, 2012; Cheng *et al.*, 2008; Woodley *et al.*, 2009). Следует отметить, что миграция клеток в области раны осложнена активной секрецией трансформирующего ростового фактора бета (ТРФ $\beta$ -3), который ингибирует миграцию дермальных фибробластов и эндотелиальных клеток, что связано с экспрессией рецепторов к ТРФ $\beta$ -3 на этих клетках, но не на кератиноцитах (Bandyopadhyay *et al.*, 2006). Ростовые факторы (ТРФ $\alpha$ , фактор роста тромбоцитов и фактор роста эндотелия сосудов) не способны преодолеть этот ингибирующий эффект ТРФ $\beta$ -3 (Li *et al.*, 2007). Однако внеклеточный БТШ90 способен стимулировать миграцию всех трех основных типов клеток кожи (кератиноциты, фибробласты, клетки эндотелия капилляров) и преодолевать ингибирующий эффект трансформирующего ростового фактора ТРФ $\beta$ -3 на миграцию дермальных фибробластов и эндотелиальных клеток (Li *et al.*, 2007; Cheng *et al.*, 2008). Таким образом, применение БТШ90 для стимуляции ранозаживления имеет определенные преимущества по сравнению с другими подходами (например, факторами роста): БТШ90 в отличие от ростовых факторов стимулирует только клеточную подвижность, но не пролиферацию клеток (Li *et al.*, 2007; Cheng *et al.*, 2008).

Влияние БТШ90 $\alpha$  на подвижность клеток описано во многих (более 300) научных статьях. При этом только в одной из них показано, что, несмотря на то что БТШ90 $\alpha$  и БТШ90 $\beta$  имеют высокий уровень гомологии (~86%), эффекты БТШ90 $\beta$  на процесс ранозаживления у свиней оказались слабее, чем эффекты БТШ90 $\alpha$  (Jayaprakash *et al.*, 2015). При этом свиньи в отличие от мышей менее распространены в качестве модельных животных при исследовании ранозаживления, что не позволяет делать прямые сравнения полученных ими результатов с результатами других экспериментов, поставленных на мышах. Также стоит отметить, что процессы ранозаживления у человека преимущественно обусловлены процессами миграции клеток, в то время как у лабораторных мышей ключевую роль играет контракция кожного покрова (Sullivan *et al.*, 2001; Orgill, Blanco, 2009). В связи с этим наиболее подходя-

шая модель при исследовании влияния БТШ90β на ранозаживление — эксцизионная модель с применением поддерживающей шины (Wang *et al.*, 2013). Данная модель позволяет полностью устранить влияние контракции на размер раневой поверхности, что дает максимальное приближение к процессу ранозаживления у человека.

Цель работы — оценка влияния внеклеточного рекомбинантного БТШ90β человека на процессы ранозаживления у мышей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Получение рекомбинантного БТШ90β.** Ген человеческого БТШ90β был получен из клеток фибросаркомы человека HT1080. Для выделения гена использовали следующую пару праймеров: F 5'-ТТАСАТАТGCCTGAGGAAGTGCACCATGGAG и R 5'-АТСГТСГАСАТСГАСТТСТТССАТGCGAGAC, в качестве матрицы использовали кДНК. Полученный ПЦР-фрагмент встраивали в вектор pET28b. Вектором со вставкой трансформировали *Escherichia coli* (штамм Rosetta (DE3), Novagen, США). Экспрессию синтеза белка индуцировали добавлением 1 мМ изопропил-β-D-тиогалактозида (Sigma, США). Биомассу осаждали центрифугированием в течение 7 мин при 5000 g. Для выделения белка использовали металл-хелатную хроматографию с применением Ni-NTA-агарозы (Thermo Scientific, США). Чистоту полученного белка оценивали с помощью ДСН-ПААГ-электрофореза.

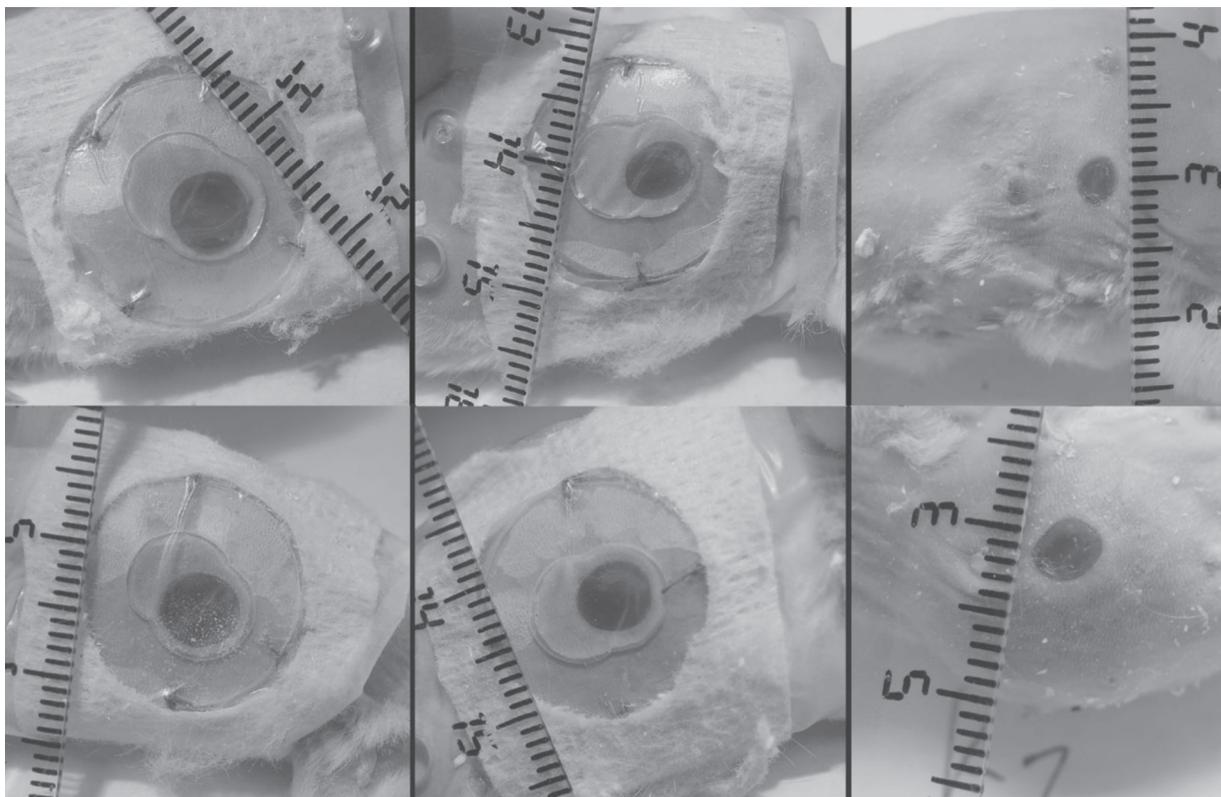
**Иммуноферментный анализ.** Анализ реактивности рекомбинантного БТШ90β человека с БТШ90-специфическими моноклональными антителами проводили с помощью непрямого ИФА. В качестве контрольного антигена использовали нативный БТШ90, очищенный из мозга быка (смесь α- и β-изоформ БТШ90) (Skarga *et al.*, 2009). Антигены для анализа сорбировали при концентрации 1 мкг/мл.

**Определение миграции и инвазии клеток in vitro.** Миграцию и инвазию исследовали на клетках фибросаркомы человека HT1080. Эксперименты проводили с использованием вкладышей в 24-луночные планшеты с полиэфирной трековой (ПЭТ) мембраной (размер пор 8 мкм) (Geringer, Австрия). Для оценки инвазии клеток вкладыши с ПЭТ-мембраной обрабатывали коллагеном VI в соответствии с рекомендациями изготовителя (Trevigen, США). Перед экспериментом клетки выдерживали в среде ДМЕМ, содержащей 0.2% бычьего сывороточного альбумина (БСА), в течение 20 ч при 37°C. Клетки снимали с подложки трипсином, промывали в ДМЕМ-БСА и помещали во вкладыши в среде ДМЕМ-БСА в присутствии или в отсутствие рекомбинантного БТШ90β или контрольного нативного БТШ90. В качестве хемо-

аттрактанта в нижнем резервуаре использовали ДМЕМ-5%-ную ЭБС (эмбриональная бычья сыворотка). Миграцию и инвазию клеток оценивали через 6 и 24 ч соответственно. Прошедшие через ПЭТ-мембрану клетки фиксировали метиловым спиртом, окрашивали красителем кристаллическим фиолетовым, лизировали, переносили в лунки 96-луночного планшета, после чего измеряли оптическую плотность при длине волны 595 нм (ОП<sub>595</sub>). Миграцию и инвазию оценивали по ОП<sub>595</sub> клеток, мигрировавших через мембрану, за вычетом ОП<sub>595</sub> клеток, прошедших через мембрану в отсутствие хемотаксического градиента (спонтанная миграция и инвазия). Стимулирующее влияние рекомбинантного белка оценивали относительно контрольных нестимулированных клеток и выражали в процентах.

**Модель шинированной раны.** Для экспериментов использовали самцов мышей линии BALB/c в возрасте 4–4.5 недель ( $n = 15$  в каждой группе). Раневую поверхность у мышей формировали по эксцизионной модели с применением поддерживающей шины (Wang *et al.*, 2013). Животных наркотизировали раствором золотила и ксилазина (1 : 2, 1 мл/кг). После полной потери двигательных рефлексов со спины и боков выстригали шерсть. Оставшийся волосяной покров удаляли с применением депилирующего крема (Veet, Франция). На следующий день животных повторно усыпляли, на кожу наносили два сквозных отверстия диаметром 5 мм с помощью специальных пробойников (Medax, Италия). На полученные отверстия с помощью клея на основе этилцианоакрилата (Henkel, Германия) наклеивали диски диаметром 19 мм (ширина внутреннего отверстия 8 мм, длина 10 мм), изготовленные из силиконовых листов толщиной 0.5 мм (Grace Bio-labs, США). Диски дополнительно фиксировали четырьмя хирургическими швами с использованием полигликолид-капролактоновой нити (ПТО Медтехника, Россия). В каждое сформированное раневое отверстие вносили по 20 мкл БТШ90β с концентрацией 1 мг/мл для опытных животных или фосфатно-солевой буферный раствор для контрольных животных. Затем весь диск накрывали прозрачным пластырем Tegaderm (3M, США). Животных дополнительно укрывали хирургическим бандажом (Matopat, Poland). Каждому животному надевали зоологический воротник, изготовленный по технологии FDM 3D-печати. Обработанных таким образом животных помещали в индивидуальные клетки. Каждые 4 дня на раны наносили новую порцию раствора БТШ90β или фосфатно-солевого буферного раствора.

**Анализ скорости ранозаживления у мышей.** Все снимки приводились к одному масштабу. Площадь раны выделяли инструментом “Лассо” и считывали ее в пикселях в разделе “Гистограммы” (программа



**Рис. 1.** Динамика ранозаживления у мышей. Сверху – фотографии животных, в раны которых вносили рекомбинантный БТШ90β, снизу – контрольные животные. Слева направо: 4, 8 и 12-е сут.

Photoshop CS 6.0). Площадь раны, полученную в пикселях, использовали для проведения расчетов (использовали не менее трех фотографий).

Скорости ранозаживления у экспериментальных и контрольных животных определяли путем сравнения площади раневой поверхности на 4, 8 и 12-е сут после ранения. Для этого животных усыпляли и делали снимки каждой раны фотоаппаратом Олимпус с-4000 (Япония); типичные фотографии представлены на рис. 1. Снимки обрабатывали в программе Adobe Photoshop CS6. Полученные значения площади раневой поверхности использовали для последующего статистического анализа с применением критерия Манна–Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Получение и характеристика БТШ90β.** В работе использовался рекомбинантный БТШ90β. Выбор в пользу рекомбинантного препарата был обусловлен экономическими соображениями. Чистота очищенного рекомбинантного белка была оценена с помощью ДСН-ПААГ и составляла не менее 90% (рис. 2).

С использованием иммуноферментного анализа было установлено, что препарат рекомбинантного БТШ90β специфически связывается с

антителами к БТШ90β и БТШ90α/БТШ90β, но не связывается с антителами к БТШ90α (табл. 1). Для определения сохранения у препарата рекомбинантного БТШ90β свойств нативного белка оценивали стимуляцию миграции и инвазии клеток фибросаркомы человека НТ1080 *in vitro*. В результате было установлено, что препарат рекомбинантного БТШ90β в концентрации 50 мкг/мл стимулировал процессы миграции и инвазии на  $21 \pm 7$  и  $46 \pm 11\%$  соответственно (рис. 3), что свидетельствует о сохранении свойств нативного белка у рекомбинантного БТШ90β. Нативный БТШ90 из мозга быка, представляющий собой смесь БТШ90α и БТШ90β, стимулировал миграцию и инвазию клеток эффективнее, чем рекомбинантный БТШ90β (табл. 1).

**Анализ влияния БТШ90 на скорость регенерации шинированной раны у мышей.** В результате проведенных на животных экспериментов было обнаружено, что внесение в раневую область препарата рекомбинантного БТШ90β оказывает положительное влияние на скорость ранозаживления у опытных животных (рис. 1). На 12-е сут среднее увеличение скорости ранозаживления при внесении в раневую поверхность БТШ90β составило 28% ( $p \leq 0.05$ ) (рис. 4). Сравнивая эти данные с данными, полученными в эксперимен-

тах по миграции и инвазии, можно отметить, что скорости ранозаживления и миграции клеток примерно равны. Как отмечено выше, ранозаживление в нашей модели обуславливается процессами миграции и инвазии. Ввиду того что в модели шинированной раны миграция кератиноцитов и фибробластов проходит по поверхности выстилающих раны клеток, влияние ВКМ на эту миграцию минимально. В связи с этим более выраженная у БТШ90 $\beta$  активация инвазии в нашей модели не оказывает существенного влияния на скорость сдвига фронта раны, а ранозаживляющий эффект от применения БТШ90 $\beta$  не слишком выражен.

Ранее в работе на мышах (Cheng *et al.*, 2011) было показано, что применение препарата рекомбинантного БТШ90 $\alpha$  приводит к значительному (до 90%) ускорению процессов ранозаживления у мышей. В настоящий момент нет данных по влиянию БТШ90 $\beta$  на ранозаживление у этих животных, однако по результатам исследований, проведенных на свиньях (Jayaprakash *et al.*, 2015), было показано, что однократное внесение в рану препарата БТШ90 $\alpha$  приводит к двукратному увеличению скорости ранозаживления по сравнению с вариантом, где в рану вносили БТШ90 $\beta$ . При этом, сравнивая результаты наших экспериментов (с применением БТШ90 $\beta$ ) с данными Ченга с соавт. (Cheng *et al.*, 2011) (исследовали БТШ90 $\alpha$ ), можно отметить, что в наших экспериментах скорость ранозаживления оказалась более чем в 3 раза ниже. Такая выраженная разница может быть обусловлена двумя причинами. Значительную роль в различии влияния БТШ90 $\beta$  на скорость ранозаживления могут играть видовые особенности физиологии экспериментальных животных. В частности, свиньи имеют кожный покров, прочно связанный с жировой клетчаткой, в то время как у мышей кожа закреплена более подвижно, что может полностью менять как трофику раневой области, так и сами механизмы ранозаживления. Второй причиной могла быть выбранная экспериментальная модель. В работе Ченга с соавт. не использовали шину, поэтому края раны оставались свободными (Cheng *et al.*, 2011). В этом случае на скорость застывания раны начинала значительно влиять раневая контракция. Можно предположить, что внесение препарата БТШ90 $\beta$  влияет не только на процессы клеточной миграции (а следовательно, и ассоциированного с ними ранозаживления), но и на процессы контракции.

Однако при проведении исследования в этой области стоит обратить внимание на выраженную зависимость получаемых в экспериментах результатов от используемых модельных животных. При этом даже в экспериментах, проводимых на одном и том же виде животного, но с применением различных моделей ранозаживления могут наблюдаться значительные расхождения результатов, что

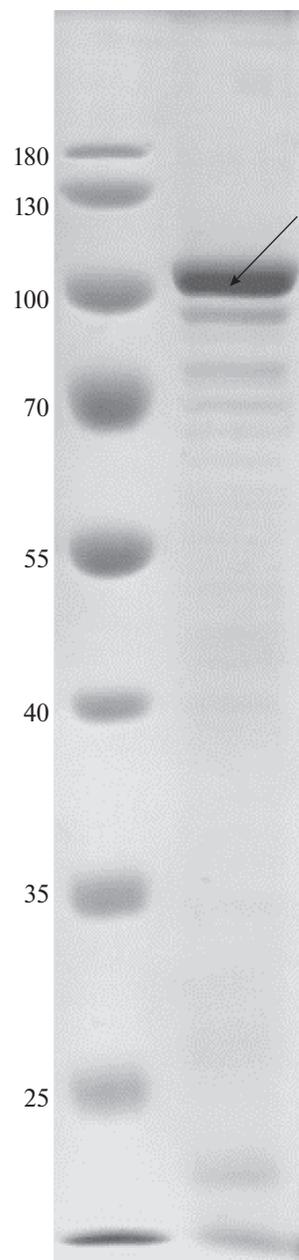


Рис. 2. ДСН-ПААГ-электрофорез очищенного препарата БТШ90 $\beta$  (отмечен стрелкой). Левый трек – маркер молекулярных масс (в кДа).

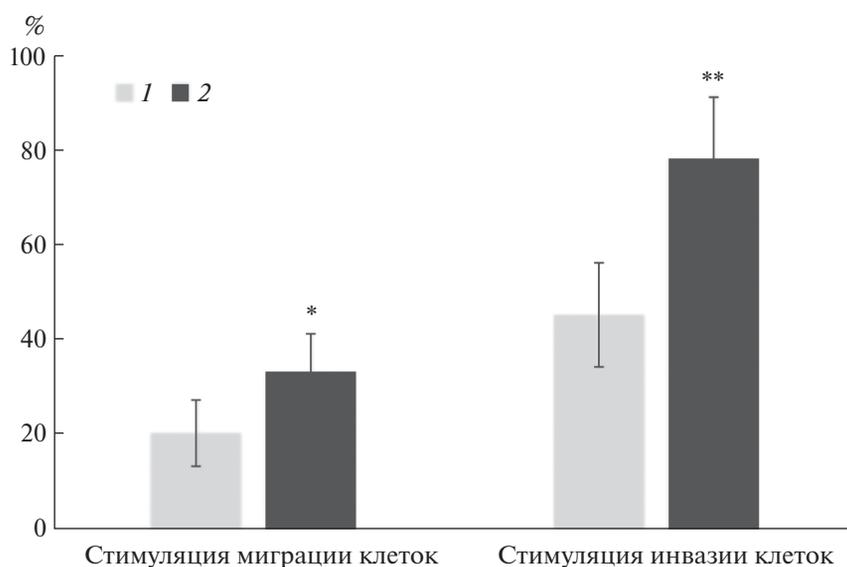
не позволяет прямо экстраполировать эти результаты на человека. Дальнейшие исследования позволят подобрать комбинации БТШ90 $\beta$  и БТШ90 $\alpha$  для различных условий ран (внутренние послеоперационные, поверхностные), способные значительно ускорить процессы ранозаживления, не вызывая при этом негативных последствий.

Таким образом, применение БТШ90 $\beta$  может быть весьма перспективным при лечении хронических ран. Исследования, проведенные в данной работе, позволят расширить представление о

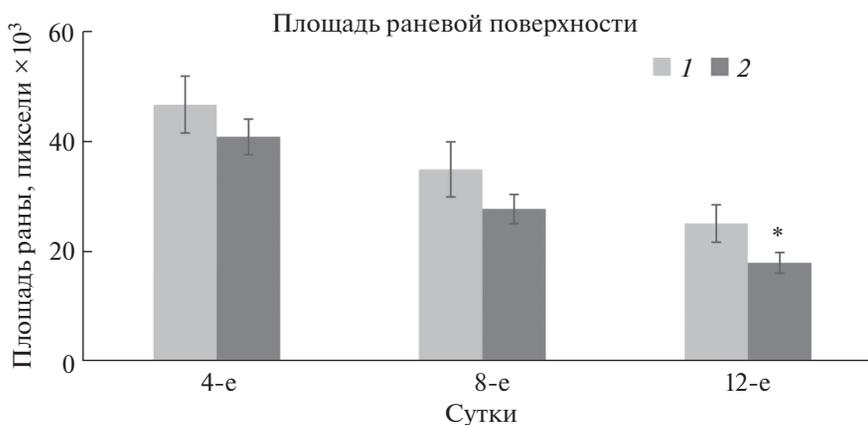
**Таблица 1.** Анализ иммунологического соответствия и активирующего воздействия на клетки рекомбинантного БТШ90β

Тип БТШ90	Реактивность с антителами в ИФА*			
	Специфичность антител			
	БТШ90α	БТШ90β	БТШ90α/β	негативный контроль
Рекомбинантный БТШ90β человека	—	+++	++++	—
Нативный БТШ90 быка (смесь БТШ90α и БТШ90β)	+++	++	++++	—

Примечание. \* – реактивность антител с БТШ90 оценивали по интенсивности реакции антител с антигенами в ИФА (++++, +++, ++); “—” – реакция отсутствует.



**Рис. 3.** Сравнение скорости миграции и инвазии клеток HT1080 *in vitro* в присутствии рекомбинантного БТШ90β человека и нативного БТШ90 быка. Стимулирующее влияние оценено относительно контрольных нестимулированных клеток и выражено в процентах, контроль принят за 0%. Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрического критерия *U* Вилкоксона–Манна–Уитни. Данные представлены относительно контроля в виде среднего арифметического с разбросом в виде стандартного отклонения. \* –  $p \leq 0.05$ , \*\* –  $p \leq 0.01$ . 1 – рекомбинантный БТШ90β человека, 2 – нативный БТШ90 быка (смесь БТШ90α и β).



**Рис. 4.** Площадь раневой поверхности у животных на 4, 8 и 12-е сут эксперимента. Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрического критерия *U* Вилкоксона–Манна–Уитни. Результаты представлены в виде среднего арифметического с разбросом в виде стандартного отклонения. \* –  $p \leq 0.05$ . 1 – контроль, 2 – опыт.

подходах к заживлению ран в таких областях, как травматология, хирургия, а также трансплантология.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bandyopadhyay B., Fan J., Guan S., Li Y., Chen M., Woodley D.T., Li W.* A “traffic control” role for TGF-beta3: orchestrating dermal and epidermal cell motility during wound healing // *J. Cell Biol.* 2006. V. 172. № 7. P. 1093–1105.
- Bhatia A., O'Brien K., Chen M., Wong A., Garner W., Woodley D.T., Li W.* Dual therapeutic functions of F-5 fragment in burn wounds: preventing wound progression and promoting wound healing in pigs // *Mol. Ther. Meth. Clin. Dev.* 2016. V. 3. P. 16041.
- Bozzuto G., Ruggieri P., Molinari A.* Molecular aspects of tumor cell migration and invasion // *Ann. Ist. Super Sanita.* 2010. V. 46. № 1. P. 66–80.
- Burger D., Dayer J.M.* Assays of T-cell contact dependent monocyte-macrophage functions // *Meth. Mol. Med.* 2007. V. 136. P. 139–148.
- Cheng C.F., Fan J., Fedesco M., Guan S., Li Y., Bandyopadhyay B., Bright A.M., Yerushalmi D., Liang M., Chen M., Han Y.P., Woodley D.T., Li W.* Transforming growth factor alpha (TGFalpha)-stimulated secretion of HSP90alpha: using the receptor LRP-1/CD91 to promote human skin cell migration against a TGFbeta-rich environment during wound healing // *Mol. Cell Biol.* 2008. V. 28. № 10. P. 3344–3358.
- Cheng C.F., Sahu D., Tsen F., Zhao Z., Fan J., Kim R., Wang X., O'Brien K., Li Y., Kuang Y., Chen M., Woodley D.T., Li W.* A fragment of secreted Hsp90alpha carries properties that enable it to accelerate effectively both acute and diabetic wound healing in mice // *J. Clin. Invest.* 2011. V. 121. № 11. P. 4348–4361.
- Clayton A., Turkes A., Navabi H., Mason M.D., Tabi Z.* Induction of heat shock proteins in B-cell exosomes // *J. Cell Sci.* 2005. V. 118. P. 3631–3638.
- Condeelis J., Singer R., Segall J.E.* The great escape: when cancer cells hijack the genes for chemotaxis and motility // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2005. V. 21. P. 695–718.
- Crandall M.A.* Wound care markets: volume 1: skin ulcers // *Wound Care Markets / Ed. Heffner S. N.Y.: Kalorama Inform., 2003. P. 103–118.*
- Dong H., Zou M., Bhatia A., Jayaprakash P., Hofman F., Ying Q., Chen M., Woodley D.T., Li W.* Breast cancer MDA-MB-231 cells use secreted heat shock protein-90alpha (Hsp90alpha) to survive a hostile hypoxic environment // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 20605.
- Gopal U., Bohonowych J.E., Lema-Tome C., Liu A., Garrett-Mayer E., Wang B., Isaacs J.S.* A novel extracellular Hsp90 mediated co-receptor function for LRP1 regulates EphA2 dependent glioblastoma cell invasion // *PLoS One.* 2011. V. 6. № 3. e17649.
- Hom D.B., Maisel R.H.* Angiogenic growth factors: their effects and potential in soft tissue wound healing // *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 1992. V. 101. № 4. P. 349–354.
- Jayaprakash P., Dong H., Zou M., Bhatia A., O'Brien K., Chen M., Woodley D.T., Li W.* Hsp90alpha and Hsp90beta together operate a hypoxia and nutrient paucity stress-response mechanism during wound healing // *J. Cell Sci.* 2015. V. 128. № 8. P. 1475–1480.
- Lauffenburger D.A., Horwitz A.F.* Cell migration: a physically integrated molecular process // *Cell.* 1996. V. 84. № 3. P. 359–369.
- LeGrand E.K.* Preclinical promise of becaplermin (rhPDGF-BB) in wound healing // *Am. J. Surg.* 1998. V. 176. № 2a Suppl. P. 48S–54S.
- Lei H., Venkatakrishnan A., Yu S., Kazlauskas A.* Protein kinase A-dependent translocation of Hsp90alpha impairs endothelial nitric-oxide synthase activity in high glucose and diabetes // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. № 13. P. 9364–9371.
- Levine M.D., Liotta L.A., Stracke M.L.* Stimulation and regulation of tumor cell motility in invasion and metastasis // *EXS.* 1995. V. 74. P. 157–79.
- Li W., Li Y., Guan S., Fan J., Cheng C.F., Bright A.M., Chinn C., Chen M., Woodley D.T.* Extracellular heat shock protein-90alpha: linking hypoxia to skin cell motility and wound healing // *EMBO J.* 2007. V. 26. № 5. P. 1221–1233.
- Li W., Sahu D., Tsen F.* Secreted heat shock protein-90 (Hsp90) in wound healing and cancer // *Bioch. Bioph. Acta – Mol. Cell Res.* 2012. V. 1823. № 3. P. 730–741.
- Liao D.F., Jin Z.G., Baas A.S., Daum G., Gygi S.P., Aebersold R., Berk B.C.* Purification and identification of secreted oxidative stress-induced factors from vascular smooth muscle cells // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 1. P. 189–196.
- Lv L.H., Wan Y.L., Lin Y., Zhang W., Yang M., Li G.L., Lin H.M., Shang C.Z., Chen Y.J., Min J.* Anticancer drugs cause release of exosomes with heat shock proteins from human hepatocellular carcinoma cells that elicit effective natural killer cell antitumor responses *in vitro* // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. № 19. P. 15874–15885.
- Martin P.* Wound healing – aiming for perfect skin regeneration // *Science.* 1997. V. 276. № 5309. P. 75–81.
- O'Brien K., Bhatia A., Tsen F., Chen M., Wong A.K., Woodley D.T., Li W.* Identification of the critical therapeutic entity in secreted Hsp90a that promotes wound healing in newly restandardized healthy and diabetic pig models // *PLoS One.* 2014. V. 9. № 12. P. e113956.
- Orgill D., Blanco C.* Biomaterials for treating skin loss // *Woodhead Publishing.* 2009. p. 256.
- Price J.T., Bonovich M.T., Kohn E.C.* The biochemistry of cancer dissemination // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 1997. V. 32. № 3. P. 175–253.
- Ramteke A., Ting H., Agarwal C., Mateen S., Somasagara R., Hussain A., Graner M., Frederick B., Agarwal R., Deep G.* Exosomes secreted under hypoxia enhance invasiveness and stemness of prostate cancer cells by targeting adherens junction molecules // *Mol. Carcinog.* 2013. V. 54. № 7. P. 554–565.
- Sahai E.* Mechanisms of cancer cell invasion // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2005. V. 15. № 1. P. 87–96.
- Schmitt E., Gehrman M., Brunet M., Multhoff G., Garrido C.* Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy // *J. Leukoc. Biol.* 2007. V. 81. № 1. P. 15–27.
- Sen C.K., Gordillo G.M., Roy S., Kirsner R., Lambert L., Hunt T.K., Gottrup F., Gurtner G.C., Longaker M.T.* Hu-

- man skin wounds: a major and snowballing threat to public health and the economy // *Wound Repair Regen.* 2009. V. 17. № 6. P. 763–771.
- Sidera K., Patsavoudi E.* Extracellular HSP90: an emerging target for cancer therapy // *Current Signal. Transduction Therapy.* 2009. V. 4. № 1. P. 51–58.
- Singh N., Armstrong D.G., Lipsky B.A.* Preventing foot ulcers in patients with diabetes // *JAMA.* 2005. V. 293. № 2. P. 217–228.
- Skarga Y., Vrublevskaya V., Evdokimovskaya Y., Morenkov O.* Purification of the 90 kDa heat shock protein (hsp90) and simultaneous purification of hsp70/hsc70, hsp90 and hsp96 from mammalian tissues and cells using thiophilic interaction chromatography // *Biomed. Chromatogr.* 2009. V. 23. № 11. P. 1208–1216.
- Snigireva A.V., Vrublevskaya V.V., Afanasyev V.N., Morenkov O.S.* Cell surface heparan sulfate proteoglycans are involved in the binding of Hsp90 $\alpha$  and Hsp90 $\beta$  to the cell plasma membrane // *Cell Adh. Migr.* 2015. V. 9. № 6. P. 460–468.
- Song X., Luo Y.* The regulatory mechanism of Hsp90 $\alpha$  secretion from endothelial cells and its role in angiogenesis during wound healing // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 2010. V. 398. № 1. P. 111–117.
- Song X., Wang X., Zhuo W., Shi H., Feng D., Sun Y., Liang Y., Fu Y., Zhou D., Luo Y.* The regulatory mechanism of extracellular Hsp90 on matrix metalloproteinase-2 processing and tumor angiogenesis // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. № 51. P. 40039–40049.
- Sordat B., Piffaretti J.-C., Weiss L.* Is there a common definition for invasiveness? // *J. Invasion Metastasis.* 1990. V. 10. № 3. P. 178–192.
- Stetler-Stevenson W.G., Liotta L.A., Kleiner D.E. Jr.* Extracellular matrix 6: role of matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis // *FASEB J.* 1993. V. 7. № 15. P. 1434–1441.
- Sullivan T.P., Eaglstein W.H., Davis S.C., Mertz P.* The pig as a model for human wound healing. *Wound Repair Regen.* // 2001. V. 9. № 2. P. 66–76.
- Tsutsumi S., Neckers L.* Extracellular heat shock protein 90: a role for a molecular chaperone in cell motility and cancer metastasis // *Cancer Sci.* 2007. V. 98. № 10. P. 1536–1539.
- Wang X., Ge J., Tredget E.E., Wu Y.* The mouse excisional wound splinting model, including applications for stem cell transplantation // *Nat. Protoc.* 2013. V. 8. № 2. P. 302–309.
- Wang X., Song X., Zhuo W., Fu Y., Shi H., Liang Y., Tong M., Chang G., Luo Y.* The regulatory mechanism of Hsp90 $\alpha$  secretion and its function in tumor malignancy // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. V. 106. № 50. P. 21288–21293.
- Woodley D.T., Fan J., Cheng C.F., Li Y., Chen M., Bu G., Li W.* Participation of the lipoprotein receptor LRP1 in hypoxia-HSP90 $\alpha$  autocrine signaling to promote keratinocyte migration // *J. Cell Sci.* 2009. V. 122. P. 1495–1498.
- Woodley D.T., Wysong A., DeClerck B., Chen M., Li W.* Keratinocyte migration and a hypothetical new role for extracellular heat shock protein 90 Alpha in orchestrating skin wound healing // *Adv. Wound Care (New Rochelle).* 2015. V. 4. № 4. P. 203–212.
- Yamaguchi H., Wyckoff J., Condeelis J.* Cell migration in tumors // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2005. V. 17. № 5. P. 559–564.
- Yang Y., Rao R., Shen J., Tang Y., Fiskus W., Nechtman J., Atadja P., Bhalla K.* Role of acetylation and extracellular location of heat shock protein 90 $\alpha$  in tumor cell invasion // *Cancer Res.* 2008. V. 68. № 12. P. 4833–4842.
- Yu X., Harris S.L., Levine A.J.* The regulation of exosome secretion: a novel function of the p53 protein // *Cancer Res.* 2006. V. 66. № 9. P. 4795–4801.

## Influence of Recombinant Heat Shock Protein 90 $\beta$ (Hsp90 $\beta$ ) on the Speed of Wound Healing in Mice

V. K. Zhalimov<sup>1, #</sup>, Y. Y. Skarga<sup>1</sup>, Yu. V. Gritsyna<sup>2</sup>, and O. S. Morenkov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences,  
ul. Institutskaya, 3, Pushchino, Moscow obl., 142290 Russia*

<sup>2</sup>*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences,  
ul. Institutskaya, 3, Pushchino, Moscow obl., 142290 Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: vitaly.zhalimov@gmail.com*

It is known that alpha isoform of heat shock protein 90 (HSP90 $\alpha$ ) plays an important role in wound healing. HSP90 $\alpha$  has stimulating effect on migration and invasion of cells in the wound area. The role of beta isoforms of HSP90 (HSP90 $\beta$ ) in the process of wound healing is not fully defined. In this work recombinant human HSP90 $\beta$  was obtained and characterized, expressed in *E. coli*. Using an excision model of wound healing it was found the following fact: purified recombinant human HSP90 $\beta$  introduced into the wound the region leads to increase the rate of wound healing by 28% compared to control in mice. This allows consider HSP90 $\beta$  as a promising drug for wound healing.

УДК 574.554;581.132

## ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ ФИТОПЛАНКТОНА И ЕЕ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ГЕТЕРОТРОФНОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ

© 2021 г. В. В. Бульон®

Зоологический институт РАН, Университетская наб., 1, Санкт-Петербург, 199034 Россия

®E-mail: vboulion@mail.ru

Поступила в редакцию 12.11.2018 г.

После доработки 07.11.2019 г.

Принята к публикации 07.11.2019 г.

Обсуждается экологическая роль экстрацеллюлярной продукции фитопланктона. Эксперименты с применением радиоуглеродного метода в сочетании с дифференциальной фильтрацией проб воды показали, что в морских и пресных водах разной трофности в среднем ~20% продукции фитопланктона трансформируется в бактериальную продукцию.

DOI: 10.31857/S0002332921030048

Основная функция гетеротрофных бактерий в планктоне — ассимиляция органических веществ, продуцируемых автотрофными организмами, и трансформация их на верхние трофические уровни. Этим объясняется часто наблюдаемая корреляция между показателями роста фито- и бактериопланктона (Гусева, 1952; Кузнецов, 1952, 1970; Сорокин, 1964; Романенко, 1965; Overbeck, 1972; Фурсенко, Кузьмицкая, 1975; Godlewska-Lipowa, 1976; Rai, 1978; Кузьмичева, 1979; Потаенко, 1979; Aizaki *et al.*, 1981; Bird, Kalff, 1984; Currie, 1990; Бульон, 1994; Бульон, Павельева, 1998). Тем не менее среди трофических связей взаимоотношение между этими ключевыми группами планктона остается наименее изученным.

Для выяснения механизма взаимодействия фито- и бактериопланктона имеют значение данные о скорости ассимиляции гетеротрофными микроорганизмами первичной продукции планктона и органических субстратов, близких по своей природе к продуктам фотосинтеза. Согласно сложившимся к настоящему времени представлениям часть продуцируемого фитопланктоном органического вещества представлена растворенной фракцией и именно в этом виде оно ассимилируется бактериями.

Выделение растворенного органического вещества (РОВ) фитопланктоном подтверждено рядом экспериментальных исследований. Считается, что продукция РОВ (известная как внеклеточная продукция фитопланктона) служит одним из основных источников энергии для бактериопланктона, а ее трансформация в бактериальную продукцию — основным потоком органического углерода в пелагиали пресных и морских вод (Derenbach *et al.*, 1974; Harrison *et al.*, 1977; Cole *et al.*,

1982; Larson, Hagström, 1982; Wolter, 1982; Sondergaard *et al.*, 1985; Baines, Pace, 1991; Gomes *et al.*, 1991).

Несмотря на то что продукция РОВ чаще всего отождествляется с прижизненными выделениями клеток водорослей, не менее вероятной представляется гипотеза, предполагающая образование РОВ при отмирании автотрофных организмов. С этой точки зрения вирусный лизис и фотолит клеток фитопланктона, а также потери при выедании его зоопланктоном — такой же важный источник энергии для бактерий, как и прижизненные выделения (Fouilland *et al.*, 2014).

Независимо от природы внеклеточной продукции по-прежнему актуальна ее экологическая роль. Важно знать, какая доля первичной продукции трансформируется в бактериальные тела за определенный отрезок времени. Данные, наиболее адекватно отражающие этот процесс, могут быть получены с использованием радиоактивного изотопа <sup>14</sup>C. Практика показывает, что радиоуглеродный метод — наиболее перспективный и, возможно, единственный способ решения проблемы взаимоотношения фитопланктона и бактерий.

Стандартный радиоуглеродный метод, разработанный для определения скорости фотосинтеза планктона, основан на измерении радиоактивности взвешенного органического вещества (Steemann Nielsen, 1952). Радиоактивность РОВ, выделяемого клетками водорослей, этим методом не учитывается. Для более полной оценки первичной продукции было разработано несколько модификаций радиоуглеродного метода, позволивших с той или иной точностью измерять внеклеточную про-

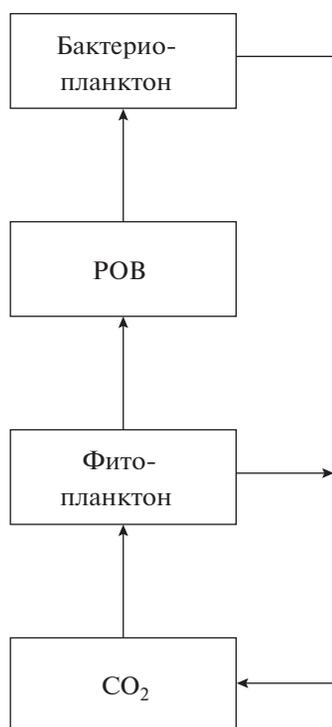


Рис. 1. Схема потока углерода в сообществе автотрофных и гетеротрофных микроорганизмов.

дукцию фитопланктона (Lasker, Holmes, 1957; Eppley, Sloan, 1965; Hellebust, 1965; Fogg, 1966; Nalewajko, 1966; Watt, 1966; Anderson, Zeutschel, 1970; Сорокин, 1971; Samuel *et al.*, 1971; Thomas, 1971; Бульон, 1983; Robarts, Sephton, 1989). В основе всех модификаций лежит измерение радиоактивности РОВ в фильтратах.

Наблюдается дефицит данных, с помощью которых можно было бы определить, какая часть первичной продукции трансформируется в бактериальные тела и как соотносятся между собой общая бактериальная продукция и продукция бактерий за счет выделений фитопланктона. Согласно немногочисленным данным в бактериальную фракцию может переходить от 10 до 50% первичной продукции, что обеспечивает от 20 до 100% общей бактериальной продукции (Sondergaard *et al.*, 1985; Vaines, Pace, 1991; Decy *et al.*, 2002).

Получены также данные, позволяющие предполагать, что потребление РОВ гетеротрофными организмами тесно связано с его продуцированием, поэтому выделяемые фитопланктоном растворенные продукты фотосинтеза почти не аккумулируются в воде (Waite, Duthie, 1975; Iturriaga, Норре, 1977; Weibe, Smith, 1977; Cole *et al.*, 1982; Gomes *et al.*, 1991; Decy *et al.*, 2002; Morana *et al.*, 2014). Такая точка зрения подтверждается результатами экспериментов с легкоусвояемыми органическими субстратами, например с глюкозой,

ацетатом и аминокислотами (Wright, Hobbie, 1966; Hobbie, Grawford, 1969; Azam, Holm-Hansen, 1973). В своих исследованиях автор данной работы исходил из предпосылки, что РОВ, выделяемое клетками фитопланктона (прижизненно или при отмирании), что не имеет принципиального значения), почти сразу же и практически полностью ассимилируется бактериями. Это означает, что подавляющая часть внеклеточной продукции фитопланктона может быть измерена не в истинной ее форме, а только в виде бактериальной продукции.

Таким образом, план экспериментальных исследований должен быть построен с учетом того, что при экспозиции проб озерной или морской воды с  $^{14}\text{CO}_2$  радиоактивный углерод трансформируется в органическое вещество фитопланктона, затем часть его очень быстро выходит во внешнюю среду в составе РОВ и утилизируется бактериями. Следовательно, техника исследований должна включать в себя дифференциацию меченных по углероду клеток водорослей и бактерий, подсчет и сравнение их радиоактивностей. Для достижения этой цели предлагается радиоуглеродный метод в сочетании с дифференциальной фильтрацией проб воды.

В схеме потока углерода в сообществе автотрофных и гетеротрофных микроорганизмов (рис. 1) учитывается также тот факт, что часть ассимилированного фитогенного РОВ тратится бактериями на дыхание. Доля первичной продукции, рассеиваемая при дыхании гетеротрофов, — слабо изученная сторона потока углерода в планктонных системах (Marra, Barber, 2004). Очевидно, что без решения этой проблемы велик риск значительного недоучета внеклеточной продукции фитопланктона и, следовательно, общей первичной продукции планктона.

Цель работы — обобщить литературные и собственные данные для разнотипных вод (морских и пресных, от олиготрофных до эвтрофных, расположенных в разных географических зонах) и оценить, какая доля первичной продукции, создаваемая в растворенной форме, преобразуется в бактериальную продукцию и рассеивается при дыхании бактерий.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обобщены собственные материалы, собранные в разные годы для озер Монголии и северо-запада России (Псковская обл.), а также ряда точек в юго-западной части Тихого океана ( $25^\circ$ – $57^\circ$  ю.ш. и  $126^\circ$ – $158^\circ$  в.д.). Автотрофная ассимиляция  $^{14}\text{CO}_2$  и гетеротрофное потребление меченного по углероду РОВ измерялись в параллельных пробах воды с помощью фракционирования микропланктона (рис. 2). На озерах Аннинском и Лавровском (Псковская обл.) пробы экспонировались с  $^{14}\text{CO}_2$

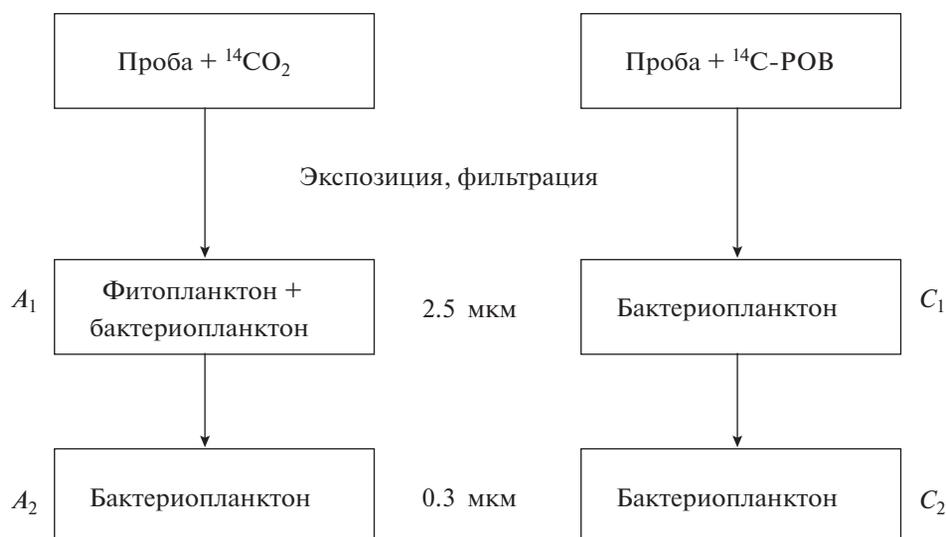


Рис. 2. Схема дифференциальной фильтрации проб воды.  $A_1$  и  $A_2$  – радиоактивность планктона на фильтрах с размером пор 2.5 и 0.3 мкм после экспозиции проб с  $^{14}\text{CO}_2$ ;  $C_1$  и  $C_2$  – то же после экспозиции с радиоактивным органическим субстратом.

в течение 12 ч, с 13:00 до 1:00. Экспозиция охватывала светлое (с 13:00 до 19:00) и темное (с 19:00 до 1:00) время суток. Оценивались потери меченых продуктов фотосинтеза в темноте. Предполагалось, что эти потери связаны с дыханием фито- и бактериопланктона.

По окончании экспозиции пробы фиксировались раствором Люголя и отфильтровывались сквозь фильтры с размером пор 2.5 мкм для удержания клеток фитопланктона. Поскольку в процессе фильтрации плотность фильтров возрастала вследствие их “засорения”, то, естественно, фильтры этого типа адсорбировали на себе также часть бактериальных клеток из размерной фракции <2.5 мкм. Проникшие в фильтрат бактериальные клетки концентрировались на фильтрах с размером пор 0.3 мкм.

Предполагалось, что на первом этапе ступенчатой фильтрации на мембранных фильтрах удерживались все клетки фитопланктона и часть бактериальных клеток. Суммарная радиоактивность этих клеток и эквивалентное ей количество ассимилированного углерода обозначались  $A_1$ . На втором этапе фильтрации (с использованием более плотных фильтров) удерживалась оставшаяся часть бактериопланктона, радиоактивность которого и эквивалентное ей количество ассимилированного углерода обозначались  $A_2$ .

Чтобы учесть распределение гетеротрофных микроорганизмов на фильтрах разной плотности (с размерами пор 2.5 и 0.3 мкм), по той же схеме (рис. 2) проводилось фракционирование микропланктона, предварительно проэкспонированного с радиоактивным органическим субстратом. В качестве субстрата использовался гидролизат

растительного белка с высокой удельной активностью, что позволяло вносить его в экспериментальные сосуды в следовых количествах. Тем самым предотвращалось диффузионное включение субстрата в клетки водорослей.

Если предположить, что в экспериментах гидролизат ассимилировался только бактериями, то соотношения их радиоактивностей на фильтрах с размерами пор 2.5 и 3.0 мкм ( $C_1$  и  $C_2$ ), должны отражать распределение бактериальных клеток на этих фильтрах. Продолжительность экспозиции проб с  $^{14}\text{C}$ -гидролизатом была такой же, как и с  $^{14}\text{CO}_2$ . Динамика потребления РОВ бактериями устанавливалась по результатам дробных экспозиций 3, 6, 9 и 12 ч.

Накопление бактериями  $^{14}\text{C}$ -РОВ, синтезированного, а затем выделенного фитопланктоном за период инкубации с  $^{14}\text{CO}_2$ , рассчитывалось по формуле

$$A_b = A_2(C_1/C_2) + A_2, \quad (1)$$

где  $A_b$  – радиоактивность всех бактерий, перешедшая к ним от меченых продуктов фотосинтеза;  $A_2$  – радиоактивность бактерий, полученная от продуктов фотосинтеза, в размерной фракции 0.3–2.5 мкм;  $C_1$  – радиоактивность бактерий за счет аккумуляции меченого гидролизата в размерной фракции >2.5 мкм;  $C_2$  – то же в размерной фракции 0.3–2.5 мкм. Для оценки доли бактерий, проникших сквозь фильтры с размером пор 2.5 мкм, удобно использовать коэффициент  $c = C_2/(C_1 + C_2)$ . С введением этого коэффициента уравнение (1) принимает вид

$$A_b = A_2/c. \quad (2)$$

**Таблица 1.** Первичная продукция планктона в размерных фракциях >2.5 мкм ( $A_1$ ) и 0.3–2.5 мкм ( $A_2$ ) в озерах Псковской обл. (август 1994–1997 гг.)

Озеро	$n$	$A_1$ , мкг С/(л · ч)	$A_2$ , мкг С/(л · ч)	$A_2/(A_1 + A_2)$
Аннинское	3	$30.9 \pm 17.4$	$2.0 \pm 1.1$	$0.06 \pm 0.03$
»	5	$25.6 \pm 10.6$	$2.4 \pm 0.9$	$0.09 \pm 0.02$
»	5	$11.0 \pm 5.4$	$1.8 \pm 1.1$	$0.18 \pm 0.20$
»	3	$12.5 \pm 5.9$	$2.2 \pm 0.3$	$0.17 \pm 0.07$
Лавровское	3	$11.9 \pm 5.9$	$1.5 \pm 1.1$	$0.11 \pm 0.09$

Примечание.  $n$  – число наблюдений; для табл. 1, 3, 5.

Радиоактивность бактерий за счет аккумуляции меченых продуктов фотосинтеза ( $A_b$ ), отнесенная к суммарной радиоактивности фито- и бактериопланктона ( $A_1 + A_2$ ), показывает, какая доля первичной продукции усваивается бактериями за время эксперимента:

$$A_b/(A_1 + A_2) = (A_2/A_1)(C_1/C_2 + 1)/(A_2/A_1 + 1). \quad (3)$$

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам 6-часовых экспозиций на свету (с 13:00 до 19:00) скорость утилизации  $\text{CO}_2$  размерной фракцией планктона >2.5 мкм ( $A_1$ ) составляла в озерах Аннинском и Лавровском в среднем от 11 до 31 мкг С/(л · ч). На размерную фракцию 0.3–2.5 мкм приходилось от 6 до 18% общей утилизации углекислоты (табл. 1). Предполагалось, что  $A_1$  – продукция фитопланктона в сумме с продукцией бактерий, усвоивших часть продукции фитопланктона,  $A_2$  – продукция фитопланктона, трансформированная в бактериальную продукцию.

Для контроля полноты удержания фитопланктона мембранными фильтрами с размером пор 2.5 мкм подсчитывалась биомасса фитопланктона в фильтрах. В случае проникновения клеток фитопланктона в фильтрат накопление бактериями меченых продуктов фотосинтеза предлагается рассчитывать по формуле (Currie, Kalff, 1984)

$$A_b = [b(A_1 + A_2) - A_1]/(b + c - 1), \quad (4)$$

где  $b = B_1/(B_1 + B_2)$ ,  $B_1$  – биомасса фитопланктона на фильтрах с размером пор 2.5 мкм,  $B_2$  – биомасса фитопланктона в фильтрах,  $c = C_2/(C_1 + C_2)$ . Во всех экспериментах наблюдалось практически 100%-ное удержание фитопланктона на фильтрах с размером пор 2.5 мкм, т.е. значение  $b$  в уравнении (4) было близко к единице (табл. 2). Отметим, что при таком условии уравнение (4) преобразуется в уравнение (2).

Распределение бактериопланктона по размерным фракциям определялось по их радиоактивности, накопленной за время экспозиции с  $^{14}\text{C}$ -гидролизатом. Фильтры с размером пор 2.5 мкм

пропускали ~50% радиоактивных бактерий (табл. 3). Распределение клеток бактерий по фракциям по их радиоактивности контролировалось подсчетом их численности. С этой целью рассчитывался коэффициент

$$n = N_2/(N_1 + N_2), \quad (5)$$

где  $N_1$  – численность бактериальных клеток на фильтрах с размером пор 2.5 мкм,  $N_2$  – их численность в фильтрах. Значения  $C_2/(C_1 + C_2)$  были ближе всего к значениям относительной численности мелких клеток бактерий (диаметром 0.3 мкм). Между численностью крупных клеток (диаметром 0.9 мкм) и радиоактивностью бактериопланктона корреляция была слабая (табл. 4). По-видимому, мелкие палочки и кокки несли основную ответственность за общую ассимиляционную активность гетеротрофных микроорганизмов.

Расчеты, проводившиеся по формуле (3), показали, что бактериопланктон утилизировал в среднем 10–36% продукции фитопланктона (табл. 5). Наблюдая за динамикой потребления  $^{14}\text{CO}_2$  в течение 12 ч (6 ч на свету и 6 ч в темноте), можно сделать вывод, что потери углерода при дыхании фитопланктона и, возможно, бактериопланктона, усвоившего часть меченных по углероду продуктов фотосинтеза, составили  $27 \pm 16\%$  (при медиане 25%) валовой продукции фитопланктона (рис. 3а). Близкий результат был получен в опытах с добавками  $^{14}\text{C}$ -гидролизата: при дыхании микрогетеротрофов утрачивалось  $30 \pm 19\%$  (при медиане 22%) ассимилированного углерода (рис. 3б).

Результаты исследований, выполненных на двух озерах Псковской обл., хорошо согласуются с ранее собранными материалами на трех озерах Монголии и в шести точках Тихого океана ( $25^\circ$ – $57^\circ$  ю.ш. и  $126^\circ$ – $158^\circ$  в.д.), хотя эксперименты на этих водных объектах проводились по несколько иной схеме. Экспозиция проб воды с  $^{14}\text{CO}_2$  составляла 1 сут. Пробы отфильтровывались сквозь мембранные фильтры с размером пор 1.5 мкм (озерная вода) или 0.85 мкм (морская вода). Фильтраты пропускались сквозь фильтры с размером пор 0.23 мкм. Для учета распределения гетеротрофных микроорганизмов на фильтрах раз-

**Таблица 2.** Общая биомасса фитопланктона ( $B_1 + B_2$ ), потери при фильтрации ( $B_2$ ) и степень удержания фитопланктона мембранными фильтрами с размером пор 2.5 мкм (коэффициент  $b$ ) в оз. Аннинском

Дата наблюдения	Биомасса фитопланктона, мг/л		$b = B_1/(B_1 + B_2)$
	$B_1 + B_2$	$B_2$	
Август 1995			
15	7.77	0	1.000
18	6.70	0	1.000
21	4.85	0.027	0.994
24	5.66	0	1.000
27	5.91	0.052	0.991
Среднее	$6.18 \pm 1.11$	$0.016 \pm 0.023$	0.997
Август 1996			
15	2.60	0.180	0.931
18	2.94	0.007	0.998
21	2.88	0.070	0.976
24	2.39	0.097	0.959
27	3.53	0.051	0.986
Среднее	$2.87 \pm 0.43$	$0.081 \pm 0.064$	0.970

**Таблица 3.** Отношение радиоактивности бактерий к исходной радиоактивности субстрата для размерных фракций >2.5 мкм ( $C_1$ ) и 0.3–2.5 мкм ( $C_2$ )

Озеро	$n$	$C_1$	$C_2$	$C_2/(C_1 + C_2)$
Аннинское	3	$0.012 \pm 0.002$	$0.023 \pm 0.009$	$0.64 \pm 0.07$
»	5	$0.046 \pm 0.014$	$0.078 \pm 0.021$	$0.63 \pm 0.05$
»	5	$0.089 \pm 0.046$	$0.089 \pm 0.062$	$0.47 \pm 0.27$
»	3	$0.040 \pm 0.009$	$0.062 \pm 0.031$	$0.58 \pm 0.11$
Лавровское	3	$0.072 \pm 0.024$	$0.086 \pm 0.021$	$0.55 \pm 0.10$

ной плотности проводилась дифференциальная фильтрация проб воды, предварительно проэкспонированных с  $^{14}\text{C}$ -ацетатом и  $^{14}\text{C}$ -глюкозой (в опытах с озерной водой) или  $^{14}\text{C}$ -гидролизатом растительного белка (в опытах с морской водой).

Дифференциальная фильтрация показала, что в юго-западной части Тихого океана при экстре-

мально низком фотосинтезе планктона (1–4 мкг  $\text{C}/(\text{л} \cdot \text{сут})$ ) значения отношений  $A_2/A_1$  были в среднем в 3 раза выше, а значения  $C_1/C_2$  почти во столько же раз ниже, чем в озерах, где скорость фотосинтеза была почти на два порядка выше (табл. 6). Значения  $C_1/C_2$  свидетельствовали о том, что большая часть микрогетеротрофов озер-

**Таблица 4.** Отношение радиоактивности и численности бактерий в размерной фракции <2.5 мкм к общей радиоактивности и численности бактерий (оз. Аннинское, август 1995 г.)

Дата наблюдения	$C_2/(C_1 + C_2)$	Относительная численность клеток		
		всех	мелких	крупных
15	0.57	0.54	0.56	0.31
18	0.58	0.51	0.67	0.19
21	0.64	0.62	0.64	0.44
24	0.67	0.60	0.57	0.86
27	0.67	0.41	0.61	0.15
Среднее	$0.63 \pm 0.05$	$0.54 \pm 0.08$	$0.61 \pm 0.05$	$0.39 \pm 0.26$

**Таблица 5.** Скорость утилизации внеклеточной продукции фитопланктона бактериями ( $A_b$ ) и доля утилизированной ими первичной продукции ( $A_b/(A_1 + A_2)$ )

Озеро	$n$	$A_b$ , мкг С/(л · ч)	$A_b/(A_1 + A_2)$
Аннинское	3	$3.08 \pm 1.53$	$0.10 \pm 0.05$
»	5	$3.83 \pm 1.40$	$0.14 \pm 0.03$
»	5	$4.27 \pm 2.41$	$0.36 \pm 0.21$
»	3	$3.76 \pm 0.20$	$0.28 \pm 0.08$
Лавровское	3	$2.57 \pm 1.69$	$0.19 \pm 0.13$

**Таблица 6.** Утилизация растворенных продуктов фотосинтеза планктона бактериями в некоторых озерах Монголии (лето 1979 г.) и юго-западной части Тихого океана (январь–февраль 1985 г.)

Места наблюдений	$A_1 + A_2$ , мкг С/(л · сут)	$A_2/A_1$	$C_1/C_2$	$A_b$ , мкг С/(л · сут)	$A_b/(A_1 + A_2)$
Озера					
Хара-Нур	115	0.044	5.9	30	0.26
Ногон-Нур	305	0.033	7.4	98	0.32
Дургэн-Нур	83	0.038	2.3	10	0.12
Тихий океан					
ст. 3042	2.5	0.196	0.82	0.82	0.33
ст. 3045	1.57	0.121	0.19	0.19	0.12
ст. 3049	1.02	0.146	0.24	0.24	0.24
ст. 3052	1.58	0.097	0.22	0.22	0.14
ст. 3055	2.29	0.123	0.44	0.44	0.19
ст. 3065	3.3	0.080	0.49	0.49	0.13

ной воды (70–88%) задерживалось на фильтрах с размером пор 1.5 мкм. Из морской воды, отличающейся высокой прозрачностью и, следовательно, малым содержанием взвешенных веществ, на фильтрах с размером пор 0.85 мкм задерживалось 35–65% гетеротрофных микроорганизмов.

Подставляя значения  $A_2/A_1$  и  $C_1/C_2$  в уравнение (3), легко оценить долю первичной продукции планктона, усвоенную бактериальными организмами. Установлено, что в озерных и океанических водах, сильно различающихся по уровню продуктивности, в бактериальную фракцию планктона включалось 12–33% продукции фитопланктона (табл. 6).

Для оценки возможных потерь мелкоклеточно-го фитопланктона размером  $<0.2$  мкм (пикофитопланктона) при фильтрации проб океанической воды сквозь фильтры с размером пор 0.23 мкм измерялась продукция автотрофных организмов четырех размерных фракций и общая продукция ( $A_{\text{общ}}$ ):

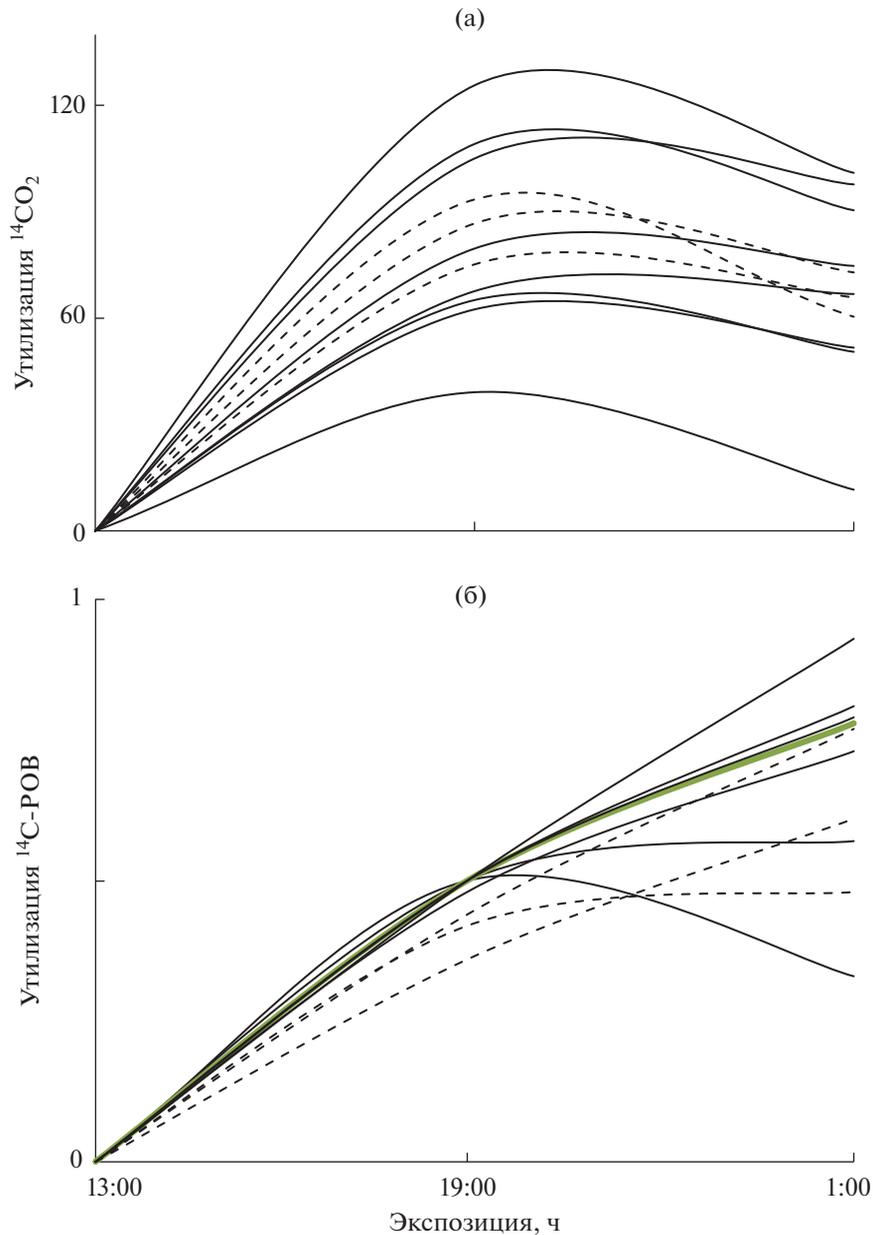
$$A_{\text{общ}} = A_1 + A_2 + A_3 + A_4, \quad (6)$$

где  $A_1$ ,  $A_2$  и  $A_3$  – автотрофная продукция органического вещества, дифференцированная путем последовательной фильтрации проб воды (после экспозиции с  $^{14}\text{CO}_2$ ) сквозь фильтры с размерами

пор соответственно 0.85, 0.23 и 0.045 мкм;  $A_4$  – продукция в конечных фильтрах, т.е. фракции  $<0.043$  мкм. Содержание меченых продуктов фотосинтеза в фильтрах анализировалось после окисления органического углерода персульфатом аммония (Сапожников, Соколова, 1978; Бульон, 1983).

По данным 30 измерений с увеличением  $A_{\text{общ}}$  от 0.1 до 10 мкг С/(л · сут) значения  $A_1$  повышались от 0.07 до 8.7 мкг С/(л · сут). Потери меченого материала при фильтрации снижались в среднем от 30 до 13% общей первичной продукции (табл. 7). Образовавшиеся фильтраты пропускали через фильтры с размером пор 0.23 мкм. Потери меченого органического вещества снизились в среднем до 11%. Главный результат выполненного эксперимента – пропускание вторичных фильтратов сквозь ядерные мембраны с размером пор 0.043 мкм фактически устраняло потери  $^{14}\text{C}$  (табл. 7), т.е. сколь угодно значимое присутствие пикофитопланктона во фракции 0.043–0.23 мкм не прослеживалось.

Представленные здесь экспериментальные данные не противоречат результатам немногочисленных аналогичных или близких по теме работ (Derenbach *et al.*, 1974; Larson, Hagström, 1979), согласно которым 20–30% ассимилированной в



**Рис. 3.** Скорость утилизации <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> фитопланктоном (мкг С/(л · ч)) в светлое (с 13:00 до 19:00) и темное (с 19:00 до 1:00) время суток (а) и доля <sup>14</sup>С-РОВ, утилизированного бактериопланктоном (б). Сплошные линии – оз. Аннинское, штриховые – оз. Лавровское.

процессе фотосинтеза планктона радиоактивной углекислоты трансформируется в бактериальную продукцию. Отношение  $A_b/(A_1 + A_2)$ , по-видимому, слабо зависит от первичной продукции и длительности экспозиции. Есть основания полагать, что скорость потребления углекислоты планктоном ( $A_1 + A_2$ ) – это видимая продукция фитопланктона, так как она помимо продукции автотрофных организмов включает в себя продукцию бактериопланктона за счет потребления им растворенных продуктов фотосинтеза ( $A_b$ ).

Часть утилизированной бактериями первичной продукции подвергается минерализации до CO<sub>2</sub>, однако ее размер трудно поддается экспериментальному определению и обычно оценивается расчетным путем. Можно оценить потери первичной продукции при дыхании бактериопланктона в зависимости от эффективности его роста ( $K_1$ ). Например, если отношение  $A_b/(A_1 + A_2) = 0.2$ , то при  $K_1 = 0.4$  потери при минерализации составят 23% валовой первичной продукции. Расчетное значение укладывается в пределы потерь,

**Таблица 7.** Средние результаты ступенчатой фильтрации проб океанической воды после экспозиции с  $^{14}\text{CO}_2$ 

$A_{\text{общ}}$	$A_1$	Потери при фильтрации, %	$A_1 + A_2$	Потери при фильтрации, %	$A_1 + A_2 + A_3$	Потери при фильтрации, %
0.1	0.07	30	0.09	11	0.1	0
0.4	0.29	27	0.36	11	0.39	2
1.0	0.77	23	0.89	11	0.97	3
4.0	3.3	18	3.6	10	3.8	4
10	8.7	13	9.0	10	9.5	5

Примечание.  $A_{\text{общ}}$ ,  $A_1$ ,  $A_2$  и  $A_3$  в мкг С/(л · сут).

установленных в экспериментах с  $^{14}\text{C}$ -гидролизатом растительного белка (рис. 3б).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для определения продукции фитопланктона в озерах и морских водах разной трофности применен радиоуглеродный метод в сочетании с дифференциальной фильтрацией проб воды, позволяющей разделять автотрофные и гетеротрофные микроорганизмы. Полученные результаты дают основание полагать, что в процессе экспозиции с  $^{14}\text{CO}_2 \sim 25\%$  продукции фитопланктона непосредственно включается в бактериальную фракцию планктона. Приблизительно такая же доля первичной продукции окисляется при дыхании водорослей и бактерий.

Фито- и бактериопланктон – неотъемлемые структурно-функциональные элементы пищевых сетей водоемов. Они играют первостепенную роль в трансформации органического вещества в трофической цепи водных экосистем и являются источником энергии для нехищного метазойного и протозойного планктона. Пищевые связи между этими группами организмов образуют в пищевой цепи так называемую микробиальную петлю. Накопленные результаты в области функционирования микробиальных сообществ успешно используются для создания масс-балансовых моделей биотического потока вещества и энергии в морских и пресноводных экосистемах.

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания № АААА-А19-119020690091-0 “Исследования биологического разнообразия и механизмов воздействия антропогенных и естественных факторов на структурно-функциональную организацию экосистем континентальных водоемов. Систематизация биоразнообразия соленых озер и неполносоленых внутренних морей в зоне критической солености, изучение роли солоноватоводных видов в экосистемах”.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бульон В.В.* Первичная продукция планктона внутренних водоемов. Л.: Наука, 1983. 150 с.
- Бульон В.В.* Закономерности первичной продукции в лимнических экосистемах. СПб.: Наука, 1994. 222 с.
- Бульон В.В., Павельева Е.Б.* Взаимосвязь между численностью бактерий и содержанием хлорофилла в планктоне пресных вод // Микробиология. 1998. Т. 67. № 2. С. 26–266.
- Гусева К.А.* “Цветение” воды, его причины, прогноз и меры борьбы с ним // Тр. Всесоюз. гидробиол. о-ва. 1952. Т. 4. С. 3–92.
- Кузнецов С.И.* Роль микроорганизмов в круговороте веществ в озерах. М.: Изд-во АН СССР, 1952. 300 с.
- Кузнецов С.И.* Микрофлора озер и ее геохимическая деятельность. Л.: Наука, 1970. 440 с.
- Кузьмичева В.И.* Оптимальные условия развития фитопланктона в рыбоводных прудах // Общие основы изучения водных экосистем. Л.: Наука, 1979. С. 236–246.
- Потаенко Ю.С.* Численность, биомасса и продукция бактериопланктона // Экспериментальные и полевые исследования биологических основ продуктивности озер. Л.: Зоол. ин-т АН СССР, 1979. С. 80–102.
- Романенко В.И.* Первичная продукция и бактериальные процессы деструкции органического вещества в Рыбинском водохранилище // Продукционно-биологические исследования экосистем пресных вод. Минск: Изд-во БГУ, 1973. С. 110–125.
- Сапожников В.В., Соколова Ю.И.* Определение валового азота // Методы гидрохимических исследований океана. М.: Наука, 1978. С. 208–215.
- Сорокин Ю.И.* Роль темновой бактериальной ассимиляции углекислоты в трофике водоемов // Микробиология. 1964. Т. 33. № 5. С. 880–886.
- Сорокин Ю.И.* Количественная оценка роли бактериопланктона в биологической продуктивности тропических вод Тихого океана // Функционирование пелагических сообществ тропических регионов океана. М.: Наука, 1971. С. 92–122.

- Фурсенко М.В., Кузьмицкая Н.К.* Микробиологические исследования // Тр. Зоол. ин-та АН СССР. 1975. Т. 57. С. 53–76.
- Aizaki M., Otsuki A., Fukushima T., Hosomi M., Muraoka K.* Application of Carlson's trophic state index and other parameters // Verh. Int. Verein. Limnol. 1981. Bd 21. Pt 1. S. 675–681.
- Anderson G.C., Zeuschel R.P.* Release of dissolved organic matter by marine phytoplankton in coastal and offshore areas of the Northeast Pacific Ocean // Limnol. Oceanogr. 1970. V. 15. № 3. P. 402–407.
- Azam F., Holm-Hansen O.* Use of tritiated substrates in the study of heterotrophy in seawater // Mar. Biol. 1973. V. 23. № 3. P. 191–196.
- Baines S.B., Pace M.L.* The production of dissolved organic matter by phytoplankton and its importance to bacteria: Patterns across marine and freshwater systems // Limnol. Oceanogr. 1991. V. 36. P. 1078–1090.
- Bird D.F., Kalff J.* Empirical relationships between bacterial abundance and chlorophyll concentration in fresh and marine waters // Canad. J. Fish. Aquat. Sci. 1984. V. 41. № 7. P. 1015–1023.
- Cole J.J., Likens G.E., Strayer D.L.* Photosynthetically produced dissolved organic carbon: An important carbon source for planktonic bacteria // Limnol. Oceanogr. 1982. V. 27. № 6. P. 1080–1090.
- Currie D.J.* Large-scale variability and interactions among phytoplankton, bacterioplankton, and phosphorus // Limnol. Oceanogr. 1990. V. 35. № 7. P. 1437–1455.
- Currie D.J., Kalff J.* A comparison of the abilities of freshwater algae and bacteria to acquire and retain phosphorus // Limnol. Oceanogr. 1984. V. 29. № 2. P. 298–310.
- Derenbach J.B., Le P.J., Willams P.J.* Autotrophic and bacterial production: fractionation of planktonic population by differential filtration of samples from English Channel // Mar. Biol. 1974. V. 25. № 4. P. 263–269.
- Descy J.P., Leporeq B., Viroux L., François C., Servais P.* Phytoplankton production, exudation and bacterial re-assimilation in the River Meuse (Belgium) // J. Plankton Res. 2002. V. 24. № 3. P. 161–166.
- Eppley R.W., Sloan P.R.* Carbon balance experiments with marine phytoplankton // J. Fish. Res. Board Can. 1965. V. 22. № 4. P. 1083–1097.
- Fogg G.E.* The extracellular products of algae // Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 1966. V. 4. P. 195–212.
- Fouilland E., Tolosa I., Bonnet D., Bouvier C., Bouvier T., Bouvy M., Got P., Le Floch E., Mostajir B., Roques C., Sempere R., Sime-Ngando T., Vidussi F.* Bacterial carbon dependence on freshly produced phytoplankton exudates under different nutrient availability and grazing pressure conditions in coastal marine waters // FEMS Microbiol. Ecol. 2014. V. 87. P. 757–769.
- Godlewska-Lipowa W.A.* Bacteria as indicator of the degree of eutrophication and degradation of lakes // Pol. Arch. Hydrobiol. 1976. V. 23. № 3. P. 341–356.
- Gomes H., Pant A., Goes J.I., Parulekar A.H.* Heterotrophic utilization of extracellular products of phytoplankton in a tropical estuary // J. Plankton Res. 1991. V. 13. № 3. P. 487–498.
- Harrison W.G., Azam F., Renger E., Eppley R.W.* Some experiments of phosphate assimilation by coastal marine plankton // Mar. Biol. 1977. V. 40. № 1. P. 9–18.
- Hellebust J.A.* Excretion of some organic compounds by marine phytoplankton // Limnol. Oceanogr. 1965. V. 10. № 2. P. 192–206.
- Hobbie J.E., Grawford C.C.* Respiration correction for bacterial uptake of dissolved organic compounds in natural waters // Limnol. Oceanogr. 1969. V. 14. № 4. P. 528–532.
- Iturriaga R., Hoppe H.G.* Observations of heterotrophic activity on photoassimilation organic matter // Mar. Biol. 1977. V. 40. № 2. P. 101–108.
- Larson U., Hagström A.* Phytoplankton exudate release as an energy source for the growth of pelagic bacteria // Mar. Biol. 1979. V. 52. № 3. P. 199–206.
- Larson U., Hagström A.* Fractionated phytoplankton primary production, exudates release and bacterial production in a Baltic eutrophication gradient // Mar. Ecol. 1982. V. 67. № 1. P. 57–70.
- Lasker R., Holmes R.W.* Variability in retention of marine phytoplankton by membrane filters // Nature. 1957. V. 180. № 4597. P. 1295–1296.
- Marra J., Barber R.T.* Phytoplankton and heterotrophic respiration in the surface layer of the ocean // Geophys. Res. Lett. 2004. V. 31. № 9. P. 1–12.
- Morana C., Sarmiento H., Descy J.P., Gasol J.M., Borges A.V., Bouillon S., Darchambeau F.* Production of dissolved organic matter by phytoplankton and its uptake by heterotrophic prokaryotes in large tropical lakes // Limnol. Oceanogr. 2014. V. 59. № 4. P. 1364–1375.
- Nalewajko C.* Photosynthesis and excretion in various plankton algae // Limnol. Oceanogr. 1966. V. 11. № 1. P. 1–10.
- Overbeck J.* Distribution pattern of phytoplankton and bacteria, microbial decomposition of organic matter and bacterial production in eutrophic, stratified lakes // Productivity problems of freshwater. Warszawa; Krakow: Pol. Sci. Publ., 1972. P. 227–237.
- Rai H.* Chlorophyll pigments in the Central Amazon lake ecosystems // Verh. Int. Verein. Limnol. 1978. Bd 20. Pt 2. S. 1192–1197.
- Robarts R.D., Sephton L.M.* Phytoplankton extracellular dissolved organic carbon production in a hypertrophic African Lake // Hydrobiologia. 1989. V. 182. P. 131–148.
- Samuel S., Shah N.M., Fogg G.E.* Liberation of extracellular products of photosynthesis by tropical phytoplankton // J. Mar. Biol. Ass. U.K. 1971. V. 52. № 4. P. 793–798.
- Sondergaard M., Riemann B., Jorgensen N.O.G.* Extracellular organic carbon (EOC) released by phytoplankton and bacterial production // Oikos. 1985. V. 45. № 3. P. 323–332.
- Steemann Nielsen E.* The use of radioactive carbon ( $C^{14}$ ) for measuring organic production in the sea // J. Cons. 1952. V. 18. № 1–3. P. 117–140.

- Thomas J.F.* Release of dissolved organic matter from natural populations of marine phytoplankton // *Mar. Biol.* 1971. V. 11. № 4. P. 311–323.
- Waite D.T., Duthie H.C.* Heterotrophic utilization of phytoplankton metabolites of Sunfish Lake, Ontario // *Verh. Int. Verein. Limnol.* 1975. Bd 19. Pt 1. S. 672–680.
- Watt W.D.* Release of dissolved organic matter from the cells of phytoplankton population // *Proc. Roy. Soc. B.* 1966. V. 164. № 997. P. 521–551.
- Weibe W.J., Smith D.F.* Direct measurement dissolved organic carbon released by phytoplankton and incorporation by microheterotrophs // *Mar. Biol.* 1977. V. 42. № 3. P. 213–223.
- Wolter K.* Bacterial incorporation of organic substances released by natural phytoplankton population // *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 1982. V. 17. № 3. P. 287–295.
- Wright R.T., Hobbie J.R.* Use of glucose and acetate by bacteria and algae in aquatic ecosystems // *Ecology.* 1966. V. 47. № 3. P. 447–454.

## **Extracellular Phytoplankton Production and Its Importance for Heterotrophic Activity of Bacteria**

**V. V. Bouillon<sup>#</sup>**

*Zoological Institute RAS, Universitetskaya nab. 1, Saint Petersburg, 199034 Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: vbouillon@mail.ru*

The ecological role of the extracellular production of phytoplankton is discussed. Experiments using the radiocarbon method in combination with differential filtration of water samples have shown that on average ~20% of phytoplankton production in sea and fresh waters of different productivity is transformed into bacterial production.

УДК 504.054:504.064.36:574.4:631.433

## ТРАНСФОРМАЦИЯ УГЛЕРОДА В АГРОЭКОСИСТЕМАХ НА РАЗНЫХ ТИПАХ ПОЧВ ПРИБАЙКАЛЬЯ В УСЛОВИЯХ АЭРОТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ И КЛИМАТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ

© 2021 г. Л. В. Помазкина\*, Ю. В. Семенова\*, @, Н. Н. Кириллова\*

\*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, ул. Лермонтова, 132, Иркутск, 664033 Россия

@E-mail: yusemenova75@mail.ru

Поступила в редакцию 28.12.2018 г.

После доработки 15.04.2019 г.

Принята к публикации 17.05.2019 г.

Проанализированы мониторинговые исследования трансформации углерода в агроэкосистемах в аэротехногенно-загрязненных тяжелыми металлами разных типах почв в годы, отличавшиеся от “климатической нормы”. Экспериментально оценены негативные воздействия изменяющихся условий среды на содержание микробомассы и эмиссии CO<sub>2</sub> в разных почвах. Экофизиологические параметры, характеризующие доступность субстрата и (ре)иммобилизацию углерода в почвах, обнаружили зависящие от изменения среды активность и устойчивость микробного сообщества. Методология системного анализа внутрпочвенного цикла углерода, количественная оценка потоков нетто-минерализованного и (ре)иммобилизованного углерода и их соотношение впервые использованы для интегральной оценки режимов функционирования агроэкосистем и уровней экологической нагрузки.

DOI: 10.31857/S0002332921030115

Современные климатические изменения и интенсивное техногенное загрязнение окружающей среды – основание для экологических исследований, немногочисленных на территории разных регионов РФ. Изучение их негативных воздействий заслуживает особого внимания для оценки состояния и устойчивого функционирования агроэкосистем. В Прибайкалье в длительном мониторинге изучение циклов углерода и биосферных функций агроэкосистем в разных по генезису почвах, зависящих от изменения условий среды, проводятся впервые.

Как известно, потепление климата в последние десятилетия связано с интенсивным поступлением CO<sub>2</sub> в атмосферу. Необходимость количественной оценки эмиссии CO<sub>2</sub> на территориях разных регионов в мире постоянно отмечается в ежегодных докладах МГЭИК, отчетах РОСГИДРОМЕТ и многочисленных научных публикациях (Кудеяров, Курганова, 2005; Мохов и др., 2006; Ларионова и др., 2010; Замолодчиков, 2013; Кудеяров, 2015; и др.). Актуальность решения обусловленных глобальным изменением климата проблем подтверждает подписание РФ нового международного Парижского климатического соглашения (2016 г.), в котором подчеркивается необходимость сокращения эмиссии CO<sub>2</sub> в атмосферу не только индустриальными выбросами, но и почвенным по-

кровом. Необходимость количественной оценки дыхания почв очевидна и на территории РФ, особенно в агроэкосистемах (Заварзин, Кудеяров, 2006; Кудеяров, 2015; Pomazkina, Semenova, 2016).

Воздействие природных и антропогенных факторов на трансформацию углерода, включая эмиссию CO<sub>2</sub> в агроэкосистемах в разных типах почв конкретной природной территории, мало изучено. Необходимо провести экспериментальные исследования, позволяющие оценивать активность деструкционных процессов в агроэкосистемах, которые зависят как от свойств почв, так и от экологической нагрузки, включая техногенное загрязнение почв в условиях современных климатических изменений. Для корректной оценки ежегодных негативных воздействий на трансформацию углерода в агроэкосистемах наиболее перспективны длительные мониторинговые исследования (Помазкина, 2004, 2015; Ларионова и др., 2010).

В мониторинге (1997–2015 гг.) в агросерой почве Прибайкалья, загрязненной фторидами алюминия производством, в агроэкосистемах впервые было экспериментально выявлено повышение активности процессов минерализации почвенного углерода и поступления эмиссии CO<sub>2</sub> в атмосферу. Исследований, связанных с оценкой негативных воздействий факторов среды на функционирование агроэкосистем в отличающихся генезисом агро-

техногенно-загрязненных почвах в разных регионах РФ, было проведено немного. Отсутствуют показатели, позволяющие оптимально оценивать функционирование и состояние агроэкосистем в разных по свойствам почвах, особенно в современных условиях изменяющейся среды. Экспериментальных решений проблем с помощью длительного агроэкологического мониторинга на конкретной природной территории известно немного. Подходы к решению этих проблем, в том числе основанные на методологии сравнительного и системного анализа, позволяющей интегрально оценивать негативные воздействия факторов среды на функционирование, состояние и развитие агроэкосистем, включая экологическую нагрузку, недостаточно разработаны.

Цель работы – с помощью длительного агроэкологического мониторинга, проведенного в разных типах почв Прибайкалья, аэротехногенно-загрязненных тяжелыми металлами (ТМ), на фоне климатических изменений исследовать ежегодную трансформацию углерода, интегрально оценить режимы функционирования, состояние и экологическую нагрузку на агроэкосистемы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

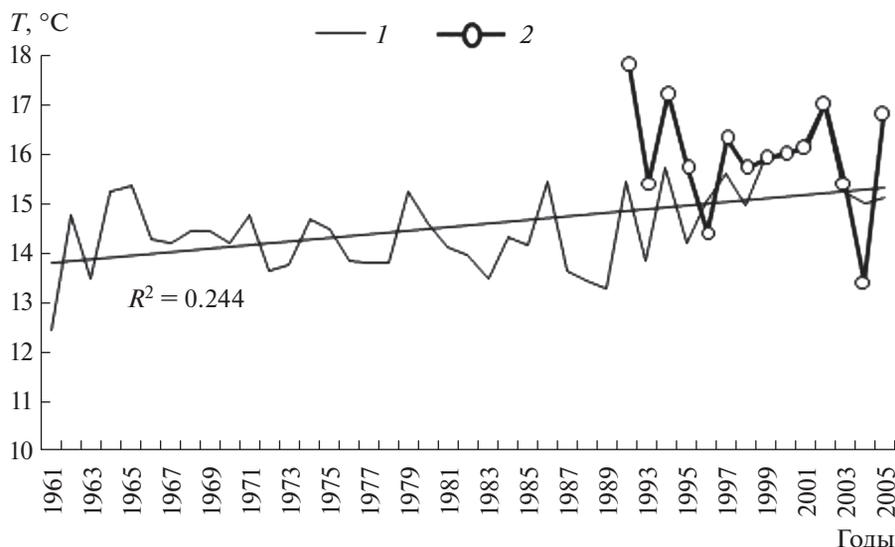
Исследования проводили в 1992–2005 гг. с помощью агроэкологического мониторинга на территории Иркутско-Черемховской равнины Прибайкалья (Атлас, 2004). Приуроченность земледелия к промышленно развитому району приводит к аэротехногенному загрязнению почв ТМ. Экспериментальные исследования в агроэкосистемах в техногенно-загрязненных ТМ разных типах почв выполняли на территории стационара СИФИБР СО РАН “Заларинский” (52°–55° с.ш. и 100°–106° в.д.). Полевые опыты осуществляли по ранее разработанному плану (Помазкина, 2004, 2015; Pomazkina, 2011). Для проведения исследований загрязненные ТМ почвы, условно обозначенные как аллювиальные (FE, FH) и агросерая (LP), были вывезены из зоны импактного загрязнения предприятием АО “Саянскхимпласт” на экспериментальный участок стационара СИФИБР СО РАН. В ограниченных каркасами делянках (1 м<sup>2</sup>) на участке незагрязненной почвы стационара формировали пахотный и подпахотный слой загрязненных почв. Постановка опытов устраняла их неконтролируемое техногенное загрязнение ТМ и обеспечивала репрезентативный отбор проб в исследованиях. Полевые опыты в загрязненных ТМ почвах FE, FH и в почве LP проводили одновременно. Число делянок в опытах соответствовало числу полей звена интенсивного севооборота (пар–пшеница первого года–пшеница второго года), повторность четырехкратная. Наблюдения за изменением гидротермических показателей включали в себя инструментальные измерения

температуры воздуха, количества осадков, влажности и температуры почв в течение вегетации.

Физические и химические свойства почв, включая качественный состав гумуса, анализировали общепринятыми методами (Агрохимические..., 1975). Валовое содержание элементов ТМ в почвах оценивали атомно-абсорбционным методом (анализатор Perkin-Elmer-503). Ежегодно в течение вегетации (110 сут) в режиме оперативного мониторинга (шаг 7 сут) абсорбционным методом определяли среднесуточную скорость эмиссии CO<sub>2</sub> из почв (Шарков, 1987). Контрольные измерения проводили газоанализатором Инфралит-4. Суммарный за вегетацию показатель рассчитывали путем линейной интерполяции. Одновременно методом регидратации (Благодатский и др., 1987) оценивали содержание углерода почвенной микробной биомассы (C<sub>мик</sub>). Повторность измерений четырехкратная. Еженедельные значения показателей использовали для расчета средних за месяц, вегетацию, межсезонье и за год. На основе ежегодных экспериментальных данных рассчитывали содержание C<sub>мик</sub> в почве и эмиссию C–CO<sub>2</sub>. Поступление C–CO<sub>2</sub> в атмосферу рассматривали как количество нетто-минерализованного углерода (НМ), а C<sub>мик</sub> как его (ре)иммобилизацию (РИ) вследствие ресинтеза и рециркуляции в почве. Экофизиологическими индикаторами, характеризующими активность микробного сообщества, были удельная дыхательная активность (УДА; C–CO<sub>2</sub>/C<sub>мик</sub>, мг C/г · ч) микроорганизмов как показатель затрат углерода на дыхание единицы микробной биомассы, а также относительное содержание в почве углерода микробной биомассы (C<sub>мик</sub>/C<sub>орг</sub>, %), которое представляет собой активный пул доступных к минерализации углеродсодержащих веществ (Помазкина, 2004, 2015; Pomazkina, 2011).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Характеристика климатических условий.** В связи с потеплением в последние десятилетия возникает необходимость оценивать влияние климатических изменений на функционирование и состояние агроэкосистем. По имеющимся многолетним данным (Справочник..., 1966) в Прибайкалье климат резко континентальный, отличающийся контрастным изменением среднесуточной температуры воздуха. Среднегодовая температура воздуха колеблется от –1 до –3°С. Малоснежная зима длится >5 мес. Весна неустойчивая, безморозный период 90–110 сут. Сумма температур >10°С составляет 1595°С. Среднесуточная температура июля 17–18°С. Годовое количество осадков 270–386 мм, максимум (80–90%) приходится на теплый период. Весна и начало лета бывают засушливыми. Осень короткая и неустойчивая, температура резко



**Рис. 1.** Ежегодные за вегетацию изменения среднесуточной температуры воздуха. Тренд за 1961–2005 гг. по данным метеостанции “Залари” (1), тренд за период мониторинга 1992–2005 гг. по данным мониторинга (2). *R* – достоверность аппроксимации.

понижается в начале октября. Условия для земледелия считаются экстремальными.

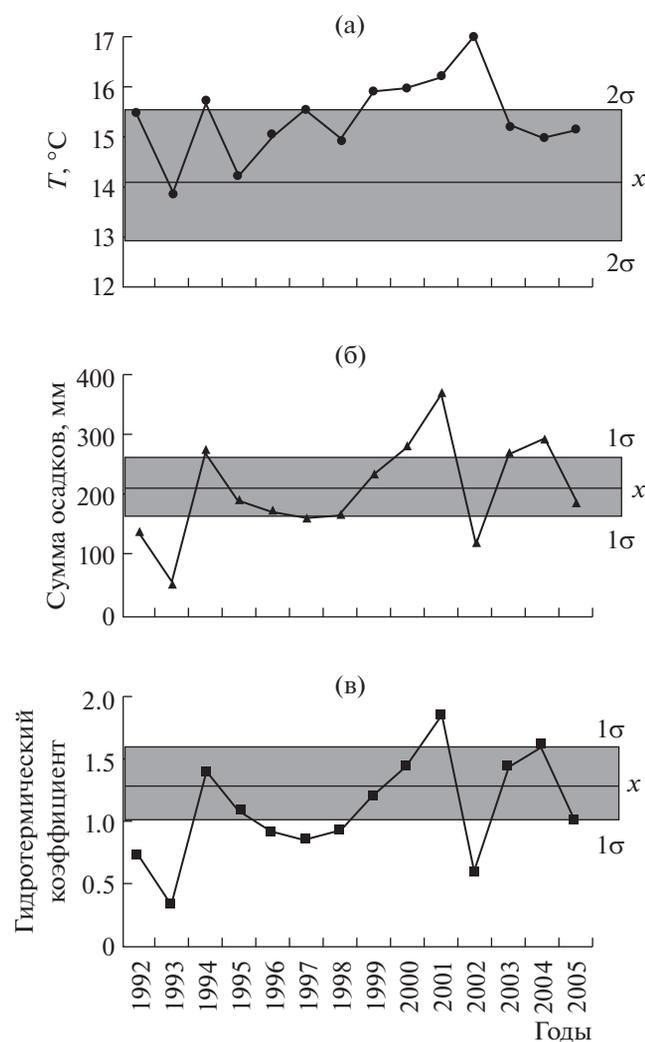
По данным РОСГИДРОМЕТ современные изменения климата в регионе выражены в повышении суммы активных температур воздуха и в снижении количества осадков. В периоды мониторинга ежегодные изменения температуры воздуха корректировали по данным близлежащей метеостанции “Залари” (ВНИИГМИ; <http://www.meteo.ru>), которые использовали и для расчета “климатической нормы” за период вегетации. Тренд изменения среднесуточной температуры воздуха за 1961–2005 гг. демонстрирует ее повышение, где значение достоверности аппроксимации *R* составляет 0.2441 (рис. 1). В полевых опытах температура воздуха за 1992–2005 гг. совпадает с показаниями метеостанции. Так, в 1997 г. температура воздуха была ниже, чем в 2002 г., в котором в отличие от 2004 г. она достигала максимума. В разные годы мониторинга изменения гидротермических условий относительно “климатической нормы” за период вегетации показали повышение среднесуточной температуры воздуха и варьирование суммы осадков (рис. 2). Так, если температура воздуха превышала норму (стандартное отклонение  $2\sigma$ ), то сумма осадков в основном была в пределах нормы (218 мм), как и влагообеспеченность. Гидротермический коэффициент Селянинова (ГТК) составлял 1.30, что соответствовало уровню “достаточная” влагообеспеченность (Зоидзе, Хомякова, 2006).

Сравнивая средние за вегетацию показатели, были выделены отдельные годы. Близким к норме был 1997 г., в котором количество осадков 163 мм, среднесуточная температура воздуха 15.6°C, а ГТК

0.85. Наименьшим количеством осадков (122 мм) отличался 2002 г., в котором температура воздуха была выше нормы (17.0°C), а влагообеспеченность была низкая (ГТК 0.58). В 2004 г. температура снижалась (15.0°C), количество осадков было высокое (297 мм), а показатель ГТК (1.61) указывал на избыточную влагообеспеченность. Полученные в эти годы данные экспериментов использовали для сравнительного анализа воздействия гидротермических условий на трансформацию углерода и состояние агроэкосистем в разных почвах.

**Характеристика свойств почв.** Как известно, экологические функции почв зависят преимущественно от содержания органического вещества, определяющего плотность сложения, структурно-агрегатный состав, а также емкость катионного обмена (ЕКО), буферность, рН и другие свойства, которые влияют на накопление и поведение ТМ в условиях техногенного загрязнения разных типов почв (Мотузова, Безуглова, 2007; Ильин, 2012; и др.).

Согласно классификации (Классификация..., 2004) исследуемые почвы соответствуют следующим типам: FE – агрогумусовая аллювиальная, слабогумусированная почва, легкосуглинистая (Eutric Fluvisols (Loamic, Aric, Ochric)), FH – агрогумусовая аллювиальная сильногумусированная среднесуглинистая (Fluvisols Phaeozem (Loamic, Aric)) и LP – агросерая, тяжелосуглинистая, среднегумусированная (Luvic Retic Greyzem Phaeozem (Loamic, Aric)). Характеристика почв приведена в табл. 1. Менее благоприятными свойствами отличалась аллювиальная почва FE,



**Рис. 2.** Стандартные отклонения ( $\sigma$ ) от климатической нормы ( $x$ ) средних значений за вегетацию температуры воздуха (а), суммы осадков (б) и гидротермического коэффициента (ГТК) (в) в разные годы за период мониторинга.

имеющая очень низкое содержание  $C_{\text{общ}}$ , среднюю степень гумификации, фульватный тип гумуса, высокую долю (39%) гуминовых кислот (ГК), связанных с минеральной основой (табл. 2) (Орлов и др., 2004; Семенов, Когут, 2015). Почва

FN имела чисто гуматный тип гумуса, очень высокую степень гумификации (45%) и низкую долю связанных с минеральной основой ГК (11%). Агросерая почва LP отличались высокой степенью гумификации, фульватно-гуматным типом гумуса и преобладанием ГК. Содержание новообразованных веществ, соответствующих первой стадии гумификации ( $C_{\text{ГК1}} : C_{\text{ФК1}}$ ), а также характеризующих вторую стадию гумификации полимеризованных ( $C_{\text{ГК2}} : C_{\text{ФК2}}$ ), в почвах различалось (Овчинникова, 2002). В почве FE новообразованных веществ было больше (1.42), а в почве FN преобладали полимеризованные (3.62). В почве LP их оказалось больше, чем новообразованных (1.09).

**Загрязнение почв ТМ.** Негативное действие аэротехногенного загрязнения разных почв на состояние агроэкосистем связано не только с накоплением ТМ в почвах, но и с воздействием их на почвенную биоту и продуктивность полевых культур (Мотузова, Безуглова, 2007; Ильин, 2012; и др.). Известно, что поведение элементов ТМ в разных типах почв зависит от гранулометрического состава, количества и качества гумусовых веществ, содержания оксидов железа и алюминия, pH среды, окислительно-восстановительного потенциала и других свойств. Трансформация элементов ТМ в почвах связана преимущественно с активностью процессов ионного обмена, комплексообразования и хемосорбции. Сорбция отдельных элементов при снижении pH и ЕКО в почвах повышается (Соколова и др., 1991; Мотузова, Безуглова, 2007; Ильин, 2012). Отмечено, что в загрязненных почвах ЕКО зависит меньше от реакции среды, чем от количества тонкодисперсных частиц, а больше от содержания и состава гумусовых веществ (Глазовская, 1997; Ильин, 2012). Экспериментально показано, что связывание ТМ гуминовыми кислотами обусловлено не только ионной силой и pH, но и конкуренцией ионов ТМ за реакционные центры. Координационные связи с ГК образуют интенсивнее Cu и Pb, чем Zn и Cd, для которых характерны взаимодействия по типу ионного обмена. Отличия почв по составу гумусовых веществ влияют на накопление и поведение ТМ. В пахотном слое их

**Таблица 1.** Физико-химические свойства почв (0–20 см)

Почва	Сумма частиц <0.01 мм, %	Плотность сложения, г/м <sup>3</sup>	Гумус		pH <sub>сол</sub>	ЕКО	Ca <sup>2+</sup> + Mg <sup>2+</sup>	Степень насыщенности основаниями
			%					
						смоль(экв)/кг		
FE	21.4	1.20	1.1	0.08	5.4	10.9	10.6	76
FN	37.9	1.01	5.3	0.32	7.0	41.0	38.8	93
LP	47.4	1.15	2.7	0.20	5.8	27.5	23.5	87

**Таблица 2.** Характеристика качественного состава гумусовых веществ почв

Показатель	Почва			Источник
	FE	FH	LP	
Содержание $C_{\text{общ}}$ , %	0.75	3.12	1.75	(Орлов и др., 2004)
Степень гумификации ( $C_{\text{ГК}} : C_{\text{общ}}$ ), %	21	45	40	То же
Тип гумуса ( $C_{\text{ГК}} : C_{\text{ФК}}$ )	0.7	2.2	1.4	»
$C_{\text{ГК1}} : C_{\text{ФК1}}$	1.42	1.07	1.09	(Овчинникова М.Ф., 2002)
$C_{\text{ГК2}} : C_{\text{ФК2}}$	0.41	3.62	1.86	То же
Доля ГК, прочно связанных с минеральной основой, % суммы	39	11	30	(Орлов и др., 2004)

Примечание. ГК – гуминовые кислоты, ФК – фульвокислоты.

**Таблица 3.** Валовое содержание тяжелых металлов (мг/кг) и суммарное загрязнение ( $Z_c$ ) в пахотном слое почв

Почва	Cd	Cr	Cu	Hg	Pb	Zn	Mn	$Z_c$
FE	0.10	92	14	0.10	19	81	510	4.46
FH	0.60	50	25	0.10	20	79	860	4.64
LP	0.40	51	22	0.20	20	85	1000	9.77
ПДК	–	70	55	2.1	30	100	1500	–

Примечание. Гигиенические нормативы ГН 2.1.7.2041-06. Предельно допустимые концентрации химических веществ в почве; “–” – ПДК отсутствует.

накапливается больше, что зависит от активности комплексообразования, особенно при повышении гумуса. Подвижность элементов ТМ в разных почвах обусловлена окислительно-восстановительными свойствами и реакцией среды (Глазовская, 1997). Большинство элементов более подвижны при pH 5.5–7.5. В кислой среде более токсичны Cd и Hg, чем Cu и Zn. Умеренно токсичны Pb и Cd в отличие от Cr, Cu и Zn, которые слабо подвижны в нейтральной и щелочной среде. В кислых почвах умеренно подвижны и менее токсичны Cr, Cu, Zn. Независимо от кислотно-щелочных условий подвижной и очень токсичной считается Hg.

Содержание элементов ТМ в почвах показано в табл. 3. Количества Cd и менее токсичных Cr и Zn во всех почвах различались. Вероятно, аккумуляция элементов ТМ существенно зависела от свойств почв. В почве FE, отличавшейся содержанием тонкодисперсных частиц, гумуса и pH, содержание Cr было выше ПДК в отличие от содержания Cd, Cu и Mn. Количество Pb было втрое ниже ПДК во всех почвах, а менее токсичный и умеренно подвижный Cr преобладал. В почве FE содержание Cu и Mn, как и токсичного в кислой среде Cd, обусловлено, возможно, их подвижностью вследствие низкого содержания гумуса, pH и ЕКО. Во всех почвах близкое содержание особо токсичной Hg (малозагрязненные по ПДК (ГН 2.1.7.2041-06)) обусловлено аэровыбросами пред-

приятия. По элементному составу в почвах были выявлены следующие убывающие ряды: FE – Mn > Cr > Zn > Pb > Cu > Cd и Hg; FH – Mn > Zn > Cr > Cu > Pb > Cd > Hg; LP – Mn > Zn > Cr > Cu и Pb > Cd > Hg.

Суммарное загрязнение ( $Z_c$ ) ТМ было сравнительно меньше в почве LP, чем в FE, а минимумом отличалась почва FH. Вероятно, несмотря на одинаковые значения  $Z_c$ , соответствующие уровню допустимого загрязнения, аккумуляции элементов ТМ в почвах различались.

**Влияние факторов среды на микробную трансформацию углерода в агроэкосистемах на разных почвах.** Содержание и поведение элементов ТМ в разных по свойствам почвах влияет на компоненты агроэкосистемы. Особый интерес представляет их негативное воздействие на почвенный микробный комплекс, или сообщество как “организованное целое” (Благодатский и др., 1987; Звягинцев и др., 1999; Помазкина, 2004, 2015). В полевых опытах активность почвенного микробного комплекса исследовали по изменению  $C_{\text{мик}}$  и скорости эмиссии  $CO_2$  в разные годы. Приведенные в табл. 4 значения  $C_{\text{мик}}$  за вегетацию демонстрируют колебания, которые в почве FE (пар) составляли 8.2–20.9, в FH – 34.7–54.6, а в LP – 20.9–36.8 мг/100 г. Средние за вегетацию значения  $C_{\text{мик}}$  были соответственно 14.6, 43.1 и 27.3 мг/100 г. Наиболее высокими показатели бы-

**Таблица 4.** Среднее за вегетацию содержание микробной биомассы и скорости эмиссии CO<sub>2</sub> в агроэкосистемах в разных типах почв, загрязненных ТМ, в разные по гидротермическим условиям годы

Год	Пар			Посев		
	FE	FN	LP	FE	FN	LP
Содержание С <sub>мик</sub> , мг/100 г						
1997	20.9 ± 3	54.6 ± 5	36.8 ± 1	18.8 ± 3	50.2 ± 4	36.0 ± 1
2002	9.5 ± 1	34.7 ± 4	20.4 ± 4	9.3 ± 2	26.8 ± 4	18.6 ± 2
2004	9.6 ± 2	38.0 ± 3	20.9 ± 2	10.8 ± 2	31.9 ± 4	20.2 ± 2
Среднее за мониторинг	14.6 ± 1	43.1 ± 2	27.3 ± 1	13.9 ± 1	40.4 ± 2	27.8 ± 2
НСР <sub>0,95</sub>	1.08	2.36	2.70	0.72	2.53	2.86
V, %	31	18	18	42	29	35
Скорость эмиссии CO <sub>2</sub> , г/(м <sup>2</sup> · сут)						
1997	2.5 ± 0.4	3.3 ± 0.3	3.2 ± 0.4	4.6 ± 0.8	5.5 ± 0.6	5.3 ± 0.7
2002	3.2 ± 0.3	4.5 ± 0.6	4.1 ± 0.7	3.8 ± 0.5	5.8 ± 0.7	5.0 ± 0.6
2004	3.8 ± 0.4	5.1 ± 0.5	4.1 ± 0.3	5.6 ± 0.8	6.3 ± 0.7	5.7 ± 0.8
Среднее за мониторинг	3.3 ± 0.2	4.2 ± 0.3	3.7 ± 0.2	5.0 ± 0.2	6.0 ± 0.3	5.5 ± 0.2
НСР <sub>0,95</sub>	0.27	0.21	0.27	0.39	0.46	0.32
V, %	23	22	19	46	39	42

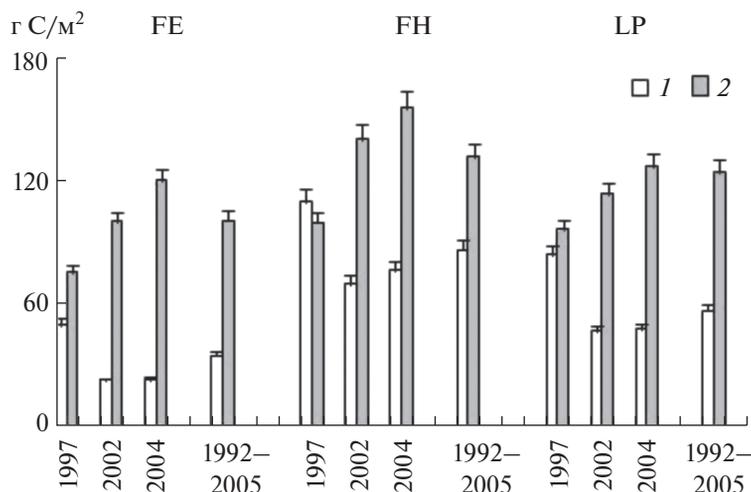
Примечание. ± – ошибка среднего; для табл. 4 и 6. НСР – наименьшая существенная разность, V – варибельность.

ли в почве FN, отличавшейся высоким содержанием С<sub>общ</sub>. Зависящие от свойств почв различия в посевах были аналогичными. В близком к норме 1997 г. во всех почвах и в пару, и в посевах содержание С<sub>мик</sub> было выше, чем в другие годы. В почве FN показатель оказался вдвое больше, чем в почве FE (18.8 мг/100 г). В пару и посевах в засушливом 2002 г. значения С<sub>мик</sub> в почвах различались, как и в избыточно влажном 2004 г.

Свойства почв влияли и на изменение показателей эмиссии CO<sub>2</sub> из почв (табл. 4). За период мониторинга их колебание в почве FE в пару составляло 2.1–4.8, в FN 3.3–5.1, а в LP 2.1–4.9 г/(м<sup>2</sup> · сут), а средние многолетние значения показателя составляли соответственно 3.3, 4.2 и 3.7 г/(м<sup>2</sup> · сут). Зависящие от свойств почв отличия в посевах были такие же, как в пару. Средняя за мониторинг эмиссия CO<sub>2</sub> в почве FN была больше, чем в FE и LP. В разные годы показатели различались. В близком к норме 1997 г. в почве FE в пару они были минимальными (2.5 г/(м<sup>2</sup> · сут)). В аномальные годы в почвах FE и LP показатели существенно увеличивались. В среднем за мониторинг они были больше в почве FN (4.2 г/(м<sup>2</sup> · сут)), что соответствовало высокому содержанию С<sub>мик</sub> (45.1 мг/100 г). В почве FE показатель оказался меньше (3.3 г/(м<sup>2</sup> · сут)). Следовательно, эмиссия CO<sub>2</sub> зависела как от свойств разных почв, так и от изменения факторов среды.

Статистический анализ показателей содержания С<sub>мик</sub> и эмиссии CO<sub>2</sub> на фоне климатических изменений в разные годы мониторинга выявил их зависимость от свойств почв и загрязнения ТМ. Между трансформацией углерода и гидротермическими факторами была линейная связь. В почвах FN и LP (пар) зависимость между содержанием С<sub>мик</sub> и влажностью почв была прямой и близкой ( $r = 0.43$  и  $0.45$ ), причем в почве FE более тесная ( $r = 0.54$ ). Зависимость скорости эмиссии CO<sub>2</sub> от влажности почв оказалась обратной, особенно в почве FE ( $r = -0.50$ ), а от температуры воздуха – прямой и положительной. Во всех почвах и в пару, и в посевах связь содержания С<sub>мик</sub> с температурой воздуха оказалась недостоверной, а со скоростью эмиссии CO<sub>2</sub> характеризовалась  $r = 0.36-0.47$ . Таким образом, содержание С<sub>мик</sub> больше зависело от влажности почв, а эмиссия CO<sub>2</sub> – от температуры. Прямая и достоверная связь между повышением температуры воздуха и эмиссией CO<sub>2</sub> в атмосферу представляет интерес в связи с биосферной ролью агроэкосистем. В целом статистический анализ указывает на многофакторные и нелинейные зависимости между факторами среды и компонентами агроэкосистемы.

Оценка содержания С<sub>мик</sub> и скорости эмиссии CO<sub>2</sub> в пересчете на углерод с учетом плотности сложения почв (г С/м<sup>2</sup>) характеризует различия показателей в разные годы и в среднем за мониторинг (рис. 3). Если в близком к норме 1997 г. в



**Рис. 3.** Содержание углерода микробной биомассы (1) и эмиссия С—СО<sub>2</sub> (2) на разных типах почв (пар, г С/м<sup>2</sup>). Почвы: FE – аллювиальная слабогумусированная, FH – аллювиальная сильногумусированная, LP – агросерая среднегумусированная; для рис. 3, 4.

почве FE (пар) значение  $C_{\text{мик}}$  было меньше, чем в почвах FH и LP (50 против 110 и 85 г С/м<sup>2</sup>), то эмиссия оказалась в 1.5 раза больше. В отличавшиеся по гидротермическим условиям годы показатели зависели от свойств почв. В аномальные годы, особенно в избыточно влажном 2004 г., в почве FE эмиссия СО<sub>2</sub> была больше, а содержание  $C_{\text{мик}}$  было меньше (соответственно 121 и 23 г С/м<sup>2</sup>). Такие же, но менее значительные отличия были и в других почвах. Вероятно, в условиях повышенной влагообеспеченности 2004 г. увеличение затрат углерода на эмиссию больше зависело от содержания общего углерода в почве. Средние за мониторинг показатели характеризуют аналогичные различия. Например, в почве FE (пар) содержание  $C_{\text{мик}}$  составляло 35, в FH – 87, а в LP – 57 г С/м<sup>2</sup>. Соответственно почвам отличия по эмиссии СО<sub>2</sub> – 101, 133 и 125 г С/м<sup>2</sup>. В почве FE значения показателей были существенно выше, чем в почве FH. Динамические изменения показателей С—СО<sub>2</sub> и  $C_{\text{мик}}$  в разных почвах демонстрируют ответную реакцию на изменение условий среды.

Как показано в табл. 5, характеризующие состояние микробного сообщества разных почв сопряженные изменения экофизиологических показателей ( $C_{\text{мик}}/C_{\text{орг}}$ , % и С—СО<sub>2</sub>/С<sub>мик</sub>, мг/(г · ч)) позволяют сравнить их зависимость от условий среды в отдельные годы. В близком к норме 1997 г. в почвах FH и LP относительное содержание  $C_{\text{мик}}$  было выше, в отличие от характеризующего затраты углерода на единицу микробной биомассы показателя УДА. Так, в почве FE различия оказались более значительными (соответственно 2.5% и 0.6 мг/(г · ч)), как и средние за мониторинг показатели (2.0% и 1.2 мг/(г · ч)). В аномальные годы

затраты углерода на дыхание резко повышались (1.6 и 1.9 мг/(г · ч)), тогда как содержание  $C_{\text{мик}}$  снижалось (1.3 и 1.5% соответственно в 2002 и 2004 гг.). Наибольшие отличия, характеризующие снижение устойчивости микробного комплекса к загрязнению ТМ и климатическим изменениям, были в слабогумусированной почве FE.

Сравнительный анализ временных изменений в функционировании микробного сообщества почв, различавшихся свойствами, содержанием и качественным составом гумуса, позволяет сделать следующее обобщение: в легкосуглинистой слабогумусированной почве FE снижение УДА можно рассматривать как следствие необходимости повышения затрат углерода на адаптацию, а не на рост  $C_{\text{мик}}$ . В этой почве активность метаболизма микробного сообщества в основном лимитировалось содержанием и доступностью субстрата вследствие низкого содержания  $C_{\text{орг}}$  и роста  $C_{\text{мик}}$ . На повышение затрат на дыхание микробного сообщества повлияла, вероятно, необходимость выживания в неблагоприятных условиях. В почве FH затраты углерода на дыхание меньше зависели от недостатка доступного субстрата, как и рост микробной биомассы, вследствие большего содержания общего углерода и увеличения его РИ. Зависящая от свойств почв активность микробной биомассы способствовала повышению адаптивного потенциала, который в неблагоприятных условиях влиял на устойчивость почвенного микробного сообщества. Возможно, в условиях изменяющейся среды зависящей от свойств почв метаболизм микробного сообщества способен к саморегуляции, которая, в свою очередь, влияет на режим функционирования и состояние агроэкосистем. Несмотря на определенную условность доказа-

**Таблица 5.** Изменение экофизиологических показателей в разных типах почв (пар)

Почва	$C_{\text{общ}}, \%$	Годы			Среднее за мониторинг
		1997	2002	2004	
$C_{\text{мик}}/C_{\text{орг}}, \%$					
FE	0.75	2.5	1.3	1.5	2.0
FN	3.12	1.6	0.9	1.0	1.4
LP	1.75	2.1	1.2	1.2	1.6
$C-CO_2/C_{\text{мик}}, \text{мг}/(\text{г} \cdot \text{ч})$					
FE	0.75	0.6	1.6	1.9	1.2
FN	3.12	0.4	0.7	0.8	0.6
LP	1.75	0.4	0.9	1.0	0.7

тельств, результаты проведенных исследований не противоречат известным ранее обобщениям (Anderson, Domsch, 1989; Wardle, Parkinson, 1990; Звягинцев и др., 1999; Благодатский и др., 2002, 2006; Современная..., 2005; Полянская и др., 2014; Добровольская и др., 2015; Благодатская и др., 2016; и др.).

**Оценка функционирования агроэкосистем.** С учетом результатов полевых мониторинговых исследований в агроэкосистемах определена роль почвенного микробного сообщества (комплекса) в трансформации углерода. На экосистемном уровне интерес представляет интегральная оценка изменения режимов функционирования агроэкосистем, зависящих от состояния компонентов агроэкосистемы в условиях негативного воздействия среды.

Обобщение результатов исследований основано на измерении количественных показателей и оценке потоков N и C во внутрипочвенном цикле (“минерализация  $\leftrightarrow$  иммобилизация”). Расчет потоков N проведен с использованием результатов, полученных с изотопом  $^{15}\text{N}$ , с учетом пропорционального распределения меченого и минерализовавшегося за вегетацию почвенного N (Кудеяров, 1989). В полевых опытах исследования потоков минерализовавшегося, нетто-минерализованного и (ре)иммобилизованного N и C проводили одновременно (Помазкина, 2009; Помазкина и др., 1999). Минерализацию элементов рассчитывали по сумме потоков НМ и РИ ( $\text{г С}/\text{м}^2$ ), учитывая плотность сложения пахотного слоя почв (Помазкина 2004, 2009, 2015). Потоки углерода оценивали по средней за вегетацию суммарной эмиссии  $C-CO_2$  и содержанию  $C_{\text{мик}}$ . Трансформацию и соотношение потоков внутрипочвенного цикла N и C (минерализация  $\leftrightarrow$  (ре)иммобилизация) анализировали с использованием методологии системного анализа. Каждый из элементов, подвергавшийся минерализации (“вход” вещества в систему), формирует два потока: НМ – “выход” и

РИ – “возврат на выходе” (обратная связь), обеспечивающие поддержание элемента в системе.

Как известно, рециркуляция N происходит многократно, а его внутрипочвенный цикл отличается большей долей замкнутости. Трансформация лабильных фракций органического вещества почв, разомкнутость цикла углерода связаны с эмиссией  $CO_2$  (НМ), а поддержание  $C_{\text{мик}}$  условно можно рассматривать как РИ в почве благодаря синтезу новообразованных органических веществ. В этих условиях потоки НМ и РИ как N, так и C сбалансированы, а близкий к замкнутому внутрипочвенный цикл способствует функционированию экосистемы в режиме гомеостаза. Как известно (Одум, 1986), функционирование экосистем в режиме динамического экологического равновесия обеспечивает возврат или рециркуляцию веществ, близких к 50%. Вероятно, зависящие от активности почвенного микробного комплекса показатели РИ, в частности углерода, можно рассматривать как природный механизм регуляции, поддерживающий функционирование агроэкосистемы. Формирование потоков N и C использовали для интегральной оценки режимов функционирования агроэкосистем, согласно шкале показателей соотношения НМ : РИ и/или РИ : М (%), одинаковых для обоих элементов (табл. 6) (Помазкина, 2004, 2009; Pomazkina, 2011).

В данной публикации обсуждается использование интегральной оценки режимов функционирования агроэкосистем, основанной на трансформации углерода в агроэкосистемах в разных почвах, зависящих от загрязнения ТМ, в условиях ежегодных климатических изменений (табл. 7). В почве FN среднее за годы мониторинга значение М было больше ( $220 \text{ г С}/\text{м}^2$ ), чем в почве FE ( $137 \text{ г С}/\text{м}^2$ ). В аномальные годы показатель НМ относительно М увеличивался. Если в почве FE в засушливом 2002 г. показатель НМ достигал 84%, то в близком к норме 1997 г. – 61% от М. Повышение содержания НМ сопровождалось снижением РИ. В почвах LP и FE низкие значения НМ в от-

**Таблица 6.** Критерии режима функционирования и уровня воздействия на агроэкосистему

Режим функционирования	Уровень воздействия	Критерии	
		РИ : М, %	НМ : РИ
Гомеостаз	Норма	50–45	0.8–1.2
Стресс	Допустимый	45–35	1.2–2.0
Резистентность	Предельно допустимый	35–25	2.0–3.0
Адаптационное истощение	Критический	25–15	3.0–5.0
Репрессия	Недопустимый	<10–15	>5.0

Примечание. НМ – нетто-минерализованный углерод, РИ – (ре)иммобилизованный углерод, М – минерализованный углерод.

личие от таковых в почве FH можно рассматривать как следствие негативного действия загрязнения. Во влажном 2004 г. уменьшение потока РИ углерода, особенно в почве FE (16% от М) зависело, вероятно, от повышения влагообеспеченности, которая влияла на подвижность и негативное действие ТМ. Следовательно, трансформация соединений углерода в разных почвах зависела от функционирования микробного комплекса.

Усиление РИ, зависящей как от активности роста  $S_{мик}$ , так и от рециркуляции (ресинтез, или обратная связь), способствовало поддержанию в почве активного пула углеродсодержащих веществ как доступного субстрата, от которого зависят интенсивность и направленность процессов трансформации углерода в агроэкосистеме. Изменения показателей соотношения потоков НМ : РИ углерода использовали для оценки режимов функционирования агроэкосистем (рис. 4). Согласно шкале критериев (табл. 6) в почве FH (пар) в близком к норме 1997 г. благодаря высокой (ре)иммобилизации углерода ( $110 \text{ г С/м}^2$ ) агроэкосистемы функционировали в режиме гомеостаза, тогда как в почвах FE и LP – в режиме стресса (допустимая нагрузка). В аномальные 2002 и 2004 гг. в почвах LP и FE функционирование зависело от снижения потока РИ углерода (соответственно 47 и 22  $\text{г С/м}^2$ ). В почве LP формировался режим резистентности (предельно допустимая нагрузка), а в отличавшейся меньшим содержанием гумуса почве FE – режим репрессии (недопустимая нагрузка). Негативное действие факторов среды в почве FE повышало показатель НМ : РИ, характеризующий низкую устойчивость агроэкосистем. В аномальные годы их функционирование соответствовало режиму адаптационного истощения и даже репрессии (нагрузка критическая и недопустимая).

Сравнительный анализ функционирования агроэкосистем, например, в аллювиальных почвах, загрязненных ТМ, в пару в близком к норме 1997 г. показал, что если в сильногумусированной почве FH был режим гомеостаза, то в слабогумусированной FE – режим стресса (допустимая нагруз-

ка). В аномальные 2002 и 2004 гг. режим менялся, особенно резко в почве FE (репрессия; недопустимая нагрузка). В посевах яровой пшеницы, где дыхание корней учитывали как 1/3 общей эмиссии  $\text{CO}_2$  (Кудеяров, 2018), ежегодный режим функционирования агроэкосистем и в посевах, и в пару был примерно одинаковый, как и экологическая нагрузка факторов среды. В загрязненных ТМ почвах FE и LP функционирование агроэкосистем заслуживает особого внимания, поскольку большая часть минерализованного за вегетацию углерода подвергалась нетто-минерализации, способствующей повышению эмиссии  $\text{C-CO}_2$  в атмосферу. Таким образом, функционирование и состояние агроэкосистем в разных почвах суще-

**Таблица 7.** Показатели внутрипочвенного цикла углерода в почвах (пар) в разные по гидротермическим условиям годы в агроэкосистемах

Год	FE	FH	LP
Минерализованный (М), $\text{г С/м}^2$			
1997	126	211	182
2002	124	212	162
2004	144	235	176
Среднее за мониторинг	$137 \pm 6$	$220 \pm 9$	$177 \pm 5$
Нетто-минерализованный, % от М			
1997	61	48	54
2002	82	67	71
2004	84	67	73
Среднее за мониторинг	74	60	64
(Ре)иммобилизованный, % от М			
1997	39	52	46
2002	18	33	29
2004	16	33	27
Среднее за мониторинг	26	40	36

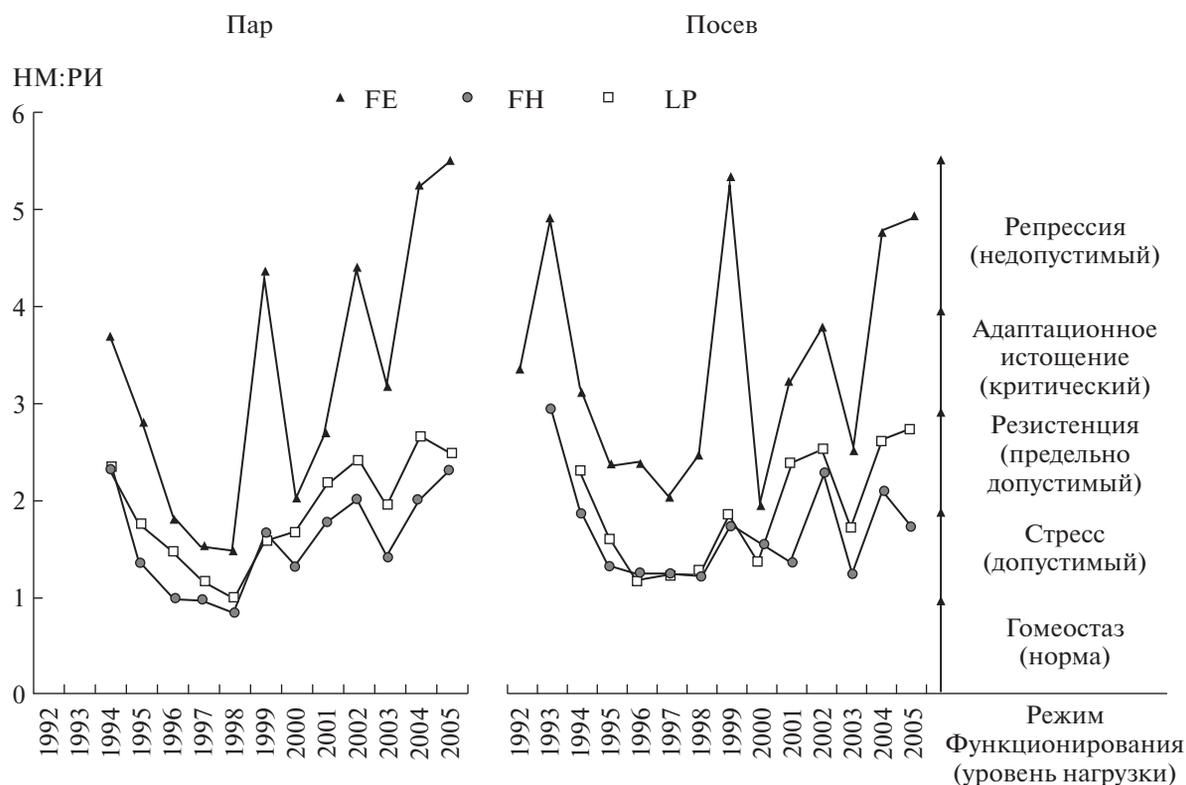


Рис. 4. Изменения режимов функционирования агроэкосистем на разных типах почв (пар, посев яровой пшеницы). НМ – нетто-минерализованный углерод, РИ – (ре)иммобилизованный углерод.

ственно зависело от их свойств, техногенного загрязнения и ежегодных климатических изменений, особенно в аномальные годы.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В длительном (1992–2005 гг.) мониторинге в агроэкосистемах в аэротехногенно загрязненных ТМ разных типах почв Прибайкалья исследована трансформация углерода, зависящая от климатических изменений (относительно “климатической нормы”). Оценить негативные воздействия загрязнения разных почв ТМ с помощью ПДК и  $Z_c$  не удалось.

В исследовании впервые использован подход, позволивший интегрально оценить функционирование агроэкосистем в разных по свойствами загрязненных ТМ почвах на фоне ежегодных климатических изменений. Выявлено, что среднее за вегетацию содержание  $C_{\text{мик}}$  в почвах снижалось, а скорость эмиссии  $\text{CO}_2$  увеличивалась, особенно в слабогумусированной почве в аномальные годы. В связи с современными климатическими изменениями интерес представляет связь между эмиссией  $\text{CO}_2$  и повышением температуры воздуха. Впервые для агроэкосистем Прибайкалья дана оценка эмиссии  $\text{C}-\text{CO}_2$  (101–141 г  $\text{C}/\text{м}^2$ ).

Обнаруженные в мониторинге ежегодные динамические изменения экофизиологических индикаторов, характеризующие доступность субстрата ( $C_{\text{мик}}/C_{\text{орг}}$ , %) и затраты углерода на дыхание единицы микробной биомассы ( $\text{УДА}; \text{C}-\text{CO}_2/C_{\text{мик}}$ ,  $\text{мг}/(\text{г} \cdot \text{ч})$ ) свидетельствуют о неодинаковом отклике почвенных микробных сообществ на изменение условий среды. Увеличение эмиссии  $\text{CO}_2$  при снижении роста  $C_{\text{мик}}$  соответствует сравнительно низкой их устойчивости в загрязненной ТМ слабогумусированной почве FE, особенно в аномальные годы. Повышение затрат углерода на дыхание, не лимитированное недостатком доступного субстрата в почве FH, способствовало росту  $C_{\text{мик}}$  и активной (ре)иммобилизации углерода. Субстратная обеспеченность почв повышает адаптивный потенциал микробного сообщества, способствующий устойчивости в неблагоприятных условиях среды. Вероятно, формирование устойчивости связано с увеличением затрат углерода на дыхание, направленное на выживание, а не на рост микробной биомассы.

На экосистемном уровне изменение факторов среды проявлялась в трансформации углерода, связанной с активностью минерализации и синтеза углеродсодержащих веществ в почве. В разные годы режим функционирования агроэкосистем зависел

от сбалансированности НМ и РИ в разных почвах. Согласно шкале критериев в близком к норме 1997 г. в сильногумусированных почвах агроэкосистемы функционировали в режиме гомеостаза, за счет повышения (ре)иммобилизации углерода. Усиление нетто-минерализации углерода в слабогумусированной почве способствовало формированию режима стресса (допустимая нагрузка), а снижение (ре)иммобилизации – неустойчивости агроэко-систем (режимы адаптационного истощения и даже репрессии).

Впервые экспериментально показано, что в разных почвах устойчивость микробных сообществ, как и их влияние на формирование режимов функционирования агроэкосистем, зависит от обеспеченности субстратом и от активности (ре)иммобилизации углерода, снижающей воздействие неблагоприятных условий среды. Обобщение мониторинговых исследований с использованием системного подхода для интегральной оценки режимов функционирования и экологической нагрузки на агроэкосистему выявили негативное воздействие как загрязнения почв ТМ, так и ежегодных климатических изменений.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 03-04-49450-а, 05-04097206-р\_Байкал\_а, 08-04-98042-р\_Сибирь\_а, 12-04-98054-р\_сибирь\_а, 14-05-00735-а, 14-45-04040-р\_сибирь\_а).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Агрохимические методы исследования почв. М.: Наука, 1975. 656 с.
- Атлас*. Иркутская область: экологические условия развития. М.; Иркутск: Изд-во Ин-та географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2004. 90 с.
- Благодатский С.А., Благодатская Е.В., Андерсон Т.-Х., Вайгель Х.-Й.* Кинетика дыхательного отклика микробных сообществ почвы и ризосферы в полевом опыте с повышенной концентрацией атмосферного CO<sub>2</sub> // Почвоведение. 2006. № 3. С. 325–333.
- Благодатский С.А., Благодатская Е.В., Горбенко А.Ю., Паников Н.С.* Регидратационный метод определения микробной биомассы в почве // Почвоведение. 1987. № 4. С. 64–71.
- Благодатский С.А., Демьянова Е.Г., Кобзева Е.И., Кудеяров В.Н.* Изменение эффективности роста микроорганизмов после обогащения почвы легкодоступными субстратами // Почвоведение. 2002. № 8. С. 985–992.
- Благодатская Е.В., Семенов М.В., Якушев А.В.* Активность и биомасса почвенных микроорганизмов в изменяющихся условиях окружающей среды. М.: КМК, 2016. 243 с.
- Глазовская М.А.* Методологические основы оценки эколого-геохимической устойчивости почв к техногенным воздействиям. М.: Изд-во МГУ, 1997. 102 с.
- Добровольская Т.Г., Звягинцев Д.Г., Чернов И.Ю., Головченко А.В., Зенова Г.М., Лысак Л.В., Манучарова Н.А., Марфенина О.Е., Полянская Л.М., Степанов А.Л., Умаров М.М.* Роль микроорганизмов в экологических функциях почв // Почвоведение. 2015. № 9. С. 1087–1096. <https://doi.org/10.7868/S0032180X15090038>
- Заварзин Г.А., Кудеяров В.Н.* Почва как главный источник углекислоты и резервуар органического углерода на территории России // Вестн. РАН. 2006. Т. 76. № 1. С. 14–29.
- Замолодчиков Д.Г.* Естественная и антропогенная концепция современного потепления климата // Вестн. РАН. 2013. Т. 83. № 3. С. 227–235. <https://doi.org/10.7868/S0869587313020230>
- Звягинцев Д.Г., Добровольская Т.Г., Бабьева И.П., Чернов И.Ю.* Развитие представлений о структуре микробных сообществ почв // Почвоведение. 1999. № 1. С. 134–144.
- Зоидзе Е.К., Хомякова Т.В.* Моделирование формирования влагообеспеченности на территории Европейской России в современных условиях и основы оценки агроклиматической безопасности // Метеорология и гидрология. 2006. № 2. С. 98–105.
- Ильин В.Б.* Тяжелые металлы и неметаллы в системе почва–растение. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. 220 с.
- Классификация и диагностика почв России. Смоленск: Ойкумена, 2004. 342 с.
- Кудеяров В.Н.* Цикл азота в почве и эффективность удобрений. М.: Наука, 1989. 216 с.
- Кудеяров В.Н.* Современное состояние углеродного баланса и предельная способность почв к поглощению углерода на территории России // Почвоведение. 2015. № 9. С. 1049–1060. <https://doi.org/10.7868/S0032180X15090087>
- Кудеяров В.Н.* Дыхание почв и биогенный сток углекислого газа на территории России (аналитический обзор) // Почвоведение. 2018. № 6. С. 643–658.
- Кудеяров В.Н., Курганова И.Н.* Дыхание почв России: анализ данных, многолетний мониторинг, общие оценки // Почвоведение. 2005. № 9. С. 1112–1121.
- Ларионова А.А., Курганова И.Н., Лопес де Гереню В.О., Золотарева Б.Н., Евдокимов И.В., Кудеяров В.Н.* Эмиссия диоксида углерода из агросерых почв при изменении климата // Почвоведение. 2010. № 2. С. 186–195.
- Мотузова Г.В., Безуглова О.С.* Экологический мониторинг почв. М.: Гаудеамус, 2007. 237 с.
- Мохов И.И., Карпенко А.А., Стотт П.А.* Наибольшие скорости регионального потепления в последние десятилетия с оценкой роли естественных и антропогенных причин // Докл. РАН. 2006. Т. 406. № 4. С. 538–543.
- Овчинникова М.Ф.* Дегумификация дерново-подзолистых почв. М.: Изд-во МГУ, 2002. 120 с.
- Одум Ю.* Экология. М.: Мир, 1986. Т. 1. 328 с.
- Орлов Д.С., Бирюкова О.Н., Розанова М.С.* Дополнительные показатели гумусного состояния почв и их генетических горизонтов // Почвоведение. 2004. № 8. С. 918–926.

- Полянская Л.М., Суханова Н.И., Чакмазян К.В., Звягинцев Д.Г. Особенности структуры микробной биомассы почв кольцевых западин Липецкой и Волгоградской областей // Почвоведение. 2014. № 9. С. 1089–1094.
- Помазкина Л.В. Новый интегральный подход к оценке режимов функционирования агроэкосистем и экологическому нормированию антропогенной нагрузки, включая техногенное загрязнения почв // Успехи соврем. биологии. 2004. Т. 124. № 1. С.66–76.
- Помазкина Л.В. Интегральная оценка функционирования и устойчивости агроэкосистем на загрязненных фторидами алюминиевого производства почвах Байкальской Сибири // Инж. экология. 2009. № 6. С. 27–42.
- Помазкина Л.В. Мониторинг эмиссии CO<sub>2</sub> и содержание микробной биомассы в агроэкосистемах на серой лесной почве Прибайкалья в условиях загрязнения фторидами // Почвоведение. 2015. № 8. С. 1–15.  
<https://doi.org/10.7868/S0032180X15080031>
- Помазкина Л.В., Котова Л.Г., Лубнина Е.В. Биогеохимический мониторинг и оценка режимов функционирования агроэкосистем на техногенно загрязняемых почвах. Новосибирск: Наука. Сиб. Издат. фирма РАН. 1999. 208 с.
- Семенов В.М., Козут Б.М. Почвенное органическое вещество. М.: ГЕОС, 2015. 233 с.
- Современная микробиология. Прокариоты / Под ред. Ленгелера Й., Дрекса Г., Шлегеля Г. М.: Мир, 2005. Т. 2. 496 с.
- Соколова Т.А., Мотузова Г.В., Малинина М.С., Обуховская Т.Д. Химические основы буферности почв. М.: Изд-во МГУ, 1991. 108 с.
- Справочник по климату СССР. Вып. 22. Ч. 11. Л.: Гидрометеоздат, 1966. 360 с.
- Шарков И.Н. Совершенствование абсорбционного метода определения выделения CO<sub>2</sub> из почвы в полевых условиях // Почвоведение. 1987. № 1. С. 127–133.
- Anderson T.H., Domsch K.H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic in arable soils // Soil Biol. Biochem. 1989. V. 21. № 4. P. 471–479.  
[https://doi.org/10.1016/0038-0717\(89\)90117-X](https://doi.org/10.1016/0038-0717(89)90117-X)
- Pomazkina L.V. Integrated assessment of the effect of technogenic pollution and climatic factors on agroecosystems of Baikal natural territory // Biol. Bull. Rev. 2011. V. 1. № 4. P. 358–365.
- Pomazkina L.V., Semenova Yu.V. Agroecological monitoring of the carbon transformation in agroecosystems on gray forest soils of the Baikal region under current climatic changes and conditions of fluoride pollution // Siberia ecology, diversity and environmental impact. N.Y.: Nova Sci. Publ., 2016. Ch. 3. P. 53–82.
- Wardle D.A., Parkinson D. Interactions between microclimatic variables and the soil microbial biomass // Biol. Fertil. Soils. 1990. V. 9. P. 273–280.

## Carbon Transformation in Agroecosystems on Different Types of Soils in the Baikal Region under Aerotechnogenic Pollution and Climatic Change

L. V. Pomazkina<sup>1</sup>, Yu. V. Semenova<sup>1, #</sup>, and N. N. Kirillova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, ul. Lermontova 132, Irkutsk, 664033 Russia

<sup>#</sup>e-mail: yusemenova75@mail.ru

The monitoring studies of carbon transformation in agroecosystems in airborne technogenically contaminated with heavy metals of different types of soils in years different from the “climatic norm” are analyzed. The negative effects of changing environmental conditions on the content of microbomass and CO<sub>2</sub> emissions in different soils have been experimentally evaluated. The ecophysiological parameters characterizing the availability of the substrate and (re)immobilization of carbon in the soils revealed the activity and stability of the microbial community depending on environmental changes. The methodology of systemic analysis of the subsurface carbon cycle, quantitative assessment of the flows of net-mineralized and (re)immobilized carbon and their ratio were used for the first time for an integral assessment of the modes of functioning of agroecosystems and levels of environmental load.

УДК 574

## ЗНАЧИМОСТЬ ВИДА В БИОЦЕНОЗЕ, КЛАССЕ БИОЦЕНОЗОВ, РАЙОНЕ: ОБЗОР КОМПЛЕКСНЫХ ИНДЕКСОВ

© 2021 г. С. В. Осипов<sup>@</sup>

Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, ул. Радио, 7, Владивосток, 690041 Россия

<sup>@</sup>E-mail: sv-osipov@yandex.ru

Поступила в редакцию 08.08.2018 г.

После доработки 19.02.2019 г.

Принята к публикации 14.03.2019 г.

Представлен обзор комплексных индексов, предназначенных для отражения значимости, в том числе доминирования, вида или видовой популяции в отдельном биоценозе, территориальном комплексе биоценозов (районе, регионе) или типе (классе) биоценозов. Рассмотрены аргументы “за” и “против” комплексных индексов значимости, структура индексов, набор образующих их параметров. Отмечено, что главные области их применения – выявление структуры доминирования, сравнительный анализ значимости разных видов в одном биоценозе, сравнительный анализ биоценозов с учетом значимости образующих их видов, классификация и ординация биоценозов, моделирование экологического и географического распространения видов, индикация условий среды, оценка биомассы и т.д. Эти индексы могут быть использованы во многих био- и гео-информационно-аналитических системах.

DOI: 10.31857/S0002332921030103

### О ПОНЯТИЯХ ЗНАЧИМОСТИ ВИДА И ИНДЕКСА ЗНАЧИМОСТИ

Значимость вида (видовой популяции) в биоценозе – это его роль в жизни биоценоза, его участие в строении, функционировании и развитии биоценоза. При этом важнейшие стороны жизнедеятельности вида – формирование живого вещества, преобразование среды обитания, влияние на сообитающие виды и многое другое. Наиболее значимые виды – доминанты, а значимость каждого вида в биоценозе, распределение видов по значимости – важнейшие экологические характеристики и видов, и биоценозов. Экологии изначально присущ интерес к понятию “значимость вида” и способам оценки значимости вида в биоценозе и экосистеме. Несмотря на длительную историю, интерес к этим вопросам сохраняется и сейчас.

Индекс значимости – это мера участия вида в жизни биоценоза. Под комплексным индексом значимости понимается индекс, образованный из нескольких более частных параметров. Комплексные индексы значимости используются при классификации и ординации биоценозов, анализе структур доминирования, характеристике динамических серий и пространственных рядов, расчете связи видов и биоценозов со средой, оценке биомассы, моделировании географического распространения видов и т.д. (Barker *et al.*,

2002; Coroi *et al.*, 2004; Baruch, 2005; Iverson *et al.*, 2008, 2011; Xaud *et al.*, 2013; Mandal, Joshi, 2014; Urrego *et al.*, 2014; и др.).

### ПРОБЛЕМАТИЗАЦИЯ И ЗАДАЧИ

Чтобы отразить значимость вида (видовой популяции) в биоценозе и экосистеме, используются различные параметры: биомасса, численность, встречаемость и многие другие. Каждый из этих параметров характеризует вид (видовую популяцию) в некотором аспекте и связан с особыми методами измерения, что обуславливает область его использования. Однако многие параметры слишком односторонне характеризуют значимость вида и/или слишком трудоемки для измерения. Это в основном и определяет интерес исследователей к разработке комплексных (интегральных, комбинированных) индексов, которые состояли бы из параметров, доступных массовым измерениям, и более разнопланово отражали бы значимость вида.

Комплексные индексы значимости вида в биоценозе разработаны в нескольких развивающихся весьма независимо научных дисциплинах (геоботанике, гидробиологии и энтомологии) исследователями многих стран. Немалую роль в развитии этой тематики сыграли междисциплинарные, культурно-политические и языковые барьеры. Ситуацию также осложняет разнокаче-

ственность публикаций. В одних работах содержится теоретическое обоснование индексов и результаты их апробации на разноплановом материале, детальная характеристика частных параметров и методы их определения. В других работах индексы охарактеризованы явно недостаточно, в некоторых имеются опечатки. Также обращает на себя внимание отсутствие обзорных публикаций. Единственная работа, охватывающая множество комплексных индексов, — это работа А.И. Баканова (Баканов, 1987, 2005). С этими моментами связано переоткрытие некоторых индексов.

Среди исследователей прослеживается поляризованность в отношении к рассматриваемым индексам. Известно немало публикаций, в которых анализируются эти индексы, обосновывается их незаменимость и демонстрируются их преимущества перед более простыми параметрами (Уранов, 1935; Curtis, McIntosh, 1951; Зарубин, 1988; Iverson *et al.*, 2008; и др.). Наряду с этим известны критические отзывы, среди которых есть и резко отрицательные оценки таких индексов (Ипатов, 1961; Миркин, Розенберг, 1983). Во многих трудах рассмотрение данного вопроса было бы вполне уместно (судя по их тематике и объему), но никак не затрагивается (к ним можно отнести труды, в которых рассматриваются доминирование видов, оценка роли видов в биоценозе, сравнительный анализ структуры биоценозов, “взвешивание” видов при количественном сравнительном анализе).

Цель работы — выявить существующее разнообразие комплексных индексов значимости, рассмотреть их особенности и очертить занимаемое этими индексами место в экологических исследованиях.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для настоящей работы послужили всевозможные индексы, которые, во-первых, предложены для отражения значимости видовой популяции, вида или другого таксона в отдельном биоценозе или любой совокупности биоценозов, во-вторых, называются или могут быть названы комплексными, в основном состоящими из двух и более частных параметров. Проведен самый широкий поиск индексов, вне зависимости от входящих в них параметров, степени их формализации, научного направления, биологии вида, среды обитания и других особенностей. Систематизация и сравнительный анализ индексов значимости выполнены на основе таких характеристик, как набор входящих в индекс параметров, объекты, к которым они применимы, и структура формулы.

## ОБЪЕКТЫ И ПАРАМЕТРЫ В КОМПЛЕКСНЫХ ИНДЕКСАХ ЗНАЧИМОСТИ

При рассмотрении понятия значимости вида и выявлении разнообразия индексов значимости целесообразно различать следующие объекты: 1) организм, особь или бионт ( $o$ ); 2) фракция ценотической популяции (например, всходы, подрост и взрослые особи одной древесной породы) ( $f$ ); 3) ценотическая популяция — популяция вида в биоценозе ( $b$ ); 4) часть региональной популяции вида в классе или типе биоценозов ( $c$ ); 5) региональная популяция вида — популяция вида в регионе, региональном комплексе биоценозов или биогеоценозе ( $r$ ); 6) вид или вся совокупность популяций вида. С разными объектами связаны разные выборки и аспекты анализа, а также, что еще важнее, разные параметры и методы их определения. И это необходимо учитывать при использовании комплексных индексов. В выявленных индексах значимости содержатся параметры объектов 1)–5), обозначенные соответственно как  $o$ ,  $f$ ,  $b$ ,  $c$  и  $r$  (подстрочные знаки у параметров в формулах).

Относительно частных параметров, образующих комплексные индексы значимости, необходимо отметить, что, с одной стороны, один и тот же параметр имеет существенные особенности в разных работах, с другой стороны, весьма разные параметры иногда не различаются. Это связано с различиями в понимании терминов, методах измерения, способах перерасчета первичных результатов измерения, с особенностями изучаемых объектов и другими моментами. Примем обобщенное толкование параметров, не зависящее, насколько это возможно, от особенностей объектов, методов измерения и способов вычисления:

$A$  (abundance) — численность (численное обилие, обилие, плотность) вида в пределах учетного пространства (площади или объема) (Begon *et al.*, 2006; и др.);

$M$  ((bio)mass) — биомасса, т.е. масса вида в пределах учетного пространства (площади или объема) (Begon *et al.*, 2006; и др.);

$F_b$  (frequency (Raunkiaer, 1934)) — встречаемость в биоценозе, т.е. число малых единиц учета (площадок, проб воды и т.д.), в которых вид встречается в пределах одного биоценоза. В некоторых индексах использована встречаемость на малых площадках двух размеров (Hanson, 1934; Frey, 1965; и др.). Также введен такой параметр (de Vries, 1938; и др.), как число малых единиц учета (площадок), в которых вид доминирует ( $Fd_b$ ), этот параметр можно назвать встречаемостью доминирования в биоценозе;

$F_r$  (frequency in a region) — встречаемость в районе или регионе, т.е. число единиц учета, в которых вид встречен в некотором районе (регионе) с

присущим ему разнообразием биоценозов. Определяется для многих биоценозов. Важно обратить внимание на то, что этот параметр весьма существенно отличается как от встречаемости в биоценозе ( $F_b$ ), так и от постоянства ( $P_c$ ). Все три параметра ( $F_b$ ,  $F_r$  и  $P_c$ ) по своему формальному, математическому содержанию – частоты присутствия вида, и в этом аспекте они одинаковы. Но они относятся к совершенно разным объектам и связаны с разными аспектами анализа, что делает необходимым их разграничение. Наиболее явно параметр  $F_r$  выражен в немногих работах (Палий, 1961; Малышев, 1973; Наумов, 1973; Свириденко, 2000; Телятников, 2010) (табл. 1, 3). Есть работы, в которых термин “встречаемость” нечто среднее между  $F_b$  и  $F_r$ ,  $F_b$  и  $P_c$  или  $F_r$  и  $P_c$ . Также был использован такой параметр, как число выделов, в которых вид доминирует ( $Fd_r$ ), т.е. встречаемость доминирования в районе (регионе) (Зарубин, 1988);

$P_c$  ( $F_c$ ) (presence (Braun-Blanquet, 1932)) – постоянство, т.е. число единиц учета, в которых вид встречен во многих биоценозах одного класса (типа); определяется для многих биоценозов (многих выделов). В рассматриваемых индексах его синонимы – константность (constancy) и нередко встречаемость (frequency). Термины постоянство и константность используются в фитоценологии. В гидробиологии, в том числе в морской гидробиологии, в этом же смысле обычно используется термин “встречаемость”. Однако в процессе морских экспедиционных исследований, как правило, охватываются обширные акватории, точки отбора проб – станции – обычно располагаются на большом расстоянии одна от другой, и даже соседние станции попадают в разные биоценозы (выделы). Такой способ отбора проб и определяемый таким образом параметр соответствуют не встречаемости в биоценозе ( $F_b$ ), а постоянству ( $P_c$ , если изучаются биоценозы определенного класса или типа) или встречаемости в районе ( $F_r$ , если изучается район со всем разнообразием биоценозов);

$C$  (coverage, projective cover, cover) – покрытие, проективное покрытие, т.е. площадь, покрываемая надземными органами растений данного вида в пределах учетного пространства (учетной площади) (Daubenmire, 1968; и др.). Также был использован такой параметр, как площадь синузид данного вида-доминанта, который может быть обозначен как  $Cd_c$  для класса и  $Cd_r$  для района (Норин, 1978);

$B$  (basal area) – площадь оснований, т.е. площадь, занимаемая основаниями стеблей особей растений данного вида в пределах учетного пространства (учетной площади), для деревьев обычно определяется как сумма площадей поперечного сечения стволов на высоте груди (Daubenmire, 1968);

$H$  (height) – высота, т.е. средняя высота особей вида в пределах учетного пространства (учетной площади);

$k$  – постоянная величина.

### РАЗНООБРАЗИЕ КОМПЛЕКСНЫХ ИНДЕКСОВ ЗНАЧИМОСТИ

В табл. 1 суммировано основное разнообразие индексов значимости вида как в отдельных биоценозах, так и в их совокупностях. Индексы расположены в хронологическом порядке. В столбце 2 они представлены в виде, максимально приближенном к первоисточникам, в столбце 3 – в сравнимом виде на основе единых обозначений параметров.

Было предложено несколько индексов на основе встречаемости: один из них –  $\frac{n_d}{n_i} = Fd_b$  (табл. 1),

другой –  $\frac{n_d}{n_j}$  (de Vries, 1938; de Vries, Boer, 1959), где

$n_i$  – общее число площадок,  $n_j$  – число площадок, на которых встречен данный вид,  $n_d$  – число площадок, на которых данный вид доминирует. В.Н. Макаревич (Макаревич, 1966) отметила в его ра-

ботах только отношение  $\frac{n_d}{n_j}$  и предложила исполь-

зовать отношение  $\frac{n_d}{n_i}$ , тем самым переоткрыв его.

В работе А.А. Уранова в описание второго индекса, судя по всему, вкралась опечатка (Уранов, 1935). В первоисточнике индекс описывается фразой: “произведение массы покрытия и обилия” (с. 62). Видимо, в тексте пропущена запятая, правильно так: “произведение массы, покрытия и обилия” (на эту же ошибку указала Т.Н. Буторина (Буторина, 1963)).

Л.А. Зенкевич и В.А. Брочкая ввели индекс  $\sqrt{M \times A}$ . Сбор материала на обширных морских акваториях и широкое понимание биоценоза (для Белого моря выделено только пять биоценозов) обусловили то, что в формуле оказались объединенными два варианта индекса:  $\sqrt{M_r \times A_r}$  и  $\sqrt{M_c \times A_c}$  (табл. 1).

Ф.Д. Мордухай-Болтовской (Мордухай-Болтовской, 1937) первым опубликовал индекс  $\sqrt{M \times P}$ , но при этом указал, что методика разработана Л.А. Зенкевичем и применялась В.П. Воробьевым. Однако внимательное прочтение их трудов показывает, что, видимо, именно Ф.Д. Мордухай-Болтовской – автор этого индекса.

Были предложены (Арнольди, 1941, 1949) два индекса, в которых фигурирует параметр “встречаемость”, но по сути он является постоянством, так как данные относятся не к отдельному биоце-

**Таблица 1.** Комплексные индексы значимости вида в отдельном биоценозе ( $I_b$ ), районе (территориальном комплексе биоценозов) ( $I_r$ ) и классе (типе) биоценозов ( $I_c$ )

Объект	Формула или описание индекса в первоисточнике	Формула индекса в сравнимом виде
Травы (de Vries 1933; de Vries, Boer, 1959)	“Dominance percentage ... is the percentage of sampling units in which a species ranks first in weight”. “Importance percentage ... is the percentage of sampling units in which a species ranks first, second or third in importance, according to weight” (p. 2)	$I_b = Fd_b$
Травы (Уранов, 1935)	Компонентность вида: $C = AF$ , где $A$ – обилие, $F$ – встречаемость	$I_b = A_b \times F_b$
Растения (Уранов, 1935)	“Количество вида”: произведение массы, покрытия и обилия.	$I_b = M_b \times C_b \times A_b$
Зообентос (Зенкевич, Броцкая, 1937) <sup>1</sup>	Индекс плотности: “Так как наиболее характерными показателями значимости ... являются биомасса и количество экземпляров, мы соединили оба эти показателя для каждой отдельной формы, перемножив их и извлекая затем квадратный корень из произведения” (с. 206).	$I_r = \sqrt{M_r \times A_r}$ $I_c = \sqrt{M_c \times A_c}$
Зообентос (Мордухай-Болтовской, 1937)	“ $\sqrt{bp}$ – “индекс плотности” – корень кв. из произведения частоты встречаемости на среднюю биомассу” (с. 24).	$I_c = \sqrt{M_c \times P_c}$
Зообентос (Мордухай-Болтовской, 1939)	Индекс доминирования: $\sqrt{p\sqrt{b}}$ , где $p$ – частота встречаемости, $b$ – средняя биомасса.	$I_c = \sqrt{P_c \times \sqrt{M_c}}$
Зообентос (Арнольди, 1941)	Индекс плотности: $(\sqrt{bv})\rho$ , где $b$ – биомасса, г/м <sup>2</sup> , $v$ – обилие, организмов/м <sup>2</sup> , $\rho$ – встречаемость, %.	$I_c = P_c \times \sqrt{M_c \times A_c}$
Травы (Dyksterhuis, 1946)	“Coverage and frequency for each species may be multiplied, and two places pointed off in the product, with the result that an index value between 0 and 100 is obtained” (p. 10).	$I_c = k \times C_c \times P_c$
Деревья (Curtis, 1947)	“An integrating figure the A.F.D. index ... is simply the sum of the abundance, frequency, and dominance percentages” (p. 5).	$I_b = A_b + F_b + B_b$
Зообентос (Мордухай-Болтовской, 1948)	Индекс доминирования: $p\sqrt{b}$ , где “ $p$ означает частоту встречаемости вида в процентах, а $b$ его среднюю биомассу” (с. 107).	$I_c = P_c \times \sqrt{M_c}$
Зообентос (Зацепин и др., 1948) <sup>2</sup>	Показатель значимости вида: “Произведение процента его встречаемости на его среднюю биомассу” (с. 18).	$I_c = P_c \times M_c$
Зообентос (Арнольди, 1949)	Плотность: $\sqrt[3]{v \times b \times \rho}$ , где $b$ – биомасса, $v$ – обилие, $\rho$ – встречаемость.	$I_c = \sqrt[3]{A_c \times M_c \times P_c}$

Таблица 1. Продолжение

Объект	Формула или описание индекса в первоисточнике	Формула индекса в сравнимом виде
Деревья (Lindsey, 1956)	Prevalence: $O_3 = \frac{(B_3 + C_3)(D_3 + F_3)}{400}$ ; Predominance: $O_4 = \frac{(B_3 + C_3)(D_3 + C_4)}{400}$ , где $B_3$ – relative basal area, $C_3$ – relative vegetation cover, $D_3$ – relative density, $F_3$ – relative frequency, $C_4$ – percentage ground cover.	$I_b = k \times (B_b + C_b)(A_b + F_b)$ ; $I_b = k \times (B_b + C_b)(A_b + C_b)$ , где $C'$ и $C''$ – покрытие, рассчитанное относительно разных величин.
Деревья (McIntosh, 1957)	“Importance value ... is taken as the sum of relative density and relative dominance” (p. 31).	$I_b = A_b + B_b$
Травы (Numata, Yoda, 1957)	The relative importance: “ $(D' + F' + C')/3$ (%) where $D'$ (density ratio), $F'$ (frequency ratio), and $C'$ (cover ratio) are the percentages of species” (p. 7).	$I_b = k \times (A_b + F_b + C_b)$
Травы (Понятовская, Сырокомская, 1960)	Индексы фитоценотической значимости вида: встречаемость $\times$ проективное покрытие; <sup>3</sup> встречаемость $\times$ вес; <sup>3</sup> проективное покрытие $\times$ вес.	$I_b = k \times F_b \times C_b$ ; $I_b = k \times F_b \times M_b$ ; $I_b = C_b \times M_b$
Травы (Kayaama, 1961)	The real dominance: “ $(F' + D' + C')$ / $3 \times w'$ or $(F' + D' + C' + H')$ / $4 \times w'$ in which $F'$ , $D'$ , $C'$ , $H'$ and $w'$ are relative values of the frequency, density, coverage, height and weight, respectively” (p. 135). <sup>4</sup>	$I_b = k \times M_b \times (F_b + A_b + C_b)$ ; $I_b = k \times M_b \times (F_b + A_b + C_b + H_b)$
Зообентос (Петров, 1961)	Индекс плотности: $\sqrt{\rho v}$ , где $\rho$ – процент встречаемости, $v$ – плотность населения (шт./м <sup>2</sup> ).	$I_c = \sqrt{P_c \times A_c}$
Жесткокрылые (Палий, 1961) <sup>5</sup>	Коэффициент обилия: $K = \frac{\text{процент соотношения} \times \text{встречаемость}}{100}$ , где процент соотношения – процент числа экземпляров данного вида от суммы всех особей всех видов данной группы, встречаемость – процент сборов, в которых вид найден.	$I_r = k \times A_r \times F_r$
Травы и кустарнички (Буторина, 1963) <sup>6</sup>	Фитоценотический индекс – произведение постоянства на обилие (с. 30).	$I_c = P_c \times A_c$
Травы и кустарнички (Freu, 1965; Фрей, 1966)	The frequency coefficient of weight: $FCW = \sqrt{EK C_n \sum_{i=1}^{N_c} (F_i W_i / a)}$ , where $E = \frac{K}{N_f N_c^2}$ , $K = 10$ is the constant, $F_i$ – the number of sections (out of $N_f = 10$ ) of the $i$ -th quadrat in which a species occurs, $C_n$ – the number of quadrats (out of $N_c = 10$ ) in the $j$ -th sample-area in which this species appears, $W_i$ – the weight of a particular species on a single quadrat, $a$ – quadrat size.	$I_b = \sqrt{k \times F_b' \times \sum (F_b'' \times M_b)}$ , где $F'$ – встречаемость на более крупных, $F''$ – на более мелких площадках.

Таблица 1. Продолжение

Объект	Формула или описание индекса в первоисточнике	Формула индекса в сравнимом виде
Зообентос (Виленкин, 1965)	Оценка значимости вида: $Q = a \left(\frac{m}{n}\right)^k$ , где $m$ – биомасса популяции, $n$ – численность на $m^2$ , $a$ (= 2.23) и $k$ (= 0.46) – параметры, характеризующие эту зависимость.	$I_c = k' \times M_c^{k''} \times A_c^{1-k''}$
Растения (Быков, 1967, 1988).	“Доминантность вида является функцией степени его участия в сообществе (масса органического вещества, численность особей, проективное покрытие, встречаемость и пр.) и устойчивости его обилия, т. е. $D = f(M \times I_c)$ , где $M$ – масса или численность, $I_c$ – индекс устойчивости. Практически может вычисляться по формуле $D = K \frac{M \times I_c}{100}$ , где $K$ – коэффициент, отражающий особенность (класс) экобиоморфы или положение доминанта в структуре сообщества” (с. 53). $I_c = \frac{100 - v}{100}$ , где $v$ – коэффициент вариации, вычисленный по многолетним данным.	$I_b = k \times k' \times M_b \times (100 - v)$ ; $I_b = k \times k' \times A_b \times (100 - v)$ ; $I_b = k \times k' \times C_b \times (100 - v)$ ; $I_b = k \times k' \times F_b \times (100 - v)$ , где $k'$ – коэффициент жизненной формы (экобиоморфы), $v$ – коэффициент вариации.
Зоопланктон (Наумов, 1973), растения (Малышев, 1973)	Коэффициент репрезентативности: “ $K_p^1 = \sqrt{nB}$ или $K_p^2 = \sqrt{nC}$ , где $n$ – процент встречаемости данного вида; $C$ – средняя численность, экз./ $m^3$ ; $B$ – средняя биомасса данного вида в исследуемом районе, мг/ $m^3$ ” (Наумов, 1973, с. 155). Активность вида: $A = \sqrt{F \times D}$ , где $F$ – встречаемость, $D$ – обилие (Малышев, 1973).	$I_r = \sqrt{F_r \times M_r}$ ; $I_r = \sqrt{F_r \times A_r}$
Травы (Зарубин, 1977)	Порядок эдифицирования доминирующей популяции: $v = \frac{mq}{\sum_{i=1}^n m_i q_i} \times 100$ , где $m$ – биологическая масса популяции, $q$ – коэффициент доминирования вида, $q = \frac{c}{d}$ , $c$ – количество встреч вида при его доминировании, $d$ – количество общих встреч.	$I_b = k \times \frac{M_b \times Fd_r}{\sum (M_b \times Fd_r)}$
Растения (Норин, 1978)	Ценотическую позицию вида в растительном покрове (синтаксоне или районе) отражает площадь, занимаемая синузиями, в которых этот вид является доминантом-эдификатором.	$I_c = Cd_c$ ; $I_r = Cd_r$
Деревья, кустарники и кустарнички (Bredenkamp, Theron, 1985)	Performance value: $pv = \frac{rcc + rd}{2}$ , где “relative canopy cover per height class (rcc) per sample plot ... relative density per height class (rd) per sample plot” (р. 47).	$I_f = k \times (C_f + A_f)$ ; $I_b = k \times (C_b + A_b)$

Таблица 1. Окончание

Объект	Формула или описание индекса в первоисточнике	Формула индекса в сравнимом виде
Зообентос (Баканов, 1987)	Индекс доминирования: $D_A = A \times B$ , где $A$ – индекс агрегированности, $B$ – биомасса. $A = \bar{X}/\bar{X}_2$ , где $\bar{X}$ – среднее арифметическое, $\bar{X}_2$ – среднее геометрическое.	$I_b = \frac{M'_b}{M''_b} \times M_b$ , где $M'$ – среднее арифметическое, $M''$ – среднее геометрическое.
Травы (Зарубин, 1988)	Порядок доминирования ценопопуляции: ПДЦ = $\bar{m} \times \text{УДЦ}$ , где $\bar{m}$ – среднее значение массы ценопопуляции, УДЦ – устойчивость доминирования. УДЦ = $n'/n$ , $n'$ – число лет развития ценопопуляции в доминирующем положении, $n$ – число лет наблюдений.	$I_b = M_b \times \frac{t'}{t}$ , где $t'$ – число лет доминирования популяции, $t$ – число лет наблюдений.
Растения и лишайники (Осипов, 1991)	Показатель участия вида в растительном сообществе: $У = (\text{П} \times \text{В})^{2/3}$ , где $\text{П}$ – проективное покрытие, $\text{В}$ – высота.	$I_b = (C_b \times H_b)^{2/3}$
Растения (Свириденко, 2000)	Парциальная активность: “ $\text{ПА} = \frac{\text{ПП}}{100\%} \times \frac{\text{В}}{100\%}$ ”, где ... $\text{ПП}$ – среднее проективное покрытие вида в популяциях, %; $\text{В}$ – экопическая встречаемость популяций, %” (с. 21).	$I_r = k \times C_r \times F_r$
Деревья (Bohn, Nyland, 2003)	A species index value: $\text{SIV} = \frac{\sum [H \times N]_{\text{species}}}{\sum [H \times N]_{\text{plot}}}$ , где $H$ – the height in ft at the midpoint of a size class, $N$ – the number of stems in a size class.	$I_b = \frac{\sum (H_f \times A_f)}{\sum (H_b \times A_b)}$ $I_c = \frac{\sum (H_f \times A_f)}{\sum (H_c \times A_c)}$
Растения (Телятников, 2010)	Средняя активность вида: $R = \left[ \frac{\sqrt{A \times B}}{N} \right] \times 10$ , где $A$ – сумма покрытий вида в массиве геоботанических описаний; $B$ – встречаемость вида в геоботанических описаниях, $N$ – количество геоботанических описаний.	$I_r = k \times k' \times \sqrt{F_r \times \sum C_b}$ , где $k'$ – коэффициент, обратно пропорциональный числу геоботанических описаний.

Примечания.

<sup>1</sup> Также Chironomidae, Oligochaeta, Mollusca (Иоганзен, Файзова, 1978), рыбы (Кесминас, 1984).

<sup>2</sup> Также беспозвоночные (Зимбалевская, 1965).

<sup>3</sup> Судя по данным на с. 174 при расчете использован коэффициент 1/100.

<sup>4</sup> Судя по всему, эти формулы следовало записать как  $(F' + D' + C') \times w'/3$  и  $(F' + D' + C' + H') \times w'/4$ .

<sup>5</sup> Также Chironomidae (Kownacki, 1971), Oligochaeta (Любин, 1974), Mollusca (Иоганзен, Файзова 1978).

<sup>6</sup> Также Chironomidae (Kownacki, 1971), Oligochaeta и Mollusca (Иоганзен, Файзова, 1978).

нозу, а к классу биоценозов. Также в другом индексе параметр, названный встречаемостью (Dyksterhuis, 1946), по сути является постоянством; ведь в работе вычисляется индекс значимости для прерий, занимающих десятки, сотни и тысячи квадратных километров.

Индекс  $A + F + B$  (Curtis, 1947) после некоторых изменений стал известен как importance value index (IVI) (Curtis, McIntosh, 1951).

Дважды был введен индекс  $P \times M$  (Зацепин и др., 1948; Зимбалевская, 1965). У второго автора, однако, отличается способ вычисления биомассы.

Также была предложена (Ružička, 1958) формула, которая в оригинале выглядит как  $Kah = \frac{Ah \cdot K}{100}$ , где  $Ah$  – относительное значение численности–покрытия, вычисленное на основе порядковых (балльных) оценок шкалы численности–покрытия Ж. Браун-Бланке,  $K$  – постоян-

**Таблица 2.** Число и комбинации частных параметров в комплексных индексах значимости

Число параметров	Комбинации параметров
1	<i>A, C, M, F</i>
2	<i>AC, AM, AF, AP, AB, AH, CM, CF, CP, CH, MF, MP</i>
3	<i>ACM, ACF, ACB, AMP, AFB</i>
4	<i>ACMF, ACFB</i>
5	<i>ACMFH</i>

Примечание. Параметры расположены в порядке убывания числа комбинаций, в которых они использованы: *A, C, M, F, P, B, H*. Число параметров для некоторых индексов указано весьма условно. Так, индексы с одним параметром (первая строка) также включают второй параметр, который основан на изменчивости первого в пространстве – агрегированность (Баканов, 1987), или во времени – устойчивость (Быков, 1967, 1988; Зарубин, 1988), или который дополняет первый – доминирование (de Vries, 1933, по: de Vries, Boer, 1959; Норин, 1978).

ство. Однако в этой формуле были использованы баллы обилия–покрытия, что нарушает ограничения, которые накладывает на математические операции теория измерений. Тем не менее порядковая шкала Ж. Браун-Бланке довольно четко соответствует количественной шкале покрытия (Braun-Blanquet, 1932), благодаря чему порядковые обозначения могут быть заменены соответствующими средними значениями покрытия. Исходя из этого формулу (Ružička, 1958) можно записать в более корректном виде как  $k \times C_c \times P_c$ , что полностью соответствует формуле (Dyksterhuis, 1946).

Используя индекс  $F \times C$  (Понятовская, Сыромская, 1960), авторы сослались на работу (Dyksterhuis, 1946), в которой встречаемость точнее будет рассматривать как постоянство. Был переоткрыт (Pandeya, 1961) и индекс  $F \times C$ .

В основу одного из индексов значимости (Виленкин, 1965) положена зависимость между массой организма и интенсивностью его метаболизма  $Q = k' \times M_o^{k''}$ , где  $Q$  – скорость обмена в калориях или количестве потребленного кислорода в единицу времени,  $M_o$  – масса организма,  $k' = 2.23$  и  $k'' = 0.46$  – параметры, характеризующие эту зависимость. Для популяции эта формула имеет

вид  $k' \times \left(\frac{M_c}{A_c}\right)^{k''} A_c = k' \times M_c^{k''} \times A_c^{1-k''}$ . При широких сравнениях значения  $k''$  близки к 0.75 (Виленкин, Виленкина, 1979). В последующие работы этот индекс значимости так и вошел со значением  $k'' = 0.75$  (Соколова и др., 1982). Были использованы (Кучерук, Савилова, 1985) и относительные

оценки значимости популяции, с ними формула приобрела вид  $\frac{M_c^{0.75} \times A_c^{0.25}}{\sum (M_c^{0.75} \times A_c^{0.25})}$ .

За формулой (Kowpacki, 1971) стоят два индекса: для видовых популяций в районе  $k \times A_r \times F_r$  и классе биоценозов  $k \times A_c \times P_c$ . Тем самым были переоткрыты индексы В.Ф. Палия и Т.Н. Буториной (Палий, 1961; Буторина, 1963).

В работе (Кесминас, 1984) встречаем индекс  $M \times A$ . Однако это ошибка, так как данные таблицы в работе рассчитаны по формуле  $\sqrt{M \times A}$  и есть ссылка на статью (Иоганзен, Файзова, 1978), в которой были использованы формулы с квадратным корнем. Видимо, ошибка появилась в процессе издания работы. Но позже ошибочная запись упоминается как еще один индекс (Баканов, 1987).

Известно несколько индексов, сходных с комплексными индексами значимости, которые, однако, не являются таковыми. Так, был введен (Hanson, 1934) индекс, который преобразуется в среднее арифметическое значение численности:

$$\text{frequency} \times \text{abundance} = \frac{n_j}{n_i} \times \frac{\sum A}{n_j} = \frac{\sum A}{n_i},$$

где  $n_j$  – число площадок, на которых встречен данный вид,  $n_i$  – общее число площадок,  $\sum A$  – сумма обилий данного вида. Подобный индекс есть и в другой работе (Whitford, 1949). И показатель участия вида в фитоценозе (Быков, 1951, 1970; и др.) в результате преобразования превращается в относительную продуктивность вида. Также предложено несколько индексов, в которых использовано деление на встречаемость (Raunkiaer, 1934; de Vries, 1938; Иоганзен, Файзова, 1978). Однако такие индексы не являются мерой значимости вида, так как показано, что значимость вида связана с его встречаемостью прямо пропорциональной зависимостью. Судя по всему, индексы  $\frac{A}{F}$ ,  $\frac{M}{F}$ ,  $\frac{C}{F}$ ,  $\frac{Fd}{F}$  и им подобные больше подходят для анализа пространственного распределения вида, так отношение  $\frac{A}{F}$  использовано (Whitford, 1949; Палий, 1961) для оценки контагиозности или групповости.

Среди большого числа предложенных индексов широкое применение нашли немногие: в экологии лугов (de Vries, Boer, 1959), в гидробиологии (Зенкевич, Броцкая, 1937; Мордухай-Болтовский, 1937) в лесной экологии (Curtis, 1947; McIntosh, 1957). По своим основным характеристикам (набору параметров, экологическому содержанию, структуре формулы) эти индексы, пожалуй, не являются какими-то особенными, существенно отличными, выдающимися. Судя по всему, широкому ис-

**Таблица 3.** Некоторые ряды комплексных индексов значимости вида в отдельном биоценозе ( $I_b$ ), районе (территориальном комплексе биоценозов) ( $I_r$ ) и классе (типе) биоценозов ( $I_c$ )

Обобщенная структура индекса	Индексы значимости вида в отдельном биоценозе ( $I_b$ )	Индексы значимости вида в районе (территориальном комплексе биоценозов) ( $I_r$ )	Индексы значимости вида в классе (типе) биоценозов ( $I_c$ )
$A \times F$ $A \times P$	$A_b \times F_b$ (Уранов, 1935)	$k \times A_r \times F_r$ (Палий, 1961)	$P_c \times A_c$ (Буторина, 1963)
		$\sqrt{F_r \times A_r}$ (Малышев, 1973; Наумов, 1973)	$\sqrt{P_c \times A_c}$ Петров, 1961
$A \times M$		$\sqrt{M_r \times A_r}$ (Зенкевич, Броцкая, 1937)	$\sqrt{M_c \times A_c}$ (Зенкевич, Броцкая, 1937)
			$k' \times M_c^{k''} \times A_c^{1-k''}$ (Виленкин, 1965)
			$\frac{M_c^{0.75} \times A_c^{0.25}}{\sum(M_c^{0.75} \times A_c^{0.25})}$ (Кучерук, Савилова, 1985)
$A \times H$	$\frac{\sum(H_f \times A_f)}{\sum(H_b \times A_b)}$ (Bohn, Nyland, 2003)		$\frac{\sum(H_f \times A_f)}{\sum(H_c \times A_c)}$ (Bohn, Nyland, 2003)
$C \times F$ $C \times P$	$k \times F_b \times C_b$ (Понятовская, Сырокомская, 1960)	$k \times C_r \times F_r$ (Свириденко, 2000)	$k \times C_c \times P_c$ (Dyksterhuis, 1946)
		$k \times k' \times \sqrt{F_r \times \sum C_b}$ (Телятников, 2010)	
$M \times F$ $M \times P$	$k \times F_b \times M_b$ (Понятовская, Сырокомская, 1960)		$P_c \times M_c$ (Зацепин и др., 1948)
		$\sqrt{F_r \times M_r}$ (Наумов, 1973)	$\sqrt{M_c \times P_c}$ (Мордухай-Болтовской, 1937)
			$P_c \times \sqrt{M_c}$ (Мордухай-Болтовской, 1948)
			$\sqrt{P_c \times \sqrt{M_c}}$ (Мордухай-Болтовской, 1939)
	$\sqrt{k \times F_b' \times \sum(F_b'' \times M_b)}$ Frey, 1965		
$A \times M \times P$			$P_c \times \sqrt{M_c \times A_c}$ (Арнольди, 1941)
			$\sqrt[3]{A_c \times M_c \times P_c}$ (Арнольди, 1949)

пользованию этих индексов во многом поспособствовали авторитет их авторов и тот обширный фактический материал, на основе которого они были опробованы.

### СТРУКТУРА ФОРМУЛ КОМПЛЕКСНЫХ ИНДЕКСОВ ЗНАЧИМОСТИ

В комплексных индексах значимости использовано много комбинаций частных параметров (табл. 2). В формулах применены следующие математические операции:

сложение и умножение параметров как простейшие способы их связывания в структуре индекса. При этом умножение более универсально (параметры разной размерности можно перемножить, но нельзя сложить);

вычисление средних значений параметров как способ связывания параметров и трансформации значений индекса. Используются среднее арифметическое и среднее геометрическое;

трансформация значений параметров и индекса, которая необходима, во-первых, чтобы изменить соотношение параметров относительно друг друга (“взвешивание” параметров), во-вторых, чтобы получить более удобные диапазоны значений параметров и индекса. Наиболее обычные трансформации — извлечение корня и деление на константу;

вычисление относительных значений параметров и индекса — важнейший способ их трансформации, который позволяет сделать значения сравнимыми для разных видов в одном биоценозе или одного и того же вида в разных биоценозах.

Некоторые параметры неоднозначно связаны со значимостью вида. Обычно отмечается, что значимость вида в биоценозе тем выше, чем равномернее он распределен (при прочих равных условиях). Однако А.И. Баканов (Баканов, 1987) обратил внимание на то, что значимость вида как пищевого ресурса при его агрегированности выше, чем при равномерном распределении.

Большинство комплексных индексов значимости изменяются от 0 до 100, у некоторых верхний предел неопределенный. Конечно, фиксированный диапазон значений для индексов очень удобен и даже необходим для более простой интерпретации при сравнении существенно различных жизненных форм и биоценозов.

### АРГУМЕНТЫ “ЗА” И “ПРОТИВ” КОМПЛЕКСНЫХ ИНДЕКСОВ ЗНАЧИМОСТИ

Обращает на себя внимание, что исследователи снова и снова берутся за разработку комплексных индексов значимости. Главным образом это связано с тем, что комплексный индекс объединяет разные характеристики и тем самым отража-

ет значимость вида в биоценозе лучше (более разнообразнее), чем каждый из образующих его частных параметров в отдельности. Этот аргумент прослеживается у большинства разработчиков комплексных индексов и у многих применяющих их авторов.

Комплексные индексы играют весьма заметную роль в разных научных направлениях. Это индексы континентальности в климатологии, комфортности в биометеорологии, качества среды в экологии и т.д. К сожалению, при разработке и использовании комплексных индексов иногда нарушаются элементарные требования теории измерений. Но ошибки в отдельных работах не могут дискредитировать идею комплексного индекса как таковую. В работах, использующих комплексные индексы значимости вида, требования теории измерений нарушаются редко.

Одно из обычных и, вероятно, наиболее серьезных возражений против комплексных индексов вообще заключается в том, что они не имеют реального смысла, физического или биологического содержания. Так, В.С. Ипатов (Ипатов, 1961, с. 1348) в рецензии на работу В.М. Понятовской и И.В. Сырокомской (Понятовская, Сырокомская, 1960) заключил, что предложенные ими комплексные индексы не дают нового представления о роли вида в фитоценозе по сравнению с первичными параметрами, но “вносят лишь путаницу и лишены внутреннего содержания”. Другие авторы (Миркин, Розенберг, 1983, с. 37) констатировали, что индексы фитоценотической значимости, кроме двух, “не нашли широкого применения в фитоценологии в силу своей полной произвольности и отсутствия физико-биологического содержания”. Несомненно, в этом возражении есть доля здравого редуционизма. Опасность этого возражения в том, что в категоричной форме оно полностью закрывает рассматриваемую тему. Однако недостатки отдельных индексов не должны дискредитировать подход как таковой.

Для признания некоторых комплексных индексов важно рассмотреть их весьма абстрактную геометрическую интерпретацию. Представления о  $n$ -мерном признаковом пространстве успешно используются в разных разделах экологии (Hutchinson, 1957; Violle, Jiang, 2009; Albert *et al.*, 2010; Blonder *et al.*, 2014). Применим их к концепции значимости вида и убедимся, что геометрическая интерпретация придает вполне ясное математическое и экологическое содержание многим комплексным индексам.

Каждому параметру ( $X_1, X_2, \dots, X_i$ ) поставим в соответствие ось координат признакового пространства. Используем относительные значения каждого параметра  $X_{ij}/X_{i\max}$ , где  $X_{ij}$  — текущее значение,  $X_{i\max}$  — максимальное значение параметра  $X_i$ . Важно то, что отношение  $X_{ij}/X_{i\max}$  дела-

ет значения безразмерными и параметры равновеликими (т.е. диапазон значений каждого параметра 0–1 или 0–100%). На осях откладываем относительные значения параметров и строим  $n$ -мерный параллелепипед для каждого вида. Этот  $n$ -мерный параллелепипед – геометрическая модель значимости вида на основе  $n$  параметров.

Многие индексы основаны на сложении параметров. Это индексы со структурой  $X_1 + X_2$  и  $X_1 + X_2 + X_3$ , где  $X_1, X_2, X_3$  – параметры вида. Первая формула (сумма двух параметров) – 1/2 периметра параллелограмма, вторая формула (сумма трех параметров) – 1/4 периметра трехмерного параллелепипеда. Также многие индексы основаны на умножении параметров. Это индексы со структурой  $X_1 \times X_2$  и  $X_1 \times X_2 \times X_3$ . Произведение двух параметров – площадь прямоугольного параллелограмма, произведение трех параметров – объем прямоугольного трехмерного параллелепипеда.

Прямоугольный  $n$ -мерный параллелепипед – хорошая модель значимости вида лишь в случае, если используемые параметры независимы. Однако в одном индексе нередко используются параметры, связанные между собой биологическими процессами и, как следствие, имеющие более или менее сильную математическую (корреляционную) зависимость. Поэтому в качестве более точной и универсальной модели можно принять произвольную систему координат и соответствующий ей произвольный  $n$ -мерный параллелепипед, где углы между осями координат (ребрами параллелепипеда) согласуются с корреляцией между соответствующими им параметрами. Объем и другие характеристики  $n$ -мерного параллелепипеда могут быть вычислены на основе разных разделов математики.

Рассмотренная геометрическая модель отражает холистическую позицию. В оценке комплексных индексов значимости очень важен разумный баланс редукционистского и холистического подходов.

Необходимо обратить внимание на то, что некоторые индексы основаны на сущностных зависимостях и имеют вполне ясное математическое, биологическое и экологическое содержание. Отметим четыре группы таких индексов.

Первая группа – индексы частоты доминирования, комбинирующие такие параметры, как доминирование и встречаемость. Для оценки доминирования (de Vries, Voer, 1959) была использована в основном биомасса, хотя тестировались и другие параметры (например, численность (de Vries, 1937, 1938)). Здесь важно подчеркнуть, что в этих индексах могут быть использованы разные параметры доминирования.

Вторая группа – индексы на основе интенсивности метаболизма организма и популяции. Б.Я. Виленкин (Виленкин, 1965, с. 128) исходил

из того, что “оценкой значимости вида может служить величина потока энергии, проходящего через популяцию”. Для измерения потока энергии он использовал известную зависимость между размерами (массой и поверхностью) организма и интенсивностью его метаболизма  $Q = k' \times M^k$  и предложил индекс  $k' \times M_c^k \times A_c^{1-k}$ . Изучение разных типов аллометрии продолжает интенсивно развиваться. Для многих таксонов разного ранга получены новые эмпирические уравнения, которые точнее отражают связь между размером организма и уровнем его метаболизма (Glazier, 2005, 2010; Chown *et al.*, 2007; Enquist *et al.*, 2007a, b; Mori *et al.*, 2010; и др.). Это позволяет включить в индекс Б.Я. Виленкина уточняющие коэффициенты для разных таксонов и типов среды.

В третьей группе (Быков, 1967, 1988) соединены две характеристики значимости вида: степень участия и устойчивость участия вида в сообществе. Степень участия оценивается на основе таких параметров, как биомасса, численность, проективное покрытие, встречаемость и др. Устойчивость участия оценивается по формуле  $\frac{100 - v}{100}$  (Быков, 1967) или  $100 - v$  (Быков, 1988), где  $v$  – коэффициент вариации параметра, вычисленный по многолетним данным.

Четвертая группа – индексы на основе размеров пространственной ниши популяции. С.В. Осипов (Осипов, 1991) предложил индексы на основе формулы  $(C \times H)^k$ , которая непосредственно отражает участие вида в строении фитоценоза.  $C \times H$  – размеры занимаемого (покрываемого) видом надземного пространства, или надземной части пространственной ниши видовой популяции. При  $k = 1/3$ ,  $k = 2/3$  и  $k = 3/3 = 1$  получаем соответственно линейные, площадные и объемные размеры занимаемого видом пространства. Важно отметить, что для видов растений различных жизненных форм показана высокая корреляция надземной фитомассы с покрытием и высотой. Но еще более тесная корреляция наблюдается, когда учитываются оба параметра – и покрытие, и высота (Pasto *et al.*, 1957; Evans, Jones, 1958; Раменский, 1966; Ярошенко, 1967; Куркин, 1974; Montès *et al.*, 2000; и др.).

Таким образом, утверждать, что все комплексные индексы не имеют реального содержания, – ошибочное мнение.

В существующих комплексных индексах используются относительно малотрудоемкие параметры, измерение которых рассмотрено стандартными методами при сборе массового материала. Это дает большое преимущество комплексным индексам при решении задач, связанных с анализом массового материала, и во многом определяет спрос на

них. При сборе и обработке массового материала относительно грубые оценки комплексных индексов часто вполне достаточные. В таких ситуациях комплексные индексы оказываются предпочтительнее чем, например, более чувствительные и информативные, но и более трудоемкие производственные параметры. По этой же причине комплексные индексы значимости не могут быть вытеснены индексами, которые разработаны в анализе экологических сетей (Jordán *et al.*, 2006; Fedor, Vasas, 2009; и др.).

Комплексные индексы значимости довольно просты по структуре и содержанию. Как следствие, значения большинства индексов интерпретируются довольно легко, ненамного сложнее, чем значения частных параметров.

Понятно, что одно и то же значение комплексного индекса может быть получено за счет разных комбинаций значений входящих в него параметров. Это свойство иногда отмечается как недостаток (Работнов, 1963; Mueller-Dombois, Ellenberg, 1974). Да, это свойство можно рассматривать как недостаток при детальном сравнительном анализе. Но комплексные индексы предназначены, прежде всего, не для тонкого анализа, а для широкого сравнения различных популяций, видов, жизненных форм, биоценозов, экосистем.

### ОБЛАСТЬ ПРИМЕНИМОСТИ КОМПЛЕКСНЫХ ИНДЕКСОВ ЗНАЧИМОСТИ

Главные области приложения комплексных индексов – это сравнительный анализ значимости разных видов в одном биоценозе и сравнительный анализ биоценозов с учетом значимости образующих их видов. Комплексные индексы широко используются при анализе структуры доминирования видов в биоценозах (Мордухай-Болтовской, 1937; Баканов, 1987), классификации и ординации биоценозов (Bredenkamp, Theron, 1985; Varuch, 2005), изучении и описании динамических серий (de Vries, Boer, 1959; Iverson, Prasad, 1998; Bohn, Nyland, 2003), анализе трансект и пространственных рядов биоценозов (Осипов, 1992; Barker *et al.*, 2002; Chambers *et al.*, 2013). Одно из незаменимых применений комплексных индексов – неструктуривная оценка биомассы (Evans, Jones, 1958; Раменский, 1966; Ярошенко, 1967; Montès *et al.*, 2000). Кроме этого комплексные индексы могут быть использованы везде, где учитываются не просто видовой состав, но и значимость видов.

Применимость индекса к определенным организмам во многом зависит от входящих в индекс параметров. Так, биомасса, численность, встречаемость, постоянство – параметры, применимые к любым организмам, высота, площадь осно-

ваний и покрытие – главным образом к прикрепленным организмам. Обычно комплексные индексы применяются к видовым популяциям, но они могут быть использованы для оценки значимости довольно широкого круга объектов: таксонов разного ранга, групп видов (жизненных форм, экологических групп) и структурных элементов (парцелл, синузий, консорций). Большинство комплексных индексов используются для отражения значимости видов (видовых популяций) в отдельных биоценозах. Но также они используются или могут быть использованы для отражения значимости видов в классах (типах) биоценозов, территориальных комплексах биоценозов, районах (регионах), биомах и других объектах географического уровня.

Комплексные индексы широко применяются при обработке массового материала. Это возможно благодаря тому, что в них используются относительно мало трудоемкие параметры, определяемые стандартными экспедиционными и расчетными методами. Значения комплексных индексов не нужно рассматривать как точнейшие оценки значимости (для тонкого анализа лучше использовать более адекватные средства, например частные параметры по отдельности). Ценность комплексных индексов в том, что они позволяют сравнить виды весьма различных жизненных форм и биоценозы весьма различной структуры. Благодаря этому комплексные индексы наряду с другими экологическими характеристиками могут быть использованы во многих био- и геоинформационно-аналитических системах при обработке массовых материалов.

### КОМПЛЕКСНЫЙ ИНДЕКС ЗНАЧИМОСТИ КАК МОДЕЛЬ

Итак, разработанные индексы значимости многообразны (табл. 1). В таблицах 2 и 3 намечены ряды формул, немного упорядочивающие существующее разнообразие индексов и облегчающие выбор. Подбор индекса зависит от задач исследования и во многом определяется особенностями изучаемых объектов, измеряемых параметров и т.д. Если не удастся выбрать подходящий индекс, то вполне возможна разработка нового.

Обоснование существующих и разработку новых индексов целесообразно рассматривать как моделирование такого свойства (качества), как значимость вида в биоценозе или совокупности биоценозов. Такой подход включает в себя следующие составляющие: анализ понятия значимости вида и формулирование общих требований к индексу; подбор частных параметров, которые должны быть включены в индекс; выявление или задание зависимости значимости вида от выбранных частных параметров, выбор математических операций для связывания параметров; анализ не-

обходимости вычисления относительных значений, “взвешивания” или другой трансформации параметров; выбор диапазона значений индекса, редактирование структуры и дизайн формулы; разноплановое тестирование индекса на модельных примерах, его оценку по сравнению с порядковыми шкалами (такими, как dominant–subdominant–edominant или influent–subfluent–vefluent (Clements, 1936)) и вошедшими в него частными параметрами (оценка проводится на основе эмпирических данных и/или заданных примеров); оценку ошибки репрезентативности индекса; применение индекса для сравнительного анализа биоценозов (структуры доминирования, классификации, ординации и др.), выявление других возможностей и ограничений его использования.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Существует много комплексных индексов для отражения значимости, в том числе доминирования, вида или видовой популяции в отдельном биоценозе, территориальном комплексе биоценозов (районе, регионе) или типе (классе) биоценозов. Они существенно различаются по своим характеристикам (включенным параметрам, структуре формулы и др.), степени обоснованности, проверенности на конкретном материале. Многим авторам удалось обосновать введение комплексных индексов и продемонстрировать их достоинства. Недостатки некоторых формул не должны дискредитировать саму концепцию комплексного индекса значимости. В отдельных исследованиях разработка рассматриваемых индексов представляла собой моделирование такого качества (свойства), как значимость вида. Несомненно, применение методологии моделирования способствует дальнейшему развитию и более широкому использованию комплексных индексов.

Комплексные индексы значимости созданы на основе параметров, измерение которых возможно при сборе массового материала стандартными экспедиционными методами. Это во многом определяет спрос на комплексные индексы. Главные области их применения и применимости – это выявление структуры доминирования, сравнительный анализ значимости разных видов в одном биоценозе, сравнительный анализ биоценозов с учетом значимости образующих их видов, классификация и ординация биоценозов, моделирование экологического и географического распространения видов, индикация условий среды, оценка биомассы и т.д. Эти индексы могут быть использованы везде, где учитываются не просто видовой состав, но и значимость видов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 13-05-00677 и 18-05-00086).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арнольди Л.В.* Материалы по количественному изучению зообентоса в Черном море // Тр. Зоол. ин-та АН СССР. 1941. Т. 7. Вып. 2. С. 94–113.
- Арнольди Л.В.* Материалы по количественному изучению зообентоса Черного моря. 2. Каркинитский залив // Тр. Севастопольской биол. станции. 1949. Т. 7. С. 127–192.
- Баканов А.И.* Количественная оценка доминирования в экологических сообществах. Борок, 1987. 64 с. Деп. в ВИНТИ. 23.11.87, № 8593.
- Баканов А.И.* Количественная оценка доминирования в экологических сообществах / Отв. ред. Розенберг Г.С. Количественные методы экологии и гидробиологии. Тольятти: СамНЦ РАН, 2005. С. 37–67.
- Буторина Т.Н.* Эколого-ценотический анализ кустарничково-травяного яруса лесных ассоциаций / Отв. ред. Смагин В.Н. Типы лесов Сибири. М.: Изд-во АН СССР, 1963. С. 30–51.
- Быков Б.А.* К методике изучения борьбы за существование в фитоценозах // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1951. Т. 56. Вып. 2. С. 68–73.
- Быков Б.А.* Геоботаническая терминология. Алма-Ата: Наука, 1967. 168 с.
- Быков Б.А.* Введение в фитоценологию. Алма-Ата: Наука, 1970. 234 с.
- Быков Б.А.* Экологический словарь. Алма-Ата: Наука, 1988. 245 с.
- Виленкин Б.Я.* Об интерпретации данных количественных сборов бентоса // Океанология. 1965. Т. 5. № 1. С. 128–133.
- Виленкин Б.Я., Виленкина М.Н.* Дыхание водных беспозвоночных // Итоги науки и техники. Сер. Зоология беспозвоночных. Т. 6. М.: ВИНТИ АН СССР, 1979. 144 с.
- Зарубин С.И.* Анализ доминантов травянистых растительных сообществ лесостепной зоны Тюменской области / Отв. ред. Серебрякова Т.И. Структура и динамика растительного покрова. М.: Наука, 1977. С. 50–51.
- Зарубин С.И.* Методика определения устойчивости и порядка доминирования ценопопуляций в травяных сообществах // Ботан. журн. 1988. Т. 73. № 1. С. 128–134.
- Зацепин В.И., Зенкевич Л.А., Филатова З.А.* Материалы по количественному учету донной фауны литорали Кольского залива // Тр. Гос. океанограф. ин-та. 1948. Вып. 6(18). С. 13–54.
- Зенкевич Л.А., Броцкая В.А.* Материалы по экологии руководящих форм бентоса Баренцова моря // Уч. зап. МГУ. Зоология. 1937. Вып. 13. № 3. С. 203–226.
- Зимбалева Л.Н.* Сообщества беспозвоночных в зарослях высшей водной растительности среднего Днепра // Гидробиол. журн. 1965. Т. 1. № 3. С. 38–48.
- Иоганзен Б.Г., Файзова Л.В.* Об определении показателей встречаемости, обилия, биомассы и их соотношения у некоторых гидробионтов // Элементы водных экосистем. М.: Наука, 1978. С. 215–225.
- Ипатов В.С.*, Рецензия: Понятская В.М., Сырокомская И.В. Опыт сравнительной оценки участия ви-

- да в строении лугового сообщества // Ботан. журн. 1961. Т. 46. № 9. С. 1346–1348.
- Кесминас В.А.* Учет видового состава, численности и биомассы рыб в разных биотопах бассейна р. Мяркис // Материалы 14(22) заседания советской рабочей группы по проекту № 86 “Вид и его продуктивность в ареале”. Вильнюс: Ин-т зоологии и паразитологии АН ЛитССР, 1984. С. 55–60.
- Куркин К.А.* Динамика роста трав на орошаемых культурных пастбищах // Мелиорация земель Мещерской низменности. Рязань: ВНИИ гидротехники и мелиорации, 1974. С. 54–68.
- Кучерук Н.В., Савилова Т.А.* Количественная и экологическая характеристика донной фауны шельфа и верхнего склона района северо-перуанского апвеллинга // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1985. Т. 90. № 6. С. 70–79.
- Любин В.А.* Изменения в составе фауны малощетинковых червей Куйбышевского водохранилища // Гидробиол. журн. 1974. Т. 10. № 6. С. 47–52.
- Макаревич В.Н.* Голландские методы учета обилия видов по Де Фрису в сравнении с другими методами определения участия видов в луговых травостоях // Ботан. журн. 1966. Т. 51. № 2. С. 293–304.
- Малышев Л.И.* Флористическое районирование на основе количественных признаков // Ботан. журн. 1973. Т. 58. № 11. С. 1581–1588.
- Миркин Б.М., Розенберг Г.С.* Толковый словарь современной фитоценологии. М.: Наука, 1983. 134 с.
- Мордухай-Болтовской Ф.Д.* Состав и распределение бентоса в Таганрогском заливе // Работы Дону-Кубанской научной рыбохозяйственной станции. Вып. 5. Ростов н/Д: Азово-Черноморск. краевое книгоизд-во, 1937. С. 3–83.
- Мордухай-Болтовской Ф.Д.* О годовых изменениях в бентосе Таганрогского залива // Зоол. журн. 1939. Т. 18. № 6. С. 989–1009.
- Мордухай-Болтовской Ф.Д.* Материалы по гидробиологии Миусского лимана // Уч. зап. Рост. н/Д гос. ун-та. 1948. Т. 12. № 1. С. 101–119.
- Наумов А.Г.* Биогеографическая природа руководящих видов зоопланктона Тихоокеанского сектора Южного океана // Тр. Всесоюз. НИИ морского рыбного хозяйства и океанографии. 1973. Т. 84. Вып. 4. С. 148–158.
- Норин Б.Н.* Использование синузального строения растительного покрова для флороценологического анализа геоботанических выделов // Ботан. журн. 1978. Т. 63. № 4. С. 544–547.
- Осипов С.В.* Количественный показатель участия вида в растительном сообществе на основе проективного покрытия и высоты // Ботан. журн. 1991. Т. 76. № 5. С. 97–103.
- Осипов С.В.* Изучение строения растительного покрова на основе сравнения соседних участков // Ботан. журн. 1992. Т. 77. № 8. С. 127–135.
- Палий В.Ф.* О количественных показателях при обработке фаунистических материалов // Зоол. журн. 1961. Т. 40. № 1. С. 3–6.
- Петров К.М.* Биоценозы рыхлых грунтов черноморской части подводного склона Таманского полуострова // Зоол. журн. 1961. Т. 40. № 3. С. 318–325.
- Помятовская В.М., Сырокомская И.В.* Опыт сравнительной оценки участия вида в строении лугового сообщества // Тр. Ботан. ин-та АН СССР. Сер. 3. Геоботаника. 1960. Вып. 12. С. 171–180.
- Работнов Т.А.* Опыт использования принципа непрерывности растительного покрова при изучении растительности штата Висконсин (США) // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1963. Т. 68. № 4. С. 147–151.
- Свириденко Б.Ф.* Флора и растительность водоемов Северного Казахстана. Омск: Изд-во Омск. ГПУ, 2000. 196 с.
- Соколова М.Н., Зезина О.Н., Каменская О.Е.* Мейобентос – предмет и задачи исследования / Отв. ред. Кузнецов А.П., Виноградова Н.Г. Исследования глубоководного бентоса. М.: Наука, 1982. С. 19–30.
- Телятников М.Ю.* Сравнительный анализ локальных флор северо-западной части плато Путорана // Сиб. экол. журн. 2010. № 6. С. 919–928.
- Уранов А.А.* О сопряженности компонентов растительного ценоза // Уч. зап. МГПИ. 1935. № 1. С. 59–85.
- Фрей Т.Э.-А.* Некоторые аспекты фитоценологической значимости вида в растительном сообществе // Ботан. журн. 1966. Т. 51. № 8. С. 1073–1084.
- Albert C.H., Thuiller W., Yoccoz N.G., Douzet R., Aubert S., Lavorel S.* A multi-trait approach reveals the structure and the relative importance of intra- vs. interspecific variability in plant traits // *Function. Ecol.* 2010. V. 24. P. 1192–1201.
- Barker J.R., Ringold P.L., Bollman M.* Patterns of tree dominance in coniferous riparian forests // *For. Ecol. Manag.* 2002. V. 166. № 1–3. P. 311–329.
- Baruch Z.* Vegetation–environment relationships and classification of the seasonal savannas in Venezuela // *Flora.* 2005. V. 200. № 1. P. 49–64.
- Begon M., Townsend C.R., Harper J.L.* Ecology: from individuals to ecosystems. Malden; Oxford; Carlton: Blackwell Publ., 2006. 738 p.
- Blonder B., Lamanna Chr., Violle C., Enquist B.J.* The n-dimensional hypervolume // *Global Ecol. Biogeogr.* 2014. V. 23. № 5. P. 595–609.
- Bohn K.K., Nyland R.D.* Forecasting development of understory American beech after partial cutting in uneven-aged northern hardwood stands // *For. Ecol. Manag.* 2003. V. 180. P. 453–461.
- Braun-Blanquet J.* Plant sociology. The study of plant communities. N.Y.; London: McGraw-Hill Book Co. Inc., 1932. 439 p.
- Bredenkamp G.J., Theron G.K.* A quantitative approach to the structural analysis and classification of the vegetation of the Manyeleti Game Reserve // *South Afr. J. Bot.* 1985. V. 51. № 1. P. 45–54.
- Chambers D., Périé C., Casajus N., de Blois S.* Challenges in modelling the abundance of 105 tree species in eastern North America using climate, edaphic, and topographic variables // *For. Ecol. Manag.* 2013. V. 291. P. 20–29.
- Chown S.L., Marais E., Terblanche J.S., Klok C.J., Lighton J.R.B., Blackburn T.M.* Scaling of insect metabolic rate is inconsistent with the nutrient supply network model // *Funct. Ecol.* 2007. V. 21. P. 282–290.

- Clements F.E.* Nature and Structure of the Climax // *J. Ecol.* 1936. V. 24. № 1. P. 252–284.
- Coroi M., Skeffington M.S., Giller P., Smith C., Gormally M., O'Donovan G.* Vegetation diversity and stand structure in streamside forests in the south of Ireland // *For. Ecol. Manag.* 2004. V. 202. № 1–3. P. 3–57.
- Curtis J.T.* The palo verde forest type near Gonivaves, Haiti, and its relation to the surrounding vegetation // *The Caribb. For.* 1947. V. 8. № 1. P. 1–25.
- Curtis J.T., McIntosh R.P.* An upland forest continuum in the prairie–forest border region of Wisconsin // *Ecology.* 1951. V. 32. № 3. P. 476–496.
- Daubenmire R.F.* Plant Communities. A Textbook of Plant Synecology. New York; Evanston; London: Harper & Row Publ., 1968. 300 p.
- De Vries D.M.* Methods used in scientific plant sociology and in agricultural botanical grassland research // *Herbage Rev.* 1937. V. 5. № 1. P. 187–193.
- De Vries D.M.* The plant sociological combined specific frequency and order method // *Chronica Bot. Natl Plant Sci. Newsmagazine.* 1938. V. 4. № 2. P. 115–117.
- De Vries D.M., Boer T.A.* Methods used in botanical grassland research in the Netherlands and their application // *Herbage Abstracts.* 1959. V. 29. № 1. P. 1–7.
- Dyksterhuis E.J.* The vegetation of the Fort Worth prairie // *Ecol. Monogr.* 1946. V. 16. № 1. P. 1–29.
- Evans R.A., Jones M.B.* Plant height times ground cover versus clipped samples for estimation forage production // *Agronomy Journ.* V. 50. P. 504–506.
- Fedor A., Vavas V.* The robustness of keystone indices in food webs // *J. Theoret. Biol.* 2009. V. 260. P. 372–378.
- Frey T.* On the phytocoenological value of a species // *Eesti NSV Teaduste Akad. Toimetised. Biol. Seeria.* 1965. V. 14. № 1. P. 83–94.
- Glazier D.S.* Beyond the ‘3/4 power law’: variation in the inter- and intraspecific scaling of metabolic rate in animals // *Biol. Rev.* 2005. V. 80. P. 611–662.
- Glazier D.S.* A unifying explanation for diverse metabolic scaling in animals and plants // *Biol. Rev.* 2010. V. 85. P. 111–138.
- Hanson H.C.* A comparison of methods of botanical analysis of the native prairie in Western North Dakota // *J. Agricult. Res.* 1934. V. 49. P. 815–842.
- Hutchinson G.E.* Concluding remarks // *Cold Spring Harbour Symposia on Quantitative Biology.* V. 22. N.Y.: Cold Spring Harbor, 1957. P. 415–427.
- Iverson L.R., Prasad A.M.* Predicting abundance of 80 tree species following climate change in the eastern United States // *Ecol. Monogr.* 1998. V. 68. № 4. P. 465–485.
- Iverson L.R., Prasad A.M., Matthews S.N., Peters M.* Estimating potential habitat for 134 eastern US tree species under six climate scenarios // *Forest Ecol. Manag.* 2008. V. 254. P. 390–406.
- Iverson L.R., Prasad A.M., Matthews S.N., Peters M.P.* Lessons learned while integrating habitat, dispersal, disturbance, and life-history traits into species habitat models under climate change // *Ecosystems.* 2011. V. 14. P. 1005–1020.
- Jordán F., Liu W.C., Davis A.J.* Topological keystone species: measures of positional importance in food webs // *Oikos.* 2006. V. 112. P. 535–546.
- Kayama R.* New methods of quantitative representation of the structure of plant communities. IV. On the summed dominance ratio weighted by the plant weight // *Japanese J. Ecol.* 1961. V. 11. № 4. P. 135–139.
- Kownacki A.* Taxocens of Chironomidae in streams of the Polish High Tatra Mts // *Acta Hydrobiol.* 1971. V. 13. № 4. P. 439–464.
- Lindsey A.A.* Sampling methods and community attributes in forest ecology // *For. Sci.* 1956. V. 2. № 1. P. 287–296.
- Mandal G., Joshi S.P.* Analysis of vegetation dynamics and phytodiversity from three dry deciduous forests of Doon Valley, Western Himalaya, India // *J. Asia-Pacific Biodiversity.* 2014. V. 7. № 3. P. 292–304.
- McIntosh R.P.* The York Woods, a case history of forest succession in southern Wisconsin // *Ecology.* 1957. V. 38. № 1. P. 29–31.
- Montès N., Gauquelin T., Badri W., Bertaudière V., Zaoui El H.* A non-destructive method for estimating above-ground forest biomass in threatened woodlands // *For. Ecol. and Management.* 2000. V. 130. № 1–3. P. 37–46.
- Mori S., Yamaji K., Ishida A., Prokushkin S.G., Masyagina O.V., Hagihara A., Hoque A.T.M.R., Suwa R., Osawa A., Nishizono T., Ueda T., Kinjo M.* Mixed-power scaling of whole-plant respiration from seedlings to giant trees // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. P. 1447–1451.
- Mueller-Dombois D., Ellenberg H.* Aims and Methods of Vegetation Ecology. New York, London, Sydney, Toronto: John Wiley & Sons, 1974. 550 p.
- Numata M., Yoda K.* The community structure and succession of artificial grasslands. I // *Japanese Soc. Grassland Sci.* 1957. V. 3. P. 4–11.
- Pandeya S.C.* On some new concept in phytosociological studies of grasslands. I. Dominance diagrams // *J. Indian Bot. Soc.* 1961. V. 40. № 2. P. 263–266.
- Pasto J.K., Allison J.R., Washko J.B.* Ground cover and height of sward as a means of estimating pasture production // *Agronomy J.* 1957. V. 49. № 8. P. 407–409.
- Raunkiaer C.* Statistical Researches on Plant Formations / Raunkiaer C. The Life Forms of Plants and Statistical Plant Geography. Oxford: Clarendon Press, 1934. P. 379–424.
- Ružička M.* Anwendung mathematisch-statistischer methoden in der geobotanik (synthetische bearbeitung von Aufnahmen) // *Biologia.* 1958. R. 13. C. 9. S. 647–661.
- Urrego L.E., Molina E.C., Suárez J.A.* Environmental and anthropogenic influences on the distribution, structure, and floristic composition of mangrove forests of the Gulf of Urabá (Colombian Caribbean) // *Aquat. Bot.* 2014. V. 114. P. 42–49.
- Violle C., Jiang L.* Towards a trait-based quantification of species niche // *J. Plant Ecol.* 2009. V. 2. № 2. P. 87–93.
- Whitford P.B.* Distribution of woodland plants in relation to succession and clonal growth // *Ecology.* 1949. V. 30. № 2. P. 199–208.
- Xaud H.A.M., Martins F.S.R., Santos J.R. dos.* Tropical forest degradation by mega-fires in the northern Brazilian Amazon // *For. Ecol. Manag.* 2013. V. 294. P. 97–106.

## **The Importance of a Species in a Biocoenosis, a Class of Biocoenoses, and a Region: a Review of Combined Indexes**

**S. V. Osipov<sup>#</sup>**

*Pacific Geographical Institute, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, ul. Radio 7, Vladivostok, 690041 Russia*

*<sup>#</sup>e-mail: sv-osipov@yandex.ru*

This paper reviewed the combined indexes created to reflect the importance of a species (species population) in an individual biocoenosis, in a region (regional or spatial complex), and in a class (type) of biocoenoses. Main features of the indexes, such as included parameters, structures of formulas, areas of applicability, and limitations of using are discussed. Content of some parameters, such as the frequency in a biocoenosis, the frequency in a region, and the presence, is made more accurate for an interdisciplinary context. The combined importance indexes have been created from parameters whose measurements are possible during the collection of mass data using common expeditionary methods. The ease of measurement largely determines whether the combined indexes are in demand. The main areas of their application are in the investigation of the dominance structure, in the comparative analysis of importance values of different species in one biocoenosis, and in the comparative analysis of biocoenoses, considering the importance value of their constituent species. Therefore, the combined indexes are used for the study of dynamics, for the description of classes of biocoenoses, for the analysis of spatial series of biocoenoses, for the calculation of the correlation between species or biocoenoses and the environment, for the estimation of biomass, for the modelling of the geographical distribution of species, etc. Additionally, these indexes can be used everywhere where not only the composition but also the importance of species are considered. For example, currently a tendency to use combined indexes in geographic information systems has been outlined.