

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ВЕСТНИК ТОМСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

БИОЛОГИЯ

Tomsk State University Journal of Biology

Научный журнал

2019

№ 47

Зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере
массовых коммуникаций, связи и охраны культурного наследия
(свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-29499 от 27 сентября 2007 г.)

Подписной индекс в объединённом каталоге «Пресса России» 44024

Журнал включен в «Перечень рецензируемых научных изданий, входящих
в международные реферативные базы данных и системы цитирования, в которых должны
быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание
ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук»
Высшей аттестационной комиссии

Учредитель – Томский государственный университет

Научный журнал «Вестник Томского государственного университета. Биология» публикует результаты завершенных оригинальных исследований (теоретические и экспериментальные статьи) в различных областях современной биологии, ранее нигде не публиковавшиеся и не представленные к публикации в другом издании; публикуются описания принципиально новых методов исследования, обзорные статьи по отдельным проблемам. Основные требования к представляемым рукописям: новизна и обоснованность фактического материала, ясность, сжатость изложения, воспроизводимость экспериментальных данных. Решение о публикации принимается редколлегией после рецензирования, учитывая соответствие материала тематике журнала, актуальность проблемы, научную и практическую новизну и значимость, профессионализм выполнения работы. Принимаются статьи на русском и английском языках. Средний срок публикации 3–6 месяцев. Журнал выходит ежеквартально. Публикации осуществляются на некоммерческой основе. Все опубликованные материалы находятся в свободном доступе.

Индексируется: SCOPUS; Web of Science (Biological Abstracts, BIOSIS Previews, Emerging Sources Citation Index, Zoological Record, RSCI); Google Scholar; eLIBRARY.RU; CYBERLENINKA. Внесен в Ulrich's Periodicals Directory.

Адрес издателя и редакции: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36, Национальный исследовательский Томский государственный университет, Биологический институт; сайт: <http://journals.tsu.ru/biology/>

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Кулижский С.П. – гл. редактор (Томский государственный университет, Томск, Россия)

E-mail: kulizhskiy@yandex.ru

Покровский О.С. – зам. гл. редактора (Национальный центр научных исследований, Тулуза, Франция)

Бобровский М.В. – отв. редактор (Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия)

Громыных Т.И. – отв. редактор (Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия)

Зверев А.А. – отв. редактор (Томский государственный университет, Томск, Россия)

Иванов Ю.В. – отв. редактор (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия)

Кривова Н.А. – отв. редактор (Томский государственный университет, Томск, Россия)

Лойко С.В. – отв. редактор (Томский государственный университет, Томск, Россия)

Тарасов В.В. – отв. редактор (Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия)

Акимова Е.Е. – отв. секретарь (Томский государственный университет, Томск, Россия)

E-mail: biotsu@rambler.ru, biotsu@mail.ru

Волокитина А.В. (Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск); **Воробьев Д.С.** (Томский государственный университет, Томск); **Дюкарев А.Г.** (Институт мониторинга и климатических систем РАН, Томск); **Кривен С.А.** (Институт мониторинга и климатических систем РАН, Томск); **Минеева Н.М.** (Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, пос. Борок); **Штерншис М.В.** (Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений, Краснодар).

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Александровский А.Л. (Институт географии РАН, Москва, Россия); **Ананьева Н.Б.** (Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия); **Афтанас Л.И.** (НИИ физиологии и экспериментальной медицины СО РАМН, Новосибирск, Россия); **Васильев В.П.** (Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия); **Васильева Е.Д.** (Зоомузей МГУ, Москва, Россия); **Дюбуа А.** (Национальный музей естественной истории, Париж, Франция); **Зеллер Б.** (Национальный институт агрономических исследований, Нанси, Франция); **Зинченко Т.Д.** (Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия); **Кингма Г.** (Маастрихтский университет, Маастрихт, Нидерланды); **Крюков В.Ю.** (Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия); **Кузнецов Вл.В.** (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия); **Лулашин В.В.** (Университет Арканзаса медицинских наук, Арканзас, США); **Максимов Т.Х.** (Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия); **Носов А.М.** (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия); **Пердиссес А.** (Национальный Музей естественных наук, Мадрид, Испания); **Сазонов А.Э.** (Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия); **Смирнова О.В.** (Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов РАН, Москва, Россия); **Соколова Ю.Я.** (Университет Луизианы, Батон Руж, Луизиана, США); **Степанов В.А.** (НИИ медицинской генетики Томского НЦ СО РАМН, Томск, Россия); **Шарахов И.В.** (Политехнический университет Вирджинии, Вирджиния, США).

Издательство: Издательский дом Томского государственного университета. Редактор К.Г. Шилько; редактор-переводчик М.Б. Кузьменко; оригинал-макет А.И. Лелююр; дизайн обложки Л.Д. Кривцова

Подписано в печать 27.09.2019 г. Формат 70x108^{1/16}. Усл. печ. л. 16,4. Тираж 50 экз. Заказ № 3991. Цена свободная. Дата выхода в свет 15.10.2019 г.

Журнал отпечатан на полиграфическом оборудовании Издательского Дома Томского государственного университета. 634050, Ленина, 36, Томск, Россия. Тел. 8+(382-2)-52-98-49. Сайт: <http://publish.tsu.ru>. E-mail: rio.tsu@mail.ru

© Томский государственный университет, 2019

**About Vestnik Tomskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Biologiya =
Tomsk State University Journal of Biology**

Founder – Tomsk State University

Tomsk State University Journal of Biology is a quarterly international and peer-reviewed scientific journal publishing the results of the completed experimental research, reviews and novel methods of research in Agricultural & Biological Sciences on the basis of its originality, importance, scientific character, validity, precision and clarity. The Journal is intended for a broad range of scientists and experts in biology, agriculture and ecology. The editorial board of the *Tomsk State University Journal of Biology* commits to the internationally accepted principles of publication ethics expressed.

International standard serial edition number: EISSN 2311-2077, ISSN 1998-8591

Language: Russian, English

Publications are on non-commercial basis (FREE)

Open access

Publication timeframe: 3-6 months

All manuscripts are to be reviewed: double blind peer review (2-10-weeks)

Abstracting and Indexing: SCOPUS; Web of Science (Biological Abstracts, BIOSIS Previews, Emerging Sources Citation Index, Zoological Record, RSCI); Google Scholar; eLIBRARY.RU; CYBERLENINKA; Ulrich's Periodicals Directory

Contact the Journal

Tomsk State University, Institute of Biology, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation

<http://journals.tsu.ru/biology/en/>

Editor-in-Chief - Sergey P Kulizhskiy, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Tomsk State University (Tomsk, Russia), kulizhskiy@yandex.ru

Co Editor-in-Chief - Oleg S Pokrovsky, National Centre for Scientific Research (Toulouse, France).

EDITORIAL COUNCIL

Akimova EE - Associate Editor, Tomsk State University, Tomsk, Russia

biojournaltsu@gmail.com, biotsu@mail.ru

Bobrovsky MV - Editor, Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science RAS, Pyschchino, Russia
Gromovyykh TI - Editor, IM Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Zverev AA - Editor, Tomsk State University, Tomsk, Russia

Ivanov YuV - Editor, Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia

Krivova NA - Editor, Tomsk State University, Tomsk, Russia

Loyko SV - Editor, Tomsk State University, Tomsk, Russia

Tarasov VV - Editor, Institute of Plant and Animal Ecology RAS, Yekaterinburg, Russia.

Volokitina AV (Sukachev Institute of Forest SB RAS, Krasnoyarsk, Russia); **Vorobiev DS** (Tomsk State University, Tomsk, Russia); **Dukarev AG** (Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems SB RAS, Tomsk, Russia);

Krivets SA (Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems SB RAS, Tomsk, Russia); **Mineeva NM** (Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Russia); **Shternshis MV** (All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection, Krasnodar).

EDITORIAL BOARD [In Russian Alphabetical order]

Alexandrovskiy AL, Institute of Geography RAS (Moscow, Russia); **Ananjeva NB**, Zoological Institute RAS (St. Petersburg, Russia); **Aftanas LI**, State Research Institute of Physiology SB RAMS (Novosibirsk, Russia); **Vasil'ev VP**, A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS (Moscow, Russia); **Vasil'eva ED**, Zoological Museum, MV Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russia); **Dubois A**, French National Museum of Natural History (Paris, France); **Zeller B**, French National Institute for Agricultural Research (Nancy, France); **Zinchenko TD**, Institute of Ecology of the Volga River Basin RAS (Togliatti, Russia); **Kingma H**, Maastricht University (Maastricht, Netherlands); **Kryukov VY**, Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS (Novosibirsk, Russia); **Kuznetsov VIV**, Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS (Moscow, Russia); **Lupashin VV**, University of Arkansas for Medical Sciences (Arkansas, USA); **Maximov TC**, Institute for Biological Problems of the Cryolithozone SB RAS (Yakutsk, Russia); **Nosov AM**, MV Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russia); **Perdices A**, National Museum of Natural Sciences (Madrid, Spain); **Sazonov AE**, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia); **Smirnova OV**, Center of Ecology and Productivity of Forests RAS (Moscow, Russia); **Sokolova YY**, Louisiana State University (Baton Rouge, Louisiana, USA); **Stepanov VA**, Research Institute of Medical Genetics SB RAMS (Tomsk, Russia); **Sharakhov IV**, Virginia Polytechnic Institute and State University (Blacksburg, Virginia, USA)

PUBLISHER: Tomsk State University Publishing House (Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation). Editor KG Shilko; Translator/Editor MB Kuzmenko; camera-ready copy AI Leloyur; cover design LD Krivtsova.

Passed for printing 27.09.2019. Format 70x108/16. Conventional printed sheets 16.4. Circulation is 50 copies. Orders No 3991 Open price. Date of publication 15.10.2019.

36 Lenin Ave, Tomsk 634050, Russian Federation. Tel. +7 (382-2)-52-98-49. <http://publish.tsu.ru>. E-mail: rio.tsu@mail.ru

СОДЕРЖАНИЕ

АГРОХИМИЯ И ПОЧВОВЕДЕНИЕ

- Polyakov VI, Chegodaeva NA, Abakumov EV.** Molecular and elemental composition of humic acids isolated from selected soils of the Russian Arctic6

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

- Егорова Н.А., Якимова О.В.** Влияние длительного субкультивирования на клональное микроразмножение *Melissa officinalis* L. и *Origanum vulgare* L.22

БОТАНИКА

- Егорова Н.Ю., Сулейманова В.Н.** Оценка состояния ценопопуляций *Cypripedium calceolus* L. на выходах известняковых пород по склонам долины реки Вятка.....40
- Кожевникова М.В., Прохоров В.Е., Савельев А.А.** Прогнозное моделирование распространения растительных сообществ порядка *Quercetalia pubescenti-petraeae* Klika 193359
- Маслова О.М., Хрусталева И.А., Стрельникова Т.О.** Синантропная флора западных низкогорий Алтая.....74
- Черёмушкина В.А., Таловская Е.Б., Астащенко А.Ю., Гусева А.А., Джуманов С.** Биология *Thymus dmitrievae* Gamajun. (Lamiaceae) на заповедной территории (Заповедник Аксу-Жабаглы).....103

ЗООЛОГИЯ

- Минеев А.К., Минеева О.В.** Гематологические параметры и паразитофауна обыкновенного пескаря *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758) в рыбоводном водоеме.....123
- Островерхова Н.В., Россейкина С.А., Конусова О.Л., Кучер А.Н., Киреева Т.Н.** Разнообразие медоносной пчелы *Apis mellifera* L. в Томской области по морфометрическим и молекулярно-генетическим маркерам.....142

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

- Нарайкина Н.В., Попов В.Н., Миронов К.С., Пчелкин В.П., Трунова Т.И., Мошков И.Е.** Транскрипция генов десатураз жирных кислот хлоропластов при низкотемпературном закаливании *Solanum tuberosum* L.174

TABLE OF CONTENTS

AGROCHEMISTRY & SOIL SCIENCE

- Polyakov VI, Chegodaeva NA, Abakumov EV.** Molecular and elemental composition of humic acids isolated from selected soils of the Russian Arctic 6

BIOTECHNOLOGY & MICROBIOLOGY

- Yegorova NA, Yakimova OV.** The effect of long-term subcultivation on clonal micropropagation of *Melissa officinalis* L. and *Origanum vulgare* L. 22

BOTANY

- Egorova NYu, Suleimanova VN.** Estimation of *Cypripedium calceolus* L. coenopopulations on limestone deposits along the valley slopes of the Vyatka River 40
- Kozhevnikova MV, Prokhorov VE, Saveliev AA.** Predictive modeling for the distribution of plant communities of the order *Quercetalia pubescenti-petraeae* Klika 1933 59
- Maslova OM, Khrestaleva IA, Strelnikova TO.** Synanthropic flora of the western lowlands of the Altai mountains 74
- Cheryomushkina VA, Talovskaya EB, Astashenkov AYu, Guseva AA, Dzhumanov S.** Biology of *Thymus dmitrieva* Gamajun. (Lamiaceae) in the protected area (Aksu-Dzhabagly Reserve) 103

ZOOLOGY

- Mineev AK, Mineeva OV.** Hematological parameters and parasite fauna of the gudgeon *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758) in a fish-breeding pond 123
- Ostroverkhova NV, Rosseykina SA, Konusova OL, Kucher AN, Kireeva TN.** Diversity of the honeybee *Apis mellifera* L. in Tomsk region according to morphometric and molecular genetic markers 142

PLANT PHYSIOLOGY & BIOCHEMISTRY

- Naraikina NV, Popov VN, Mironov KS, Pchelkin VP, Trunova TI, Moshkov IE.** Fatty acid desaturase gene transcription at *Solanum tuberosum* L. cold adaptation 174

АГРОХИМИЯ И ПОЧВОВЕДЕНИЕ

UDC 631.41

doi: 10.17223/19988591/47/1

**Vyacheslav I. Polyakov^{1, 2, 3},
Nadezhda A. Chegodaeva¹, Evgeny V. Abakumov¹**

¹ St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

² Saint-Petersburg State Agrarian University, Pushkin, Russian Federation

³ Arctic and Antarctic Research Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Molecular and elemental composition of humic acids isolated from selected soils of the Russian Arctic

Humic substances, isolated from selected soils of the Russian Arctic, were investigated in terms of molecular composition and stabilization rate. The degree of polar soil organic matter stabilization was assessed with the use of modern instrumental spectroscopy methods. The analysis of humic acid (HAs) preparations showed that aliphatic fragments prevail in the organic matter isolated in polar soils. The predominance of aliphatic fragments was revealed in HAs from soils located in the coastal zone, which could be caused by regular refreshment of organic matter during sin-lithogenic process and processes of hydrogenation in HAs. Breaking of the C-C bonds and formation of chains with a high hydrogen content, which leads to the formation of aliphatic fragments in HAs, were noted. Data on the calculated atomic ratios of the elements in HAs are given and graphs show the main regularities in the formation of HAs and their properties. The integrated indicators of the molecular composition of humic acids of soils of the Russian Arctic are presented.

The paper contains 4 Tables, 4 Figures and 44 References.

Key words: CP/MAS ¹³C-NMR; humic acids; organic matter; permafrost-affected soils; Cryosol.

Funding: This work was supported by the Grant of Saint-Petersburg State University “Urbanized ecosystems of the Russian Arctic: Dynamics, state and sustainable development.”

The authors declare no conflict of interest.

Introduction

In the territories located at high latitudes of northern Europe, Greenland, Canada, Alaska and Russia, soils were formed during the Quaternary period, the diversity of which is mainly associated with the cryogenic processes within the pedosphere [1-2]. The area occupied by permafrost-affected soils is more than 8.6 million km², which represents about 27% of the entire territory of the north

[3]. According to the latest data, organic matter accumulated in the soil of the Arctic up to 1024 Pg (1 Pg = 10^{15} g) stored in the upper 3 m of soil [1, 2, 4-8].

In the Arctic, the formation of soil and organic matter is influenced by cryogenic processes such as cryogenic mass exchange cracking, frost formation, soil swelling, cryogenic solifluction, thermokarst, etc. In permafrost-affected soils occupying about 65% of the territory of Russia, biogeochemical processes take place within the active layer of soil, the depth of the active layer depends on landscape position, the type of vegetation, and organogenic horizons [1, 6, 9]. Moreover, essential amounts of organic matter are stabilized within the frozen ground below the permafrost table. A common feature of the soil cover of the Arctic is its complexity associated with the permafrost processes in various bioclimatic and geological and geomorphological conditions. For arctic soils, as a rule, a high water content is typical, especially near the permafrost table, which appears to be a water barrier. As a result, gray color and redoxymorphic conditions appear associated with the gleying process, which is most pronounced on loamy and well-structured soils [10].

The soils in the cryolithozone are considered as carbon storages. The accumulation of organic carbon in the profile of arctic soils is associated with processes of permafrost retinization, processes of cryogenic mass exchange, with the formation of organic matter *in situ* from plant residues, as well as inheritance from a soil-forming rock [11-13]. For the soils of watershed positions of the Arctic and Subarctic regions, the formation of superficial humus enriched layer is typical with a weak intensity of decomposition of organic residues and humification processes.

Low average temperatures and a short vegetation season in permafrost areas cause organic matter to accumulate throughout the Quaternary period [2]. Biomass forms during a short growing season and initially accumulates in the upper layer of soil, thus creating an annual accumulation of organic matter, during which alluvial sedimentation of organic residues is also involved [2, 14-15].

Cryoturbation also leads to redistribution of organic matter into deeper soil horizons. Another process is the movement of organic matter in a dissolved state and its accumulation at the boundary with permafrost [2, 16-18]. During cryoturbation, fine fragments of organic material, separated from the lower parts of the surface horizons under the influence of ice, move inside the profile, mixing with the mineral matter of the underlying horizons; the result of this movement of organic masses along the profile is its compaction, homogenization and decomposition of plant residues [19]. As a result of slope processes, organogenic horizons are often buried under material that has fallen here as a result of solifluction. In contrast to cryoturbated material, buried organogenic horizons are characterized by high porosity, absence of excessive overcompaction, and plant residues are destroyed much less [19].

Nowadays, the use of modern physicochemical research methods has made it possible to study the structure of HAs molecules in more detail without resorting

to their destruction. The methods of infrared (IR), nuclear magnetic resonance (NMR) and electron paramagnetic resonance (ERS) spectroscopy can provide information not only about the qualitative set of the most important atomic groups and types of bonds, but also about the specific location of individual functional groups and molecular fragments. Among organic substances, humic acids are distinguished by the greatest biochemical resistance [20]. However, their composition and structure are variable and reflect the conditions of humus formation. The use of ^{13}C -NMR spectroscopy allows the quantitative determination of structural and functional parameters of HAs, and, therefore, this method is used to evaluate their transformation under the influence of various factors, including man-made [19, 21-22].

^{13}C -NMR spectroscopy also allows to obtain detailed and reliable information about the number of structural fragments and functional groups of HAs, which appear in the corresponding spectral ranges in the form of resonant signals of carbon atoms characterizing typical structural features: the presence of aliphatic, aromatic fragments and functional groups: $-\text{C}=\text{O}$ - aldehydes, ketones and quinoid structures; $(-\text{COOH})$, $(-\text{NH}_2)$, $(-\text{OCH}_3)$, $(-\text{OH})$ - alcohols, carbohydrates and phenols [9, 17, 19, 23-24]. Studies of the principles of HAs structure, deciphering the intramolecular "state" allow going to the quantitative level of the description of the bound "structure - molecular weight".

Thus, the main aim of this study was to determine the molecular composition of organic matter in selected soils of the Russian Arctic using CP/MAS (Cross-Polarization/Magic Angle Spinning) ^{13}C -NMR spectroscopy.

Materials and methods

The study area is located around the islands of the Russian Arctic, and include Vaigach and Kolguev islands in the Kara sea ($70^{\circ}00'04.3''\text{N}$ $59^{\circ}40'22.4''\text{E}$ and $69^{\circ}07'36.8''\text{N}$ $49^{\circ}30'53.7''\text{E}$), Andrey island in the Laptev sea and Kurungnakh island in the Lena River Delta ($76^{\circ}46'46.0''\text{N}$ $110^{\circ}47'11.6''\text{E}$ and $72^{\circ}21'46.7''\text{N}$ $126^{\circ}08'23.3''\text{E}$) and Sosnowiec island in the White sea ($66^{\circ}29'21.9''\text{N}$ $40^{\circ}40'57.8''\text{E}$) (Fig. 1).

The article presents single plot areas, confirming the statement about the diversity of soils in the Arctic, which is associated with the differentiation of climatic conditions in the latitudinal and meridional direction, and with a large variety of soil-forming rocks and topographic situations. Vaigach Island, which is located in the Western part of the Russian Arctic between the Barents and Kara Seas, has more humid climatic conditions than Kolguev Island, located in the Barents Sea. The annual precipitations of these islands are 250-350 mm and 210-250 mm, respectively [25]. The thermal conditions are also different, for Vaigach Island (one latitude with the island of Sosnowiec), the average temperature of the warmest month is 5.8°C , while for Andrey Island it is 2°C . Soil-forming rocks are represented either by sea loams of ancient sea terraces, or by skeletal deluvium of

sandy and loamy composition. In the landscape, there is a pronounced microrelief associated with heaving mounds, the presence of structured soils, and also places of solifluction deformations.

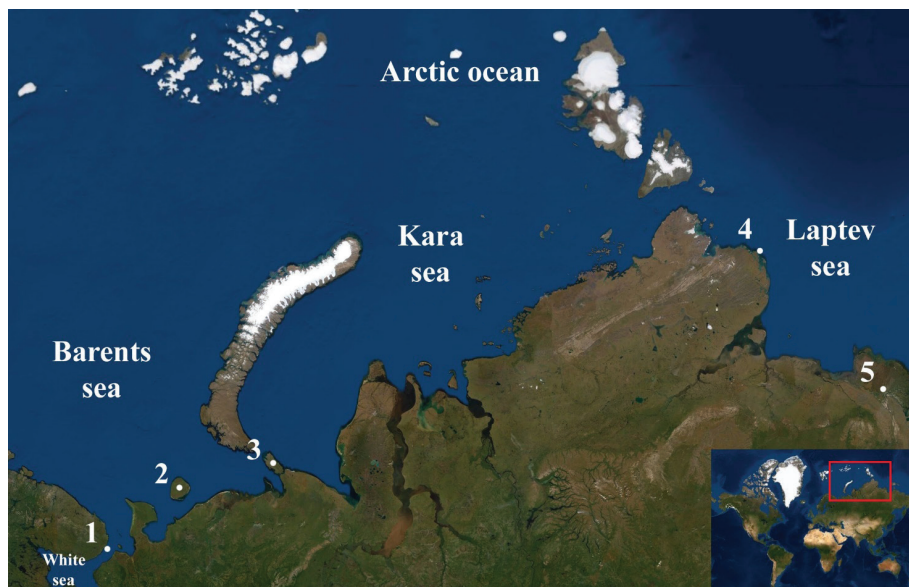


Fig. 1. Location of the study area and the studied soils. 1 - Sosnowiec island; 2 - Kolguev island; 3 - Vaigach island; 4 - Andrey island; 5 - Kurungnakh island.
Source: ESRI

The vegetation of the islands is represented mainly by arctic tundra communities with fragmented grass and shrub cover with the predominance of moss and lichen. Soils of the Lena River Delta form in strong Arctic weather conditions, mean annual air temperature is -13°C , mean air temperature of the warmest month (July) is -6.5°C , and of the coldest month (January) is -32°C . The thickness of snow is 23 cm, the annual amount of precipitations is 323 mm (in summer it is 125 mm). Parent materials of the Lena Delta are presented by fresh alluvial material and loamy and sandy loamy sediments.

Soil samples are represented by upper horizons of Cryosol, mainly humus weak developed horizons (W) or gray humus horizons – AY (Umbric horizons). In most cases, these horizons are replaced by the horizon of CR, a horizon with pronounced signs of cryogenic mass exchange.

Samples of soil were selected mostly in a polygonal tundra. Soil samples from surface horizons were collected during the summer of 2014-2015 during the Sea Expedition organized by the Arctic and Antarctic Research Institute. The soil description is presented in Table 1. The soils were identified according to WRB [26].

Table 1

Description of the studied surface soil samples

Island	Sample №	Soil	Description of the studied surface soil horizons Soil description of the upper horizon	pH	Color index
Sosnowiec	1	Histic Cryosol	Moss-lichen tundra, near residential buildings, peat horizon up to 30 cm, including sawdust. Vegetation: moss with lichens cover.	4.47	10 YR 4/3
	2	Histic Cryosol	Sample 2 is repetition of Sample 1	4.84	10 YR 4/3
Vaigach	3	Folic Cryosol	The profile is located on a hill composed of eluvial-deluvial deposits of Silurian limestone, moss cover. Carbonates are found in the soil, the highest content of carbonates is noted in the upper horizons. Vegetation: <i>Stereocaulon</i> sp. Hoffm. and <i>Silene acaulis</i> (L.) Jacq. Clay loam class	6.31	10 YR 6/3
	5	Folic Cryosol		7.11	10 YR 6/3
	6	Histosol		7.53	10 YR 4/3
Kolguev	7	Histic Cryosol	Soils are formed on loose Quaternary sediments, sedge-cereal associations dominate with a significant proportion of green moss in the soil cover. Polygonal tundra. Loam class	4.55	10 YR 4/2
	8	Reduc-taquic Cryosol		6.03	7.5 YR 7/4
	9	Histic Cryosol		4.61	10 YR 4/4
Andrey	11	Reduc-taquic Cryosol	Permafrost table up to 40 cm, thixotropy, in the upper part pronounced processes of gleying, cryoturbation processes are less intense. Polygonal tundra. Vegetation: moss with lichens cover. Silt loam class	4.82	7,5YR 7/4
	12	Reduc-taquic Cryosol	Permafrost table up to 38 cm, thixotropy, in the upper part pronounced processes of gleying, cryoturbation processes are less intense. Polygonal tundra. Vegetation: moss with lichens cover. Silt loam class	5.58	7,5YR 7/4
	13	Reduc-taquic Cryosol	Soil is associated with the accumulation of iron and aluminum at the contact border with permafrost, this type is characterized by a reddish color forming under oxidative conditions. Polygonal tundra. Vegetation: <i>Salix glauca</i> L., <i>S. reptans</i> Rupr., <i>S. lanata</i> L., <i>Equisetum</i> sp. L. Loam class	7.08	7,5 YR 6/3

Table 1 (end)

Island	Sample №	Soil	Description of the studied surface soil horizons Soil description of the upper horizon	pH	Color index
Kurungnakh	14	Folic Reducta- taquic Cryosol	Soil develops under conditions of over humidification, occupying local meso- and micro-depressions. Characterized by the presence of a Folic horizon underlain by the Cryic horizon. Polygonal tundra. Vegetation: <i>S. glauca</i> , <i>S. reptans</i> , <i>Alopecurus alpinus</i> L. Sandy loam class	6.95	10YR 3/2
	15	Umbric Reducta- taquic Cryosol	Soil develops under the influence of several processes: the alluvial and zonal processes of soil formation (peat formation, gleying and cryogenesis). Polygonal tundra. Vegetation: <i>Hylocomium splendens</i> (Hedw.) Schimp., <i>Timmia austriaca</i> Hedwig. Sandy loam class	7.65	7,5 YR 7/3
	16	Turbic Reducta- taquic Cryosol	Soil develops on well-drained territories, but there are also signs of gley in contact with permafrost. Polygonal tundra. Vegetation: <i>H. splendens</i> , <i>T. austriaca</i> , <i>Dryas punctata</i> Juz., <i>Polygonum viviparum</i> L. Loam class	6.61	10 YR 4/3
	17	Reducta- taquic Cryosol	Soil develops on the drained positions, characterized by the presence of a surface Folic horizon of different composition, which is underlain by permafrost-affected soils. Polygonal tundra. Vegetation: <i>H. splendens</i> , <i>T. austriaca</i> , <i>Climacium dendroides</i> (Hedw.) Web. et Mohr. Sandy loam class	6.14	7,5YR 7/3

Soil samples were air-dried (24 hours, 20°C), grounded, and passed through a 2 mm sieve. Soil chemical routine analyses were performed using classical methods: C, H and N content was determined using an element analyzer (Euro EA3028-HT Analyser). Data were corrected for water and ash content. Oxygen content was calculated by difference of whole samples of mass and gravimetric concentration of C, N, H and ash. pH in water and in salt (soil-dissolvent ratios 1:2.5 in case of mineral horizons and 1:25 in case of organo-mineral horizons) suspensions was detected using a pH meter (pH-150 M).

Humic acids (HAs) were extracted from each sample according to a published IHSS protocol [27]. The soil or cryoconite samples were treated with 0.1 M NaOH (soil/solution mass ratio of 1:10) under nitrogen gas. After 24 hours of shaking, the alkaline supernatant was separated from the soil residue by centrifugation at $1.516 \times g$ for 20 minutes and then acidified to pH 1 with 6 M HCl to precipitate

the HAs. The supernatant, which contained fulvic acids, was separated from the precipitate by centrifugation at $1.516 \times g$ for 15 minutes. The HAs were then dissolved in 0.1 M NaOH and shaken for four hours under nitrogen gas before the suspended solids were removed by centrifugation. The resulting supernatant was acidified again with 6 M HCl to pH 1 and the HAs were again isolated by centrifugation and demineralized by shaking overnight in 0.1 M HCl/0.3 M HF (soil/solution ratio of 1:1). Next, the samples were repeatedly washed with deionized water until pH 3 was reached and then finally freeze-dried. HAs extraction yields were calculated as the percentage of carbon recovered from the original soil sample [28]. Solid-state CP/MAS ^{13}C -NMR spectra of HAs were measured with a Bruker Avance 500 NMR spectrometer in a 3.2-mm ZrO_2 rotor. The magic angle spinning speed was 20 kHz in all cases and the nutation frequency for cross polarization was $u1/2p\ 1/4\ 62.5$ kHz. Repetition delay and the number of scans were 3 seconds. HAs extraction yields were calculated as the percentage of carbon recovered from the original soil sample.

Results and Discussion

Elemental composition of HAs

In general, the elemental composition of HAs is comparable with the previous data for soils of the polar zone [6, 18, 23, 29-31]. The elemental composition of HAs is the most important indicator determining the progress of humification, oxidation and degree of condensation of HAs [30-31].

The obtained data on HAs elemental composition, atomic ratios and degree of oxidation (W) are presented in Table 2.

Table 2

Elemental composition of the studied humic acids from surface soil horizons.
Gravimetric concentrations are given for C, H, O and N content. C/N, H/C, O/C,
H/Cmod and W were calculated from mole fraction of C,H,O and N content.

H/C mod is the number of substituted hydrogen atoms in the humic acids; (H/C)

mod = (H/C) + 2 (O/C) x 0.67; H/C and W indexes were calculated according to Orlov [43]. Sample numbers correspond to Table 1. SD±0.05 for N, H and C content

Sample, №	Island	N, %	C, %	H, %	O, %	C/N	H/C	O/C	H/Cmod	W
1	Sosnowiec	1.70	52.17	5.05	36.08	35.7	1.15	0.52	1.8	-0.1
2		1.74	51.77	4.91	36.58	34.67	1.13	0.53	1.8	-0.1
3		5.01	48.47	5.78	35.75	11.29	1.42	0.55	2.2	-0.3
5	Vaigach	3.14	49.52	5	37.34	18.4	1.2	0.57	1.9	-0.1
6		3.36	46.05	4.96	40.63	15.98	1.28	0.66	2.2	0.1
7	Kolguev	3.74	48.43	5.78	37.05	15.11	1.42	0.57	2.2	-0.3
8		1.42	26.49	2.86	64.23	21.7	1.28	1.82	3.7	2.3
9		2.83	38.11	4.53	49.53	15.68	1.41	0.98	2.7	0.5
11	Andrey	4.26	47.54	5.64	37.55	13.01	1.41	0.59	2.2	-0.2
12		3.05	34.23	4.77	52.95	13.1	1.66	1.16	3.2	0.7

Table 2 (end)

Sample, №	Island	N, %	C, %	H, %	O, %	C/N	H/C	O/C	H/Cmod	W
13	Ku-rungnakh	3.43	50.13	4.85	36.6	17.07	1.15	0.55	1.9	-0.1
14		3.52	42.83	4.55	44.11	14.19	1.26	0.77	2.3	0.3
15		3.13	42.94	4.88	44.06	16.00	1.35	0.77	2.4	0.2
16		2.95	53.39	6.14	32.53	21.15	1.37	0.46	1.9	-0.4
17		3.44	44.59	4.84	42.15	15.14	1.29	0.71	2.2	0.1

The carbon content in the studied samples varies over a wide range from 26 to 52%. The studied HAs can be divided into two groups by carbon content, less than 37% and more than 37%. The first group includes samples from Kolguyev and Andrey islands, they are less charred, which is due to leaching of low carbon molecules from the organogeneous horizon. Samples from other islands have a higher carbon content and have a high degree of carbonization associated with humification processes.

The nitrogen content in all studied HAs is 4% lower. This is due to the low accumulation of nitrogen-containing compounds in plant residues and in preparations of humic substances.

The oxygen content in the studied soils also varied in a wide range from 33 to 64%. The highest oxygen values correspond to the preparations from Kolguev and Andrey islands in those samples where a low carbon content is observed. The high oxygen content is due to the better solubility of oxygen-enriched hydrophilic humic acid molecules and their migration to the underlying mineral horizons [32-36].

The calculation of the degree of oxidation showed that most of the studied samples were in reduction conditions (from -0.1 to -0.4). The exceptions were the samples from Kolguev and Andrey islands, where the degree of oxidation reaches +2.3 and 0.7, respectively. This causes the migration of oxidized HAs down the profile. The weak reductions of preparations of HAs of organogenous horizons is determined by the produce of fresh organic residues and their weak humification in the specific bioclimatic conditions of the North.

One of the most widely used methods is a numerical description of the structure of humic acids in order to identify the patterns of their formation and transformation in the construction of Kleinhempel diagrams [37]. The method is based on a graphical representation of the data in the coordinates H/Cmod - O/C and serves a convenient technique for demonstrating the contribution of oxidation and condensation processes to changes in the elemental composition of HAs.

Based on Kleinhempel diagram (Fig. 2), it was found that in most of the studied soils the value of H/Cmod and O/C is relatively low, which indicates a low content of oxygen-containing groups in humic acids and their low migration ability. Samples from Kolguev and Andrey islands have relatively high values of H/C mod and O/C, which indicates that they have a high degree of hydromorphism due to low microbiological activity, which promotes a better preservation of carbohydrate and amino acid fragments in the structure of HAs. Relatively low values of H/Cmod indicate accumulation of aromatic fragments in the composition of humic acids.

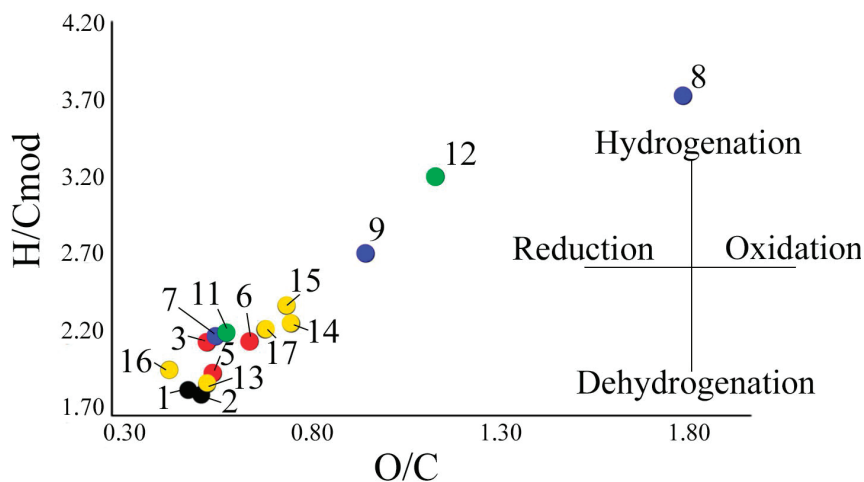


Fig. 2. Elemental composition of the studied humic acids isolated from surface soil horizons. Gravimetric concentrations are given for carbon, hydrogen, oxygen and nitrogen content. sH/C mod - The number of substituted hydrogen atoms in the humic acids; $(H/C) \text{ mod} = (H/C) + 2 (O/C) \times 0.67$; Sample numbers correspond to Table 1.

The values of the H/Cmod and O/C ratios decrease, i.e. accompanied by an increase in the proportion of aromatic structures in humic acid molecules [33, 36, 38].

Characterisation of HAs by ^{13}C -NMR spectroscopy

Spectra of the CP/MAS ^{13}C -NMR are given in Fig 3. Various molecular fragments were identified by CP/MAS ^{13}C -NMR spectroscopy (Table 3): carboxyl (-SOOR); carbonyl ($-\text{C}=\text{O}$); CH_3 -, CH_2 -, CH-aliphatic; $-\text{C}-\text{OR}$ alcohols, esters and carbohydrates; phenolic ($\text{Ar}-\text{OH}$); quinone ($\text{Ar}=\text{O}$); aromatic ($\text{Ar}-$), which indicates a great complexity of the structure of HAs and the polyfunctional properties that cause their active participation in soil processes [23].

The chemical shifts are shown in Table 4. The aromatic group is calculated from the sum of the shifts of 110-185 ppm. Aliphatic fragments are calculated from the sum of the shifts of 0-110 ppm, 180-200 ppm, Al h, r + Ar h, r (total number of unoxidized carbon atoms) – The signals were summed over the regions 0-46 and 110-160 ppm, C, H-Al / O, N-Al. Signals from C, H-alkyls were summed in the range of 0-47 ppm. O, N-alkyl at regions 46-60 and 60-110 ppm [23]. The presence of all peaks of the carbon species which are required for identification of the studied substances as humic acids was revealed.

Aliphatic fragments of HAs were predominant up to 74% in the studied samples. In the studied soils, mineralization processes predominate. The low content of aromatic fragments due to low microbiological activity leads to accumulation of organic matter in the soil [18-19, 39]. The low content of carboxyl fragments (160-185 ppm) indicates that humic substances have low migration activity and are less enriched in oxygen-containing compounds, which is confirmed by elemental analysis data of HAs. To standardize the quantitative characteristics of HAs macromolecules, the following parameters were used: the ratio of carbon of

aromatic structures to carbon of aliphatic chains – Ar/Al , the degree of decomposition of organic matter (C, H-alkyl/O, N-alkyl) and the integral indicator of hydrophobicity of HAs ($Al\ h, r + Ar\ h, r$). The integral indicator of hydrophobicity is shown in Figure 4.

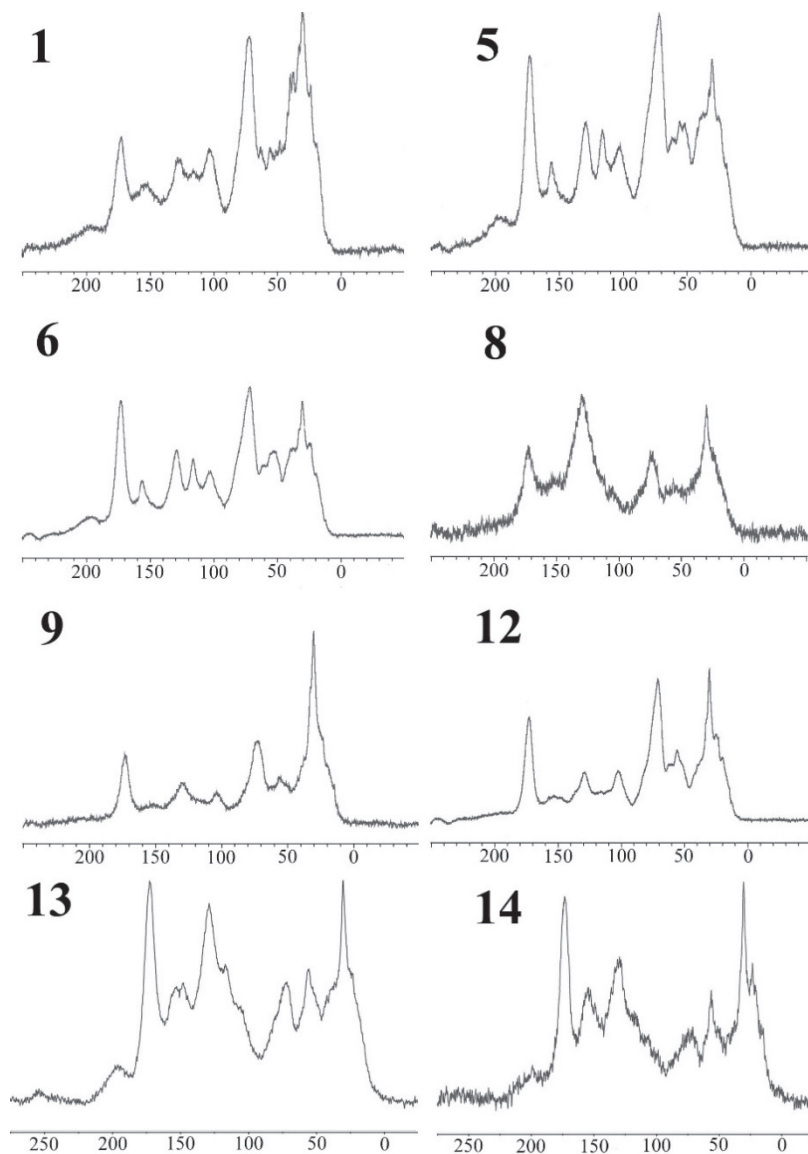


Fig. 3. CP/MAS ^{13}C -NMR spectra of HAs from soils of the Russian Arctic.
Number corresponds to Table 1; on the X-axis - Chemical shift, ppm;
on the Y-axis Vaxis - Relative intensity, dimensionless

Table 3

Chemical shifts of atoms of the ¹³C molecular fragments of humic acids

Chemical shift. ppm	The type of molecular fragments
0-46	C, H-substituted aliphatic fragments
46-60	Methoxy and O, N-substituted aliphatic fragments
60-110	Aliphatic fragments doubly substituted by heteroatoms (including carbohydrate) and methine carbon of ethers and esters
110-160	C, H-substituted aromatic fragments; O, N-substituted aromatic fragments
160-185	Carboxyl groups, esters, amides and their derivatives
185-200	Quinone groups; Groups of aldehydes and ketones

Table 4

Percentage of carbon in the main structural fragments of humic acids from the studied surface soil horizons (according to CP/MAS ¹³C-NMR data).

Sample numbers correspond to Table 1; Ar - aromatic fraction; Al-aliphatic fraction; Al_{h,r} + Ar_{h,r} % - hydrophobicity degree; C, H-Al / O, N-Al - the degree of decomposition of organic matter. SD±0.05

№	Island	Chemical shifts. ppm							Ar	Al	Ar/Al	Al h,r + Ar h,r, %	C,H - Al / O,N - Al
		0-46	46-60	60-110	110-144	144-160	160-185	185-210					
1	Sosnowiec	33	6	33	13	6	7	2	26	74	0.35	51.80	0.85
2		27	7	30	13	13	6	4	33	67	0.49	53.89	0.73
3	Vaigach	23	8	37	12	7	11	2	29	71	0.42	42.05	0.52
5		24	6	34	11	14	9	2	34	66	0.52	48.77	0.60
6		24	8	31	12	13	8	4	33	67	0.48	47.81	0.60
7	Kolguev	23	10	39	9	11	7	1	27	73	0.36	42.28	0.47
8		21	9	19	23	20	7	1	50	50	1	64.23	0.75
9		36	7	27	9	10	7	4	27	73	0.36	55.61	1.08
11	Andrey	28	7	34	10	7	10	4	27	73	0.38	46.09	0.70
12		27	2	40	15	5	7	4	27	73	0.37	46.47	0.64
13	Kunrunghakh	21	8	20	23	11	12	5	46	54	0.85	55.00	0.75
14		24	7	17	23	13	15	1	51	49	1.04	60.00	1.00
15		23	9	21	24	9	13	1	46	54	0.85	56.00	0.77
16		45	7	12	20	7	9	0	36	64	0.56	72.00	2.37
17		23	9	18	24	11	14	1	49	51	0.96	58.00	0.85

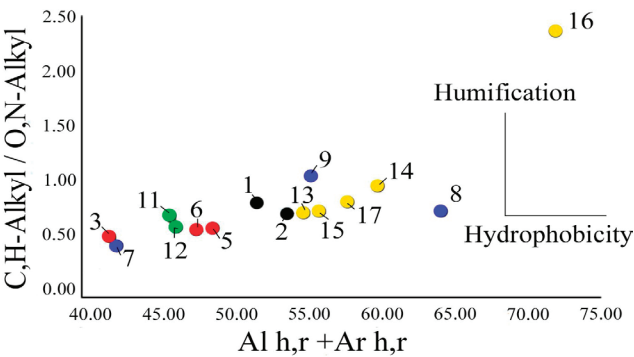


Fig. 4. The diagram of integrated indicators of the molecular composition of humic acids. Sample numbers correspond to Table 1; Al h,r + Ar h,r indicates the total number of unoxidized carbon atoms

In the studied soils, a significant amount of aliphatic fragments in the ranges of 0-46 and 110-144 ppm is accumulated, which is due to the increased humidity in the Arctic sector. A comparative analysis of humic substances from different sectors of the Russian Arctic shows that, depending on the region, soils can accumulate different amounts of aliphatic and aromatic fragments of humic substances [18]. The Ar/Al ratio ranges from 0.35 to 1.04, which is caused by different climatic parameters, as well as soil-forming processes and activity of cryogenic processes. Soils, forming on sandy loam and silt loam classes of parent materials, have a relatively high degree of humification due to natural drainage and low degree of cryogenic processes. In soils from the islands of Sosnowiec, Vaigach, Kolguev and Andrey, the molecular and elemental composition is similar and is confirmed by data from other researchers working in the Arctic [11, 17-18, 39-41]. Such soils develop according to the cryogenic type of soil formation. Soils from Kurungnakh island, located in the Lena River Delta, accumulate a relatively high content of aromatic fragments up to 51%, which is typical of the podzolic type of soil formation. Accumulation of aromatic fragments of HAs is associated with high microbiological activity, on the island of Kurunnakh, on sandy and loamy sandy soils and leads to favorable conditions for the microbiota [31].

A number of factors affect the qualitative composition of humic substances in soil, the leading features are hydromorphism and the quality of plant residues. The soils of the Arctic are mainly represented by moss-lichen communities, which are enriched with aliphatic compounds [42-44]. Under cryogenic processes, anaerobic conditions are formed in the soil, due to the nearness of permafrost table and excessive humidity. Such conditions decrease the microbiological activity, which decreases the rate of transformation of soil organic matter and promotes accumulation of paraffin fragments in the structure of humic substances. The processes of humification of plant residues in the soils of Kurungnakh Island, developing in the podzolic type of soil formation, proceed more intensively, contributing to the formation of aggressive humic substances enriched with oxygen-containing functional groups up to 15% and with a high content of aromatic fragments. Humic substances from the islands of Sosnowiec, Kolguev, Vaigach and Andrey have a lower degree of aromaticity and contain mainly non-oxidized aliphatic fragments up to 74% in their structure, which together with anaerobic conditions leads to the gleying process.

Conclusions

Structural characteristics and elemental composition of humic acids in soils formed in different sectors of the Russian Arctic have been studied. The analysis of the elemental composition showed an increase in the degree of hydromorphism in the soils of the islands of Sosnowiec, Vaigach, Kolguev and Andrey and is accompanied by an increase in values (H/C_{mod}), which is determined by the lower microbiological activity of Cryosol, which leads to a conservation of carbohy-

drate and amino acid fragments in the structure of HAs. Soils from the island of Kurungnakh, the Lena River Delta, revealed relatively low ratios of the values (H/C_{mod}) in the soils, which indicates an increase in the proportion of aromatic fragments in the structure of HAs.

Analysis of the molecular composition of HAs showed that humic acid molecules from the island of Kurungnakh are enriched with aromatic fragments relative to the humidification of soils from the islands of Sosnowiec, Vaigach, Kolguev and Andrey where aliphatic chains and structures like carbohydrates and amino acids prevail in the carbon skeleton. The structurally functional composition of humic acids in tundra soils is less enriched with aromatic structures. Excessive humidity leads not only to accumulation of humic substances, but also affects their molecular composition, namely, causes accumulation of humic substances in the soils enriched with aliphatic structures.

Analysis of the integral indicator of the hydrophobicity of HAs (Al_h, r + Ar_h, r) showed that HAs in the Arctic zone are resistant to oxidation (including microbial). Relatively high rates of C, H-Al/O, N-Al are observed in soils from the island of Kurungnakh in the Lena River Delta, which indicates a more significant degree of humification compared to other studied soils of the Russian Arctic.

References

1. Anisimov O, Arnalds Ö, Arnoldussen A, Bockheim J, Breuning-Madsen H, Broll G, Brown J, Desyatkin R, Goryachkin S, Jakobsen BH, Jones A, Konyushkov D, Mazhitova G, McCallum I, Montanarella L, Naumov E, Overduin PP, Nilsson S, Solbakken E, Ping CL, Ritz K, Spaargaren O, Stolbovoy V, Tarnocai C. Soil Atlas of the Northern Circumpolar Region: An initiative of the European Union to support the International Polar Year JRC European Commission. Institute for Environment. Jones A, Principal editor. Luxembourg: Publ. Office of the European Union, 144 p. doi: [10.2788/95795](https://doi.org/10.2788/95795)
2. Zubrzycki S, Kutzbach L, Pfeiffer E.-M. 2014. Permafrost-affected soils and their carbon pools with a focus on the Russian Arctic. *Solid Earth*. 2014;5:595-609. doi: [10.5194/se-5-595-2014](https://doi.org/10.5194/se-5-595-2014)
3. Schädel C, Schuur EAG, Bracho R, Elberling B, Knoblauch C, Lee H, Luo Y, Schimel DS. Terrestrial ecosystems and the carbon cycle. *Global Change Biology*. 1995;1:77-91. doi: [10.1111/gcb.12417](https://doi.org/10.1111/gcb.12417)
4. Schimel DS. Terrestrial ecosystems and the carbon cycle. *Global Change Biology*. 1995;1:77-91. doi: [10.1111/j.1365-2486.1995.tb00008.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.1995.tb00008.x)
5. Davis TN. Permafrost: A Guide to Frozen Ground in Transition. Fairbanks, AK, U.S.A.: University of Alaska Press; 2001. 351 p.
6. Dutta K, Schuur AG, Neff JC, Zimov SA. Potential carbon release from permafrost soils of Northeastern Siberia. *Global Change Biology*. 2006;12:2336-2351. doi: [10.1111/j.1365-2486.2006.01259.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01259.x)
7. Polyakov VI, Orlova KS, Abakumov EV. Evaluation of carbon stocks in the soils of Lena River Delta on the basis of application of “dry combustion” and Tyurin’s methods of carbon determination. *Biological Communications*. 2017;62:67-72. doi: [10.21638/11701/spbu03.2017.202](https://doi.org/10.21638/11701/spbu03.2017.202)
8. Uchaev AP, Nekrasova OA. Mobile humic substances in the forest-tundra zone podzols. *BioClimLand*. 2013;1:58-66.

9. Okoneshnikova MV. Current state and prediction of changes in soils of the middle Lena valley (Central Yakutia). *Tomsk State University Journal of Biology*. 2013;3(23):7-18. doi: [10.17223/19988591/23/1](https://doi.org/10.17223/19988591/23/1) In Russian
10. Bölter M, Blume H-P, Wetzel H. Properties, formation, classification and ecology of soils: Results from the Tundra Northwest Expedition 1999 (Nunavut and Northwest Territories, Canada). *Polarforschung*. 2006;73:89-101.
11. Dai XY, Ping CL, Michaelson GJ. Characterizing soil organic matter in Arctic tundra soils by different analytical approaches. *Organic Geochemistry*. 2002;33:407-419. doi: [10.1111/j.1365-2389.2007.00908.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2007.00908.x)
12. Kutzbach L, Wagner D, Pfeiffer E-M. Effect of microrelief and vegetation on methane emission from wet polygonal tundra. Lena Delta, Northern Siberia. *Biogeochemistry*. 2004;69:341-362. doi: [10.1023/B:BIOG.0000031053.81520.db](https://doi.org/10.1023/B:BIOG.0000031053.81520.db)
13. Boike J, Kattenstroth B, Abramova K, Bornemann N, Chetverova A, Fedorova I, Frob K, Grigoriev M, Grube RM, Kutzbach L, Langer M, Minke M, Muster S, Piel K, Pfeiffer E-M, Stoof G, Westernmann S, Wischniewski K, Wille C, Hubberten H-W. Baseline characteristics of climate, permafrost and land cover from new permafrost observatory in the Lena River Delta, Siberia (1998-2011). *Biogeosciences*. 2013;10:2105-2128. doi: [10.5194/bg-10-2105-2013](https://doi.org/10.5194/bg-10-2105-2013)
14. Kirpotin SN. Western Siberia in a changing climate. *International J Environmental Studies*. 2014;71(5):591-594. doi: [10.1080/00207233.2014.945695](https://doi.org/10.1080/00207233.2014.945695)
15. Cazzolla Gatti R, Callaghan TV, Rozhkova-Timina I, Dudko A, Lim A, Vorobyev SN, Kirpotin SN, Pokrovsky OS. The role of Eurasian beaver (*Castor fiber*) in the storage, emission and deposition of carbon in lakes and rivers of the River Ob flood plain, western Siberia. *Science of the Total Environment*. 2018;644:1371-1379. doi: [10.1016/j.scitotenv.2018.07.042](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.042)
16. Lodygin ED, Beznosikov VA. The molecular structure and elemental composition of humic substances from Albeluvisols. *Chemistry and Ecology*. 2010;26:87-95. doi: [10.1080/02757540.2010.497759](https://doi.org/10.1080/02757540.2010.497759)
17. Ejarque E, Abakumov E. Stability and biodegradability of organic matter from Arctic soils of Western Siberia: Insights from ¹³C-NMR spectroscopy and elemental analysis. *Solid Earth*. 2016;7:153-165. doi: [10.5194/se-7-153-2016](https://doi.org/10.5194/se-7-153-2016)
18. Lodygin E, Beznosikov V, Abakumov E. Humic substances elemental composition of selected taiga and tundra soils from Russian European North-East. *Polish Polar Research*. 2017;38:125-147. doi: [10.1515/popore-2017-0007](https://doi.org/10.1515/popore-2017-0007)
19. Lupachev A, Abakumov E, Gubin S. The influence of cryogenic mass exchange on the composition and stabilization rate of soil organic matter in cryosols of the Kolyma Lowland (North Yakutia, Russia). *Geosciences*. 2017;7:24. doi: [10.3390/geosciences7020024](https://doi.org/10.3390/geosciences7020024)
20. Zharinova NY, Yamskih AA. Humus characteristics of alluvial dark-humus soils of Krasnoyarsk forest-steep. *Tomsk State University Journal of Biology*. 2011;1(13):5-10. In Russian
21. Chefetz B, Salloun MJ, Deshmukh AP, Hatcher PG. Structural components of humic acids as determined by chemical modifi cations and carbon - ¹³ NMR, pyrolysis and thermochemolysis-gas chromatography/mass spectrometry. *Soil Science Society of America Journal*. 2002;66:1159-1171. doi: [10.1016/S1001-0742\(08\)62285-8](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62285-8)
22. Szymański W, Wojtuń B, Stolarczyk M, Siwek J, Waścińska J. Organic carbon and nutrients (N, P) in surface soil horizons in a non-glaciated catchment, SW Spitsbergen. *Polish Polar Research*. 2016;37:49-66. doi: [10.1515/popore-2016-000](https://doi.org/10.1515/popore-2016-000)
23. Lodygin ED, Beznosikov VA, Vasilevich RS. Molecular composition of humic substances in tundra soils (¹³C-NMR spectroscopic study). *Eurasian Soil Science*. 2014;47:400-406. doi: [10.1134/S1064229314010074](https://doi.org/10.1134/S1064229314010074)
24. Chukov SN, Abakumov EV, Tomashunas VM. Characterization of humic acids isolated from Antarctic soils by ¹³C NMR spectroscopy. *Eurasian Soil Science*. 2015;48:1207-1211. doi: [10.1134/S1064229315110046](https://doi.org/10.1134/S1064229315110046)

25. Glazov MV, Goryachkin SV. Changes in natural zones of the Russian Arctic. *Priroda*. 1997;5:32-47. In Russian
26. *IUSS Working Group WRB World Reference Base for Soil Resources 2014, update 2015*. International Soil Classification System for Naming Soils and Creating Legends for Soil Maps. World Soil Resources Reports No. 106. Rome: FAO; 2015. 192 p.
27. Swift RS. Organic matter characterization. In: *Soil Science Society of America Book Series. No 5. Methods of soil analysis. Pt 3. Chemical methods*. Bigham JM, editor-in-chief SSSA. Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society of America Inc.; 1996. pp. 1011-1170. Electronic resource. Available at: https://www.waterboards.ca.gov/waterrights/water_issues/programs/bay_delta/california_waterfix/exhibits/docs/Islands/II_41.pdf (access 12.07.2019)
28. Vasilevich RS, Lodygin ED, Beznosikov VA, Abakumov EV. Molecular composition of raw peat and humic substances from permafrost peat soils of European Northeast Russia as climate change markers. *Science of the Total Environment*. 2018;615:1229-1238. doi: [10.1016/j.scitotenv.2017.10.053](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.053)
29. Celi L, Schnitzer M, Nègre M. Analysis of carboxyl groups in soil humic acids by a wet chemical method. Fourier-transform infrared spectrophotometry, and solution state carbon-13 nuclear magnetic resonance. A comparative study. *Soil Science*. 1997;162:189-197. doi: [10.1097/00010694-199703000-00004](https://doi.org/10.1097/00010694-199703000-00004)
30. Beznosikov VA, Lodygin ED. High-molecular organic substances in soils. *Proceedings of the Komi Science Centre of the Ural Division of the Russian Academy of Sciences*. 2010;1:24-30. In Russian
31. Vasilevich RS, Lodygin ED, Beznosikov VA. Molecular-mass distribution of humus substances tundra soils of the European north-east Russia. *Vestnik SPbSU. Biology*. 2015;4:103-111. In Russian
32. Baldock JA, Preston CM. Chemistry of carbon decomposition processes in forests as revealed by solid-state carbon-13 nuclear magnetic resonance. In: *Carbon Forms and Functions in Forest Soils*. Kelly JM and McFee WW, editor. Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society of America, Inc.; 1995. 89-117 p.
33. Panettieri M, Knicker H, Murillo JM, Madejón E, Hatcher PG. Soil organic matter degradation in an agricultural chronosequence under different tillage regimes evaluated by organic matter pools, enzymatic activities and CPMAS ¹³C NMR. *Soil Biology and Biochemistry*. 2014;78:170-181. doi: [10.1016/j.soilbio.2014.07.021](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.07.021)
34. Dergacheva MI, Bazhina NL, Ondar EE, Ochur KO, Ryabova NN. Environmentally induced composition and properties of humic acids in soils of Western Tuva. *Vestnik Orenburg State University*. 2015;10(185):166-169. In Russian
35. Tsybenov YB, Chimitdorzhieva GD, Egorova RA, Gongal'skii KB. The pool of organic carbon and its isotopic composition in cryomorphic quasi-gley chernozems of the Trans-Baikal region. *Eurasian Soil Science*. 2016;49(1):8-14. doi: [10.1134/S106422931507011X](https://doi.org/10.1134/S106422931507011X)
36. Xu J, Zhao B, Chu W, Mao J, Zhang J. Chemical nature of humic substances in two typical Chinese soils (upland vs paddy soil): A comparative advanced solid state NMR study. *Science of the Total Environment*. 2017;576:444-452. doi: [10.1016/j.scitotenv.2016.10.118](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.118)
37. Kleinhempel D. Ein Beitrag zur Theorie des Huminstoffzustandes. *Albrecht-Thaer-Archiv*. 1970;14(1):3-14. In German
38. Abakumov EV, Trubetskoj O, Demin D, Celi L, Cerli C, Trubetskaya O. Humic acid characteristics in podzol soil chronosequence. *Chem. Ecol*. 2010;26:59-66. doi: [10.1080/02757540.2010.497758](https://doi.org/10.1080/02757540.2010.497758)
39. Abakumov E, Lodygin E, Tomashunas V. ¹³C NMR and ESR Characterization of humic substances isolated from soils of two Siberian Arctic Islands. *International J Ecology*. 2015;e390591. doi: [10.1155/2015/390591](https://doi.org/10.1155/2015/390591)
40. Abakumov E. Characterisation of humic acids isolated from selected subantarctic soils by ¹³C-NMR spectroscopy. *Czech Polar Reports*. 2017;7:1-10. doi: [10.5817/CPR2017-1-1](https://doi.org/10.5817/CPR2017-1-1)

41. Mergelov N, Mueller CW, Prater I, Shorkunov I, Dolgikh A, Zazovskaya E, Shishkov V, Krupskaya V, Abrosimov K, Cherkinsky A, Goryachkin S. Alteration of rocks by endolithic organisms is one of the pathways for the beginning of soils on Earth. *Scientific Reports*. 2018;8:3367. doi: [10.1038/s41598-018-21682-6](https://doi.org/10.1038/s41598-018-21682-6)
42. Amelung W, Flach KW, Zech W. Climatic effects on soil organic matter composition in the great plains. *Soil Science Society of America Journal*. 1997;61:115-123. doi: [10.2136/sssaj1997.03615995006100010018x](https://doi.org/10.2136/sssaj1997.03615995006100010018x)
43. Orlov DS. Soil Chemistry: A Textbook. Moscow: Moscow State University Publ.; 1985. 376 p. In Russian
44. Polyakov V, Zazovskaya E, Abakumov V. Molecular composition of humic substances isolated from selected soils and cryconite of the Grønfjorden area. Spitsbergen. *Polish Polar Research*. 2019;40(2):105-120. doi: [10.24425/ppr.2019.128369](https://doi.org/10.24425/ppr.2019.128369)

Received 9 July 2019; Revised 15 August 2019;

Accepted 11 September 2019; Published 27 September 2019

Author info:

Polyakov Vyacheslav I, Master of Sci. (Biol.), Engineer, Department of Applied Ecology, Faculty of Biology, Saint Petersburg State University, 13B Universitetskaya Emb., St. Petersburg 199034, Russian Federation; Postgraduate Student, Department of Soil Science and Agrochemistry, Faculty of Agriculture, Saint-Petersburg State Agrarian University, 2 Petersburg Highway, Pushkin 196601, Russian Federation; Engineer, Department of Geography of Polar Region, Arctic and Antarctic Research Institute, 38 Bering Str., St. Petersburg 199397, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0001-6171-3221>

E-mail: slavon6985@gmail.com

Chegodaeva Nadezhda A, Master of Sci. (Biol.), Student, Department of Applied Ecology, Saint Petersburg State University, 13B Universitetskaya Emb., St. Petersburg 199034, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0001-5547-7306>

E-Mail: nadenka9517@mail.ru

Abakumov Evgeny V, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Department of Applied Ecology, Saint Petersburg State University, 13B Universitetskaya Emb., St. Petersburg 199034, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-5248-9018>

E-mail: e_abakumov@mail.ru

For citation: Polyakov VI, Chegodaeva NA, Abakumov EV. Molecular and elemental composition of humic acids isolated from selected soils of the Russian Arctic. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2019;47:6-21. doi: [10.17223/19988591/47/1](https://doi.org/10.17223/19988591/47/1)

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 633.81:57.085.2
doi: 10.17223/19988591/47/2

Н.А. Егорова, О.В. Якимова

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма,
г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Влияние длительного субкультивирования на клональное микроразмножение *Melissa officinalis* L. и *Origanum vulgare* L.

Изучена динамика морфометрических показателей развития эксплантов при длительном субкультивировании трех сортов *Melissa officinalis* L. (Цитронелла, Соборная, Крымчанка) и селекционного образца *Origanum vulgare* L. на втором этапе клонального микроразмножения. В качестве эксплантов на этом этапе использовали сегменты стебля с одним узлом, которые культивировали на питательной среде Мурасиге и Скуга, дополненной 0,5 мг/л БАП. Анализ морфогенеза эксплантов показал активное множественное побегообразование, при котором у мелиссы формировалось от 2,2 до 5,7, а у душицы – от 9,5 до 54,8 побега на эксплант. При микроразмножении наблюдали образование корней у микропобегов (у мелиссы с частотой 44,4–92,7%) и формирование оводненных микропобегов (у душицы с частотой 16,7–44,5%). Частота этих процессов зависела от вида или сорта и количества субкультивирований. Максимальные коэффициенты размножения у мелиссы сорта Цитронелла (до 12,0) отмечены в 3–5, а у Крымчанки (17,6) и Соборной (14,2) – в пятом субкультивировании. У *O. vulgare* наибольшее увеличение коэффициента размножения (до 74,1) выявлено в пятом пассаже, а в более поздних 12–13-м пассажах показано снижение этого показателя почти в 4 раза. Полученные данные свидетельствуют о возможности длительного микроразмножения душицы и мелиссы *in vitro* (как минимум, в течение 1–1,5 года), при этом максимальная эффективность этого процесса отмечена в течение пятого субкультивирования.

Ключевые слова: мелисса; душица; эксплант; размножение *in vitro*; множественное побегообразование; субкультивирование; коэффициент размножения.

Введение

В последние годы наряду с использованием традиционных для юга России эфиромасличных и лекарственных растений (лаванды, шалфея, розы эфиромасличной, кориандра) проводится активное исследование и внедрение в производство новых видов, в том числе представителей семейства *Lamiaceae* Mart. – *Melissa officinalis* и *Origanum vulgare* [1]. Мелисса лекар-

ственная (*Melissa officinalis* L.) – многолетнее эфиромасличное, лекарственное и пряно-ароматическое растение, имеющее разнообразные области применения: в качестве медоноса, пряности, в медицине как седативное, спазмолитическое и иммуномодулирующее средство, антидепрессант [2, 3]. Сырье мелиссы входит в состав ароматических чаев. Душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.) – перспективное лекарственное, эфиромасличное и пряно-ароматическое растение, которое широко используется в парфюмерно-косметической и пищевой промышленности, медицине, а также в качестве фитобиотика в производстве комбикормов для животных [4]. В диком виде *O. vulgare* произрастает в европейской части России, в Южной Сибири, на Кавказе, а также во многих странах Западной Европы, в Турции, Индии и других регионах [2, 4]. В России, особенно в южных областях, довольно активно проводится заготовка сырья душицы, что может привести к истощению запасов и сокращению численности растений. Поэтому так же, как и у ряда других лекарственных растений, возникает проблема сохранения биоразнообразия и расширения, а порой и восстановления дикорастущих популяций вида. Вместе с тем мелисса и душица используются не только как лекарственные растения, но и как ароматические для получения эфирных масел [1]. Особую ценность имеет эфирное масло душицы, в состав которого входят тимол и карвакрол. Имеются данные о том, что эфирные масла с высоким содержанием карвакрола превосходят по свойствам многие существующие антибиотики и антигистаминные препараты [5, 6]. Поэтому в настоящее время все большее внимание уделяется созданию на основе эфирных масел фитобиотиков – аналогов синтетических антибиотиков, применение которых имеет ряд негативных последствий.

В связи с низким содержанием эфирного масла в растительном сырье мелиссы и душицы в ФГБУН «НИИСХ Крыма» проводится работа по созданию высокомасличных сортов с повышенным содержанием ценных компонентов в составе эфирного масла [1, 7]. Интенсификация такого рода исследований связана с необходимостью ускоренного размножения полученных селекционерами ценных гибридов, мутантных форм, отобранных уникальных генотипов. Для решения разнообразных задач экологии, селекции и семеноводства во многих странах мира эффективно используются биотехнологические приемы. Одним из наиболее широко востребованных является метод клонального микроразмножения, позволяющий быстро размножить перспективные селекционные образцы и новые сорта, получить оздоровленный посадочный материал, создавать коллекции генетической плазмы *in vitro* [8]. Такие технологии разработаны для многих сельскохозяйственных и цветочно-декоративных растений [9, 10]. Однако в литературе встречаются немногочисленные данные, касающиеся разработки отдельных элементов методик клонального микроразмножения у разных видов мелиссы [11–13] и душицы [14–18]. Так, проведены исследования по оптимизации питательных сред для основных этапов размножения *in vitro* [11, 13, 19], а также ис-

следования по укоренению и адаптации регенерантов *M. officinalis* [13, 20]. В качестве исходных эксплантов для микроразмножения Melissa или душицы использовали меристемы [14, 17], пазушные или верхушечные почки [11, 19–21], но чаще – сегменты стебля с узлом [11, 18, 22–24]. В литературе имеются данные о том, что максимальное количество побегов на эксплант (3,2–4,1 шт.) у Melissa развивалось при культивировании на питательной среде с 3,0 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП) и 1,0 мг/л α -нафтилуксусной кислоты (НУК) [20]. Греческие исследователи наибольшую частоту множественного побегообразования и число побегов (до 4 шт.) наблюдали при культивировании микропобегов *M. officinalis* на питательной среде с добавлением 1,0 мг/л кинетина и 0,5 мг/л БАП [11]. Ученые из Ирана у большинства из изученных 17 генотипов Melissa отметили хорошую регенерацию микропобегов при использовании в составе питательной среды 2,0 мг/л БАП или 1,0 мг/л БАП с 0,5 мг/л ИМК [13]. Имеются работы по исследованию влияния происхождения донорного растения [14], типа экспланта [16, 18, 21] и питательных сред [15, 17, 21, 22] на развитие эксплантов на отдельных этапах микроразмножения представителей рода *Origanum*. Изучено влияние расположения пазушных почек на побеге донорного растения *O. vulgare* на их активацию *in vitro* и число микропобегов [23]. Количество формирующихся при клональном размножении микропобегов варьировало в зависимости от состава питательной среды, генотипа и используемых авторами методических подходов. Анализ развития микроклонов *O. vulgare* в течение 4, 8, 12 недель культивирования в цикле выращивания показал, что после 12 недель на разных питательных средах развивалось от 2,1 до 3,9 побега на эксплант [15]. Аргентинские исследователи сообщали о культивировании микрочеренков душицы обыкновенной на питательных средах, дополненных 0,28 мкМ БАП с 0,53 мкМ или 5,83 мкМ НУК, на которых коэффициент размножения составил 22,2 и 20,2 соответственно [14]. С.Т. Oana et al. при использовании в составе питательной среды 1,0 мг/л БАП и 0,05 мг/л НУК получили высокую частоту множественного побегообразования (85,0%), при этом из одного микрочеренка формировалось 12,0 побега до 5,0 см длиной [21]. По данным D. Özkum, на втором этапе клонального микроразмножения *O. minutiflorum* лучшие результаты также достигнуты при использовании в составе питательной среды БАП (2,0 мг/л) и НУК (0,1 мг/л) [18]. В других исследованиях наибольшее количество побегов на втором этапе микроразмножения у *O. sipyleum* (до 7,8 шт. на эксплант) [17] и *O. majorana* (до 18,7 шт. на эксплант) [25] формировалось на среде МС, дополненной 1,0 мг/л БАП. Тем не менее многие вопросы клонального микроразмножения *M. officinalis* и *O. vulgare*, в частности, касающиеся развития эксплантов при длительном субкультивировании, почти не изучены. Однако это довольно важный вопрос, так как от способности микропобегов продолжительное время сохранять регенерационный потенциал зависит эффективность биотехнологий размножения *in vitro*.

Цель данного исследования – изучение морфометрических показателей развития эксплантов при длительном субкультивировании сортов и селекционных образцов *M. officinalis* и *O. vulgare* на втором этапе клонального микроразмножения.

Материалы и методики исследования

Исходным материалом для исследований служили экспланты трех сортов *Melissa officinalis* L. (Цитронелла, Соборная, Крымчанка) и перспективного селекционного образца № 10 *Origanum vulgare* L. Донорные растения выращивали в условиях закрытого грунта. Для соблюдения условий асептики все работы по введению в культуру и микрочеренкованию побегов *in vitro* выполняли в условиях бокса БАВнп-01-«Ламинар-С»-1,2 (Россия). Для стерилизации растительный материал предварительно промывали в мыльном растворе (15–20 мин) и ополаскивали в проточной и дистиллированной воде. Дальнейшую стерилизацию осуществляли в условиях ламинарного бокса. В качестве стерилизующих веществ для освобождения от экзогенной инфекции применяли 70%-ный этанол – 1 мин, и 50%-ный раствор препарата «Брадофен» 10 Н («ФЛОРИН АО», Венгрия) – 4 мин. Эксперименты проводили согласно общепринятым в биотехнологии растений методам культивирования тканей и органов *in vitro* [8, 9].

Для введения в культуру *in vitro* использовали пазушные меристемы с двумя листовыми примордиями (размером 0,4–1,0 мм, в зависимости от вида растения). Меристемы вычленили под стереоскопическим микроскопом МСП-1 (Россия) в асептических условиях ламинарного бокса. На втором этапе (собственно микроразмножения) в качестве эксплантов использовали сегменты стебля с одним узлом (5–8 мм), полученные при микрочеренковании побегов, развившихся из почек при введении *in vitro*. При длительном пассировании после множественного побегообразования для дальнейшего субкультивирования отбирали хорошо развившиеся пазушные и адвентивные микропобеги, из которых выделяли микрочеренки 3–4-го ярусов. Экспланты помещали на поверхность агаризованной питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) [26] с добавлением 6-бензиламинопурина (БАП) и гибберелловой кислоты (ГК₃) («Sigma», США). Для введения в культуру *in vitro* меристем у Melissa использовали ранее оптимизированную питательную среду МС, дополненную 1,0 мг/л БАП и 0,5 мг/л ГК₃ [27], а у душицы – МС с 1,0 мг/л БАП [28]. При последующих субкультивированиях микрочеренки помещали на питательную среду МС с 0,5 мг/л БАП [27].

Культивирование проводили в колбах (душица) или стеклянных банках (мелисса) объемом 200 мл с 35 мл питательной среды. В каждый культовый сосуд помещали по 3–4 экспланта. Анализ морфометрических показателей проводили на 30–35-е сутки культивирования. При этом определяли частоту множественного побегообразования (%), количество побегов

(шт./эксплант), длину побега (мм), количество узлов (шт./побег), частоту ризогенеза (%) и оводненных побегов (%). Частоту множественного побегообразования, ризогенеза и оводненных побегов (%) рассчитывали как отношение числа эксплантов соответственно – с несколькими побегами, корнями или витрифицированными побегами к общему числу анализируемых эксплантов, умноженное на 100. Коэффициент размножения рассчитывали как число микрочеренков, которое можно получить после одного субкультивирования. Для этого количество образующихся из одного экспланта побегов умножали на число узлов на побеге. При таком расчете не учитывали оводненные микропобеги. После анализа морфометрических параметров в асептических условиях побеги разрезали на микрочеренки с одним узлом и переносили в культуральные сосуды со свежей питательной средой.

Изолированные меристемы и побеги культивировали при $26 \pm 2^\circ\text{C}$, относительной влажности воздуха 70%, освещенности 2–3 клк с 16-часовым фотопериодом. Опыты проведены в 3-кратной повторности (одновременно), при этом в каждом варианте анализировали не менее 20 эксплантов. Статистическая обработка данных проведена согласно общепринятым методам математической статистики при помощи стандартного пакета документов Microsoft Office Excel (2010). Статистическую значимость различий оценивали по *t*-критерию Стьюдента при $p < 0,05$. В таблицах и на графиках представлены средние значения и их стандартные ошибки.

Результаты исследования и обсуждение

При исследовании изменений морфометрических параметров эксплантов в процессе клонального микроразмножения основное внимание нами уделено вопросам длительного субкультивирования для того, чтобы выяснить, как долго и эффективно можно проводить размножение *in vitro*.

В результате проведенных экспериментов у мелиссы установлено, что при культивировании меристем на питательной среде МС с 1,0 мг/л БАП и 0,5 мг/л ГК₃ развитие основного, а иногда и адвентивных побегов началось на 7–10-е сутки. На 30–35-е сутки культивирования из одного экспланта формировалось от 1,3 шт. (у сорта Цитронелла) до 4,2 шт. (у сорта Соборная) побегов, а их длина варьировала от 5,8 до 8,2 мм.

В ходе дальнейшего микроразмножения на втором этапе в течение семи пассажей при культивировании сегментов стебля с узлом (полученных после микрочеренкования) на питательной среде МС с 0,5 мг/л БАП у изучаемых сортов формировались пазушные и адвентивные побеги. Как правило, пазушные побеги имели большую длину (40–80 мм) и 4–6 узлов, а адвентивные были более короткие (10–20 мм) с 1–2 узлами (рис. 1, А). Частота множественного побегообразования в зависимости от сорта и пассажа варьировала от 32,0 до 93,3% (табл. 1). В нескольких вариантах опыта отметили оводненные микропобеги, однако частота их образования не превышала

15,1–23,4%. Установлено, что у микропобегов сортов Соборная и Крымчанка большинство морфометрических параметров были выше в 1,3–2,5 раза по сравнению с сортом Цитронелла. В течение последовательных субкультивирований у изучаемых сортов выявили не только повышение частоты множественного побегообразования, но и в некоторых вариантах увеличение длины побегов. К пятому–седьмому пассажам у сортов наблюдали увеличение количества узлов на побеге.

Таблица 1 [Table 1]

Морфометрические показатели развития эксплантов при длительном субкультивировании сортов *Melissa officinalis* на втором этапе микроразмножения *in vitro*
[Morphometric parameters of explant development during long-term subcultivation of *Melissa officinalis* cultivars at the second stage of micropropagation *in vitro*]

Сорт [Cultivar]	Число субкультивирований [Number of subcultures]	Частота множественного побегообразования [Frequency of multiple shoot formation], %	Количество побегов, шт./эксплант [Number of shoots, pcs./ explant]	Количество узлов, шт./побег [Number of nodes, pcs./ shoot]	Длина побега, мм [Shoot length, mm]
Цитронелла [Tsitronella]	2	32,0±1,1 d	2,2±0,2 b	2,2±0,2 c	28,2±3,1 d
Соборная [Sobornaya]		83,3±9,2 ab	5,7±0,8 a	2,6±0,1 c	40,3±2,7 c
Крымчанка [Krymchanka]		50,0±4,3 c	5,4±0,4 a	2,6±0,1 c	45,8±2,9 bc
Цитронелла [Tsitronella]	3	93,3±6,6 a	5,5±0,6 a	2,8±0,3 bc	43,5±6,3 bc
Соборная [Sobornaya]		85,7±4,8 ab	3,6±0,4 ab	2,5±0,2 bc	29,0±2,5 d
Крымчанка [Krymchanka]		85,7±9,7 ab	4,9±0,6 ab	2,9±0,1 bc	29,2±1,7 d
Цитронелла [Tsitronella]	5	76,9±5,2 ab	4,7±0,2 a	2,9±0,2 bc	39,9±2,7 c
Соборная [Sobornaya]		92,8±7,1 a	5,2±0,5 a	3,7±0,2 ab	55,4±2,1 b
Крымчанка [Krymchanka]		75,1±10,3 ab	4,3±0,6 ab	4,1±0,2 a	73,8±2,6 a
Цитронелла [Tsitronella]	7	68,4±10,3 ab	3,3±0,4 b	3,5±0,2 ab	44,2±2,8 c
Соборная [Sobornaya]		50,0±3,2 c	2,6±0,4 b	3,2±0,2 b	44,8±6,1 bc
Крымчанка [Krymchanka]		68,8±4,2 b	3,3±0,4 b	3,1±0,2 bc	34,6±2,4 cd

Примечание. В каждом столбце разными буквами обозначены статистически значимые различия ($p < 0,05$) между сортами или субкультивированиями.

[*Note.* Statistically significant differences ($p < 0.05$) between cultivars or subcultures are indicated by different letters in each column].

Следует отметить, что уже на втором этапе микроразмножения на питательной среде с цитокинином у многих побегов развивались корни (см. рис. 1, А). Частота ризогенеза, в зависимости от сорта и пассажа, достигала 44,4–92,7%. Для укоренения микропобегов Melissa многие авторы использовали питательные среды с регуляторами роста ауксинового типа действия (ИУК, НУК, ИМК) [3, 13, 20]. G.I. Ghiorghita et al. сообщали об индукции ризогенеза у побегов *M. officinalis* на питательной среде с добавлением 1,0 мг/л кинетина и 0,5 мг/л НУК [11]. При культивировании полученных из почек побегов на питательной среде без регуляторов роста S.M. Shakeri et al. отметили появление до 6–12 корней [19]. Выявленное в нашем исследовании спонтанное образование корней у побегов сортов мелиссы на питательной среде для микроразмножения с БАП позволяет при высокой частоте ризогенеза исключить третий этап размножения и сразу переносить микро-растения с корнями на адаптацию *ex vitro*. Это может ускорить и удешевить технологию микроразмножения данного вида.

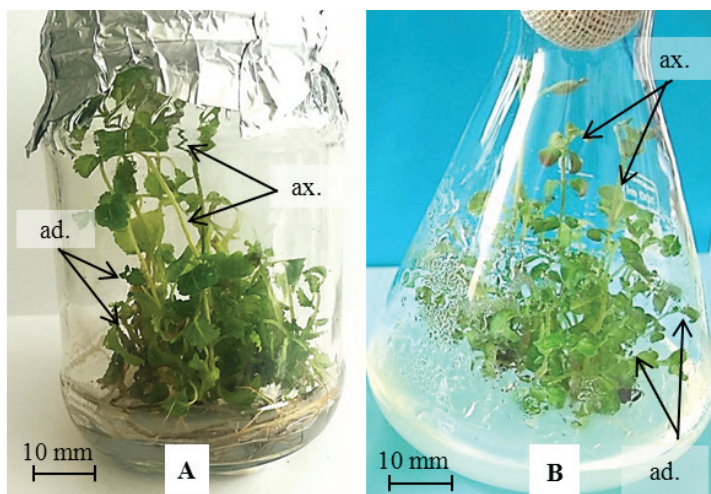


Рис. 1. Микропобеги на втором этапе микроразмножения *Melissa officinalis* (А) и *Origanum vulgare* (В). Стрелками обозначены пазушные (ax.) и адвентивные побеги (ad.). Автор фотографий – О.В. Якимова

[Fig. 1. Microshoots of *Melissa officinalis* (A) and *Origanum vulgare* (B) at the second stage of micropropagation. Arrows mark axillary (ax.) and adventitious shoots (ad.).

Photo by Olga V Yakimova]

При сравнении морфометрических показателей развития эксплантов (сегментов стебля с узлом) в разных пассажах установлено, что у изученных сортов количество побегов на эксплант варьировало от 2,2 до 5,7 шт., а количество узлов – от 2,2 до 4,1 шт. на побег. При этом длина побегов достигла 55,4–73,8 мм. У сорта Цитронелла максимальное значение изученных параметров (см. табл. 1) и коэффициент размножения (до 12,0) отметили в

третьем-пятом субкультивированиях (рис. 2). А у сортов Соборная и Крымчанка – в пятом пассаже, в котором коэффициенты размножения составили 14,2 и 17,6 соответственно. В седьмом субкультивировании у всех изученных сортов коэффициенты размножения снизились до 6,3–8,9 в зависимости от сорта.

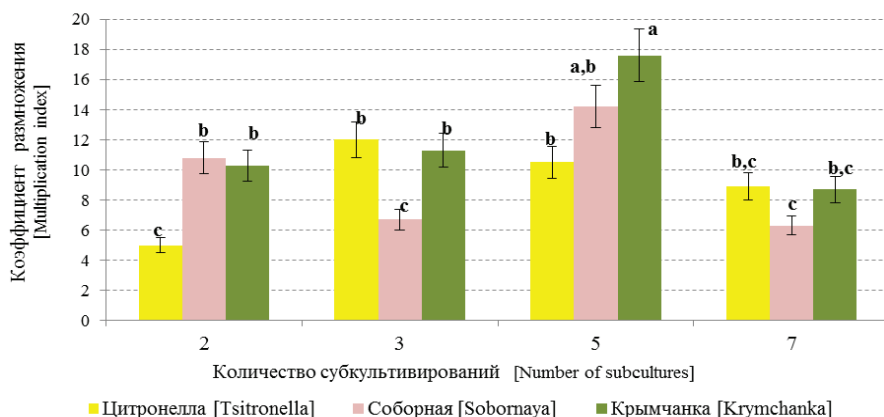


Рис. 2. Значение коэффициента размножения при длительном субкультивировании сортов *Melissa officinalis in vitro*. Статистически значимые различия ($p < 0,05$) между сортами или субкультивированиями обозначены разными буквами
[Fig. 2. The value of the multiplication index during long-term subcultivation of *Melissa officinalis* cultivars *in vitro*. Statistically significant differences ($p < 0,05$) between cultivars or subcultures are indicated by different letters]

У *O. vulgare* при помещении меристем на питательную среду МС, содержащую 1,0 мг/л БАП, развитие побегов наблюдали через неделю культивирования. Из меристем уже на этапе введения развивалось до 4,5 побега на эксплант длиной 17,0 мм, а частота множественного побегообразования составила 66,6%.

На втором этапе собственно микроразмножения экспланты (сегменты стебля с одним узлом), выделенные из микропобегов, развившихся из меристем, культивировали на питательной среде МС с более низкой концентрацией БАП [28]. Рост пазушных побегов начинался на 5–7-е сутки, а развитие адвентивных – через 2–3 недели культивирования. Пазушные микропобеги достигали 50–85 мм и имели 5–9 узлов, а адвентивные – 7–15 мм (с 1–2 узлами) (рис. 1, В). На 35-е сутки культивирования эксплантов частота множественного побегообразования варьировала от 75,0 до 95,2%, а среднее количество побегов на эксплант составило от 9,5 до 54,8 шт. в зависимости от числа субкультивирований (табл. 2). При микроразмножении у отдельных побегов (от 5,2 до 28,5%, в разных пассажах) формировалось 2–3 небольших корня длиной до 2–3 см (см. рис. 1, В). Следует отметить, что при культивировании *in vitro* у душицы иногда отмечали появление оводненных микропобегов с утолщенными стекловидными аномальными стеблями и ли-

стями, которые невозможно использовать для дальнейшего размножения. Частота витрифицированных микропобегов составила 16,7–25,8%, однако в пятом пассаже достигла 44,5%. Из-за относительно высокой частоты витрификации побегов (особенно в некоторых пассажах) при расчете коэффициента размножения исключали оводненные побеги. Образование витрифицированных побегов встречается при микроразмножении многих видов растений. Это явление связывают с комплексом факторов – повышенной влажностью и неблагоприятным газовым составом в культуральном сосуде, составом питательной среды (высоким содержанием регуляторов роста и минеральных солей или низкой концентрацией агара), физиологическим возрастом экспланта, интенсивностью освещения, генотипом растения и некоторыми другими. На эти факторы, в частности, указывалось в работах по микроразмножению *Allium sativum* и *Agastache foeniculum* [29, 30]. Судя по полученным данным, у *O. vulgare* частота витрификации зависела от длительности культивирования. При этом максимальное количество оводненных побегов формировалось в 5-м субкультивировании, когда развивалось максимальное число побегов.

Таблица 2 [Table 2]

Морфометрические показатели развития эксплантов при длительном субкультивировании *Origanum vulgare* на втором этапе микроразмножения *in vitro*
[Morphometric parameters of explant development during long-term subcultivation of *Origanum vulgare* at the second stage of micropropagation *in vitro*]

Число субкультивирований [Number of subcultures]	Частота множественного побегообразования [Frequency of multiple shoot formation], %	Количество побегов, шт./эксплант [Number of shoots, pcs./ explant]	Количество узлов, шт./ побег [Number of nodes, pcs./ shoot]	Длина побега, мм [Shoot length, mm]	Частота оводненных побегов [Frequency of hyperhydric shoots], %
3	90,9±6,2 a	32,3±5,6 b	1,8±0,1 b	20,8±1,6 b	16,7±1,5 c
5	83,3±10,1 a	54,8±5,1 a	2,4±0,3 ab	32,7±3,7 ab	44,5±5,1 a
6	94,4±5,6 a	27,9±1,2 b	2,1±0,2 a	29,2±2,7b	20,0±1,8 bc
7	95,2±4,7 a	33,1±2,7 b	2,4±0,2 a	28,7±1,8 b	18,5±1,2 c
10	90,5±4,0 a	22,9±3,6 bc	2,5±0,2 a	42,9±2,6 a	25,8±2,4 b
12	84,8±6,3 a	14,4±2,3 c	1,7±0,1 b	24,5±2,3 b	24,4±1,9 b
13	75,0±10,1 a	9,5±0,8 c	2,1±0,1 a	23,3±2,3 b	16,8±1,8 c

Примечание. В каждом столбце разными буквами обозначены статистически значимые различия ($p < 0,05$) между субкультивированиями.

[*Note.* Statistically significant differences ($p < 0.05$) between subcultures are indicated by different letters in each column].

Следует отметить довольно высокое число формирующихся побегов (9,5–54,8 шт. на эксплант, в зависимости от пассажа), выявленное у *O. vulgare* в наших экспериментах. У разных видов душицы на оптимальных

питательных средах, судя по литературным данным, из одного экспланта развивалось не более 4,0 [22], 4,2 [24], 12,0 [21], 22,2 побега [14]. Египетские ученые при введении в культуру *in vitro* сегментов стебля с почками у *O. majorana* получили до 18,7 побега на эксплант [25]. Интересные данные продемонстрированы для *O. sipyleum*, у которой на питательной среде для микроразмножения (МС с 1,0 мг/л БАП) формировалось 7,8 побега на эксплант, а на среде для укоренения (МС с 0,5 мг/л ИМК) – 23,7 побега [17].

При изучении влияния длительности культивирования на микроразмножение душицы *in vitro* провели 13 пассажей. Максимальное число побегов (54,8 шт./эксплант) и коэффициент размножения (74,1) получены в пятом субкультивировании (рис. 3). В седьмом пассаже коэффициент размножения понизился до 63,6, но статистически не значимо отличался от данного показателя в пятом пассаже. При дальнейших субкультивированиях коэффициент размножения снизился в десятом пассаже до 43,0. Наименьшие значения этого показателя (16,9–18,8) отмечены в поздних 12–13-м пассажах (через полтора года культивирования). При этом иногда формировались более тонкие и слабые микропобеги по сравнению с более ранними третьим–пятым пассажами. Полученные результаты свидетельствуют о возможности эффективного субкультивирования душицы *in vitro* в течение семи–десяти пассажей. Однако, при необходимости, можно проводить размножение и более длительный период, учитывая относительно высокие коэффициенты размножения даже в поздних пассажах и отсутствие значительных признаков физиологического старения мериклонов.

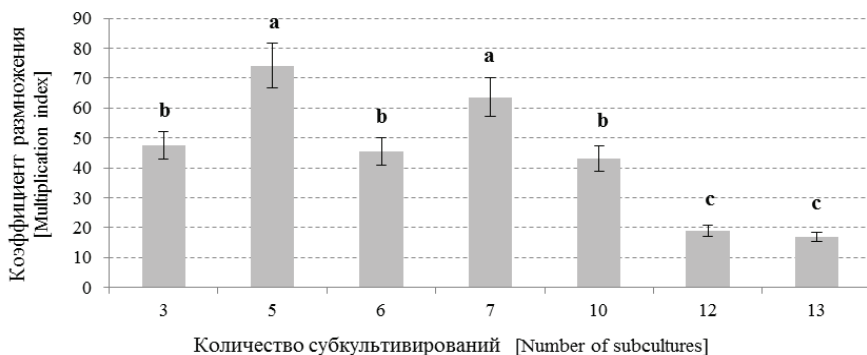


Рис. 3. Значение коэффициента размножения при длительном субкультивировании *Origanum vulgare in vitro*. Статистически значимые различия ($p < 0,05$) между субкультивированиями обозначены разными буквами [Fig. 3. The value of the multiplication index during long-term subcultivation of *Origanum vulgare in vitro*. Statistically significant differences ($p < 0,05$) between subcultures are indicated by different letters]

Повышение коэффициента размножения к третьему–четвертому субкультивированию ранее показано для сортов лаванды [31] и розы эфиромасличной [32]. При микроразмножении пяти сортов и селекционных образцов

мяты в течение шести субкультивирований установлено, что коэффициент размножения увеличивался в 3–5-м пассажах, достигая 12,1–48,7 в зависимости от генотипа и длительности культивирования [33]. Однако у других эфиромасличных растений (фенхеля и шалфея), наоборот, отмечено снижение коэффициента размножения после третьего пассажа. А у сортов герани эфиромасличной этот показатель оставался достаточно стабильным в течение двух лет клонального микроразмножения [34]. Следует отметить, что сведений об эффективности размножения *in vitro* видов мелиссы и душицы при длительном культивировании очень мало. Так, у двух видов душицы *O. syriacum* и *O. ehrenbergii* при размножении на питательной среде с 1,0–2,0 мг/л БАП выявлено увеличение количества побегов (от 1,5–2,0 до 3,7–4,0 шт. на эксплант) в четвертом субкультивировании по сравнению с первым [22]. Для *O. sipyleum* установлено, что при введении в культуру апикальных верхушек на питательной среде МС с 1,0 мг/л БАП развивалось 3,7 побега на эксплант, а при следующем субкультивировании формировалось 7,8 побега на эксплант. Однако при этом снижалась их длина – с 1,8 до 1,2 см. При дальнейших субкультивированиях через каждые три недели развивалось по 8,0 побега на эксплант [17]. Однако такого длительного, как в нашем исследовании у *M. officinalis* и *O. vulgare*, анализа морфометрических параметров в течение 7–13 пассажей (т.е. при культивировании около полутора лет) ранее, судя по имеющимся литературным данным, у видов мелиссы и душицы не проводилось. Полученные результаты свидетельствуют о возможности продолжительного микроразмножения изученных видов при сохранении достаточно высоких (особенно у душицы) коэффициентов размножения. Это может быть полезным не только для получения больших объемов посадочного материала при минимальном числе исходных растений (а может, и при наличии единичного экземпляра), но и при разработке методик создания депонированных коллекций ценных генотипов *in vitro*.

Выводы

Выявлены особенности развития эксплантов *M. officinalis* и *O. vulgare* при длительном клональном микроразмножении. На втором этапе размножения *in vitro* наблюдали множественное побегообразование, ризогенез, а иногда развитие оводненных побегов. Частота изученных показателей варьировала в зависимости от вида или сорта растения и количества пассажей.

При сравнении двух видов растений в течение всего периода культивирования у душицы отмечены большее число побегов на эксплант (до 54,8 шт.) и частота витрификации (до 44,5%), тогда как для сортов мелиссы характерны более высокие значения длины побегов (до 73,8 мм) и числа узлов на них (до 4,1 шт.).

Анализ развития эксплантов мелиссы в течение семи пассажей показал, что максимальные значения коэффициента размножения у сорта Цитро-

нелла (до 12,0) выявлены в 3–5-м, а у сортов Соборная (14,2) и Крымчанка (17,6) – в 5-м субкультивировании.

При микроразмножении душицы в течение 13 пассажей обнаружено увеличение коэффициента размножения к 5-му пассажиру до 74,1. При дальнейших субкультивированиях, в 12–13-м пассажах, данный параметр снизился почти в 4 раза.

Проведенные исследования показали возможность длительного, более года, клонального размножения *M. officinalis* и *O. vulgare* в культуре *in vitro*. При этом выявленная у побегов Melissa способность к ризогенезу на питательной среде для размножения (с частотой 44,4–92,7%) позволяет исключить специальный этап укоренения *in vitro*.

Литература

1. Паштецкий В.С., Невкрытая Н.В., Мишнев А.В., Назаренко Л.Г. Эфиромасличная отрасль Крыма. Вчера, сегодня, завтра. Симферополь : ИТ «Ариал», 2018. 320 с.
2. Атлас лекарственных растений России / под ред. А.В. Быкова. М. : Щербинская типография, 2006. 345 с.
3. Moradkhani H., Sargsyan E., Bibak H., Naseri B., Sadat-Hosseini M., Fayazi-Barjin A., Meftahizade H. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review // Journal of Medicinal Plants Research. 2010. Vol. 4, № 25. PP. 2753–2759.
4. Garcia-Beltran J.M., Esteban M.A. Properties and application of plants of *Origanum* sp. genus // SM Journal of Biology. 2016. № 2 (1). 1006. PP. 1–10.
5. Derwich E., Benziane Z., Manar A., Boukir A., Taouil R. Phytochemical analysis and *in vitro* antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* from Morocco // American-Eurasian Journal of Scientific Research. 2010. Vol. 5, № 2. PP. 120–129.
6. Chishti Sh., Kaloo Z.A., Sultan Ph. Medicinal importance of genus *Origanum*: A review // Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy. 2013. Vol. 5 (10). PP. 170–177. doi: 10.5897/JPP2013.0285
7. Невкрытая Н.В., Аметова Э.Д., Марченко М.П. Итоги работы по созданию нового сорта *Melissa officinalis* L. // Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского. Серия: «Биология, химия». 2014. Т. 27 (66), № 5. С. 110–118.
8. Davey M.R., Anthony P. Plant cell culture: essential methods. Singapore : Markono Print Media Pte. Ltd, 2010. 335 p.
9. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика. К. : Наукова думка, 2005. 270 с.
10. Основы создания генобанка *in vitro* видов, сортов и форм декоративных, ароматических и плодовых культур / под ред. И.В. Митрофановой. Симферополь : АРИАЛ, 2018. 260 с.
11. Ghiorghe G.I., Maftai D.E.St., Nicuta D.N. Investigations on the *in vitro* morphogenetic reaction of *Melissa officinalis* L. species // Analele Stiintifice ale Universitatii “Alexandru Ioan Cuza”, Genetica si Biologie Moleculara. 2005. Vol. 5. PP. 119–126.
12. Meftahizade H., Lofti M., Moradkhani H. Optimization of micropropagation and establishment of cell suspension culture in *Melissa officinalis* L. // African Journal of Biotechnology. 2010. Vol. 9, № 28. PP. 4314–4321. doi: 10.5897/AJB10.208
13. Mohebalipour N., Aharizad S., Mohammadi S.A., Motalibiazar A.R., Arefi H.M. Effect of plant growth regulators BAP and IAA on micropropagation of Iranian lemon balm (*Melissa officinalis* L.) landraces // Journal of Food, Agriculture & Environment. 2012. Vol. 10 (1). PP. 280–286.
14. Goleniowski M.E., Flamarique C., Bima P. Micropropagation of *Oregano* (*Origanum vulgare* x *apalii*) from meristem tips // In vitro Cellular and Developmental Biology – Plant. 2003. Vol. 39. PP. 125–128. doi: 10.1079/IVP2002361

15. Bracamonte M.A., Bima P., Bongiovanni G., Golenowski M. Nutrition and micropropagation of *Origanum vulgare* x *applii* // Molecular Medicinal Chemistry. 2006. Vol. 11. PP. 6–7.
16. Nanova Zh., Slavova Y. Mass vegetative propagation of winter marjoram (*Origanum vulgare* ssp. *Hirtum* (Link) jetsvaart) // Bulgarian Journal of Agricultural Science, National Centre for Agrarian Sciences. 2006. Vol. 12. PP. 531–536.
17. Oluk E.A., Cakır A. Micropropagation of *Origanum sipyleum* L., an endemic medicinal herb of Turkey // African Journal of Biotechnology. 2009. Vol. 8 (21). PP. 5769–5772.
18. Özkum D. *In vitro* shoot regeneration of oregano (*Origanum minutiflorum* O. Schwarz & Davis) // Hacettepe Journal of Biology and Chemistry. 2007. Vol. 35 (2). PP. 97–100.
19. Shakeri S.M., Kazemitabar S.K., Sinaki J.M. *In vitro* culture of *Melissa officinalis* without the use of hormones // International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 2013. Vol. 6 (20). PP. 1382–1387.
20. Meftahizade H., Moradkhani H., Naseri B., Lofti M., Naseri A. Improved *in vitro* culture and micropropagation of different *Melissa officinalis* L. genotypes // Journal of Medicinal Plants Research. 2010. Vol. 4, № 3. PP. 240–246.
21. Oana C.T., Falticeanu M., Prisecaru M. Considerations regarding the effects of growth regulators over the *in vitro* morphogenetic reaction at *Origanum vulgare* L. // Journal Plant Development. 2008. Vol. 15. PP. 133–138.
22. El Beyrouthy M., Elian G., Abou Jaoudeh C., Chalak L. *In vitro* propagation of *Origanum syriacum* and *Origanum ehrenbergii* // Acta Horticultural. 2015. № 1083. PP. 169–172. doi: [10.17660/ActaHortic.2015.1083.19](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1083.19)
23. Fokina A.V., Satarova T.M., Smetanin V.T., Kucenko N.I. Optimization of microclonal propagation *in vitro* of oregano (*Origanum vulgare*) // Biosystems Diversity/ 2018. Vol. 26, № 2. PP. 98–102. doi: [10.15421/011815](https://doi.org/10.15421/011815)
24. Sevindik B., İzgu T., Şimşek O., Tutuncu M., Curuk P., Yılmaz O., Kaynak G., Kacar Y.A., Silva J.A.T., Mendi Y.Y. *In vitro* culture of turkish *Origanum sipyleum* L. // American Journal of Plant Biology. Special Issue: Plant Molecular Biology and Biotechnology. 2017. Vol. 2, № 5-1. PP. 32–36. doi: [10.11648/j.ajpb.s.2017020501.16](https://doi.org/10.11648/j.ajpb.s.2017020501.16)
25. Korkor A.M., Mohamed S.A., Abd El-kafie O.M., Gohar A.A. Adaptation of the *in vitro* culture of *Origanum majorana* L. for production of phenolic acids // IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences. 2017. Vol. 12, № 2. PP. 30–38. doi: [10.9790/3008-1202013038](https://doi.org/10.9790/3008-1202013038)
26. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. 1962. Vol. 15, № 3. PP. 473–479.
27. Якимова О.В., Егорова Н.А. Влияние состава питательной среды, типа экспланта и генотипа на клональное микроразмножение *Melissa officinalis* L. // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия. 2018. Т. 4 (70), № 1. С. 158–167.
28. Якимова О.В., Егорова Н.А. Влияние состава питательной среды и генотипа на клональное микроразмножение душицы *in vitro* // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2015. Вып. 4 (55). С. 304–309.
29. Liu M., Jiang F., Kong X., Tian J., Wu Z., Wu Zh. Effects of multiple factors on hyperhydricity of *Allium sativum* L. // Scientia Horticulturae. 2017. Vol. 217. PP. 285–296. doi: [10.1016/j.scienta.2017.02.010](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.010)
30. Поливанова О.Б., Чередниченко М.Ю. Пути преодоления витрификации многоколосника фенхельного *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze (Lamiaceae) в культуре *in vitro* // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2017. Вып. 5. С. 17–28. doi: [10.26897/0021-342X-2017-5-17-28](https://doi.org/10.26897/0021-342X-2017-5-17-28)
31. Yegorova N.A., Mitrofanova I.V., Brailko V.A., Grebennikova O.A., Paliy A.E., Stavtseva I.V. Morphogenetic, physiological, and biochemical features of *Lavandula angustifolia* at long-

- term micropropagation *in vitro* // Russian Journal of Plant Physiology. 2019. Vol. 66, № 2. PP. 326–334. <https://link.springer.com/article/10.1134/S1021443719010060>
32. Егорова Н.А., Ставцева И.В., Митрофанова И.В. Влияние сорта и факторов культивирования *in vitro* на клональное микроразмножение розы эфиромасличной // Бюллетень государственного Никитского ботанического сада. 2016. № 120. С. 36–43.
 33. Zagorskaya M., Yegorova N. Effect of prolonged cultivation on the micropropagation *in vitro* of mint cultivars and breeding samples // BIO Web of Conferences. 2018. Vol. 11. Article Number 00049. doi: 10.1051/bioconf/20181100049
 34. Егорова Н.А., Ставцева И.В., Якимова О.В., Каменек Л.И., Кривоухатко А.Г. Некоторые аспекты клонального микроразмножения и сохранения *in vitro* эфиромасличных растений // Таврический вестник аграрной науки. 2015. № 1 (3). С. 18–24.

Поступила в редакцию 10.05.2019 г.; повторно 16.08.2019 г.;
принята 11.09.2019 г.; опубликована 27.09.2019 г.

Авторский коллектив:

Егорова Наталья Алексеевна – д-р биол. наук, доцент, зав. лабораторией биотехнологии отдела эфиромасличных и лекарственных культур, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма» (Россия, 295493, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-5455-3044>

E-mail: yegorova.na@mail.ru

Якимова Ольга Валерьевна – н. с. лаборатории биотехнологии отдела эфиромасличных и лекарственных культур, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма» (Россия, 295493, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-1586-498X>

E-mail: olyayakimova@yandex.ru

For citation: Yegorova NA, Yakimova OV. The effect of long-term subcultivation on clonal micropropagation of *Melissa officinalis* L. and *Origanum vulgare* L. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = *Tomsk State University Journal of Biology*. 2019;47:22-39. doi: 10.17223/19988591/47/2 In Russian, English Summary

Natalia A. Yegorova, Olga V. Yakimova

Research Institute of Agriculture of Crimea, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation

The effect of long-term subcultivation on clonal micropropagation of *Melissa officinalis* L. and *Origanum vulgare* L.

In recent years, along with the use of essential oil and medicinal plants traditional for the south of Russia, there have been an active introduction of new species, including representatives of Lamiaceae family such as *Melissa officinalis* and *Origanum vulgare*, into production. These plant species are widely used in perfumery, cosmetics and food industries, as well as in medicine, because of the number of biologically active compounds. Therefore breeding work is being carried out to create cultivars with a high content of essential oil and valuable components in its composition. Currently, biotechnological techniques are used to address a wide range of challenges of ecology, plant breeding and seed production. One of the most popular methods is clonal micropropagation. Biotechnologies of micropropagation *in vitro* have been developed for many agricultural and flowering ornamental plants. However, for lemon balm and oregano, many issues relating to propagation in tissue and organ culture have not been studied enough. In particular, this applies to the study of long-term propagation *in vitro*. The aim of our investigation was to study the morphometric parameters of explant

development during long-term subcultivation of cultivars and breeding samples of *M. officinalis* and *O. vulgare* at the second stage of clonal micropropagation.

For studies, we used three cultivars of *Melissa officinalis* L. (Tsitronella, Sobornaya, Krymchanka) and breeding sample № 10 of *Origanum vulgare* L. When introduced *in vitro*, axillary meristems with 2 leaf primordia were isolated from plants. At the second stage (micropropagation itself), stem segments (5-8 mm) with one node, obtained by microcutting of shoots developed from meristems, were used as explants. Explants were cultivated on Murashige and Skoog (MS) culture medium (which we modified earlier for oregano and lemon balm) supplemented with BAP and GA_3 . The meristems and shoots were cultivated at $26 \pm 2^\circ C$, 70% air humidity, 2-3 klx light intensity and 16-h photoperiod. After 30-35 days of cultivation, we determined the frequency of multiple shoot formation, the number and length of shoots, the number of nodes on the shoot, the frequency of rhizogenesis and hyperhydric shoots. The multiplication index was calculated as the number of microcuttings that were obtained after one subculture. To do this, the number of shoots formed on explants was multiplied by the number of nodes on a shoot. Hyperhydric microshoots were not taken into account. Then, we divided the shoots into microcuttings and transferred to a fresh culture medium. Experiments were repeated three times, and at least 20 explants were analyzed in each variation. The confidence of differences was assessed using Student's t-test, $p < 0.05$. Mean values and standard errors are shown in tables and graphs.

As a result of the research, we showed that with the introduction of *M. officinalis* meristems to the MS culture medium with 1.0 mg/l BAP and 0.5 mg/l GA_3 , the development of the main and sometimes adventitious shoots occurred on the 7th-10th day of cultivation. After 35 days of cultivation, 1.3 (Tsitronella cultivar) to 4.2 (Sobornaya cultivar) shoots were formed from one explant, and their length varied from 5.8 to 8.2 mm. For further micropropagation of lemon balm, microshoots obtained at the first stage were divided into one node segments and transferred to the MS medium with 0.5 mg/l BAP. Cultivation of microcuttings during seven passages led to the formation of axillary and adventitious shoots in the studied cultivars (See Fig. 1, A). The frequency of multiple shoot formation, depending on the cultivar and passage, varied from 32.0% to 93.3% (See Table 1). In some variants of the experiment, hyperhydric microshoots were formed with a frequency of 15.1-23.4%. The morphometric parameters of Sobornaya and Krymchanka cultivars were 1.3-2.5 times higher than those of Tsitronella. During successive subcultivations in all cultivars, we revealed an increase not only in multiple shoot formation frequency but also in the length of shoots in some variants. It should be noted that at the second stage of micropropagation on a culture medium with BAP, many shoots developed roots (See Fig. 1, A). The rhizogenesis frequency, depending on the cultivar and passage, reached 44.4-92.7%. The revealed spontaneous rooting of *M. officinalis* cultivars on a nutrient medium for micropropagation allows, at a high rhizogenesis frequency, excluding the third stage of propagation and immediately transferring microplants with roots for adaptation *ex vitro*. When comparing the morphometric parameters of the microcuttings development at different passages, we found that in the studied cultivars the number of shoots varied from 2.2 to 5.7 pcs./explants, and the number of nodes varied from 2.2 to 4.1 pcs./shoot. The length of the shoots reached 55.4-73.8 mm. In Tsitronella cultivar, the maximum value of the studied parameters (See Table 1) and the multiplication index (up to 12.0) (See Fig. 2) were noted in the 3rd-5th subcultivations. For Sobornaya and Krymchanka cultivars – in the fifth passage, in which the multiplication index was 14.2 and 17.6, respectively. In the seventh subcultivation, the multiplication indexes of all studied cultivars decreased to 6.3-8.9, depending on the genotype.

When meristems of *O. vulgare* were placed on MS culture medium, containing 1.0 mg/l BAP, after a month of cultivation, they developed up to 4.5 shoots per explant

of 17.0 mm long. The frequency of multiple shoot formation was 66.6%. At the second stage of micropropagation, explants (stem segments with one node) isolated from microshoots, developed from meristem, were cultured on MS medium with 0.5 mg/l BAP. The growth of the main shoot started on the 5th-7th day, and the development of adventitious shoots – in 2-3 weeks (See Fig. 1 B). On the 35th day of cultivation, the frequency of multiple shoot formation varied from 75.0 to 95.2%, and the number of shoots ranged from 9.5 to 54.8 per explant depending on the number of subcultures (See Table 2). During micropropagation, individual shoots (from 5.2 to 28.5%, in different passages) formed 2-3 roots up to 2-3 cm in length. Sometimes, when oregano was cultivated, the hyperhydric microshoots with thickened vitreous anomalous stems and leaves were noted; they cannot be used for further propagation. The frequency of vitrified microshoots was 16.7-25.8%. However, it reached 44.5% in the fifth passage. When studying the effect of cultivation duration on micropropagation of *O. vulgare in vitro*, 13 passages were conducted. The maximum number of shoots (54.8 pcs / explants) and the multiplication index (74.1) were obtained in the fifth subcultivation (See Fig. 3). With further subcultivations, the multiplication index decreased in the 10th passage up to 43.0. The lowest values of this parameter (16.9-18.8) were noted in the late 12th and 13th passages. Thus, the conducted studies indicate the possibility of long-term micropropagation of *O. vulgare* and *M. officinalis in vitro* (at least for 1-1.5 years), while the maximum efficiency of this process was observed during the fifth subcultivation.

The paper contains 3 Figures, 2 Tables and 34 References.

Key words: lemon balm; oregano; explants; propagation *in vitro*; multiple shoot formation; subculture; multiplication index.

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Pashtetskiy VS, Nevkrytaya NV, Mishnev AV, Nazarenko LG. Efiromaslichnaya otrasl' Kryma. Vchera, segodnya, zavtra [Essential oil industry in the Crimea. Yesterday, today, tomorrow]. Simferopol: ARIAL Publ.; 2018. 320 p. In Russian
2. Atlas lekarstvennykh rasteniy Rossii [Atlas of medicinal plants of Russia]. Bykov AV, editor. Moscow: Shcherbinskaya tipografiya Publ.; 2006. 345 p. In Russian
3. Moradkhani H, Sargsyan E, Bibak H, Naseri B, Sadat-Hosseini M, Fayazi-Barjin A, Meftahizade H. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review. *J Medicinal Plants Research*. 2010;4(25):2753-2759.
4. Garcia-Beltran JM, Esteban MA. Properties and application of plants of *Origanum* sp. genus. *SM J Biology*. 2016;2(1006):1-10.
5. Derwich E, Benziane Z, Manar A, Boukir A, Taouil R. Phytochemical analysis and *in vitro* antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* from Morocco. *American-Eurasian J Scientific Research*. 2010;5(2):120-129.
6. Chishti Sh, Kaloo ZA, Sultan Ph. Medicinal importance of genus *Origanum*: A review. *J Pharmacognosy and Phytotherapy*. 2013;5(10):170-177. doi: [10.5897/JPP2013.0285](https://doi.org/10.5897/JPP2013.0285)
7. Nevkrytaya NV, Ametova ED, Marchenko MP. The outcome of the creating a new variety of *Melissa officinalis* L. *Uchenye zapiski Tavricheskogo natsional'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Seriya: Biologiya, khimiya*. 2014;27(5):110-118. In Russian, English Summary
8. Davey MR, Anthony P. Plant cell culture: Essential methods. Singapore: Markono Print Media Pte. Ltd; 2010. 335 p.
9. Kushnir GP, Sarnats'ka VV. Mikroklonal'ne rozmnozheniya roslin. Teopiya i praktika [Microclonal propagation of plants. Theory and practice]. Kiev: Naukova dumka Publ.; 2005. 270 p. In Ukrainian

10. *Osnovy sozdaniya genobanka in vitro vidov, sortov i form dekorativnykh, aromaticskekh i plodovykh kul'tur* [The basics of creation of *in vitro* genebank of species, varieties and forms of decorative, aromatic and fruit crops]. Mitrofanova IV, editor. Simferopol: ARIAL Publ.; 2018. 260 p. In Russian
11. Ghiorghita GI, Maftai DES, Nicuta DN. Investigations on the *in vitro* morphogenetic reaction of *Melissa officinalis* L. species. *Analele Stiintifice ale Universitatii "Alexandru Ioan Cuza", Genetica si Biologie Moleculara*. 2005;5:119-126.
12. Meftahizade H, Lofti M, Moradkhani H. Optimization of micropropagation and establishment of cell suspension culture in *Melissa officinalis* L. *African J Biotechnology*. 2010;9(28):4314-4321. doi: [10.5897/AJB10.208](https://doi.org/10.5897/AJB10.208)
13. Mohebalipour N, Aharizad S, Mohammadi SA, Motalibiazar AR, Arefi HM. Effect of plant growth regulators BAP and IAA on micropropagation of Iranian lemon balm (*Melissa officinalis* L.) landraces. *J Food, Agriculture & Environment*. 2012;10(1):280-286.
14. Goleniowski ME, Flamarique C, Bima P. Micropropagation of *Oregano* (*Origanum vulgare* x *apalii*) from meristem tips. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2003;39:125-128. doi: [10.1079/IVP2002361](https://doi.org/10.1079/IVP2002361)
15. Bracamonte MA, Bima P, Bongiovanni G, Golenowski M. Nutrition and micropropagation of *Origanum vulgare* x *apalii*. *Molecular Medicinal Chemistry*. 2006;11:6-7.
16. Nanova Zh, Slavova Y. Mass vegetative propagation of winter marjoram (*Origanum vulgare* ssp. *Hirtum* (Link) jetswaart). *Bulgarian J Agricultural Science, National Centre for Agrarian Sciences*. 2006;12:531-536.
17. Oluk EA, Cakir A. Micropropagation of *Origanum sipyleum* L., an endemic medicinal herb of Turkey. *African J Biotechnology*. 2009;8(21):5769-5772.
18. Özkum D. *In vitro* shoot regeneration of oregano (*Origanum minutiflorum* O. Schwarz & Davis). *Hacettepe J Biology and Chemistry*. 2007;35(2):97-100.
19. Shakeri SM, Kazemitabar SK, Sinaki JM. *In vitro* culture of *Melissa officinalis* without the use of hormones. *International J Agriculture and Crop Sciences*. 2013;6(20):1382-1387.
20. Meftahizade H, Moradkhani H, Naseri B, Lofti M, Naseri A. Improved *in vitro* culture and micropropagation of different *Melissa officinalis* L. genotypes. *J Medicinal Plants Research*. 2010;4(3):240-246.
21. Oana CT, Falticeanu M, Prisecaru M. Considerations regarding the effects of growth regulators over the *in vitro* morphogenetic reaction at *Origanum vulgare* L. *J Plant Development*. 2008;15:133-138.
22. El Beyrouthy M, Elian G, Abou Jaoudeh C, Chalak L. *In vitro* propagation of *Origanum syriacum* and *Origanum ehrenbergii*. *Acta Horticultural*. 2015;1083:169-172. doi: [10.17660/ActaHortic.2015.1083.19](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1083.19)
23. Fokina AV, Satarova TM, Smetanin VT, Kucenko NI. Optimization of microclonal propagation *in vitro* of oregano (*Origanum vulgare*). *Biosystems Diversity*. 2018;26(2):98-102. doi: [10.15421/011815](https://doi.org/10.15421/011815)
24. Sevindik B, İzgu T, Şimşek O, Tutuncu M, Curuk P, Yılmaz O, Kaynak G, Kacar YA, Silva JAT, Mendi YY. *In vitro* culture of Turkish *Origanum sipyleum* L. *American J Plant Biology. Special Issue: Plant Molecular Biology and Biotechnology*. 2017;2(5-1):32-36. doi: [10.11648/j.ajpb.s.2017020501.16](https://doi.org/10.11648/j.ajpb.s.2017020501.16)
25. Korkor AM, Mohamed SA, Abd El-kafie OM, Gohar AA. Adaptation of the *in vitro* culture of *Origanum majorana* L. for production of phenolic acids. *IOSR J Pharmacy and Biological Sciences*. 2017;12(2):30-38. doi: [10.9790/3008-1202013038](https://doi.org/10.9790/3008-1202013038)
26. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473-479.
27. Yakimova OV, Yegorova NA. Influence of nutrient medium composition, explant type and genotype on clonal micropropagation of *Melissa officinalis* L. *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Biologiya, khimiya = Scientific Notes of*

- V.I. Vernadsky Crimean Federal University. *Biology. Chemistry*. 2018;4(70)(1):158-167. In Russian, English Summary
28. Yakimova OV, Yegorova NA. The influence of the composition of the nutrient medium and genotype on clonal micropropagation of origanum *in vitro*. *Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Proceedings of the Kuban State Agrarian University*. 2015;55:304-309. In Russian, English Summary
 29. Liu M, Jiang F, Kong X, Tian J, Wu Z, Wu Zh. Effects of multiple factors on hyperhydricity of *Allium sativum* L. *Scientia Horticulturae*. 2017;217:285-296. doi: [10.1016/j.scienta.2017.02.010](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.010)
 30. Polivanova OB, Cherednichenko MJu. Ways of vitrification overcoming of *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze (Lamiaceae) in *in vitro* culture. *Izvestiya Timiryazevskoy Sel'skokhozyaystvennoy Akademii = Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2017;5:17-28. In Russian, English Summary. doi: [10.26897/0021-342X-2017-5-17-28](https://doi.org/10.26897/0021-342X-2017-5-17-28)
 31. Yegorova NA, Mitrofanova IV, Brailko VA, Grebennikova OA, Paliy AE, Stavtseva IV. Morphogenetic, physiological, and biochemical features of *Lavandula angustifolia* at long-term micropropagation *in vitro*. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2019;66(2):326-334. doi: [10.1134/S1021443719010060](https://doi.org/10.1134/S1021443719010060)
 32. Yegorova NA, Stavtseva IV, Mitrofanova IV. Influence of cultivar and cultivation factors *in vitro* on the essential oil rose clonal micropropagation. *Byulleten' Gosudarstvennogo Nikitskogo Botanicheskogo Sada = Bulletin of the State Nikita Botanical Garden*. 2016;120:36-43. In Russian
 33. Zagorskaya M, Yegorova N. Effect of prolonged cultivation on the micropropagation *in vitro* of mint cultivars and breeding samples. *BIO Web of Conferences*. 2018;11:e00049. doi: [10.1051/bioconf/20181100049](https://doi.org/10.1051/bioconf/20181100049)
 34. Yegorova NA, Stavtseva IV, Yakimova OV, Kamenek LI, Krivohatko AG. Some aspects of clonal micropropagation and conservation *in vitro* of essential oil plants. *Tavricheskiy Vestnik Agrarnoy Nauki = Taurida Herald of the Agrarian Sciences*. 2015;1(3):18-24. In Russian, English Summary

*Received 10 May 2019; Revised 16 August 2019;
Accepted 11 September 2019; Published 27 September 2019*

Yegorova Natalia A, Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Head of the Laboratory of Biotechnology, Department of Essential Oil and Medicinal Crops, Research Institute of Agriculture of Crimea, 150 Kievskaya Str., Simferopol 295493, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-5455-3044>

E-mail: yegorova.na@mail.ru

Yakimova Olga V, Researcher, Laboratory of Biotechnology, Department of Essential Oil and Medicinal Crops, Research Institute of Agriculture of Crimea, 150 Kievskaya Str., Simferopol 295493, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-1586-498X>

E-mail: olyayakimova@yandex.ru

БОТАНИКА

УДК 582.5:581.52

doi: 10.17223/19988591/47/3

Н.Ю. Егорова¹, В.Н. Сулейманова^{1, 2}

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства
и звероводства имени профессора Б.М. Житкова, г. Киров, Россия

² Вятская государственная сельскохозяйственная академия, г. Киров, Россия

Оценка состояния ценопопуляций *Cypripedium calceolus* L. на выходах известняковых пород по склонам долины реки Вятка

Приведена оценка состояния ценопопуляций *Cypripedium calceolus* L. (сем. *Orchidaceae* Juss.) на выходах известняковых пород по склонам долины р. Вятка по демографическим и морфологическим характеристикам. Установлено, что онтогенетическая структура ценопопуляций *C. calceolus* нормальная, неполноценная, правостороннего или бимодального типов. Отмечены незначительные колебания количественного соотношения разных онтогенетических состояний. Представлен анализ структуры изменчивости морфологических признаков. Описаны онтогенетические тактики и стратегии выживания вида в условиях рассматриваемого фрагмента ареала. По характеру проявления согласованности в организации морфологической структуры растений для вида выявлена стрессово-защитная онтогенетическая стратегия. Показаны результаты комплексной оценки состояния организменных и популяционных характеристик *C. calceolus*; установлено, что большинство исследуемых ценопопуляций находится в состоянии, «близком к угрожаемому», и нуждаются в сохранении местообитаний.

Ключевые слова: *Cypripedium calceolus* L.; *Orchidaceae*; ценопопуляция; виталитет; изменчивость морфологических признаков.

Введение

Одной из основных задач сохранения биоразнообразия является инвентаризация и мониторинг состояния популяций редких и нуждающихся в охране видов растений. На сегодняшний день многие представители семейства *Orchidaceae* находятся под угрозой исчезновения, что обуславливает необходимость выявления на национальном и международном уровнях наиболее значимых угроз их природным популяциям [1, 2]. В свою очередь определение причин уязвимости видов этого семейства невозможно без исследований демографических параметров популяций, репродуктивной биологии, онтогенеза, идентификации единиц сохранения и других аспектов [3].

Cypripedium calceolus L. (семейство *Orchidaceae*) – евразийский бореальный вид. В Кировской области известны более 50 местообитаний вида; охраняется на территории заповедника «Нургуш», а также в ряде памятников природы в южных регионах области, занесен в Красную книгу Кировской области (III категория) [4]. *C. calceolus* также включен в Красные книги 59 регионов Российской Федерации [5] и имеет международный статус охраны: III (VU); в IUCN Red List Category (Europe): NT; EU Wildlife Trade Regulation: A. Вид включен в Приложение II к Конвенции СИТЕС, Приложение I к Бернской конвенции и в Приложения II и IV к Директиве Европейского союза о местообитаниях [6].

Исследования популяционной биологии *C. calceolus* различной степени подробности приведены для некоторых фрагментов ареала вида: Южный Урал [7], Центральная Россия [8–10], Северо-Западный регион [11], Восточная и Западная Европа [12–17]. В Кировской области комплексное изучение состояния популяций этого вида ранее не выполнялось. Имеющиеся сведения о распространении *C. calceolus* не достаточны для организации постоянного мониторинга, и принятия эффективных мер по его сохранению и охране на территории области.

Цель данного исследования – изучить демографические и морфологические показатели и провести оценку состояния ценопопуляций *C. calceolus* на выходах известняковых пород по склонам долины р. Вятка.

Материалы и методики исследования

Исследования проведены в 2014 г. в 5 ценопопуляциях (ЦП) *C. calceolus* (табл. 1), расположенных в подзоне южной тайги Кировской области (Слободской район).

Таблица 1 [Table 1]

Местонахождения изученных ценопопуляций *Cypripedium calceolus*
[Locations of the studied *Cypripedium calceolus* coenopopulations]

№ ЦП [CP No]	Местонахождение [Location]	Географические координаты [Geographic coordinates]	Местообитание [Habitat]
CP 1	Окр. п. Первомайский, верхняя часть крутого склона южной экспозиции коренного берега р. Вятка [Vicinity of Pervomaisky village, the upper part of the steep slope of the southern exposure on the Vyatka river bedrock valley]	58°41'267 N 050°10'110 E	Ельник разнотравный [Spruce herb forest]
CP 2	Окр. д. Успенское, верхняя часть крутого склона юго-западной экспозиции коренного берега р. Вятка [Vicinity of Uspenskoye village, the upper part of the steep slope of the southwestern exposure on the Vyatka river bedrock valley]	58°40'808 N 050°09'884 E	Ельник травяной [Spruce herb forest]

Окончание табл. 1 [Table 1 (end)]

№ ЦП [CP No]	Местонахождение [Location]	Географические координаты [Geographic coordinates]	Местообитание [Habitat]
CP 3	Окр. д. Успенское, средняя часть пологого холма восточной экспозиции коренного берега р. Вятка [Vicinity of Uspenskoye village, the middle part of a gentle hill of the eastern exposure on the Vyatka river bedrock valley]	58°41'128 N 050°11'094 E	Сосняк травяной [Pine herb forest]
CP 4	Окр. д. Бакули, крутой склон юго-восточной экспозиции (около 30%) коренного берега р. Вятка [Vicinity of Bakuli village, a steep slope of the southeast exposure (about 30%) on the Vyatka river bedrock valley]	58°41'201 N 050°11'425 E	Ельник с примесью пихты и сосны травяной [Spruce herb forest mixed with fir and pine]
CP 5	Окр. д. Бакули, крутые склоны, (1–7 м) техногенного характера коренного берега р. Вятка [Vicinity of Bakuli village, steep slopes (1–7 m) of technogenic character on the Vyatka river bedrock valley]	58°41'269 N 050°11'183 E	Зарастающие сосной, елью, осиной и разнотравьем отвалы старого отработанного известкового карьера [Dumps of an old depleted limestone quarry overgrown with pine, spruce, aspen and herbs]

При изучении ЦП использовали общепринятые методики [18–21]. Для анализа онтогенетической структуры применяли следующие характеристики: индекс возрастности (Δ), индекс эффективности (ω), классификация «дельта-омега» [22–24].

На каждой учетной площади определяли следующие морфометрические параметры генеративных особей: высоту побега, число цветков, число листьев, длину, ширину и число жилок 1-го листа (в основании побега) срединной формации. В цветке измеряли длину и ширину (по наиболее широкой части) губы и длину лопасти губы. Анализ структуры изменчивости признаков выполнен в соответствии с рекомендациями Н.С. Ростовской [25]. По особенностям соотношения общей и согласованной изменчивости выделяют 4 группы признаков. Эколого-биологические индикаторы адаптивной изменчивости организмов – признаки, отражающие согласованную изменчивость особей в неоднородной среде. Это сильно варьирующие признаки с высоким уровнем детерминированности. Биологические индикаторы – «ключевые» признаки или показатели, изменения которых определяют общее состояние системы. Эти признаки характеризуются высокой согласованной изменчивостью при низкой общей изменчивости признаков. Гено-типические или таксономические индикаторы, признаки с низкой общей и согласованной изменчивостью. Экологические индикаторы – это признаки,

изменчивость которых определяется преимущественно влиянием внешних факторов и изменения которых слабо согласованы с общей системой организма. Эти признаки характеризуются высокой общей изменчивостью и низкой согласованной изменчивостью признаков.

Оценка виталитетного типа ЦП проведена с использованием критерия Q [26] путем усреднения нормированных значений всех оцениваемых признаков растений по средним для всей выборки особей. Результаты ранжировались по трем классам: (а) – высокий виталитет, (b) – средний, (с) – низкий. Далее Ю.А. Злобин предлагает выделять три типа ЦП, соответствующих следующим условиям: $Q=1/2 (a+b) > c$ – процветающие; $Q=1/2 (a+b) = c$ – равновесные; $Q=1/2 (a+b) < c$ – депрессивные [26].

При оценке типов онтогенетических тактик и стратегий использовали методические разработки Ю.А. Злобина [26–27] с дополнениями А.Р. Ишбирдина с соавт. [28–30]. Для координации ценопопуляций по градиенту комплексного фактора благоприятности условий использовали индекс виталитета ценопопуляций (IVC), т.е. коэффициент жизнестойкости, с использованием выравнивания средних значений параметров по ценопопуляциям, методом взвешивания [28–30]. Наибольшее значение коэффициента соответствует наилучшим условиям произрастания, наименьшее – наихудшим.

Статистическая обработка данных выполнена в соответствии с общепринятыми методами и подходами. Для определения статистической значимости различий использовали t -критерий Стьюдента ($p \leq 0,05$).

Оценку состояния и природоохранной значимости ценопопуляций редких видов определяли по интегрированному показателю (SC) организменных и популяционных характеристик вида [31]. Интегрированный показатель определяли по среднему показателю для всех оцениваемых параметров и оценивали по трехбалльной системе для видов низкого риска (II и III категории редкости по МСОП): 1,00–1,67 – «вызывающая меньше всего беспокойства»; 1,68–2,34 – «находящаяся в состоянии, близком к угрожаемому»; 2,35–3,00 – «зависящая от сохранения».

При оценке уровня антропогенной нагрузки (слабый, средний, сильный) оперировали относительными (сопоставительными) экспертными оценками, позволяющими ранжировать по этим показателям изученные ЦП вида.

Результаты исследования и обсуждение

Склоновые участки коренного берега р. Вятка характеризуются произрастанием на дерново-карбонатных почвах разнообразных растительных сообществ. Исследованные ЦП *C. calceolus* входят в состав лесных фитоценозов (еловых с примесью пихты и сосновых травяного типа) верхней и средней части коренных склонов преимущественно южной экспозиции, а также вид отмечен в условиях техногенной среды по зарастающим отвалам отработанного известкового карьера [32]. Локализация и краткая характери-

стика изученных ЦП *C. calceolus* представлена в табл. 1. Ниже приводятся результаты определения популяционно-онтогенетических особенностей и адаптивных возможностей этого вида в различных эколого-ценотических условиях.

Вследствие особенностей своей жизненной формы *C. calceolus* формирует ЦП, представленные небольшими рассеянными компактными куртинами. Исследованные ЦП насчитывают от 100 (ЦП 3) и почти до 300 особей (ЦП 4). Численность особей в ЦП 1 равна 130 особям, ЦП 2 – 112 ос., ЦП 5 – 154 особям. Средняя плотность на единицу площади варьирует от 5,3 до 27,8 ос./кв. м (табл. 2). Онтогенетические спектры изученных ЦП – неполночленные, одновершинные с максимумом на генеративных растениях (рис. 1), что характерно для корневищных видов со сложным онтогенезом и неглубоким омоложением [33]. Доля генеративных особей варьирует от 47 до 72%.

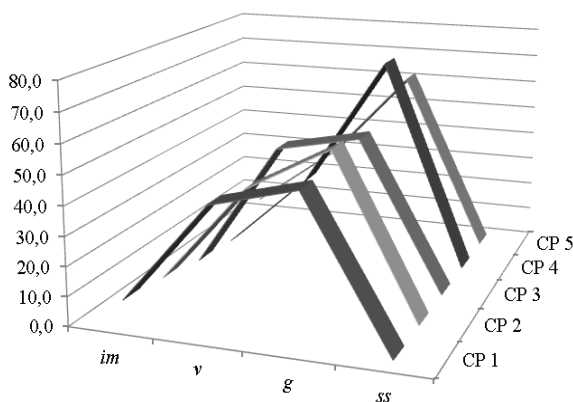


Рис. 1. Онтогенетические спектры ценопопуляций *Cypripedium calceolus* L. По оси x – онтогенетическое состояние: *im* – имматурное; *v* – виргинильное; *g* – генеративное; *ss* – субсенильное; по оси y – доля особей данного онтогенетического состояния, %, по оси z – номера ценопопуляций (1–5)

[Fig. 1. Ontogenetic spectra of *Cypripedium calceolus* L. coenopopulations. On the X axis - Ontogenetic state: *im* - immature, *v* - virgin, *g* - generative, *ss* - subsenile; on the Y axis - Part of individuals of this ontogenetic state, %; on the Z axis - Number of coenopopulations (1-5)]

В прегенеративной группе доминируют виргинильные особи: доля их участия составляет от 26 до 46%. На растения имматурного онтогенетического состояния приходится от 0,34 до 8,44%. Проростки и ювенильные растения семенного происхождения не были зафиксированы. Это свидетельствует о том, что поддержание численности в исследуемых ЦП осуществляется преимущественно вегетативным способом. Отсутствие семенного возобновления связано, вероятнее всего, с эколого-фитоценотическими особенностями мест произрастания *C. calceolus*. Так, все изученные местообитания характеризуются среднесомкнутым древостоем (0,5), весьма густым травяно-кустарничковым покровом (около 60%), а также невыраженным или фрагмен-

тарным мохово-лишайниковым ярусом, тогда как для успешного семенного возобновления, по мнению Т. Kull [34], наиболее важны хорошая освещенность и увлажненность местообитания (за счет мохового покрова).

Распределение ЦП исследуемого вида согласно классификации «дельта-омега» представлено на рис. 2. На основе соотношения значений индексов возрастности (Δ) и эффективности (ω) все исследуемые ЦП *C. calceolus*, за исключением ЦП 4, относятся к зреющим. ЦП 4 характеризуется как зрелая. Отличительной особенностью данной ЦП является высокая доля особей генеративной группы (72%). Следует также отметить, что ЦП 5 находится в пограничной зоне между зреющим и переходным типом.

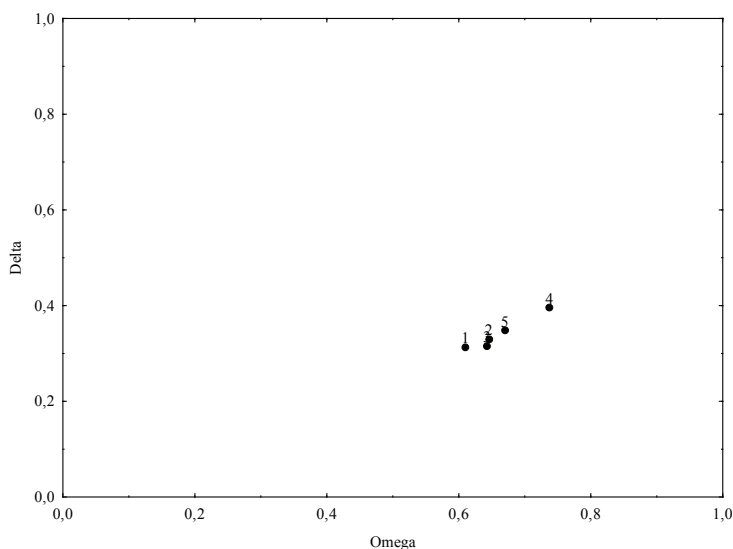


Рис. 2. Распределение ценопопуляций *Cypripedium calceolus* по классификации Л.А. Животовского (2001): по оси x – индекс эффективности (ω), по оси y – индекс возрастности (Δ)

[Fig. 2. The distribution of *Cypripedium calceolus* coenopopulations according to LA Zhitovskiy's classification (2001): on the X axis - Efficiency index (ω), on the Y axis - Age index (Δ)

Величина индекса возрастности (Δ) варьирует от 0,31 до 0,40. Индекс эффективности (ω) имеет достаточно высокие значения (0,61–0,74), что свидетельствует об устойчивом состоянии рассматриваемых ценопопуляций.

Особенности изменчивости морфологических признаков исследуемого вида представлены в немногочисленных исследованиях [7, 35]. В условиях рассматриваемого фрагмента ареала высота генеративных побегов *C. calceolus* достаточно сильно колеблется от 12,40 до 52,90 см (в среднем составляет $32,55 \pm 0,83$ см). Число листьев – относительно стабильная величина и изменяется в пределах от 4 до 6, за исключением 4 ЦП, где данный признак может достигать 7. Длина и ширина листа значительно варьируют от 5,50 до 19,80 см (в среднем – $12,52 \pm 0,23$ см) и от 2,90 до 10,50 см (в среднем

6,41±0,14 см) соответственно. При увеличении длины листа наблюдается и увеличение его ширины ($r = 0,76$).

Наиболее часто в исследуемых ЦП встречаются одно- и двухцветковые генеративные побеги. Исключением стала 4 ЦП, в которой зафиксированы побеги с 3 цветками. Длина и ширина губы изменяются от 17,5 до 43,0 и от 11,10 до 30,40 мм соответственно. В среднем длина губы составляет 31,53±0,32 мм, ширина – 20,69±0,27 мм. Длина лопасти губы является достаточно стабильным признаком (среднее значение – 16,12±0,20 мм).

На рис. 3 представлена структура изменчивости морфологических признаков *C. calceolus*. Коэффициент вариации исследуемых признаков *C. calceolus* изменяется от 11,69 до 36,07%, коэффициент детерминации колеблется от 0,08 до 0,31.

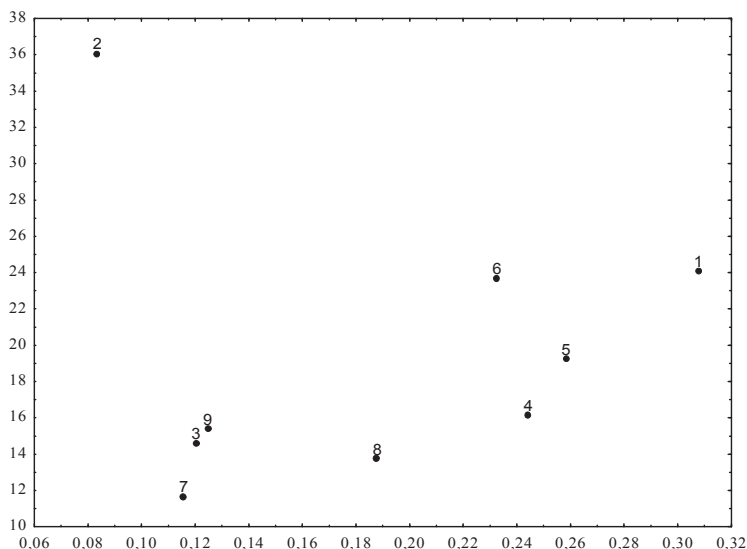


Рис. 3. Структура изменчивости морфологических признаков

Cypripedium calceolus в исследованных ценопопуляциях: по оси ординат – коэффициент вариации признака (CV), по оси абсцисс – коэффициент детерминации (r^2_{ch}):

1 – высота побега, см; 2 – число цветков, шт.; 3 – число листьев, шт.; 4 – длина листа, см; 5 – ширина листа, см; 6 – число жилок листа, шт.; 7 – длина губы, мм; 8 – ширина губы, мм; 9 – длина лопасти губы, мм

[Fig. 3. The structure of variability of *Cypripedium calceolus* morphological signs in the investigated coenopopulations: on the Y axis - Coefficient of variation (CV),

on the X axis - Coefficient of determination (r^2_{ch}): 1 - Plant height, cm; 2 - Number of flowers, pcs.; 3 - Number of leaves, pcs.; 4 - Length of the leaf, cm; 5 - Width of the leaf, cm; 6 - Number of leaf veins, pcs.; 7 - Length of the lip, mm; 8 - Width of the lip, mm; 9 - Length of the blade lip, mm]

Среди морфологических признаков *C. calceolus* эколого-биологическим индикатором адаптивной изменчивости организма является такой признак, как высота побега. Этот признак отличается высоким показателем коэффи-

циента вариации (24,08%) и коэффициента детерминации (0,31). Он наиболее изменчив и зависит от внешних факторов.

Биологическими индикаторами выступают признаки листа: длина, ширина и число жилок. Они характеризуются самыми высокими среди изученных признаков показателями коэффициента детерминации (0,23–0,26) и относительно низкими значениями коэффициента вариации (16,16–23,65%).

К генетическим индикаторам отнесены такие признаки, как число листьев и параметры цветка (длина, ширина губы и длина лопасти губы). В качестве экологического индикатора дифференцирован такой признак, как число цветков. Он наиболее изменчив и характеризуется высоким коэффициентом вариации (36,07%) при низком значении коэффициента детерминации (0,08).

Характеристики жизненности и виталитетного типа ЦП *C. calceolus* приведены в табл. 2. На градиенте ухудшения условий обитания, который выстраивали по уменьшению IVC, получен следующий ряд ЦП: 4 (1,14) → 3 (1,02) → 2 (1,01) → 1 (1,0) → 5 (0,83).

Таблица 2 [Table 2]

Характеристика виталитетной структуры ценопопуляции *Cypripedium calceolus* L.
[Characteristics of the vitality structure of *Cypripedium calceolus* L. coenopopulations]

№ ЦП [CP No]	Доля особей по классам виталитета [The proportion of individuals according to the class of vitality], %			Индекс каче- ства ЦП Q [The index of coenopopula- tion quality Q]	Индекс виталитета ЦП IVC [The index of coenopopula- tion vital- ity IVC]	Виталитет- ный тип це- нопопуляции [Vitality type of coeno- population]
	Крупные, a [Large, a]	Средние, b [Average, b]	Мелкие, c [Small, c]			
CP 1	20,59	67,65	11,76	18,5	1,00	Процве- тающая [Prospering]
CP 2	30,95	47,62	21,43	23,0	1,01	«
CP 3	28,57	57,14	14,29	20,0	1,02	«
CP 4	60,98	14,63	24,39	28,0	1,14	«
CP 5	0,0	75,61	24,39	15,5	0,83	Депрессивная [Depressive]

Оценка жизненности ЦП *C. calceolus* по индексу виталитета ценопопуляций показала, что в наиболее благоприятных условиях находится ЦП 4. Для данной ЦП установлены максимальные значения показателей виталитета (IVC = 1,14) и качества (Q = 28,0), а также наибольшее число особей с высоким виталитетом – 60,98%. Наименее благоприятные условия характеризуют ЦП 5, показатели виталитета (IVC = 0,83) и качества (Q = 15,5) здесь, напротив, минимальные.

При оценке виталитетного типа ЦП с использованием критерия Q выявлено, что почти все изученные ЦП *C. calceolus* характеризуются как про-

цветающие. Исключением стала ЦП 5, которая относится к депрессивному типу. Отличительной особенностью этой ЦП является отсутствие особей высокого виталитета (доля а) при высокой доле участия особей среднего (доля б – до 75,61%) и низкого (доля с – 24,39%) уровней виталитета.

Среди всех процветающих ЦП *C. calceolus* в наилучшем положении находится ЦП 4, с самыми высокими показателями виталитета (1,14) и Q (28); наихудшие условия складываются в ЦП 1, где показатели виталитета (1,0) и Q (18,5) более низкие.

Наиболее представлены в рассматриваемых ЦП особи со средней жизненностью – от 47,62 до 75,61% (в среднем – 52,53%). Исключением является 4 ЦП, в которой эти особи составляют 14,63% от общего числа особей. На особи с высокой жизненностью приходится от 20,59 до 60,98%. В 5 ЦП они отсутствуют. Доля участия особей с низкой жизненностью варьирует от 11,76 до 24,39%.

Исследуемый вид обладает узким набором онтогенетических тактик. Свойственными типами онтогенетических тактик являются конвергентная, дивергентная и дивергентно-конвергентная.

Анализ вариабельности морфологических признаков *C. calceolus* показал, что в основном признаки проявляют конвергентную или дивергентную тактику, т.е. в неблагоприятных условиях роста признаки всегда имеют относительно высокую или низкую изменчивость. Конвергентная тактика проявляется в уменьшении изменчивости признака при усилении стресса и выявлена для параметров цветка, таких как число цветков (рис. 4), длина, ширина губы, длина лопасти губы. Максимальная степень изменчивости числа цветков ($CV = 40,89\%$) достигается в наилучших условиях обитания ($IVC = 1,14$), при ухудшении условий среды ($IVC = 0,83$) изменчивость признака падает ($CV = 35,59\%$).

Дивергентная онтогенетическая тактика характеризует изменчивость следующих признаков: число листьев, длина и ширина листа, длина побега (рис. 5). При ухудшении условий роста изменчивость признака возрастает. Наибольшая вариабельность длины побега ($CV = 32,09\%$) отмечена при нарастании стресса ($IVC = 0,83$), при благоприятных условиях среды ($IVC = 1,14$) вариабельность признака уменьшается ($CV = 14,09\%$).

Дивергентно-конвергентная тактика установлена для изменчивости числа жилок листа (рис. 6). При этом изменчивость признака при ухудшении условий обитания сначала повышается, а затем понижается.

Онтогенетическая стратегия *C. calceolus* соответствует смешанному типу с чередованием стрессовой и защитной составляющих. Первоначально при ухудшении условий роста до умеренного уровня происходит снижение морфологической целостности, что отражается в понижении значений коэффициента детерминации до 0,13% (рис. 7). Дальнейшее усиление стресса включает защитные механизмы регуляции взаимообусловленности развития морфологических структур, компенсирующие неблагоприятные экологиче-

ские и ценогические воздействия [36], что находит отражение в повышении индекса морфологической интеграции до 0,21. Сходный тип онтогенетической стратегии отмечают у *C. calceolus* М.М. Ишмуратова и А.Р. Ишбирдин [7] в условиях Южного Урала.

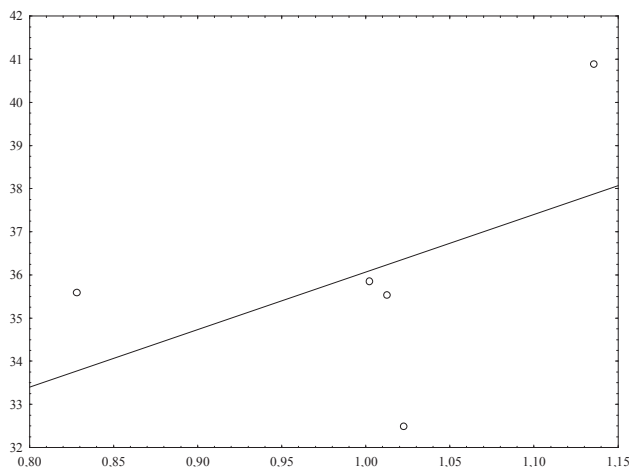


Рис. 4. Изменчивость числа цветков *Cypripedium calceolus* на градиенте ухудшения условий обитания: по оси ординат – коэффициент вариации (CV, %), по оси абсцисс – индекс виталитета по размерному спектру (IVC)

[Fig. 4. The variability of the number of *Cypripedium calceolus* flowers on the gradient of deterioration of habitat conditions: on the Y axis - Coefficient of variation (CV), on the X axis - Index of coenopopulation vitality (IVC)]

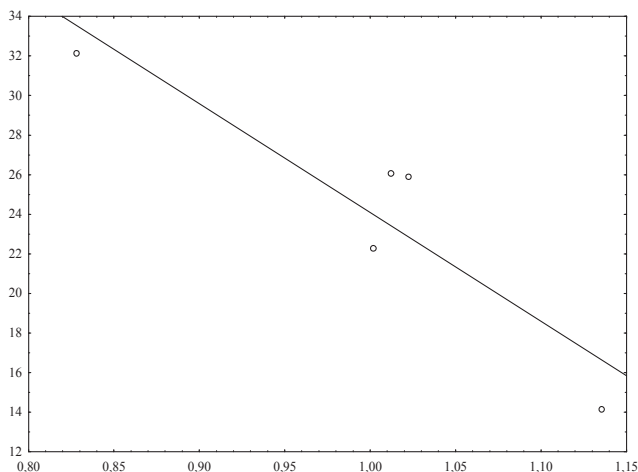


Рис. 5. Изменчивость длины генеративного побега *Cypripedium calceolus* на градиенте ухудшения условий обитания: по оси ординат – коэффициент вариации (CV, %), по оси абсцисс – индекс виталитета по размерному спектру (IVC)

[Fig. 5. The variability of the plant height of *Cypripedium calceolus* on the gradient of deterioration of habitat conditions: on the Y axis - Coefficient of variation (CV), on the X axis - Index of coenopopulation vitality (IVC)]

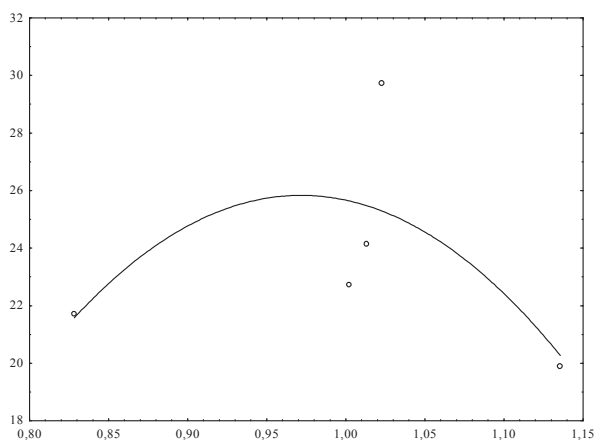


Рис. 6. Изменчивость числа жилок листа *Cypripedium calceolus* на градиенте ухудшения условий обитания: по оси ординат – коэффициент вариации (CV, %), по оси абсцисс – индекс виталитета по размерному спектру (IVC)
 [Fig. 6. The variability of the number of leaf veins of *Cypripedium calceolus* on the gradient of deterioration of habitat conditions: on the Y axis - Coefficient of variation (CV), on the X axis - Index of coenopopulation vitality (IVC)]

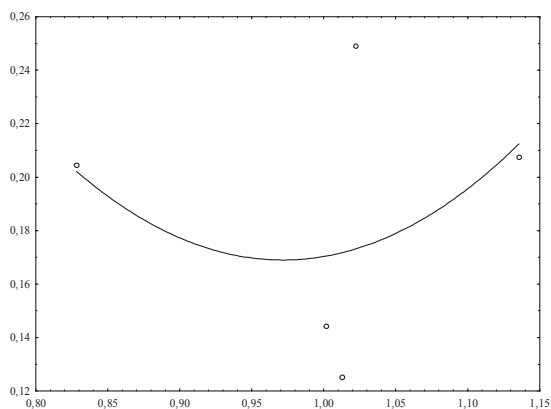


Рис. 7. Тренд онтогенетической стратегии ценопопуляций *Cypripedium calceolus*: по оси ординат – морфологическая целостность (коэффициент детерминации признаков, R^2_{ch}), по оси абсцисс – индекс виталитета ценопопуляции (IVC)
 [Fig. 7. Trend of ontogenetic strategy of coenopopulations of *Cypripedium calceolus*: on the X axis - Index of coenopopulation vitality (IVC), on the Y axis - Coefficient of determination signs (r^2_{ch})]

Диапазон среднего значения интегрированного показателя (SC) состояния рассматриваемых ЦП *C. calceolus* находится в пределах от 1,6 до 2,4 (табл. 3).

Наименее благоприятным состоянием характеризуется ЦП 1 (средний балл SC = 2,4), для которой характерна самая низкая доля генеративных особей.

Таблица 3 [Table 3]

Показатели природоохранной значимости и состояние изученных ценопопуляций
Cypripedium calceolus
[Indicators of environmental significance and status of the studied populations
of *Cypripedium calceolus*]

№ ЦП [CP No]	IVC (A)	R^2_{ch} (B)	Доля генеративных особей (C) [Proportion of generative individuals], %	Плотность (D) [The coenopopulation density, ind./m ²]	Уровень антропогенной нагрузки (E) [Level of anthropogenic load]	Параметры оценки состояния [Parameters of status assessment]					Средний балл SC [The average score SC]
						A	B	C	D	E	
CP 1	1,00	0,14	47,69	16,3	Средний [Average]	2	3	3	2	2	2,4
CP 2	1,01	0,13	54,46	5,3	«	2	3	3	1	2	2,2
CP 3	1,02	0,25	52,00	25,0	«	2	1	3	1	2	1,8
CP 4	1,14	0,21	72,70	18,3	«	1	2	1	2	2	1,6
CP 5	0,83	0,20	61,69	27,8	«	3	2	2	1	2	2

Примечание. А – индекс виталитета ценопопуляций (IVC), В – выраженность защитной стратегии, С – доля генеративных особей, %, D – плотность, ос./м², E – уровень антропогенной нагрузки, SC – интегрированный показатель состояния ценопопуляций.

[Note. A - Index of coenopopulation vitality (IVC), B - Severity of the protective strategy (R^2_{ch}), C - Proportion of generative individuals, %, D - Coenopopulation density, ind./m², E - Level of anthropogenic load, SC - Integrated indicator of the state of coenopopulations]

Данная ЦП относится к категории «зависящих от сохранения» и в большей степени нуждается в ведении определенных мер для ее сохранения. Остальные ЦП (2–5) находятся в состоянии, «близком к угрожаемому». Наиболее критическим состоянием среди ЦП этой группы характеризуется ЦП 2, угрозу которой несет ее малочисленность. Наименьшее беспокойство вызывают ЦП 3 и 4 (средний балл SC составляет 1,8 и 1,6 соответственно). Удовлетворительное состояние этих ЦП обусловлено высоким уровнем жизненности, плотности и генеративности.

Выводы

1. Онтогенетическая структура ценопопуляций *C. calceolus* нормальная, неполночленная, с преобладанием особей генеративной группы. По классификации «дельта-омега» исследуемые ЦП отличаются небольшим разнообразием: большинство характеризуются как зреющие, а ЦП 4 является зрелой.

2. Для целей ускоренной экспресс-оценки состояния ценопопуляций *C. calceolus* могут быть использованы выделенные биологические индикаторы – признаки листа (длина, ширина, число жилок). При выявлении и оценке воздействия средовых факторов (эколого-ценотические условия) на

состояние особей и ценопопуляций в большей степени значимы экологические (число цветков) и эколого-биологические признаки (высота побега). Наиболее полная оценка состояния ценопопуляций при организации длительного мониторинга может быть получена при использовании всех трех групп индикаторов.

3. Наиболее благоприятные условия для *C. calceolus* складываются в условиях ельника с примесью пихты и сосны травяного (ЦП 4). В наименее благоприятных условиях произрастают растения на техногенно нарушенном субстрате старого отработанного известкового карьера, зарастающего сосной, елью, осиной и разнотравьем (ЦП 5).

4. Исследуемый вид обладает узким набором онтогенетических тактик: конвергентная, дивергентная и дивергентно-конвергентная.

5. По характеру проявления согласованности в организации морфологической структуры растений для вида установлена стрессово-защитная онтогенетическая стратегия. Подобный тип онтогенетической стратегии соответствует SR типу рудерально-стресс-толерантной эколого-ценотической стратегии.

6. Большинство исследуемых ЦП находится в состоянии, «близком к угрожаемому», ЦП 1 зависит от сохранения.

Литература

1. Fay M.F. Orchid conservation: how can we meet the challenges in the twenty-first century? // Bot. Stud. 2018. Vol. 59, № 1. E16. doi.org/10.1186/s40529-018-0232-z
2. Wraith J., Pickering C. A continental scale analysis of threats to orchids // Biological Conservation. 2019. Vol. 234. PP. 7–17. doi.org/10.1016/j.biocon.2019.03.015
3. Ефимов П.Г. Сохранение Орхидных (Orchidaceae Juss.) как одна из задач охраны биоразнообразия // Биосфера. 2010. Т. 2, № 1. С. 50–58.
4. Красная книга Кировской области: Животные, растения, грибы. 2-е изд. / под ред. О.Г. Барановой, Е.П. Лачохи, В.М. Рябова, В.Н. Сотникова, Е.М. Тарасовой, Л.Г. Целищевой. Киров : Кировская областная типография, 2014. 336 с.
5. Вахрамеева М.Г., Варлыгина Т.И., Татаренко И.В. Орхидные России (биология, экология и охрана). М. : Тов. науч. изд. КМК, 2014. 437 с.
6. Rankou H., Bilz M. *Cypripedium calceolus*, Lady's Slipper Orchid. The IUCN Red List of Threatened Species 2014. doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T162021A43316125
7. Ишмуратова М.М., Суюндуков И.В., Ишбирдин А.Р., Жирнова Т.В., Набиуллин М.И. Состояние ценопопуляций некоторых видов сем. Orchidaceae на Южном Урале. Сообщение 2: Корневищные виды // Растительные ресурсы. 2003. Т. 39, вып. 2. С. 18–37.
8. Марков М.В., Тихомирова Е.Д. Оценка состояния популяции редкой уязвимой орхидеи башмачка настоящего в Старицком районе Тверской области // Вестник Тверского государственного университета. Сер. «География и геоэкология». 2016. № 2. С. 176–192.
9. Kharugin A.A., Chugunov G.G., Vargot E.V. *Cypripedium calceolus* (Orchidaceae) in central Russia: a case study for its populations in two protected areas in the Republic of Mordovia (Russia) // Lankesteriana. 2017. Vol. 17 (3). PP. 417–431. doi: 10.15517/lanke.v17i3.31577
10. Татаренко И.В. Орхидные России: жизненные формы, биология, вопросы охраны. М. : Аргус, 1996. 207 с.

11. Пучнина Л.В. Состояние популяций *Calypso bulbosa* и *Cypripedium calceolus* (Orchidaceae) в Пинежском заповеднике // Nature Conservation Research. Заповедная наука. 2017. 2 (Suppl. 1). С. 125–150. doi: 10.24189/ncr.2017.023
12. Kull T. *Cypripedium calceolus* L. // Journal of Ecology. Biological flora of the British Isles. 1999. № 87. PP. 913–924. doi: 10.1046/j.1365-2745.1999.00407.x
13. Nicole F., Brzosko E., Till-Bottraud I. Population viability analysis of *Cypripedium calceolus* in a protected area: Longevity, stability and persistence // Journal of Ecology. 2005. № 93. PP. 716–726. doi: 10.1111/j.1365-2745.2005.01010.x
14. Hein Ch., Meysel F. Verbreitung, Ökologie, Gefährdung und Management des Frauenschuh (*Cypripedium calceolus* L., Orchidaceae) in Sachsen-Anhalt // Ber. Arbeitskrs. Heim. Orchid. 2010. № 27 (1). PP. 6–50.
15. Korczynski M., Krasicka-Korczynski E. Dynamics of Lady's slipper orchid (*Cypripedium calceolus* L.) population at Lake Kwiecko (West Pomerania) // Biodiv. Res. Conserv. 2014. № 36. PP. 53–60. doi: 10.2478/biorc-2014-0026
16. Czerepko J., Gawrys R., Ciesla A., Sokołowski K. Environment conditions influence on protection status of lady's slipper orchid *Cypripedium calceolus* L. in managed forests // Sylwan. 2014. № 58 (11). PP. 867–874.
17. Gajewski Z., Marcisz D. Evaluation of the present condition of the *Cypripedium calceolus* (Orchidaceae) population in the Ojców National Park // Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica. 2014. № 21 (1). PP. 3–14.
18. Ценопопуляции растений: основные понятия и структура / Л.И. Воронцова, Л.Е. Гатцук, В.Н. Егорова и др.; под ред. А.А. Уранова, Т.И. Серебряковой. М. : Наука, 1976. 215 с.
19. Ценопопуляции растений: развитие и взаимоотношения / А.Г. Богданова, Н.М. Григорьева, В.Н. Егорова и др.; под ред. Т.И. Серебряковой. М. : Наука, 1977. 131 с.
20. Ценопопуляции растений: очерки популяционной биологии / Л.Б. Заугольнова, Л.А. Жукова, А.С. Комаров и др.; под ред. Т.И. Серебряковой, Т.Г. Соколовой. М. : Наука, 1988. 184 с.
21. Заугольнова Л.Б., Денисова Л.В., Никитина С.В. Подходы к оценке состояния ценопопуляций растений // Бюллетень МОИП. Отделение биологии. 1993. Т. 98, № 5. С. 100–108.
22. Жукова Л.А. Популяционная жизнь луговых растений. Йошкар-Ола : Ланар, 1995. 224 с.
23. Животовский Л.А. Онтогенетические состояния, эффективная плотность и классификация популяций растений // Экология. 2001. № 1. С. 3–7. doi: 10.1023/A:1009536128912
24. Уранов А.А. Возрастной спектр фитоценопопуляции как функция времени и энергетических волновых процессов // Научн. доклады высш. шк. Биологические науки. 1975. № 2. С. 7–33.
25. Ростова Н.С. Корреляции: структура и изменчивость. СПб. : Изд-во СПб. ун-та, 2002. 308 с.
26. Злобин Ю.А. Принципы и методы изучения ценологических популяций растений. Казань : Изд-во Казан. ун-та, 1989. 146 с.
27. Злобин Ю.А. Популяционная экология растений: современное состояние, точки роста. Сумы : Университетская книга, 2009. 263 с.
28. Ишбирдин А.Р., Ишмуратова М.М. Адаптивный морфогенез и эколого-ценологические стратегии выживания травянистых растений // Методы популяционной биологии : материалы докладов VII Всероссийского популяционного семинара. Сыктывкар: Коми научный центр Уральского отделения РАН, 2004. Ч. 2. С. 113–120.
29. Ишбирдин А.Р., Ишмуратова М.М. К оценке виталитета ценопопуляций *Rhodiola iremelica* Boriss. по размерному спектру // Ученые записки НТГСПА: материалы

- VI Всероссийского популяционного семинара «Фундаментальные и прикладные проблемы популяционной биологии». Нижний Тагил, 2004. С. 80–85.
30. Ишбирдин А.Р., Ишмуратова М.М., Жирнова Т.В. Стратегии жизни ценопопуляции *Cephalanthera rubra* (L.) Rich. на территории Башкирского государственного заповедника // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Сер. «Биология». 2005. № 1. С. 85–98.
31. Ишбирдин А.Р., Ишмуратова М.М. К оценке состояния и природоохранной значимости ценопопуляций редких видов // Принципы и способы сохранения биоразнообразия видов. Йошкар-Ола : Изд-во Марийского гос. ун-та, 2004. С. 150–151.
32. Чиркова Н.Ю., Сулейманова В.Н., Егошина Т.Л., Лугинина Е.А. Эколого-фитоценоотическая и демографическая характеристика ценопопуляций *Cypripedium calceolus* L. в условиях южнотаежных лесов Кировской области // Вестник Тверского государственного университета. Сер. «Биология и экология». 2011. Вып. 24. № 32. С. 117–126.
33. Фардеева М.Б., Чижилова Н.А., Красильникова О.В. Многолетняя динамика онтогенетической и пространственной структуры ценопопуляций *Cypripedium calceolus* L. // Ученые записки Казанского университета. Сер. Естественные науки. 2010. Т. 152, кн. 3. С. 159–173.
34. Kull T. Fruit-set and recruitment in populations of *Cypripedium calceolus* L. in Estonia // Orchid population biology conservation and challenges / ed. by S. Wait. // Botanical J. of the Linnean Society. 1998. Vol. 126. PP. 27–38.
35. Блинова И.В. Особенности географической изменчивости ряда наземных европейских орхидных // Экология. 2012. Т. 34, № 2. С. 106–111
36. Ишмуратова М.М., Ишбирдин А.Р. Об онтогенетических аспектах экологоценоотических стратегий травянистых растений // Методы популяционной биологии: сб. материалов VII Всероссийского популяционного семинара (Сыктывкар, 16–21 февраля 2004 г.). Сыктывкар: Коми научный центр Уральского отделения РАН, 2004. Ч. 1. С. 98–99.

Поступила в редакцию 04.03.2019 г.; повторно 28.05.2019 г.;
принята 15.08.2019 г.; опубликована 27.09.2019 г.

Авторский коллектив:

Егорова Наталья Юрьевна – канд. биол. наук, с.н.с. отдела экологии и ресурсосведения растений, Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства имени профессора Б.М. Житкова (Россия, 610000, г. Киров, ул. Преображенская, д.79).

E-mail: n_chirkova@mail.ru

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-5891-4580>

Сулейманова Венера Нуриidinовна – канд. биол. наук, с.н.с. отдела экологии и ресурсосведения растений, Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства имени профессора Б.М. Житкова (Россия, 610000, г. Киров, ул. Преображенская, д.79); доцент кафедры экологии и зоологии, Вятский государственной сельскохозяйственной академии (Россия, 610017, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 133).

E-mail: venera_su@mail.ru

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0001-8401-1417>

For citation: Egorova NYu, Suleimanova VN. Estimation of *Cypripedium calceolus* L. coenopopulations on limestone deposits along the valley slopes of the Vyatka River. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = *Tomsk State University Journal of Biology*. 2019;47:40-58. doi: 10.17223/19988591/47/3 In Russian, English Summary

Natalya Yu. Egorova ¹, Venera N. Suleimanova ^{1,2}

¹ Prof. Zhitkov Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, Kirov, Russian Federation

² Vyatka State Agricultural Academy, Kirov, Russian Federation

Estimation of *Cypripedium calceolus* L. coenopopulations on limestone deposits along the valley slopes of the Vyatka River

A comprehensive research of rare and endangered species plays an important role in the conservation of biological diversity. *Cypripedium calceolus* L. (fam. Orchidaceae Juss.) is a rare species included in the Red Data Book of Kirov region. It needs biological control in its territory. The aim of this study was to investigate the ontogenetic structure and morphometric parameters, and to identify the vital structure of *C. calceolus* cenopopulations in Kirov region.

In 2014, we examined the state of five *C. calceolus* cenopopulations (CP) on limestone deposits along the Vyatka river valley slopes (southern taiga subzone, Kirov region, Russia) (See Table 1). To study the conditions of coenopopulations, we used approaches and methods of plant population biology (Uranov, 1975; Coenopopulations ..., 1976, 1977, 1988; Zaugol'nova et al. 1993; Zhukova, 1995). Ontogenetic spectra were typified according to the "delta-omega" classification (Zhivotovsky, 2001), determining age (Δ) and efficiency (ω) indices. In each habitat, we laid transects which were then divided into plots where individuals at different ontogenetic state were registered. The coenopopulation vitality structure was investigated using the method of calculating the IVC index (Ishbirdin and Ishmuratova, 2004) and the method of calculating the Q index (Zlobin, 1989, 2009). The variability and correlation structure of *C. calceolus* populations was studied according to classification of NS Rostova (2001). To study morphometric characteristics of plants we considered their height, the number of leaves and flowers, the size of the leaf (length and width), the number of leaf veins, the size of the lip (length and width), the length of the blade lip. We analyzed up to 30 generative individuals in each CP.

It was defined that ontogenetic structure of all 5 coenopopulations was normal, incomplete, right-side type with maximum on generative plants. The proportion of generative plants varies from 47 to 72%. Virginile individuals dominate in pregenerative group, 26 to 46%. Immature plants take 0.34 to 8.44% (See Fig. 1). Seedlings and juvenile plants of seed origin were not marked, which proves that population quantity of the studied CPs is promoted vegetatively. We marked insignificant fluctuations of quantitative proportions of different ontogenetic states. Based on the ratio of age index (Δ) and efficiency (ω), all studied *C. calceolus* coenopopulations, excluding CP4, are defined as ripening. CP4 is characterized as mature (See Fig. 2). Based on the analyses of morphological parameters of variability structure it was determined that the least variable parameters of *C. calceolus* are the number of leaves, the size of the lip (length and width), and the length of the blade lip; generative sprout height varies the most. The number of flowers can serve as an ecological indicator (See Fig. 3). Analyses of vitality structure allowed revealing that the most favorable conditions for *C. calceolus* form in spruce herbaceous forests with fir and pine (CP 4), where maximum vitality index (IVC=1.14) and quality parameter (Q=28.0) were marked, as well as the largest number of individuals with high vitality, up to 60.98% (See Table 2). The least favorable conditions form on an anthropogenically transformed substrate of an old limestone open-cut overgrowing with pine, spruce, aspen and mixed herbs (CP5), where IVC and Q reach minimum values of 0.83 and 15.5, correspondingly. CP vitality type estimated

by Q-criteria showed that almost all CPs are prosperous (excluding CP5, which is defined as depressed). The studied species has a narrow set of ontogenetic tactics: convergent, divergent, and divergent-convergent (See Fig. 4-6). The type of coherence in morphological structure of the plant revealed a stress-protective ontogenetic strategy (See Fig. 7). Complex estimation of organismic and populational characteristics of *C. calceolus* showed that most of the studied CPs are “Near Threatened” and need habitat protection measures (See Table 3). CP 1 depends on conservation.

The paper contains 7 Figures, 3 Tables and 36 References.

Key words: *Cypripedium calceolus* L.; Orchidaceae; coenopopulation; vitality; variability of morphological parameters.

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Fay MF. Orchid conservation: How can we meet the challenges in the twenty-first century? *Bot. Stud.* 2018;59(1):e16. doi: [10.1186/s40529-018-0232-z](https://doi.org/10.1186/s40529-018-0232-z)
2. Wraith J, Pickering C. A continental scale analysis of threats to orchids. *Biological Conservation.* 2019;234:7-17. doi: [10.1016/j.biocon.2019.03.015](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.03.015)
3. Efimov P.G. Sokhraneniye Orkhidnykh (Orchidaceae Juss.) kak odna iz zadach okhrany bioraznoobraziya [Conservation of Orchidaceae Juss. as one of the objectives of biodiversity protection]. *Biosfera.* 2010;2(1):50-58. In Russian
4. *Krasnaya kniga Kirovskoy oblasti: Zhivotnye, rasteniya, griby* [The Red List of Kirov region: Animals, plants and mushrooms]. 2nd ed. Baranova OG, Lachokha EP, Ryabov VM, Sotnikov VN, Tarasova EM, Tselishcheva LG, editors. Kirov: Kirovskaya oblastnaya tipografiya Publ.; 2014. 336 p. In Russian
5. Vakhrameeva MG, Varlygina TI, Tatarenko IV. Orkhidnye Rossii (biologiya, ekologiya i okhrana) [Orchids of Russia (Biology, ecology and protection)]. Moscow: KMK Publ. House; 2014. 437 p. In Russian
6. Rankou H, Bilz M. 2014. *Cypripedium calceolus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2014:e.T162021A43316125. doi: [10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T162021A43316125](https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T162021A43316125)
7. Ishmuratova MM, Suyundukov IV, Ishbirdin AR, Zhirnova TV, Nabiullin MI. Sostoyaniye tsenopopulyatsiy nekotorykh vidov sem. Orchidaceae na Yuzhnom Urale. Soobshcheniye 2. Kornevishchnye vidy [A state of coenopopulations of some species of the family Orchidaceae in the South Urals. Report 2. Rhizome species]. *Rastitel'nye resursy = Plant resources.* 2003;39(2):18-37. In Russian
8. Markov MV, Tikhomirova ED. Population analysis of the rare endangered orchid species *Cypripedium calceolus* in staritsa district of Tver region. *Vestnik Tverskogo gosudarstvennogo universiteta. Ser. Geografiya i geoekologiya.* 2016;2:176-192. In Russian
9. Khapugin AA, Chugunov GG, Vargot EV. *Cypripedium calceolus* (Orchidaceae) in central Russia: A case study for its populations in two protected areas in the Republic of Mordovia (Russia). *Lankesteriana.* 2017;17(3):417-431. doi: [10.15517/lank.v17i3.31577](https://doi.org/10.15517/lank.v17i3.31577)
10. Puchnina LV. Status of *Calypto bulbosa* and *Cypripedium calceolus* (Orchidaceae) populations in the Pinega State Nature Reserve. *Nature Conservation Research: Zapovednaâ Nauka.* 2017;2(Suppl.1):125-150. doi: [10.24189/ncr.2017.023](https://doi.org/10.24189/ncr.2017.023) In Russian, English Summary
11. Tatarenko IV. Orkhidnye Rossii: zhiznennyye formy, biologiya, voprosy ohrany [Orchids of Russia: Life forms, biology, strategy of preservation]. Moscow: Argus Publ.; 1996. 207 p. In Russian
12. Kull T. *Cypripedium calceolus* L. *J Ecology. Biological flora of the British Isles.* 1999;87:913-924. doi: [10.1046/j.1365-2745.1999.00407.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.1999.00407.x)
13. Nicole F, Brzosko E, Till-Bottraud I. Population viability analysis of *Cypripedium calceolus* in a protected area: Longevity, stability and persistence. *J Ecology.* 2005;93:716-726. doi: [10.1111/j.1365-2745.2005.01010.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2005.01010.x)

14. Hein Ch, Meysel F. Verbreitung, Ökologie, Gefährdung und Management des Frauenschuh (*Cypripedium calceolus* L., Orchidaceae) in Sachsen-Anhalt. *Ber. Arbeitskrs. Heim. Orchid.* 2010;27(1):6-50.
15. Korczynski M, Krasicka-Korczynski E. Dynamics of Lady's slipper orchid (*Cypripedium calceolus* L.) population at Lake Kwiecko (West Pomerania). *Biodiv. Res. Conserv.* 2014;36:53-60. doi: [10.2478/biocr-2014-0026](https://doi.org/10.2478/biocr-2014-0026)
16. Czerepko J, Gawrys R, Ciesla A, Sokołowski K. Environment conditions influence on protection status of lady's slipper orchid *Cypripedium calceolus* L. in managed forests. *Sylvan.* 2014;158(11):867-874.
17. Gajewski Z, Marcisz D. Evaluation of the present condition of the *Cypripedium calceolus* (Orchidaceae) population in the Ojców National Park. *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica.* 2014;21(1):3-14.
18. *Tsenopopulyatsii rasteniy (osnovnye ponyatiya i struktura)* [Plant coenopopulations: basic concepts and structure]. Uranov AA and Serebryakova TI, editors. Moscow: Nauka Publ.; 1976. 216 p. In Russian
19. *Tsenopopulyatsii rasteniy (razvitie i vzaimootnosheniya)* [Plant coenopopulations (Development and relationship)]. Serebryakova TI, editor. Moscow: Basic Nauka Publ.; 1977. 131 p. In Russian
20. *Tsenopopulyatsii rasteniy (oчерki populyatsionnoy biologii)* [Plant coenopopulations (studies about population biology)]. Serebryakova TI and Sokolova TG, editors. Moscow: Nauka Publ.; 1988. 184 p. In Russian
21. Zaugol'nova LB, Denisova LV, Nikitina SV. Podkhody k otsenke sostoyaniya tsenopopulyatsiy rasteniy [Approaches to assessing the state of plant coenopopulations]. *Bylleten' Moskovskogo Obshchestva Ispytateley Prirody. Otdel biologicheskii = Bulletin of Moscow Society of Naturalists. Biological series.* 1993;98(5):100-108. In Russian
22. Zhukova LA. Populyatsionnaya zhizn' lugovykh rasteniy [Population life of meadow plants]. Yoshkar-Ola: RIIN "Lanar" Publ.; 1995. 224 p. In Russian
23. Zhivotovskiy LA. Ontogenetic states, effective density, and classification of plant populations. *Russian Journal of Ecology.* 2001;32(1):1-5. doi: [10.1023/A:1009536128912](https://doi.org/10.1023/A:1009536128912)
24. Uranov AA. Vozrastnoy spektr fitotsenopopulyatsii kak funktsiya vremeni i energeticheskikh volnovykh protsessov [Age spectrum of phytocenopopulation as a function of time and energetic processes]. *Nauchnye doklady vysshey shkoly. Biologicheskije nauki.* 1975;2(134):7-33. In Russian
25. Rostova NS. Korrelyatsii: struktura i izmenchivost' [Correlations: Structure and variability]. St. Petersburg: St. Petersburg Univ. Publ.; 2002. 308 p.
26. Zlobin YuA. Printsipy i metody izucheniya tsenoticheskikh populyatsiy rasteniy: ucheb.-metod. posobie [Principles and methods of studying cenotic populations of plants: Study guide]. Kazan: Kazan State University Publ.; 1989. 146 p. In Russian
27. Zlobin YuA. Populyatsionnaya ekologiya rasteniy: sovremennoe sostoyanie, tochki rosta [Population ecology of plants: Current state and points of growth]. Sumy: Universitetskaya kniga Publ.; 2009. 263 p. In Russian
28. Ishbirdin AR, Ishmuratova MM. Adaptivnyy morfogenez i ekologo-tsenoticheskie strategii vyzhivaniya travyanistyykh rasteniy [Adaptive morphogenesis and ecological and cenotic life strategies of herbaceous plants]. In: *Metody populyatsionnoy biologii* [Methods of population biology. Proc. of the VII All-Russian Population Seminar (Syktyvkar, Russia, 16-21 February, 2004)]. Syktyvkar: Syktyvkar State University Publ.; 2004. Vol. 2. pp. 113-120. In Russian
29. Ishbirdin AR, Ishmuratova MM. K otsenke vitaliteta tsenopopulyatsiy *Rhodiola iremelica* Boriss. po razmernomu spektru [On assessing the vitality of *Rhodiola iremelica* Boriss. cenopopulations according to the size spectrum]. In: *Fundamental'nye i prikladnye problemy populyatsionnoy biologii. Uchenye zapiski nizhnetagil'skoy sotsial'no-*

- pedagogicheskoy akademii: materialy VI Vserossiyskogo populyatsionnogo seminar* [Fundamental and applied problems of population biology. Scientific notes of Nizhny Tagil social and pedagogical academy. Proc. of the VI All-Russian Population Seminar]. Nizhny Tagil: Nizhnetagil'skaya gosudarstvennaya sotsial'no-pedagogicheskaya akademiya Publ.; 2004. pp. 80-85. In Russian
30. Ishbirdin AR, Ishmuratova MM, Zhirnova TV. Strategii zhizni tsenopopulyatsii *Cephalanthera rubra* (L.) Rich. na territorii Bashkirskego gosudarstvennogo zapovednika [Strategies of life seedlings of *Cephalanthera rubra* (L.) Rich. on the territory of the Bashkir State nature reserve]. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta N. I. Lobachevsky. Ser. Biology*. 2005;1(9):85-98. In Russian
 31. Ishbirdin AR, Ishmuratova MM. K otsenke sostoyaniya i prirodookhrannoy znachimosti tsenopopulyatsiy redkikh vidov [On assessing the state and environmental significance of coenopopulations of rare species]. In: *Printsipy i sposoby sokhraneniya bioraznoobraziya vidov* [Principles and methods of species biodiversity conservation]. Yoshkar-Ola: Mar.gos. un-ta Publ.; 2004. pp. 150-151.
 32. Chirkova NYu, Suleimanova VN, Egoshina TL, Luginina EA. Ecological phytocenosis and demographic characteristics of *Cypripedium calceolus* (Orchidaceae) populations in conditions of southern taiga forests in Kirov region. *Herald of Tver State University. Series: Biology and Ecology*. 2011;24(32):117-126. In Russian
 33. Fardeeva MB, Chizhikova NA, Krasil'nikova OV. Mnogoletnyaya dinamika ontogeneticheskoy i prostranstvennoy struktury tsenopopulyatsiy *Cypripedium calceolus* L. [Long-Term Dynamics of Ontogenetic and Spatial Structure in *Cypripedium calceolus* L. cenopopulations]. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta. Estestvennye nauki*. 2010;152(3):159-173. In Russian
 34. Kull T. Fruit-set and recruitment in populations of *Cypripedium calceolus* L. in Estonia. *Botanical J of the Linnean Society*. 1998;126:27-38. doi: [10.1111/j.1095-8339.1998.tb02513.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1998.tb02513.x)
 35. Blinova IV. Intra- and interspecific morphological variation of some European terrestrial orchids along a latitudinal gradient. *Russian Journal of Ecology*. 2012;43(2):111-116. doi: [10.1134/S1067413612020051](https://doi.org/10.1134/S1067413612020051)
 36. Ishmuratova MM, Ishbirdin AR. Ob ontogeneticheskikh aspektakh ekologotsenoticheskikh strategiy travyanistyx rasteniy [Ontogenetic aspects of eco-cenotic strategies of herbaceous plants]. In: *Metody populyatsionnoy biologii* [Methods of population biology. Proc. of the VII All-Russian Population Seminar (Syktyvkar, Russia, 16-21 February, 2004)]. Syktyvkar: Syktyvkar State University Publ.; 2004. Vol. 1. pp. 98-99. In Russian

*Received 4 March 2019; Revised 28 May 2019;
Accepted 15 August 2019; Published 27 September 2019*

Author info:

Egorova Natalya Yu, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Department of Plant Ecology and Resources, Prof. Zhitkov Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, 79 Preobrazhenskaya Str., Kirov 610000, Russian Federation.

E-mail: n_chirkova@mail.ru

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-5891-4580>

Suleimanova Venera N, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Department of Plant Ecology and Resources, Prof. Zhitkov Russian Research Institute of Game Management and Fur Farming, 79 Preobrazhenskaya Str., Kirov 610000, Russian Federation; Assoc. Prof., Department of Ecology and Zoology, Vyatka State Agricultural Academy, 79 Oktyabrsky Pr., Kirov 610017, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0001-8401-1417>

УДК 581.55

doi: 10.17223/19988591/47/4

М.В. Кожевникова, В.Е. Прохоров, А.А. Савельев

Казанский федеральный университет, г. Казань, Россия

Прогнозное моделирование распространения растительных сообществ порядка *Quercetalia pubescenti-petraeae* Klika 1933

Показана возможность использования прогнозного моделирования распространения растительных сообществ при исследованиях фитоценоотического разнообразия малоизученных в синтаксономическом отношении территорий. Проведено моделирование потенциального распространения ксеромезофитных дубовых лесов порядка *Quercetalia pubescenti-petraeae* Klika 1933, относящихся к классу *Quercetea pubescentis* Doing-Kraft ex Scamoni et Passarge 1959 в пределах лесостепной зоны Восточной Европы. Более детально исследована территория Республики Татарстан, где на основании прогнозных данных выявлено 85 новых точек распространения сообществ союза *Lathyro pisiformis-Quercion roboris* Solomeshch et Grigoriev in Willner et al. 2016. В качестве абиотических предикторов использованы данные климатической (WorldClim) и почвенной (SoilGrids) моделей, в качестве исходных данных 227 геоботанических описаний. Полученные модели показали высокую точность ($AUC=0,817-0,861$).

Ключевые слова: *Quercetea pubescentis*; ксеромезофитные дубовые леса; WorldClim; SoilGrids; Maxent; Республика Татарстан.

Введение

Дубовые и смешанные ксеромезофитные (термофильные, остепнённые) дубовые (*Quercus robur*) широколиственные леса занимают значительную площадь в Центральной Европе. Они распространены на восток в виде постепенно сужающегося языка, идущего по территории Украины, северной Молдовы, Южной и Центральной России, Поволжья и Южного Урала [1].

В первом продромусе растительности СССР [2] порядок ксеромезофитных дубрав *Quercetalia pubescentis* Br.-Bl. 1931 включался в состав класса *Quercu-Fagetea* Br.-Bl. et Vlieger in Vlieger 1937 и за исключением крымских синтаксонов содержал всего один союз *Pruno-Quercion roboris* Schubert et al. 1979 (= *Lathyro pisiformis-Quercion roboris* Solomeshch et Grigoriev in Willner et al. 2016), куда вошли термофильные сосновые леса Южного Урала.

В составленном Н.Б. Ермаковым продромусе высших единиц растительности России [3] ксеромезофитные дубравы Европейской России отнесены к отдельному классу *Quercetea pubescentis* Doing-Kraft ex Scamoni et Passarge 1959, в составе которого указан единственный порядок *Quercetalia*

pubescenti-petraeae Klika 1933 с двумя союзами. В соответствии с последней сводкой по растительности Европы [4] на территории европейской части России сообщества ксеромезофитных дубрав относят к союзам *Aceri tatarici-Quercion Zólyomi* 1957 и *Lathyro pisiformis-Quercion roboris* Solomeshch et Grigoriev in Willner et al. 2016. По мнению Ю.А. Семенищенкова [5], предложенная авторами [4] синтаксономическая концепция относительно порядка *Quercetalia pubescenti-petraeae* дискуссионна, и в будущем необходим её пересмотр с учётом геоботанических материалов с территории Европейской России.

Остепнённые дубравы Республики Татарстан, в отличие от термофильных европейских лесов, примечательны отсутствием субсредиземноморских видов, низкой долей мезофитных неморальных («фагетальных») видов и большим количеством видов светолюбивых («бетулетальных», опушечных и лугово-степных). Подобные сообщества в разрезе изучения вопросов взаимодействия леса и степи обследовались С.И. Коржинским [6], Ю.Д. Клеоповым [7], М.В. Марковым [8], а с точки зрения лесорастительных условий дуба – Н.В. Напалковым [9]. Отдельные упоминания можно найти в работах С.А. Грибовой [10] и П.Л. Горчаковского [1]. Однако до настоящего времени нет четких указаний на синтаксономическую принадлежность данных типов сообществ. Недостаточный геоботанический материал не позволял ответить на этот вопрос, поэтому необходима оптимизация сбора данных. Для этого использовали методы моделирования потенциального распространения сообществ [11, 12], относимых к порядку *Quercetalia pubescenti-petraeae*.

Материалы и методики исследования

В качестве исходных данных для построения моделей нами использованы точки локаций геоботанических описаний сообществ, отнесенных к союзам *Aceri tatarici-Quercion* и *Lathyro pisiformis-Quercion roboris*. Это опубликованные данные из 78 локаций на территории Брянской, Белгородской, Курской областей [13, 14], а также Республики Башкортостан и Оренбургской области [15–17]. Часть данных составили сведения, хранящиеся в базах данных проекта European Vegetation Archive (EVA) [18] с территории Словакии, Румынии и Украины (84 геоботанических описания, отнесенных авторами к союзу *Aceri tatarici-Quercion*). Также нами экспертно отобраны геоботанические описания из базы данных Vegetation Database of Tatarstan [19], которые характеризовали сообщества, с высокой долей вероятности относимые к порядку *Quercetalia pubescenti-petraeae* (без отнесения их к какому-либо союзу), – 65 описаний.

В общей сложности для построения модели использовано 227 локаций сообществ ксеромезофитных дубрав (рис. 1).

В качестве абиотических предикторов использованы данные климатической модели WorldClim 2.0 (<http://www.worldclim.org>; [20]) и почвенной модели SoilGrids (<http://www.soilgrids.org>; [21]).

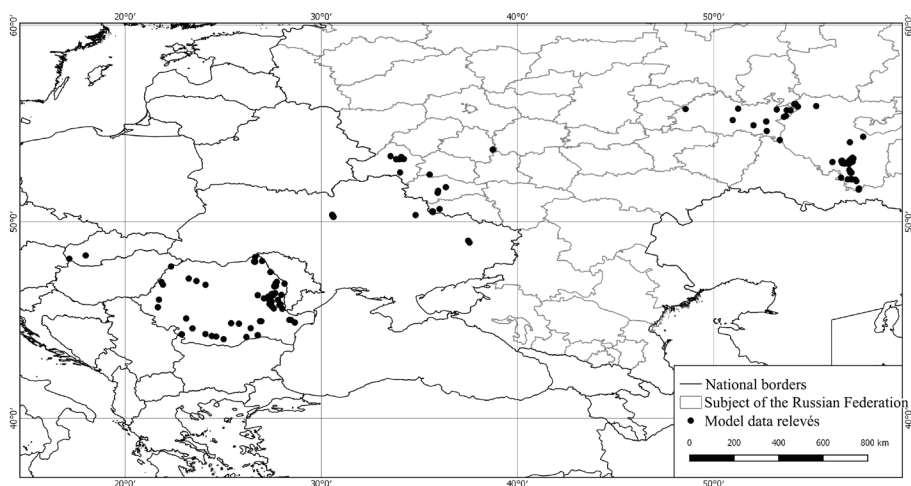


Рис. 1. Расположение геоботанических описаний
[Fig. 1. Location of the relevés]

Данные WorldClim содержат сведения о ежемесячных осадках, максимальных, минимальных и средних температурах, биоклиматические показатели и высоты над уровнем моря. Эта информация получена в виде сеток с разрешением в $30'' \times 30''$ ($\sim 1 \times 1$ км), что соответствует наибольшему доступному разрешению.

Сведения SoilGrids включают классы почв, физические и химические свойства почв с пространственным разрешением 250×250 м.

Для построения модели самой восточной части исследуемой территории (Татарстан и Башкортостан) использовались данные о лесном покрове проекта Global Forest Change с пространственным разрешением $1'' \times 1''$ (<https://earthenginepartners.appspot.com/science-2013-global-forest>; [22]). Пространственные данные подготовлены с помощью пакета QGIS 2.14 [23]. Для построения модели использовался метод максимальной энтропии, реализованный в программе Maxent (http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/; [24]), подробное руководство к которой доступно на русском языке по адресу: <http://gis-lab.info/qa/maxent.html>.

Первоначально построены две основные вероятностные модели: для климатических данных (mod1) и для почвенных данных (mod2). Значение p_{mod1} выражает степень пригодности климатических условий для данного типа сообществ, значение p_{mod2} – степень пригодности почвенных условий. Эти переменные могут быть также интерпретированы как вероятность обнаружения данного типа сообществ в конкретной географической точке. Затем основные модели комбинировались четырьмя способами. Для «оптимистической» модели (mod3) комбинация вероятностей для климатических и почвенных факторов рассчитана как

$$p_{\text{mod3}} = (p_{\text{mod1}} + p_{\text{mod2}}) - (p_{\text{mod1}} \times p_{\text{mod2}}). \quad (1)$$

Вероятность для «пессимистической» модели (mod4) рассчитывалась как произведение основных вероятностей:

$$p_{\text{mod4}} = p_{\text{mod1}} \times p_{\text{mod2}} \quad (2)$$

Для двух моделей (mod5 и mod6) вероятности, рассчитанные с учётом климата и почвы, объединены с коэффициентом присутствия лесов (лесного покрова – tcc), который варьирует от 0 до 1:

$$p_{\text{mod5}} = p_{\text{mod1}} \times p_{\text{mod2}} \times \text{tcc} \quad (3)$$

$$p_{\text{mod6}} = ((p_{\text{mod1}} + p_{\text{mod2}}) - (p_{\text{mod1}} \times p_{\text{mod2}})) \times \text{tcc} \quad (4)$$

Каждая модель калибровалась с использованием 75% данных и оценивалась по площади под ROC-кривой (AUC) с использованием оставшихся 25%.

Сравнение моделей проводилось попарно по критерию теста Делонга [25], статистически значимыми результатами принимались значения с $p\text{-value} \leq 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

По мнению Ferrier & Guisan [26], несмотря на нынешнюю популярность моделирования на уровне видов, при решении синтаксономических задач пространственное моделирование на уровне сообщества может быть значительно эффективнее. Для построения модели потенциального распространения ксеромезофитных дубрав мы приняли стратегию «собрать сначала, предсказать позже» [26], в которой полевые данные сначала подлежат классификации, упорядочиванию или агрегации для создания объектов или атрибутов на уровне сообществ. Эта стратегия имеет как свои преимущества, так и недостатки, подробно рассмотренные в работе S. Ferrier и A. Guisan [26]. Довольно большое количество положительных результатов моделирования по сценарию «собрать сначала, предсказать позже» показано в ряде исследований [27–32]. Мы можем привести только одну публикацию, где результаты моделирования по сценарию «собрать сначала, предсказать позже» оказались хуже результатов моделирования по сценарию «предсказать сначала, собрать позже» [33].

Целью моделирования являлось выявление локалитетов с наибольшей вероятностью обнаружения сообществ остепнённых дубрав. Для верификации полученных моделей с использованием заверочных полевых данных необходимо было выбрать модели с наилучшими статистическими показателями.

Все модели, в качестве предикторов для которых использовались данные климатической и почвенной модели (mod1, mod2, mod3, mod4), показали высокую точность – $\text{AUC} = 0,861\text{--}0,817$. Использование в качестве предиктора информации о наличии леса очень снижало точность моделей – до 0,582. При некоторых порогах модели, использующие информацию о лесном покрове, ведут себя хуже, чем случайный выбор ответа, поэтому в дальней-

шем отказались от их использования. При визуализации все четыре модели показали, что кроме тех субъектов, с территориях которых использованы данные для моделирования, сообщества, относимые к порядку *Quercetalia pubescenti-petraeae*, наиболее вероятно обнаружить в Чувашии, Самарской и Ульяновской областях, Ставропольском крае, на Украине и в Молдове в пределах лесостепной зоны Восточной Европы [34] (рис. 2).

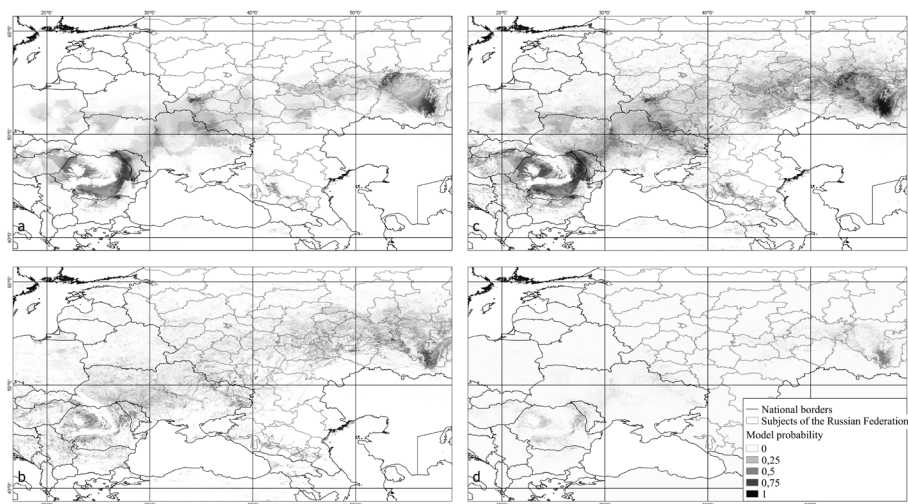


Рис. 2. Визуализация полученных моделей: *a* – mod1 (климатические данные); *b* – mod2 (почвенные данные); *c* – mod3 (комбинированная оптимистическая); *d* – mod4 (комбинированная пессимистическая)

[Fig. 2. Visualization of the models: *a* - mod1 (climatic data); *b* - mod2 (soil data); *c* - mod3 (combined optimistic); *d* - mod4 (combined pessimistic)]

Модели с наилучшими показателями AUC (mod3 и mod4) использованы для оценки наиболее вероятных мест обнаружения сообществ порядка *Quercetalia pubescenti-petraeae* в Татарстане (рис. 3). В соответствующих локалитетах выполнено 85 геоботанических описаний. Наличие прогнозных сведений о местообитаниях с высокой вероятностью обнаружения сообществ этого типа позволило оптимизировать процедуру выявления данных фитоценозов и в течение одного полевого сезона обследовать площадь порядка 30 000 км². Предварительная фитоценотическая обработка полученных данных указывает на принадлежность сообществ к союзу *Lathyro pisiformis-Quercion roboris* порядка *Quercetalia pubescenti-petraeae* и не выявляет сообществ, которые можно отнести к союзу *Aceri tatarici-Quercion*.

Для исследования полученных моделей в качестве «точек присутствия» использованы вновь выполненные геоботанические описания (см. рис. 3). Для «точек отсутствия» выбрано 4 135 геоботанических описаний из базы данных Vegetation Database of Tatarstan [19], не относящихся к дубравам.

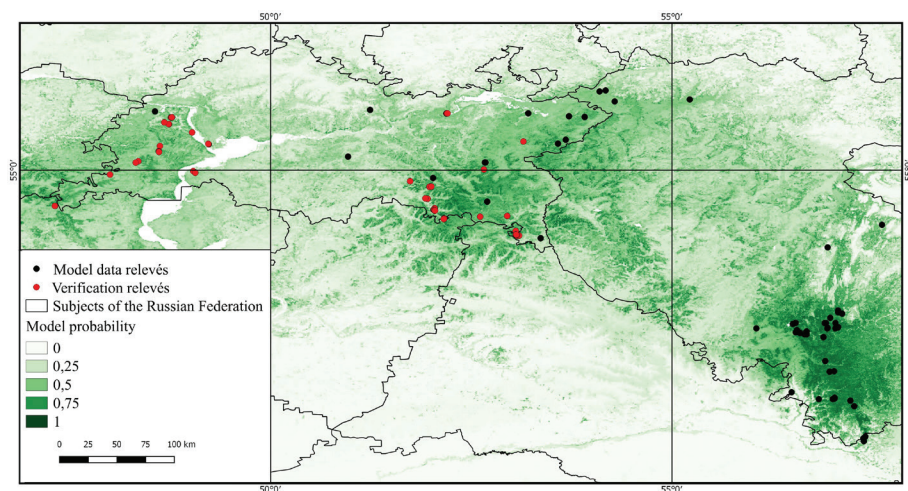


Рис. 3. Расположение заверочных геоботанических описаний
[Fig. 3. Location of the verification relevés]

Сравнение моделей проведено попарно по критерию теста Делонга [25] для двух коррелированных ROC-кривых (табл. 1).

Таблица 1 [Table 1]

Сравнение моделей (mod1–mod6) по критерию теста Делонга (p-value)
[Comparing of models (mod1–mod6) by the DeLong test (p-value)]

	mod1	mod2	mod3	mod4	mod5	mod6
mod1	–	0,510	0,122	0,232	0,000	0,000
mod2	0,510	–	0,019	0,008	0,000	0,000
mod3	0,122	0,019	–	0,917	0,000	0,000
mod4	0,232	0,008	0,917	–	0,000	0,000
mod5	0,000	0,000	0,000	0,000	–	0,059
mod6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,059	–

Примечание. mod1 – климатические данные, mod2 – почвенные данные, mod3 – комбинированная оптимистическая, mod4 – комбинированная пессимистическая, mod5 – комбинированная оптимистическая с учётом лесного покрова, mod6 – комбинированная пессимистическая с учётом лесного покрова. Полужирным выделены статистически значимые отличия ($p < 0,05$).

[Note. mod1 - Climatic data, mod2 - Soil data, mod3 - Combined optimistic, mod4 - Combined pessimistic, mod5 - Combined optimistic with tree cover, mod6 - Combined pessimistic with tree cover. Statistically significant differences are in bold ($p < 0.05$)].

Модели mod1, mod2, mod3 и mod4 статистически значимо отличны от моделей mod5 и mod6. Вычисление статистической величины Z (табл. 2) позволяет выявить наиболее адекватную модель.

Анализ статистических характеристик показывает, что модель mod1, использующая в качестве предикторов данные климатических характеристик (WorldClim), обнаруживает лучшие результаты, чем модель mod2 (Z поло-

жительная) использующая в качестве предикторов данные почвенной модели (SoilGrids).

Таблица 2 [Table 2]

Сравнение моделей (mod1–mod6) по критерию теста Делонга (значение Z).

Знак статистик Z показывает адекватность моделей
[Comparing of models (mod1–mod6) by the DeLong test (Z value).
The Z sign shows which of the models is more adequate]

	mod1	mod2	mod3	mod4	mod5	mod6
mod1	–	0,659	–1,547	–1,195	5,402	5,881
mod2		–	–2,344	–2,669	4,614	4,975
mod3			–	0,104	6,406	6,966
mod4				–	6,406	6,494
mod5					–	1,887

Примечание. mod1 – климатические данные, mod2 – почвенные данные, mod3 – комбинированная оптимистическая, mod4 – комбинированная пессимистическая, mod5 – комбинированная оптимистическая с учётом лесного покрова, mod4 – комбинированная пессимистическая с учётом лесного покрова.

[Note. mod1 - Climatic data, mod2 - Soil data, mod3 - Combined optimistic, mod4 - Combined pessimistic, mod5 - Combined optimistic with tree cover, mod6 - Combined pessimistic with tree cover].

Вместе с тем, если мы используем в качестве предикторов комбинацию этих двух моделей (WorldClim и SoilGrids) – mod3 и mod4, то результат выглядит лучше, чем в mod1 (Z отрицательная), использующей только WorldClim. Сама форма комбинирования, рассчитанная по формуле (1) или формуле (2), не важна, поскольку статистически значимых различий между моделями mod3 и mod4 не обнаружено (значение p-value=0,917, что более 0,05).

Заключение

Использование механизма моделирования сообществ определенной синтаксономической принадлежности позволяет выявлять или с высокой долей вероятности предполагать отсутствие данного типа сообществ на определенной территории. Эту методику возможно использовать при работах на обширных и малоизученных в синтаксономическом отношении территориях для оптимизации полевых исследований. В случае ксеромезофитных дубовых лесов наилучшими оказались модели, использующие в качестве предикторов комбинации данных климатических и почвенных характеристик.

Литература

1. Горчаковский П.Л. Растения европейских широколиственных лесов на восточном пределе их ареала // Труды Института экологии растений и животных Уральского филиала АН СССР. Вып. 59. Свердловск : РИСО УФАИ СССР, 1968. 207 с.
2. Korotkov K.O., Morozova O.V., Belonovskaja E.A. The USSR vegetation syntaxa prodromus. Moscow : Vilchek, 1991. 68 p.
3. Миркин Б.М., Наумова Л.Г. Современное состояние основных концепций науки о растительности. Уфа : Гилем, 2012. 488 с.
4. Mucina L., Bültmann H., Dierßen K., Theurillat J., Raus T., Čarni A., Šumberová K., Willner W., Dengler J., García R.G., Chytrý M., Hájek M., Di Pietro R., Iakushenko D.,

- Daniëls F.J.A., Bergmeier E., Santos Guerra A., Ermakov N., Valachovič M., Schaminée J.H.J., Lysenko T., Didukh Y.P., Pignatti S., Rodwell J.S., Capelo J., Weber H.E., Solomeshch A., Dimopoulos P., Aguiar C., Hennekens S.M., Tichý L. // *Vegetation of Europe: hierarchical floristic classification system of vascular plant, bryophyte, lichen, and algal communities* // *Applied Vegetation Science*. 2016. № 19, Suppl. 1. PP. 3–264. doi: 10.1111/avsc.12257
5. Семенищенков Ю.А. Широколиственные леса Европейской России в опубликованной иерархической флористической классификационной системе (Mucina et al., 2016): дискуссионные вопросы и нерешенные проблемы // *Ботаника в современном мире. Труды XIV съезда Русского ботанического общества и конференции «Ботаника в современном мире»* (г. Махачкала, 18–23 июня 2018 г.). Т. 2: Геоботаника. Ботаническое ресурсосведение. Интродукция растений. Культурные растения / под ред. А.Л. Буданцева. Махачкала : АЛЕФ, 2018. С. 131–134.
 6. Коржинский С.И. Северная граница черноземно-степной области восточной полосы Европейской России в ботанико-географическом и почвенном отношении. Казань : Типография Императорского университета, 1888. 253 с.
 7. Клеопов Ю.Д. Анализ флоры широколиственных лесов европейской части СССР. Киев : Наукова думка, 1990. 352 с.
 8. Марков М.В. Лес и степь в условиях Закарья // *Ученые записки Казанского университета. Сер. «Ботаника»*. 1935. Т. 95, кн. 7, вып. 2. С. 69–179.
 9. Напалков Н.В. Дубравы северо-восточной лесостепи. Казань : Таткнигоиздат, 1953. 144 с.
 10. Грибова С.А., Исаченко Т.И., Лавренко Е.М. Растительность европейской части СССР. Л. : Наука, 1980. 236 с.
 11. Chapman D.S., Purse B.V. Community versus single-species distribution models for British plants // *J. Biogeography*. 2011. Vol. 38, № 8. PP. 1524–1535. doi: 10.1111/j.1365-2699.2011.02517.x
 12. Potts A.J., Hedderson T.A., Franklin J., Cowling R.M. The Last Glacial Maximum distribution of South African subtropical thicket inferred from community distribution modelling // *J. Biogeography*. 2013. Vol. 40, № 2. PP. 310–322. doi: 10.1111/j.1365-2699.2012.02788.x
 13. Булохов А.Д., Семенищенков Ю.А. Сообщества класса *Quercio-Fagetea* Br.-Bl. et Vlieger in Vlieger 1937 в Судость-Деснянском междуречье (Брянская область) // *Растительность России*. 2008. № 13. С. 3–13.
 14. Семенищенков Ю.А., Полуянов А.В. Остепнённые широколиственные леса союза *Aceri tatarici-Quercion Zólyomi* 1957 на Среднерусской возвышенности // *Растительность России*. 2014. № 24. С. 101–123.
 15. Мартыненко В.Б., Ямалов С.М., Жигунов О.Ю., Филинов А.А. Растительность государственного природного заповедника «Шульган-Таш». Уфа : Гилем, 2005. 272 с.
 16. Мартыненко В.Б., Широких П.С., Мулдашев А.А., Соломещ А.И. О новой ассоциации остепнённых дубрав на Южном Урале // *Растительность России*. 2008. № 13. С. 49–60.
 17. Флора и растительность Национального парка «Башкирия» (синтаксономия, антропогенная динамика, экологическое зонирование) / Под ред. Б.М. Миркина. Уфа : АН РБ, Гилем, 2010. 512 с.
 18. Chytrý M., Hennekens S.M., Jiménez-Alfaro B., Knollová I., Dengler J., Jansen F., Landucci F., Schaminée J.H.J., Aćić S., Agrillo E., Ambarli D., Angelini P., Apostolova I., Attorre F., Berg C., Bergmeier E., Biurrun I., Botta-Dukát Z., Brisse H., Campos J.A., Carlón L., Čarni A., Casella L., Csiky J., Čuštěrevska R., Dajić Stevanović Z., Danihelka J., De Bie E., de Ruffray P., De Sanctis M., Dickoré W.B., Dimopoulos P., Dubyna D., Dziuba T., Ejrnæs R., Ermakov N., Ewald J., Fanelli G., Fernández-González F., Fitzpatrick U., Font X., García-Mijangos I., Gavilán R.G., Golub V., Guarino R., Haveman R., Indreica A.,

- Işık Gürsoy D., Jandt U., Janssen J.A.M., Jiroušek M., Kacki Z., Kavgaci A., Kleikamp M., Kolomiychuk V., Krstivojević Čuk M., Krstonošić D., Kuzemko A., Lenoir J., Lysenko T., Marcenò C., Martynenko V., Michalcová D., Moeslund J.E., Onyshchenko V., Pedashenko H., Pérez-Haase A., Peterka T., Prokhorov V., Rašomavičius V., Rodríguez-Rojó M.P., Rodwell J.S., Rogova T., Ruprecht E., Rusiņa S., Seidler G., Šibík J., Šilc U., Škvorec Z., Sopotlieva D., Stančić Z., Svenning J., Swacha G., Tsiripidis I., Turtureanu P.D., Uğurlu E., Uogintas D., Valachovič M., Vashenyak Y., Vassilev K., Venanzoni R., Virtanen R., Weekes L., Willner W., Wohlgemuth T., Yamalov S. European Vegetation Archive (EVA): An integrated database of European vegetation plots // *Applied Vegetation Science*. 2016. Vol. 19, № 1. PP. 173–180. doi: 10.1111/avsc.12191
19. Prokhorov V., Rogova T., Kozhevnikova M. Vegetation Database of Tatarstan // *Phytocoenologia*. 2017. Vol. 47, № 3. PP. 309–313. doi: 10.1127/phyto/2017/0172
20. Fick S.E., Hijmans R.J. WorldClim 2: New 1×1 km spatial resolution climate surfaces for global land areas // *International J. Climatology*. 2017. Vol. 37, № 12. PP. 4302–4315. doi: 10.1002/joc.5086
21. Hengl T., De Jesus J.M., MacMillan R.A., Batjes N.H., Heuvelink G.B.M., Ribeiro E., Samuel-Rosa A., Kempen B., Leenaars J.G.B., Walsh M.G., Gonzalez M.R. SoilGrids 1 km – global soil information based on automated mapping // *PLoS ONE*. 2014. Vol. 9, № 8. e105992. doi: 10.1371/journal.pone.0105992
22. Hansen M.C., Potapov P.V., Moore R., Hancher M., Turubanova S.A., Tyukavina A., Thau D., Stehman S.V., Goetz S.J., Loveland T.R., Kommareddy A., Egorov A., Chini L., Justice C.O., Townshend J.R.G. High-Resolution Global Maps of 21st-Century Forest Cover Change // *Science*. 2013. Vol. 342. PP. 850–853. doi: 10.1126/science.1244693
23. QGIS Development Team. QGIS Geographic Information System, 2018. Open Source Geospatial Foundation Project [Electronic resource]. URL: <http://qgis.osgeo.org> (accessed: 10.09.2018).
24. Phillips S.J., Anderson R.P., Schapire R.E. Maximum entropy modeling of species geographic distributions // *Ecological Modeling*. 2006. Vol. 190, № 3–4. PP. 231–259. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026
25. DeLong E.R., DeLong D.M., Clarke-Pearson D.L. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach // *Biometrics*. 1988. Vol. 44. PP. 837–845. doi: 10.2307/2531595
26. Ferrier S., Guisan A. Spatial modelling of biodiversity at the community level // *J. Applied Ecology*. 2006. Vol. 43. PP. 393–404. doi: 10.1111/j.1365-2664.2006.01149.x
27. Elias R.B., Gil A., Silva L., Fernández-Palacios J.M., Azevedo E.B., Reis F. Natural zonal vegetation of the Azores Islands: characterization and potential distribution // *Phytocoenologia*. 2016. Vol. 46, № 2. PP. 107–123. doi: 10.1127/phyto/2016/0132
28. Ferrier S., Drielsma M., Manion G., Watson G. Extended statistical approaches to modelling spatial pattern in biodiversity in northeast New South Wales. II. Community-level modeling // *Biodiversity and Conservation*. 2002. Vol. 11. PP. 2309–2338. doi: 10.1023/A:1021374009951
29. Oo W.P., Koike F. Dry forest community types and their predicted distribution based on a habitat model for the central dry zone of Myanmar // *Forest Ecology and Management*. 2015. Vol. 358. PP. 108–121. doi: 10.1016/j.foreco.2015.09.006
30. Reger B., Häring T., Ewald J. The TRM Model of Potential Natural Vegetation in Mountain Forests // *Folia Geobotanica*. 2014. Vol. 49, № 3. PP. 337–359. doi: 10.1007/s12224-013-9158-0
31. Serrano A., González-Irusta J.M., Punzón A., García-Alegre A., Lourido A., Ríos P., Blanco M., Gómez-Ballesteros M., Druet M., Cristobo J., Cartes J.E. Deep-sea benthic habitats modeling and mapping in a NE Atlantic seamount (Galicia Bank) // *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*. 2017. Vol. 126. PP. 115–127. doi: 10.1016/j.dsr.2017.06.003

32. Barker N.K.S., Slattery S.M., Darveau M., Cumming S.G. Modeling distribution and abundance of multiple species: Different pooling strategies produce similar results // *Ecosphere*. 2014. Vol. 5, № 12. PP. 1–24. doi: 10.1890/ES14-00256.1
33. Ko Ch.-Y., Schmitz O.J., Jetz W. The limits of direct community modeling approaches for broad-scale predictions of ecological assemblage structure // *Biological Conservation*. 2016. Vol. 201. PP. 396–404. doi: 10.1016/j.biocon.2016.07.026
34. Erdős L., Ambarlı D., Anenkhonov O.A., Bátori Z., Cserhalmi D., Kiss M., Kröel-Dulay G., Liu H., Magnes M., Molnár Z., Naqinezhad A., Semenishchenkov Yu. A., Tölgyesi C., Török P. The edge of two worlds: A new review and synthesis on Eurasian forest-steppes // *Applied Vegetation Science*. 2018. Vol. 21. PP. 345–362. doi: 10.1111/avsc.12382

*Поступила в редакцию 21.02.2019 г.; повторно 16.05.2019 г.;
принята 15.08.2019 г.; опубликована 27.09.2019 г.*

Авторский коллектив:

Кожевникова Мария Владимировна – канд. биол. наук, зам. директора, Институт экологии и природопользования, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (Россия, 420008, г. Казань, Кремлевская, 18).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-8771-5679>

E-mail: mvkozhevnikova@kpfu.ru

Прохоров Вадим Евгеньевич – канд. биол. наук, доцент кафедры общей экологии, Институт экологии и природопользования, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (Россия, 420008, г. Казань, Кремлевская, 18).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0001-8166-7269>

E-mail: vadim.prokhorov@kpfu.ru

Савельев Анатолий Александрович – д-р биол. наук, профессор кафедры моделирования экологических систем, Институт экологии и природопользования, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (Россия, 420008, г. Казань, Кремлевская, 18).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-6270-7744>

E-mail: Anatoly.Saveliev.aka.saa@gmail.com

For citation: Kozhevnikova MV, Prokhorov VE, Saveliev AA. Predictive modeling for the distribution of plant communities of the order *Quercetalia pubescenti-petraeae* Klika 1933. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = *Tomsk State University Journal of Biology*. 2019;47:59-73. doi: 10.17223/19988591/47/5 In Russian, English Summary

Mariya V. Kozhevnikova, Vadim E. Prokhorov, Anatoly A. Saveliev

Kazan Federal University, Kazan, Russian Federation

Predictive modeling for the distribution of plant communities of the order *Quercetalia pubescenti-petraeae* Klika 1933

The Braun-Blanquet method has been widely used by Russian researchers during recent years for the purposes of vegetation classification. In this context, some regions, such as the Republic of Bashkortostan, have been investigated in detail and their complete prodromes are available. However, for plant communities of other territories, including the Republic of Tatarstan, this work has just begun. The following two major questions are commonly faced by researchers when studying the syntaxonomic diversity of the territory: “Which of the already identified syntaxa are present in the

study area?” and “Where can they be found?”. In this paper, we showed and discussed one of the possible ways to answer the above questions.

Our research focused on xeromesophytic oak forests of the order *Quercetalia pubescenti-petraeae* Klika 1933 that belong to the class *Quercetea pubescentis* Dozing-Kraft ex Scamoni et Passarge 1959 and occupy an area within the forest-steppe zone of Eastern Europe (40-60°N; 15-60°E). The obtained results add considerably to what is already known about the plant communities in the territory of the Republic of Tatarstan (54-57°N; 47-55°E). We based our model for potential distribution of xeromesophytic oak forests on the following strategy: “first collect, then predict”. According to this strategy, field data are first classified, arranged, or aggregated to further create objects or attributes at the community level. The initial data for model construction were the locations provided in the relevés for plant communities assigned to the alliances of *Aceri tatarici-Quercion* Zólyomi 1957 and *Lathyro pisiformis-Quercion roboris* Solomeshch et Grigoriev in Willner et al. 2016 within the territories of Slovakia, Romania, Ukraine, and Russia (Kursk region, Bryansk region, Belgorod region, Republic of Tatarstan, Republic of Bashkortostan, and Orenburg region). A total of 227 relevés were analyzed (Fig. 1). The data of the WorldClim 2.0 and SoilGrids models were used as the abiotic predictors. To build a model of the easternmost part of the study area (Tatarstan and Bashkortostan), we employed the data on the forest cover from the Global Forest Change project. The spatial data were compiled with the help of the QGIS 2.14 package. The Maxent method was applied as a modeling algorithm. The main probability models using the climate and soil data as the predictors were combined in different ways, calibrated using 75% of the data, and assessed by area under the ROC curve (AUC) using the remaining 25%.

All models using the climate and soil model data as the predictors yielded highly accurate results - AUC=0.861-0.817. On the contrary, when the data on forest presence were used as the predictor, the accuracy of the models turned out to be significantly lower, up to 0.582. Furthermore, at some threshold values the models based on the forest cover data behaved worse than a random choice. At the stage of visualization, all models demonstrated that oak communities belonging to the order *Quercetalia pubescenti-petraeae* are most likely to be found in such areas of Russia as Bashkiria, Tatarstan, Chuvashia, Samara region, Ulyanovsk region, Belgorod region, Bryansk region, Kursk region, Belgorod region, Stavropol region (in the foothills of the Caucasus), as well as in Ukraine, Romania, and Moldova, which is in good agreement with the published data (Fig. 2). The models with the best AUC values were used to assess the suitable habitats of *Quercetalia pubescenti-petraeae* communities in Tatarstan (Fig. 3). We carried out 85 relevés at the localities where the probability of presence of the modeled communities in the territory of Tatarstan was the highest. The preliminary presence of the localities with the high probability of finding communities of a certain type allowed to optimize the procedure for detection of these phytocenoses and to investigate an area about 30 000 km² during a single field season. Further phytocoenotic processing of the obtained data confirmed that these plant communities belong to the order *Quercetalia pubescenti-petraeae*, the alliance *Lathyro pisiformis-Quercion roboris*. The analysis of the statistical characteristics of the obtained results revealed that the model using the data on climatic characteristics (WorldClim) as the predictors shows better results than the one using the soil data (SoilGrids) as the predictors (See Table 1). At the same time, combining these two models (WorldClim and SoilGrids) as the predictors showed better results than the model using only WorldClim. The very form of combination is unimportant, because no statistically significant differences were observed between the models (See Table 2). Therefore, it was concluded that using the mechanism for modeling communities of a certain syntaxonomic rank enables us to either register this type of communities within

the borders of a particular area or to suggest with high probability that they do not occur here. A similar approach can be helpful when studying vast and poorly known, in terms of syntaxonomic composition, territories for optimization of field research. In the case of xeromesophytic oak forests, the models based on the combination of climate and soil data as the predictors proved to be the most appropriate ones.

The paper contains 3 Figures, 2 Tables and 34 References.

Key words: Quercetea pubescentis; xeromesophytic oak forests; WorldClim; SoilGrids; Maxent; Republic of Tatarstan.

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Gorchakovskiy PL. Rasteniya evropeyskikh shirokolistvennykh lesov na vostochnom predele ikh areala [Plants of European deciduous forests at the eastern border of their range]. *Trudy instituta ekologii rasteniy i zhivotnykh Ural'skogo filiala AN SSSR* [Proceedings of the Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the Academy of Sciences of the USSR]. Vol. 59. Sverdlovsk: RISO UFAN SSSR Publ.; 1968. 207 p. In Russian
2. Korotkov KO, Morozova OV, Belonovskaja EA. The USSR vegetation syntaxa prodromus. Moscow: Vilchek Publ.; 1991. 68 p.
3. Mirkin BM, Naumova LG. Sovremennoye sostoyaniye osnovnykh kontseptsiy nauki o rastitel'nosti [Current state of the main concepts of vegetation science]. Ufa: ANRB, Gilem Publ.; 2012. 488 p. In Russian
4. Mucina L, Bültmann H, Dierßen K, Theurillat J, Raus T, Čarni A, Šumberová K, Willner W, Dengler J, García RG, Chytrý M, Hájek M, Di Pietro R, Yakushenko D, Daniëls FJA, Bergmeier E, Santos Guerra A, Ermakov N, Valachovič M, Schaminée JHJ, Lysenko T, Didukh YP, Pignatti S, Rodwell JS, Capelo J, Weber HE, Solomeshch A, Dimopoulos P, Aguiar C, Hennekens SM, Tichý L. Vegetation of Europe: Hierarchical floristic classification system of vascular plant, bryophyte, lichen, and algal communities. *Applied Vegetation Science*. 2016;19(S1):3-264. doi: [10.1111/avsc.12257](https://doi.org/10.1111/avsc.12257)
5. Semenishchenkov YA. Shirokolistvennyye lesa Evropeyskoy Rossii v opublikovannoy iyerarkhicheskoy floristicheskoy klassifikatsionnoy sisteme (Mucina et al., 2016): diskussionnyye voprosy i nereshennyye problemy [Deciduous forests of the European Russia in a published "Hierarchical floristic classification system..." (Mucina et al., 2016): Discussion questions and unsolved problems]. In: *Botany in the modern world*. Proc. of the XIV Congress of the Russian Botanical Society and the Conference "Botany in the Modern World" (Makhachkala, 18-23 June 2018). Vol. 2: Geobotany. Botanical resource research. Introduction of plants. Cultivated plants Budantsev AL, editor. Makhachkala: ALEF Publ.; 2018. pp. 131-134. In Russian [Electronic resource]. Available at: https://www.binran.ru/files/publications/Proceedings/Proceedings_RBO/XIV_RBO_Proceedings_T2.pdf (access 15.07.2019)
6. Korzhinskiy SI. Severnaya granitsa chernozemno-stepnoy oblasti vostochnoy polosy Evropeyskoy Rossii v botaniko-geograficheskom i pochvennom otnoshenii [The northern border of the chernozem-steppe region of the eastern strip of European Russia in botanical, geographical and soil terms]. Kazan: Imperial University Press; 1888. 253 p. In Russian
7. Kleopov YD. Analiz flory shirokolistvennykh lesov Evropeyskoy chasti SSSR [Analysis of the deciduous forest flora in the European part of the USSR]. Kiev: Naukova dumka Publ.; 1990. 352 p. In Russian
8. Markov MV. Les i step' v usloviyakh Zakam'ya [Forest and steppe in the Kama region]. *Uchenyye zapiski Kazanskogo universiteta. Ser. Botanika* [Proceedings of Kazan University. Series Botany]. 1935;95,7(2):69-179. In Russian

9. Napalkov NV. Dubravy severo-vostochnoy lesostepi [Oak forests of the north-eastern forest steppe]. Kazan: Tatknigoizdat Publ.; 1953. 144 p. In Russian
10. Gribova SA, Isachenko TI, Lavrenko EM. Rastitel'nost' Evropeyskoy CHasti SSSR [Vegetation of the European part of the USSR]. Leningrad: Nauka Publ.; 1980. 236 p. In Russian
11. Chapman DS, Purse BV. Community versus single-species distribution models for British plants. *J Biogeography*. 2011;38(8):1524-1535. doi: [10.1111/j.1365-2699.2011.02517.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02517.x)
12. Potts AJ, Hedderson TA, Franklin J, Cowling RM. The Last Glacial Maximum distribution of South African subtropical thicket inferred from community distribution modeling. *J Biogeography*. 2013;40(2):310-322. doi: [10.1111/j.1365-2699.2012.02788.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2012.02788.x)
13. Bulokhov AD, Semenishchenkov YA. Communities of class *Quercio-Fagetia* Br.-Bl. et Vlieger in Vlieger 1937 in Sudost-Desna watershed area (Bryansk region). *Rastitel'nost' Rossii = Vegetation of Russia*. 2008;13:3-13. In Russian
14. Semenishchenkov YA, Poluyanov AV. Steppified broad-leaved forests of the alliance *Aceri tatarici-Quercion* Zolyomi 1957 on the Middle-Russian Upland. *Rastitel'nost' Rossii = Vegetation of Russia*. 2014;24:101-123. In Russian
15. Martynenko VB, Yamalov SM, Zhigunov OY, Filinov AA. Rastitel'nost' gosudarstvennogo prirodnogo zapovednika "SHul'gan-Tash" [Vegetation of Shulgán-Tash State Nature Reserve]. Ufa: Gilem Publ.; 2005. 272 p. In Russian
16. Martynenko VB, Shirokikh PS, Muldashev AA, Solomeshch AI. On the new association of steppe oak forests on the South Urals. *Rastitel'nost' Rossii = Vegetation of Russia*. 2008;13:49-60. In Russian
17. *Flora i rastitel'nost' Natsional'nogo parka "Bashkiriya" (sintaksonomiya, antropogennaya dinamika, ekologicheskoye zonirovaniye)* [Flora and vegetation of Bashkiria National Park (Syntaxonomy, anthropogenic dynamics and ecological zoning)]. Mirkin BM, editor. Ufa: Gilem Publ.; 2010. 512 p. In Russian
18. Chytrý M, Hennekens SM, Jiménez-Alfaro B, Knollová I, Dengler J, Jansen F, Landucci F, Schaminée JHJ, Acic S, Agrillo E, Ambarli D, Angelini P, Apostolova I, Attorre F, Berg C, Bergmeier E, Biurrun I, Botta-Dukát Z, Brisse H, Campos JA, Carlón L, Čarni A, Casella L, Csiky J, Čuštěrevska R, Dajić Stevanović Z, Danihelka J, De Bie E, de Ruffray P, De Sanctis M, Dickoré WB, Dimopoulos P, Dubyna D, Dziuba T, Ejrnæs R, Ermakov N, Ewald J, Fanelli G, Fernández-González F, Fitzpatrick U, Font X, García-Mijangos I, Gavilán RG, Golub V, Guarino R, Haveman R, Indreica A, Işık Gürsoy D, Jandt U, Janssen JAM, Jiroušek M, Kacki Z, Kavgaci A, Kleikamp M, Kolomiychuk V, Krstivojević Čuk M, Krstonošić D, Kuzemko A, Lenoir J, Lysenko T, Marcenò C, Martynenko V, Michalčová D, Moeslund JE, Onyshchenko V, Pedashenko H, Pérez-Haase A, Peterka T, Prokhorov V, Rašomavičius V, Rodríguez-Rojas MP, Rodwell JS, Rogova T, Ruprecht E, Rusina S, Seidler G, Šibík J, Šilc U, Škvorc Z, Sopotlieva D, Stančić Z, Svenning J, Swacha G, Tsiropidis I, Turtureanu PD, Uğurlu E, Uogintas D, Valachovič M, Vashenyak Y, Vassilev K, Venanzoni R, Virtanen R, Weekes L, Willner W, Wohlgemuth T, Yamalov S. European Vegetation Archive (EVA): An integrated database of European vegetation plots. *Applied Vegetation Science*. 2016;19(1):173-180. doi: [10.1111/avsc.12191](https://doi.org/10.1111/avsc.12191)
19. Prokhorov V, Rogova T, Kozhevnikova M. Vegetation Database of Tatarstan. *Phytocoenologia*. 2017;47(3):309-313. doi: [10.1127/phyto/2017/0172](https://doi.org/10.1127/phyto/2017/0172)
20. Fick SE, Hijmans RJ. WorldClim 2: New 1×1 km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International J Climatology*. 2017;37(12):4302-4315. doi: [10.1002/joc.5086](https://doi.org/10.1002/joc.5086)
21. Hengl T, De Jesus JM, MacMillan RA, Batjes NH, Heuvelink GBM, Ribeiro E, Samuel-Rosa A, Kempen B, Leenaars JGB, Walsh MG, Gonzalez MR. SoilGrids1km - global soil information based on automated mapping. *PLoS ONE*. 2014;9(8):e105992. doi: [10.1371/journal.pone.0105992](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105992)

22. Hansen MC, Potapov PV, Moore R, Hancher M, Turubanova SA, Tyukavina A, Thau D, Stehman SV, Goetz SJ, Loveland TR, Kommareddy A, Egorov A, Chini L, Justice CO, Townshend JRG. High-Resolution Global Maps of 21st-Century Forest Cover Change. *Science*. 2013;342:850-853. doi: [10.1126/science.1244693](https://doi.org/10.1126/science.1244693)
23. QGIS Development Team. QGIS Geographic Information System, 2018. Open Source Geospatial Foundation Project. [Electronic recourse]. Available at: <http://qgis.osgeo.org> (accessed 10.09.2018).
24. Phillips SJ, Anderson RP, Schapire RE. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modeling*. 2006;190(3-4):231-259. doi: [10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026](https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026)
25. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: A nonparametric approach. *Biometrics*. 1988;44:837-845. doi: [10.2307/2531595](https://doi.org/10.2307/2531595)
26. Ferrier S, Guisan A. Spatial modelling of biodiversity at the community level. *J Applied Ecology*. 2006;43:393-404. doi: [10.1111/j.1365-2664.2006.01149.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2006.01149.x)
27. Elias RB, Gil A, Silva L, Fernández-Palacios JM, Azevedo EB, Reis F. Natural zonal vegetation of the Azores Islands: Characterization and potential distribution. *Phytocoenologia*. 2016;46(2):107-123. doi: [10.1127/phyto/2016/0132](https://doi.org/10.1127/phyto/2016/0132)
28. Ferrier S, Drielsma M, Manion G, Watson G. Extended statistical approaches to modelling spatial pattern in biodiversity in northeast New South Wales. II. Community-level modeling. *Biodiversity and Conservation*. 2002;11:2309-2338. doi: [10.1023/A:1021374009951](https://doi.org/10.1023/A:1021374009951)
29. Oo WP, Koike F. Dry forest community types and their predicted distribution based on a habitat model for the central dry zone of Myanmar. *Forest Ecology and Management*. 2015;358:108-121. doi: [10.1016/j.foreco.2015.09.006](https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.09.006)
30. Reger B, Häring T, Ewald J. The TRM Model of Potential Natural Vegetation in Mountain Forests. *Folia Geobotanica*. 2014;49(3):337-359. doi: [10.1007/s12224-013-9158-0](https://doi.org/10.1007/s12224-013-9158-0)
31. Serrano A, González-Irusta JM, Punzón A, García-Alegre A, Lourido A, Ríos P, Blanco M, Gómez-Ballesteros M, Druet M, Cristobo J, Cartes JE. Deep-sea benthic habitats modeling and mapping in a NE Atlantic seamount (Galicia Bank). *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*. 2017;126:115-127. doi: [10.1016/j.dsr.2017.06.003](https://doi.org/10.1016/j.dsr.2017.06.003)
32. Barker NKS, Slattery SM, Darveau M, Cumming SG. Modeling distribution and abundance of multiple species: Different pooling strategies produce similar results. *Ecosphere*. 2014;5(12):1-24. doi: [10.1890/ES14-00256.1](https://doi.org/10.1890/ES14-00256.1)
33. Ko Ch-Y, Schmitz OJ, Jetz W. The limits of direct community modeling approaches for broad-scale predictions of ecological assemblage structure. *Biological Conservation*. 2016;201:396-404. doi: [10.1016/j.biocon.2016.07.026](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.07.026)
34. Erdős L, Ambarlı D, Anenkhonov OA, Bátori Z, Cserhalmi D, Kiss M, Kröel-Dulay G, Liu H, Magnes M, Molnár Z, Naqinezhad A, Semenishchenkov YA, Tölgyesi C, Török P. The edge of two worlds: A new review and synthesis on Eurasian forest-steppes. *Applied Vegetation Science*. 2018;21:345-362. doi: [10.1111/avsc.12382](https://doi.org/10.1111/avsc.12382)

Received 21 February 2019; Revised 16 May 2019;
Accepted 15 August 2019; Published 27 September 2019

Author info:

Kozhevnikova Mariya V, Cand. Sci. (Biol.), Deputy Director of the Institute of Environmental Sciences, Kazan Federal University, 18 Kremlevskaya Str., Kazan 420008, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-8771-5679>

E-mail: mvkozhevnikova@kpfu.ru

Prokhorov Vadim E, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Department of General Ecology, Institute of Environmental Sciences, Kazan Federal University, 18 Kremlevskaya Str., Kazan 420008, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0001-8166-7269>

E-mail: vadim.prokhorov@kpfu.ru

Saveliev Anatoly A, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Department of Ecosystem Modeling, Institute of Environmental Sciences, Kazan Federal University, 18 Kremlevskaya Str., Kazan 420008, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-6270-7744>

E-mail: Anatoly.Saveliev.aka.saa@gmail.com

УДК 581.9 (571.150)

doi: 10.17223/19988591/47/5

О.М. Маслова¹, И.А. Хрусталева², Т.О. Стрельникова²

¹Алтайский государственный университет, г. Барнаул

²Институт экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, г. Кемерово

Синантропная флора западных низкогорий Алтая

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 16-04-01246.

Изложены материалы исследований синантропной флоры западных низкогорий Алтая – территории, используемой в сельском хозяйстве и горнодобывающей промышленности более 300 лет. Синантропная флора включает 272 вида из 173 родов и 41 семейства. Особенностью таксономической структуры синантропной флоры является малое число представителей семейств Suraceae и Roaceae. В географической структуре выявлено 11 ареалогических групп; преобладают голарктические, палеарктические, западнопалеарктические, космополитные виды; азиатские немногочисленны. Экологический анализ выявил, что большинство видов синантропной флоры составляют ксеромезофиты и мезофиты; две трети от общего числа являются непетрофитами. Группа адвентивных растений насчитывает 105 видов, из них инвазионным на территории Сибири является 31. Анализ по шкале гемероботолерантности выявил невысокую степень трансформированности флоры.

Ключевые слова: высшие сосудистые растения; адвентивные виды; инвазионные растения; антропогенное воздействие.

Введение

Масштаб влияния человека на формирование растительного покрова Земли приобрел глобальный характер и с середины XX в. стал ведущим фактором, определяющим состояние биосферы. Изменение растительного покрова под влиянием антропогенного фактора получило название синантропизации [1]. Наиболее важными проявлениями синантропизации являются снижение видовой насыщенности и видового разнообразия отдельных растительных сообществ, региональное обеднение флор, что в свою очередь влечет глобальное обеднение флоры земного шара [2–4]. Под давлением антропогенного фактора получают преимущественное распространение виды с обширными ареалами, имеющие широкий экологический диапазон. Такие виды повсюду следуют за человеком, произрастая в нарушенных местообитаниях [5–7], поэтому их называют синантропными, или сопутствующими человеку. На сегодня разработано большое количество классификаций си-

нантропных (антропофильных) растений, которые отражают их историко-географическое происхождение, отношение к культуре, экологическую и биологическую природу и многие другие особенности [6, 8]. Однако процесс формирования понятийного аппарата и терминологии продолжает активно разрабатываться и в настоящее время [9, 10]. Группа синантропных растений неоднородна – это виды аборигенной флоры – апофиты, поселяющиеся на нарушенных экотопах, а также растения, преднамеренно или случайно занесенные человеком, – адвентивные (заносные, чужеродные). Апофиты преадаптированы к существованию в антропогенной среде, до появления человека многие виды существуют в естественных условиях как эризофилы, нитрофилы, галофилы, псаммофилы [11, 12]. Под адвентивными понимаются растения, появление которых в изучаемой области не связано с процессом естественного флорогенеза и представляется следствием антропогенного влияния на флору [6, 13, 14].

Синантропные растения во флоре западных низкогорий Алтая представляют несомненный интерес для изучения в свете проблемы постоянно возрастающего антропогенного давления на природные экосистемы. Западные низкогорья Алтая являются территорией, значимой для сохранения биологического разнообразия Алтае-Саянского региона [15], особенно степного биома [16]. Исследуемая территория одной из первых в Сибири (с 20-х гг. XVIII в.) освоена русскими переселенцами. Открытие здесь богатых месторождений медной и серебряной руд положило начало строительству заводов и рудников [17, 18]. Ориентирами для рудоискателей служили так называемые «чудские копи», которые относят к афанасьевской культуре и датируют энеолитом (медно-каменным веком). Горно-рудное производство требовало огромного количества древесины и древесного угля. Рост заводских и рабочих поселков увеличивал спрос на продовольствие, и в первую очередь на хлеб. Соответственно площади пашни неуклонно росли. В конце XIX в. после закрытия сереброплавильных заводов данная территория развивалась преимущественно как аграрный регион [19]. К настоящему времени пахотные угодья, занимающие поверхности широких водораздельных увалов и межсочных понижений в степной части предгорий, используются для производства зерновых и масличных культур. Лесные низкогорья являются поставщиком топливной древесины, бревен хвойных пород, пиломатериалов. На территории ведется добыча золото- и серебросодержащей руды, производятся нерудные строительные материалы, асфальтобетонные смеси, изделия художественных промыслов. Выгодное географическое расположение, благоприятный климат, наличие природных [20] и исторических достопримечательностей определяет перспективы развития туристической отрасли [21–23]. Регион вошел в туристско-рекреационный кластер «Горная Колывань» [24, 25].

Цель работы – выявить особенности синантропной фракции флоры западных низкогорий Алтая.

Материалы и методики исследования

Территория исследования расположена на северо-западе Алтайской горной страны (рис. 1). Включает Колыванский хребет с его отрогами и часть прилегающей Предалтайской равнины с мелкосопочными массивами по рекам Алей, Локтевка, Белая, Чарыш (в пределах географических координат $50^{\circ}45' - 51^{\circ}45'N$, $81^{\circ}35' - 82^{\circ}46'E$). Колыванский хребет в геоморфологическом отношении принадлежит к низкогорьям Западного Алтая. Имеет протяженность около 100 км. Рельеф хребта останцово-гребневидный с абсолютными высотами 500–1 200 м с многочисленными выходами на поверхность коренных пород. Максимальная высота – гора Синюха (1 206 м над ур. м.). Прилегающие части Предалтайской равнины имеют абсолютные высоты 200–400 м и глубину расчленения до 100 м. В геологическом строении этих равнин принимает участие толща делювиально-пролювиальных, в основном суглинистых отложений четвертичного возраста. Для них характерно наличие изолированных сопок и приречного мелкосопочника, сложенных коренными скальными породами [26–28]. Для исследованной территории характерно обилие тепла, света и влаги. Климат умеренно континентальный. Для станции Змеиногорск отмечаются следующие показатели: годовое количество атмосферных осадков 516 мм; средняя температура января $-15,1^{\circ}C$; средняя температура июля $+19,1^{\circ}C$ [29]. Реки принадлежат к бассейнам Алея и Чарыша. С северной стороны Колыванского хребта лежат озера Колыванское (Саввушкино) и Белое.

Северо-западные низкогорья Алтая представляют собой небольшую часть Западно-Алтайской ботанико-географической провинции [28]. Для провинции характерен таежно-кустарниково-луговостепной тип высотного ряда растительных поясов. Часть Колыванского хребта, примыкающая к Тигирецкому хребту, относится к Тигирецкому району черновой тайги Тигирецко-Башчелакского таежно-лесостепного округа. Основной фон растительного покрова составляют леса подпояса черновой тайги. Значительные площади лесных насаждений представлены производными пихтово-осиновыми и осиново-березовыми с участием пихты высокотравными лесами, производными кустарниковыми сообществами, высокотравными лесными лугами. На выходах гранитов встречаются сосновые остепненные леса. Степная периферия Колыванского хребта и мелкосопочные массивы относятся к Змеиногорскому кустарниково-степному и Среднечарышскому таежно-кустарниково-лесостепному районам Колыванско-Чарышского таежно-кустарниково-степного округа. Отличительной особенностью территории является широкое распространение кустарниковых сообществ, которые сплошь покрывают северные склоны мелкосопочников, встречаются пологам и пологим склонам увалистых предгорий. В растительном покрове преобладают луговые разнотравно-злаковые и кустарниковые степи, а также подтаежные березовые и сосновые леса.



Рис. 1. Карта-схема района исследований
 [Fig. 1. Map diagram of the research area (50°45'-51°45'N, 81°35'-82°46'E)]

По гранитным выходам – сосновые остепненные. Значительные площади заняты ими в пределах Саввушкинского гранитного массива. Общий

характер растительного покрова степной. Для приречных мелкосопочников (особенно в бассейне верхнего Аля) характерны петрофитные варианты типчаковых степей по южным сильно щебнистым склонам и кустарниковые сообщества по логам и северным склонам. В поймах рек развиты тополевые леса и ивняки. Террасы рек заняты разнотравно-злаковыми лугами [28, 30]. Большая часть пахотных угодий расположена на месте степей по широким водораздельным увалам и мелкососпочным понижениям, по долинам рек и балкам.

Первые научные сведения о флоре Алтая появились во второй половине XVIII в., началом послужила экспедиция И.Г. Гмелина, Г.Ф. Миллера, исследователи посетили Колывано-Воскресенский завод в 1734 г. [27, 31–33]. С тех пор многие ботаники работали на этой территории [34, 35]. Изучение флоры западных низкогорий Алтая авторами статьи ведется с 1996 г. Конспект флоры исследуемой территории включает 1 105 видов высших сосудистых растений, относящихся к 455 родам и 109 семействам. Учтены опубликованные ранее [36] и более поздние полевые данные авторов (гербарный материал хранится в ALTB и KUZ), а также критически переработанный материал других исследователей [34, 35, 37–39]. Из всего состава флоры к растениям, способным расти на нарушенных местообитаниях, можно отнести 399 видов [40–43]. Однако этот огромный список, приведенный для территории бывшего СССР, охватывающей районы с самыми разнообразными природными условиями, существенно сокращается для небольшой по площади территории низкогорий Западного Алтая. Многие виды, являющиеся засорителями посевов риса на Дальнем Востоке (*Typha latifolia* L., *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla, *Alisma plantago-aquatica* L. и др.), на нашей территории не являются синантропами. И напротив, часть сибирских видов в Европе (*Atriplex laevis* C.A. Mey., *Gypsophila altissima* L., *Saussurea amara* (L.) DC.) по шкале гемеробиальности [44] имеет самый высокий балл за счет способности этих растений заселять экотопы с сильным антропогенным воздействием и даже с отравленным субстратом – обочины шоссе, ж.-д. насыпи.

Растения, являющиеся адвентивными на исследованной территории, и апофиты, отмеченные на нарушенных местообитаниях, мы отнесли к синантропной фракции флоры. Синантропная флора западных низкогорий Алтая выделена по данным полевых исследований с учетом сведений по сорным [41, 42] и адвентивным [34, 35, 45] растениям. В анализ синантропной фракции не включены единичные находки растений, указанных П.Н. Крыловым во «Флоре Западной Сибири» для 1–2 точек (чаще всего для окрестностей Змеиногорска или Колыванского завода), для которых более поздние сборы, подтверждающие присутствие на исследуемой территории, отсутствуют (13 видов) – *Amethystea caerulea* L., *Atriplex hortensis* L., *Buglossoides arvensis* (L.) I.M. Johnst., *Chaiturus marrubiastrum* (L.) Rchb., *Chenopodium foliosum* Asch., *Cuscuta monogyna* Vahl, *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.,

Lamium purpureum L., *Melilotus suaveolens* Ledeb., *Mulgedium sibiricum* (L.) Cass. ex Less., *Nepeta sibirica* L., *Nicandra physalodes* (L.) Gaertn., *Poterium sanguisorba* L. Мы не рассматривали распространенные сельскохозяйственные культуры (*Secale cereale* L., *Triticum aestivum* L., *Avena sativa* L.), садовые и огородные растения (*Melissa officinalis* L., *Anethum graveolens* L., *Lactuca sativa* L.) и полевой сорняк *Avena fatua* L., занос которых постоянно происходит на прилегающие территории – обочины дорог и пустыри, но их натурализация пока не зафиксирована. Не включены в анализ также древесно-кустарниковые виды, не отмеченные нами за пределами их посадок в населенных пунктах: *Acer ginnala* Maxim., *A. tataricum* L., *Amelanchier spicata* (Lam.) K. Koch, *Cerasus fruticosa* Pall., *Lonicera caerulea* ssp. *altaica* (Pall.) Gladkova, *Malus domestica* Borkh.

Проанализирована систематическая и типологическая структура синантропной флоры. Объединение видов в условно однородные экологические группы со сходным отношением к конкретному фактору среды (увлажнению, каменистости субстрата) проводилось с учетом приуроченности к определенным типам местообитаний [46]. Эколого-ценотические группы выделены на основе полевых наблюдений. Флора западных низкогорий протестирована по шкалам гемеробиальности [47–50] и гемероботолерантности [51] с использованием интегрированной информационной системы IBIS (версия 7.2) [44, 52]. Названия видов в тексте приведены по сводке С.К. Черепанова [53].

Результаты исследования и обсуждение

Синантропная флора исследуемой территории по нашим данным содержит 272 вида из 173 родов и 41 семейства. Она включает 167 аборигенных видов апофитов, а также 105 чужеродных (адвентивных) видов. В числе адвентивных – 19 видов-инродуцентов, которые способны возобновляться на данной территории без участия человека (*Alcea rosea* L., *Helianthus annuus* L., *Phalaris canariensis* L. и др.) или длительно существовать на месте заброшенных усадеб и населенных пунктов (*Stachys byzantina* K. Koch, *Syringa vulgaris* L., *Tilia cordata* Mill.). Почти все эти виды распространены в пределах населенных пунктов (в основном в окрестностях г. Змеиногорска и п. Колывань).

Анализ таксономической структуры синантропной фракции проведен в сравнении с общим списком флоры (табл. 1). В синантропной фракции флоры помимо Asteraceae и Poaceae лидируют Brassicaceae, Chenopodiaceae, Lamiaceae, тогда как в семейственном спектре флоры в целом более высокий ранг у Fabaceae, Rosaceae, Cyperaceae.

Особенностью синантропной флоры является низкая доля участия семейства Cyperaceae; выход на лидирующие позиции Brassicaceae, Lamiaceae и Chenopodiaceae за счет однолетних видов. Семейства Aceraceae и Cuscut-

bitaceae во флоре западных низкогорий Алтая, также как и во флоре Алтайского края [35], представлены только адвентивными растениями. В родовом спектре преобладание какого-либо таксона не выявлено, равномерно представлены роды *Chenopodium* (8 видов); *Potentilla* (7); *Centaurea*, *Artemisia*, *Cirsium*, *Rumex* (по 6); *Cuscuta*, *Plantago*, *Trifolium* (включая *Amoria*) (по 5).

Таблица 1 [Table 1]

Ведущие семейства флоры западных низкогорий Алтая
[The leading families of the flora of the western lowlands of the Altai mountains]

Семейство [Family]	Синантропная фракция флоры [The synanthropic fraction of the flora]				Флора в целом [Flora in general]			
	Ранг семейства [Family rank]	Доля во флоре [Proportion in the flora], %	Количество родов [Number of genera]	Количество видов [Number of species]	Ранг семейства [Family rank]	Доля во флоре [Proportion in the flora], %	Количество родов [Number of genera]	Количество видов [Number of species]
Asteraceae	1	19,5	32	53	1	13,1	58	144
Brassicaceae	2	11,0	23	31	6	4,6	31	51
Poaceae	3	8,1	16	22	2	9,0	40	100
Chenopodiaceae	4–5	6,6	7	18	—	—	—	—
Lamiaceae	4–5	6,6	12	18	7	4,0	19	44
Fabaceae	6	5,5	6	15	3	5,8	14	64
Polygonaceae	7	4,8	5	13	—	—	—	—
Caryophyllaceae	8–9	4,0	10	11	8	4,0	21	44
Rosaceae	8–9	4,0	4	11	4	5,4	19	60
Boraginaceae	10	3,7	9	10	—	—	—	—
Cyperaceae	—	—	—	—	5	5,1	6	56
Ranunculaceae	—	—	—	—	9	3,9	18	43
Apiaceae	—	—	—	—	10	3,7	27	41
Итого [Total]	1–10	73,9	124	202	1–10	58,6	253	647

Примечание. Пропуск в ячейке означает, что семейство не входит в 10 ведущих.

[Note. Blank cells mean that the family is not included in the top 10].

Выявлены ареалогические особенности синантропной флоры западных низкогорий Алтая. Анализ проведен на основе современного расселения видов, в синантропной фракции выделено 11 типов ареалов (табл. 2).

В синантропной флоре западных низкогорий Алтая закономерно преобладают виды с обширными ареалами. Наиболее многочисленны голарктические и палеарктические виды, значительная доля приходится на западнопалеарктические и космополиты. Преобладание видов с широкими ареалами обусловлено их экологической пластичностью, позволяющей адаптироваться в новых условиях и способностью быстро расселяться на свободных территориях.

Виды с голарктическим типом ареала распространены в большинстве областей (в том числе гумидных и аридных) Голарктики (*Arabis glabra* (L.) Bernh., *Artemisia vulgaris* L., *Atriplex patula* L., *Chenopodium pratericola* Rydb., *Cuscuta epithymum* Murr., *Draba nemorosa* L., *Erigeron acris* L., *Fago-*

pyrum esculentum Moench, *Medicago lupulina* L., *Neslia paniculata* (L.) Desv., *Oenothera biennis* L., *Rhinanthus aestivalis* (N.W. Zinger) Schischk. et Serg., *Stellaria media* (L.) Vill., *Solanum nigrum* L., *Trifolium arvense* L., *Viola arvensis* Murray и др.).

Таблица 2 [Table 2]

**Распределение видов синантропной флоры западных низкогорий Алтая
по типам ареалов**

[Distribution of the synanthropic flora species of the western lowlands
of the Altai mountains according to the habitat types]

Тип ареала [Type of habitat]	Синантропная фракция флоры [The synanthropic fraction of the flora]		Чужеродные виды [Alien species]		Апофиты [Arophytes]	
	Коли- чество видов [Number of species]	Доля [Propor- tion], %	Коли- чество видов [Number of species]	Доля [Propor- tion], %	Коли- чество видов [Num- ber of species]	Доля [Propor- tion], %
Космополитный [Cosmopolite]	35	12,9	17	16,3	18	10,8
Голарктический [Holarctic]	66	24,4	28	26,9	38	22,8
Азиатско-американский [Asian-American]	1	0,3	0	0	1	0,6
Палеарктический [Palearctic]	56	20,7	14	13,5	42	25,1
Северопалеарктический [North Palearctic]	4	1,5	1	0,9	3	1,8
Южнопалеарктический [South Palearctic]	15	5,5	7	6,7	8	4,8
Восточнопалеарктический [East Palearctic]	15	5,5	3	2,9	12	7,2
Западнопалеарктический [West Palearctic]	50	18,1	20	18,3	30	17,9
Центральнопалеарктический [Central Palearctic]	9	3,3	5	4,8	4	2,4
Евросибирский [Euro-Siberian]	11	4,1	4	3,8	7	4,2
Азиатский [Asiatic]	10	3,7	6	5,9	4	2,4
Итого [Total]	272		105		167	

Палеарктические виды – широко распространенные в гумидных областях Палеарктики и в особых условиях субаридных и аридных регионов – в степях Европы и Казахстана, в горах Средней Азии, в Средиземноморье, в Малой Азии (*Agrostis gigantea* Roth, *Asperugo procumbens* L., *Brassica juncea* (L.) Czern., *Cannabis sativa* L., *Hyoscyamus niger* L., *Malva pusilla* Sm., *Melilotus albus* Medikus, *Poa angustifolia* L., *Sinapis arvensis* L., *Spergularia rubra* (L.) J. Presl et C. Presl, *Stachys annua* (L.) L., *Urtica urens* L. и др.). Кос-

мополиты – растения, встречающиеся во многих гумидных и аридных ботанико-географических областях Северного и Южного полушария (*Cardaria draba* (L.) Desv., *Datura stramonium* L., *Echinochloa crusgalli* (L.) P. Beauv., *Equisetum arvense* L., *Lepidium ruderae* L., *Matricaria recutita* L., *Poa annua* L., *Rorippa amphibia* (L.) Besser, *Sonchus asper* (L.) Hill, *S. oleraceus* L., *Taraxacum officinale* F.H. Wigg. и др.). Западнопалеарктические виды широко распространены в Европе, Средиземноморье, Малой и Средней Азии, Западной Сибири (*Atriplex tatarica* L., *Berteroia incana* (L.) DC., *Bryonia alba* L., *Carduus nutans* L., *Chenopodium polyspermum* L., *Cirsium vulgare* (Savi) Ten., *Euphorbia virgata* Waldst. et Kit., *Filago arvensis* L., *Geum urbanum* L., *Lappula squarrosa* (Retz.) Dumort., *Lapsana communis* L., *Lepidium latifolium* L., *Lithospermum officinale* L., *Melampyrum arvense* L., *Myosotis arvensis* (L.) Hill, *Salvia verticillata* L., *Verbascum phoeniceum* L. и др.).

Невелика доля восточнопалеарктических, распространенных по всем гумидным и аридным территориям Северной, Восточной и Центральной Азии (*Achillea asiatica* Serg., *Axyris amaranthoides* L., *Dracocephalum nutans* L., *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hylander, *Galeopsis bifida* Boenn., *G. ladanum* L., *Salsola australis* R. Br., *S. collina* Pall., *Urtica cannabina* L. и др.); южнопалеарктических, распространенных в субаридных и аридных областях Палеарктики (*Anthemis subtinctoria* Dobroc., *Caucalis platycarpus* L., *Centaurea diffusa* Lam., *Chenopodium botrys* L., *Fumaria schleicheri* Soy.-Will., *Lappula consanguinea* (Fisch. et C.A. Mey.) Guerke, *Lycopsis orientalis* L., *Ceratocephala testiculata* (Crantz) Besser, *Cirsium esculentum* (Siev.) C.A. Mey., *C. incanum* (S.G. Gmel.) Fisch., *Orobanche coerulescens* Stephan, *O. cumana* Wallr., *Plantago urvillei* Opiz, *Tragopogon dubius* Scop.); евросибирских, распространенных в бореальных областях Европы, Сибири, горах Северной Монголии и заходящих в северные районы степной области (*Alchemilla subcrenata* Buser, *Campanula sibirica* L., *Centaurea pseudophrygia* C.A. Mey., *Cirsium serrulatum* (M. Bieb.) Fisch., *Corispermum hyssopifolium* L., *Fumaria officinalis* L., *Linaria vulgaris* Mill., *Mentha suaveolens* Ehrh., *Nonea rossica* Steven, *Potentilla argentea* L., *Rhinanthus vernalis* (N.W. Zinger) Schischk. et Serg.) видов.

Самые малочисленные группы – центральнопалеарктическая, включающая виды широко распространенные в Евразийской степной области, Казахстане и Средней Азии (*Centaurea ruthenica* Lam., *Draba huetii* Boiss.); азиатская (*Anagallidium dichotomum* (L.) Griseb., *Artemisia sieversiana* Willd., *Axyris hybrida* L., *Chorispora sibirica* (L.) DC., *Eragrostis amurensis* Prob., *Euphorbia falcata* L.) и северопалеарктическая, в которую включены виды, распространенные преимущественно в бореальных областях Евразии. Они, как правило, отсутствуют в Средиземноморье, в Малой Азии, горах Средней Азии, в Центральной Азии (*Camelina microcarpa* Andr., *Crepis tectorum* L., *Galium uliginosum* L., *Potentilla norvegica* L.). Азиатско-американский вид только один (*Artemisia glauca* Pall. ex Willd.).

Большинство видов-интродуцентов к настоящему времени имеют широкие (космополитный – *Helianthus annuus*, *Mentha spicata* L., *Panicum miliaceum* L.; голарктический – *Acer negundo* L., *Armoracia rusticana* P.G. Gaertn., *Centaurea cyanus* L., *Helianthus tuberosus* L., *Solidago canadensis* L.; палеарктический – *Malva mauritiana* L.) ареалы. Небольшую группу составляют выходцы из азиатской части континента – *Salix ledebouriana* Trautv., *Malus baccata* (L.) Borkh., *Ulmus laevis* Pall., *U. pumila* L. Часть видов являются выходцами из различных областей Средиземноморья и европейской части континента – *Alcea rosea*, *Phalaris canariensis*, *Stachys byzantina*, *Syringa vulgaris*, *Tilia cordata*. Южнопалеарктический тип ареала имеет *Fraxinus lanceolata* Borkh.

Можно отметить, что среди чужеродных видов большая доля приходится на голарктические виды, тогда как среди апофитов преобладают палеарктические.

Географическое положение изучаемой территории определяет сочетание степных, лесостепных и таежных ландшафтов, и как результат – неравномерное распределение осадков и увлажнения в целом. Экологический анализ проведен для синантропной фракции в целом и ее отдельных частей (включающих апофиты и чужеродные виды) по двум факторам – отношение растений к условиям увлажнения (табл. 3) и каменистости субстрата.

Таблица 3 [Table 3]

**Распределение видов синантропной флоры западных низкогорий Алтая
по отношению к условиям увлажнения**
[Distribution of the synanthropic flora species of the western lowlands of
the Altai mountains according to the conditions of moistening]

Экологическая группа [Ecological group]	Синантропная фракция флоры [The synanthropic fraction of the flora]		Чужеродные виды [Alien species]		Апофиты [Apoophytes]	
	Количество видов [Number of species]	Доля [Proportion], %	Количество видов [Number of species]	Доля [Proportion], %	Количество видов [Number of species]	Доля [Proportion], %
Ксерофиты [Xerophytes]	16	5,9	8	7,7	8	4,8
Ксеромезофиты [Xeromesophytes]	123	45,4	44	42,3	79	47,4
Мезофиты [Mesophytes]	119	43,5	51	48,1	68	40,8
Мезогигрофиты [Mesohygrophytes]	13	4,8	2	1,9	11	6,6
Гигрофиты [Hygrophytes]	1	0,4	0	0	1	0,4

По отношению к фактору увлажнения выделены 5 экологических групп. Группа ксерофитов включает растения сухих местообитаний – каменистых

степей, сухих скальных обнажений, обочин дорог в степной части территории. Среди чужеродных видов это *Bromus squarrosus* L., *Centaurea diffusa*, *Chenopodium pratericola*, *Fumaria schleicheri*, *Lepidium densiflorum* Schrad., *Polycnemum arvense* L., *Polygonum rurivagum* Jordan, William Paul ex Boreau, *Salix ledebouriana*; апофиты, переходящие с сухих каменистых склонов на обочины дорог: *Agropyron pectinatum* (M. Bieb.) Beauv., *A. cristatum* (L.) Beauv., *Acinos arvensis* (Lam.) Dandy, *Artemisia frigida* Willd., *Nepeta ucranica* L.

Ксеромезофиты – это виды местообитаний с периодическим или постоянным (но небольшим) недостатком влаги, в том числе луговых степей и остепненных лугов, сосновых лесов, встречающиеся по обочинам дорог, в населенных пунктах. В синантропной флоре западных низкогорий Алтая эта группа преобладает. Из числа чужеродных видов к ней отнесены *Amaranthus blitoides* S. Watson, *Anchusa officinalis* L., *Atriplex sagittata* Borkh., *A. patula*, *Brassica campestris* L., *Bromus mollis* L., *Centaurea jacea* L., *Cichorium intybus* L., *Cirsium serrulatum*, *Conyza canadensis* (L.) Cronqist, *Corispermum hysopifolium*, *Cyclachaena xanthiifolia* (Nutt.) Fresen., *Datura stramonium*, *Draba huetii*, *Erucastrum armoracioides* (Czern. ex Turcz.) Cruchet, *Hyoscyamus niger*, *Isatis costata* C.A. Mey., *Lepidium latifolium*, *L. ruderales* L., *Medicago sativa* L., *Neslia paniculata*, *Onopordum acanthium* L., *Pastinaca sylvestris* Mill., *Potentilla recta* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Silene dichotoma* Ehrh., *Sinapis arvensis*, *Stachys annua*, *S. byzantina*, *Tragopogon dubius*, *Trifolium arvense*, *Ulmus pumila*, *Verbascum lychnitis* L., *Viola arvensis*, *Xanthium strumarium* L. Все эти виды распространены преимущественно в степных сообществах. *Artemisia absinthium* L., *Bunias orientalis* L., *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medikus, *Thlaspi arvense* L. встречаются по всей территории, включая горно-таежную. К группе отнесены также обитатели лугов и зарослей кустарников – *Carum carvi* L., *Centaurea scabiosa* L., *Echinops sphaerocephalus* L., *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Galium vaillantii* DC. et DC., *Knautia arvensis* (L.) J.M. Coult., *Melilotus officinalis* (L.) Pall., *Pimpinella saxifraga* L., *Verbascum thapsus* L., *Vicia cracca* L., *V. tenuifolia* Roth; виды, характерные для степей, в том числе петрофитных – *Anagallidium dichotomum*, *Androsace maxima* L., *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., *Camelina microcarpa*, *Cardaria draba*, *Chorispora sibirica*, *Dracocephalum nutans*, *Elytrigia lolioidea* (Kar. et Kir.) Nevski, *Erodium cicutarium* (L.) L'Her., *Linaria vulgaris*, *Potentilla bifurca* L., *P. canescens* Besser, *Teloxys aristata* (L.) Moq., *Verbascum phoeniceum*. Большинство этих видов также распространены в степных и лесостепных ландшафтах.

Мезофиты – растения, обитающие в условиях достаточного увлажнения, это виды луговых сообществ, травяного покрова лесов и некоторые древесные и кустарниковые породы. Из числа апофитов к этой группе отнесены лугово-лесные – *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop., *Cirsium serratuloides* (L.) Hill, *Dactylis glomerata* L., *Equisetum pratense* Ehrh., *Festuca pratensis* Huds., *Leucanthemum vulgare* Lam., *Plantago major* L., *Prunella vulgaris* L., *Rumex acetosa* L.; лесные – *Artemisia vulgaris*; луговые – *Alchemilla sub-*

crenata, *Chenopodium rubrum* L., *Equisetum arvense*, *Geranium sibiricum* L., *Humulus lupulus* L., *Lamium album* L., *Rumex crispus* L., *R. confertus* Willd., *Urtica dioica* L. Среди чужеродных видов доля мезофитов больше, чем среди апофитов. Это виды, произрастающие в долинных комплексах – *Amoria fragifera* (L.) Roskov, *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. et A. Gray, *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip.; виды, распространенные преимущественно возле жилья – *Acer negundo*, *Alcea rosea*, *Chenopodium botrys*, *Ch. suecicum* J. Murr., *Conium maculatum* L., *Fraxinus lanceolata*, *Helianthus annuus*, *H. tuberosus*, *Malus baccata*, *Malva mauritiana*, *Mentha spicata*, *M. suaveolens*, *Saponaria officinalis* L., *Solidago canadensis*, *Syringa vulgaris*, *Tilia cordata*, *Ulmus laevis*, *Urtica cannabina*, *U. urens*; виды обочин дорог *Echium vulgare* L., *Potentilla norvegica*, *Lepidothea suaveolens* (Pursh) Nutt., *Solanum nigrum*, *Sonchus asper*.

Мезогигрофиты – представители местообитаний с более высоким уровнем увлажнения, чем у типичных мезофитов (сырые леса, луга, прибрежные участки). В синантропной флоре таких видов немного. Они представлены в основном апофитами, разрастающимися на нарушенных местообитаниях в долинах рек и по берегам озер в результате стравливания скотом или из-за высокой рекреационной нагрузки – *Agrostis stolonifera* L., *Bidens tripartita* L., *Calystegia sepium* (L.) R. Br., *Carex leporina* L., *Galium uliginosum*, *Lycopus europaeus* L., *Persicaria lapathifolia* (L.) Gray, *Potentilla anserina* L., *Pulicaria vulgaris* Gaertn., *Rorippa palustris* (L.) Besser, *Stachys palustris* L. Из числа адвентивных – это *Armoracia rusticana* P.G. Gaertn., B. Mey. et Scherb., *Rorippa amphibia*.

В группу гигрофитов вошел только один вид – *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., обитающий по берегам водоемов и поселяющийся в сходных условиях на антропогенно преобразованных территориях – в канавах, по обочинам дорог, искусственных водоемах.

Анализ приуроченности видов к местообитаниям с различными условиями увлажнения выявил, что большинство видов синантропной флоры произрастает в условиях с небольшим недостатком влаги или достаточного увлажнения.

По отношению к каменистости субстрата выделены две экологические группы: факультативные петрофиты – виды, способные произрастать как на каменистых, так и на других субстратах; непетрофиты – виды, избегающие каменистых местообитаний. Непетрофитами являются 70,6% видов, однако значительная доля среди синантропных растений факультативных петрофитов (29,4%) указывает на преадаптированность этих видов к условиям антропогенных экотопов, проявляющуюся в способности занимать свободные ниши на каменистых и песчаных субстратах. Факультативные петрофиты из числа апофитов – это в основном степные виды, распространяющиеся по обочинам дорог, часто имеющих щебнистый субстрат, – *Acinos arvensis*, *Agropyron cristatum*, *Androsace maxima*, *Arabidopsis thaliana*, *Artemisia frigi-*

da, *A. scoparia* Waldst. et Kit., *Camelina microcarpa*, *Dracocephalum ruyschiana* L., *Erodium cicutarium*, *Erysimum marschallianum* Andrz., *Euphrasia pectinata* Ten., *Filago arvensis*, *Herniaria glabra* L., *Lappula consanguinea*, *Nepeta ucranica*, *Verbascum thapsus*. Из чужеродных видов, имеющих склонность расти на щербнистых субстратах и распространяющихся на исследуемой территории также по обочинам дорог, можно отметить *Arenaria viscida* Haller f. ex Loisel, *Caucalis platycarpus*, *Cichorium intybus*, *Corispermum hyssopifolium*, *Echium vulgare*, *Eragrostis amurensis*, *Fumaria schleicheri*, *Isatis costata*, *Lycopsis orientalis*, *Polycnemon arvense*, *Potentilla recta*.

Выполнен анализ эколого-ценотической структуры синантропной флоры. Выделены следующие флористические комплексы: рудеральный, степной, луговой, долинный, кустарниковый, лесной.

К рудеральному комплексу отнесены 105 адвентивных видов, так как они встречаются преимущественно на антропогенно нарушенных местообитаниях, а также 44 вида апофита. Эти растения не являются для региона в целом чужеродными, но в низкогорьях Западного Алтая обитают большей частью на антропогенных местообитаниях. Это широко распространенные *Amaranthus retroflexus* L., *Arctium lappa* L., *A. tomentosum* Mill., *Arenaria viscida*, *Artemisia sieversiana*, *Atriplex tatarica*, *Carduus crispus* L., *C. nutans* L., *Ceratocephala testiculata*, *Chelidonium majus* L., *Chenopodium album* L., *Ch. polyspermum*, *Ch. urbicum* L., *Cirsium incanum*, *C. vulgare* (Savi) Ten., *Convolvulus arvensis* L., *Cynoglossum officinale* L., *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl, *Dracocephalum thymiflorum* L., *Galeopsis bifida*, *Geum urbanum*, *Lactuca serriola* L., *Lappula squarrosa*, *Leonurus quinquelobatus* Gilib., *Malva pusilla*, *Melilotus albus*, *Myosotis arvensis*, *Nonea rossica*, *Persicaria scabra* (Moench) Moldenke, *Poa annua*, *Polygonum aviculare* L., *P. rurivagum*, *Potentilla supina* ssp. *paradoxa* (Nutt. ex Torr. et Gray) Sojak, *Psammophiliella muralis* (L.) Ikonn., *Pulicaria vulgaris*, *Rhinanthus vernalis* (N.W. Zinger) Schischk. et Serg., *Salsola australis*, *S. collina*, *Setaria pumila* (Poir.) Roem. et Schult., *S. viridis* (L.) P. Beauv., *Sisymbrium loeselii* L., *Spergularia rubra* (L.) J. Presl et C. Presl, *Urtica cannabina*, *U. urens* L.

Большая часть апофитов встречается и в составе естественных (или малонарушенных) сообществ. Таких видов 123. Мы проанализировали их приуроченность к различным флористическим комплексам.

Степной комплекс включает 34 вида, в том числе виды настоящих степей *Agropyron pectinatum*, *Campanula sibirica*, *Elytrigia lolioides*, *Lappula consanguinea* (Fisch. et C.A. Mey.) Guerke, *Orobancha cumana* Wallr., *Plantago urvillei*, *Salvia verticillata*, *Sisymbrium polymorphum* (Murray) Roth; петрофитных степей – *Acinos arvensis*, *Agropyron cristatum*, *Androsace maxima*, *Arabidopsis thaliana*, *Artemisia frigida*, *A. scoparia*, *Axyris hybrida*, *Erysimum cheiranthoides* L., *E. marschallianum*, *Nepeta ucranica*, *Orobancha coerulescens*, *Potentilla bifurca*, *P. canescens*, *Teloxys aristata*, *Verbascum phoeniceum*; виды каменистых осыпей и мелкоземистых площадок в гранитных скалах – *Arabis pendula* L., *Chenopodium hybridum* L., *Herniaria glabra*, *Plantago depressa* Schldtl.

Луговой комплекс представлен 22 видами, включает растения суходольных лугов – *Achillea millefolium* L., *Amoria repens* (L.) C. Presl, *Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub, *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth, *Carum carvi*, *Crepis tectorum*, *Cuscuta europaea* L., *Dracocephalum ruyschiana*, *Elytrigia repens*, *Knautia arvensis*, *Medicago falcata* L., *Melilotus officinalis*, *Plantago media* L., *Rumex thyrsoiflorus* Fingerh., *Taraxacum officinale*, *Trifolium pratense* L., *Vicia tenuifolia*; солонцеватых лугов – *Cirsium esculentum* (Siev.) C.A. Mey., *Melilotus dentatus* (Waldst. et Kit.) Pers., *Polygonum patulum* M. Bieb., *Rumex pseudonatronatus* (Borbrs) Borbrs ex Murb.

Долинный комплекс включает 23 вида, обитающих по берегам рек и озер, – *Agrostis stolonifera*, *Bidens tripartita*, *Carex leporina*, *Persicaria lapathifolia*, *Phragmites australis*, *Rorippa palustris*; виды пойменных комплексов (лесов, зарослей кустарников) – *Calystegia sepium*, *Galium uliginosum*, *Geranium sibiricum*, *Humulus lupulus*, *Lamium album*, *Lycopus europaeus*, *Stachys palustris*, *Urtica dioica*; виды сырых лугов по поймам рек и берегам озер (часто используемых под выпас) – *Alchemilla subcrenata*, *Cirsium setosum* (Willd.) Besser, *Potentilla anserina*, *Rumex confertus*, *R. crispus*, *Plantago major*; вид, предпочитающий сырые тенистые овраги, обрывы, – *Tussilago farfara* L.

Кустарниковый комплекс (34 вида) крайне неоднороден, в него включены виды кустарниковых зарослей – *Cuscuta lupuliformis* Krock., *Echinops sphaerocephalus*, *Fallopia convolvulus* (L.) A. Love, *Galium vaillantii* DC. et DC., *G. mollugo* L., *Geum aleppicum* Jacq., а также некоторые луговые – *Arabis glabra*, *Centaurea scabiosa*, *Cerastium holosteoides* Fr., *Euphorbia virgata*, *Hieracium umbellatum* L., *Medicago lupulina*, *Melandrium album* (Mill.) Garcke, *Oberna behen* (L.) Ikonn., *Odontites vulgaris* Moench, *Pimpinella saxifraga*, *Sonchus arvensis* L., *Verbascum thapsus*, *Vicia cracca*, *V. sepium* L. и лугово-степные виды – *Achillea asiatica*, *Anagallidium dichotomum*, *Anthemis subtinctoria*, *Artemisia glauca* Pall. ex Willd., *Cerastium arvense* L., *Euphrasia pectinata*, *Linaria vulgaris*, *Lithospermum officinale*, *Poa angustifolia*, *Potentilla argentea*, *Onobrychis arenaria* (Kit.) DC., чаще встречающиеся на исследуемой территории в зарослях кустарников.

Лесной комплекс составляют 10 видов. Собственно лесных видов не выявлено, комплекс представлен растениями лесных лугов и опушек – *Chamaenerion angustifolium*, *Cirsium serratuloides*, *Dactylis glomerata*, *Equisetum pratense*, *Festuca pratensis*, *Jacobaea vulgaris* Gaertn., *Leucanthemum vulgare*, *Prunella vulgaris*, *Rumex acetosa*, *R. acetosella* L.

В составе апофитов преобладают виды степного (27,6%) и кустарникового (27,6%) комплексов. Затем следуют виды долинного (18,7%) и лугового (17,9%) комплексов, лесной (8,2%) самый малочисленный. Широкое распространение степных и луговых видов на рудеральных местообитаниях связано и с тем, что степная часть территории западных низкогорий Алтая наиболее антропогенно трансформирована – степные пространства распашаны, луговые и пойменные, а также неудобья (сопочные массивы) исполь-

зуются под выпас. Лесные комплексы также подвергаются антропогенному воздействию. В горно-лесной части территории антропогенные местообитания – это вырубки и лесные дороги, территории небольших населенных пунктов (иногда уже нежилых), а также туристические стоянки и тропы (в районе г. Синюха и оз. Белое). Добыча полезных ископаемых носит здесь локальный характер. Нарушенные в результате ее земли – это отвалы горнорудного производства и карьеры от добычи поделочных камней и строительных материалов.

В синантропной флоре западных низкогорий Алтая 31 вид включен в Черную книгу флоры Сибири [45]. В их числе:

– Виды-«трансформеры» (статус 1), которые активно внедряются в естественные и полуестественные сообщества, изменяют облик экосистем, нарушают сукцессионные связи, выступают в качестве эдификаторов и доминантов, образуют значительные по площади одновидовые заросли, вытесняют или препятствуют возобновлению видов природной флоры, – *Echinocystis lobata*, разрастающийся в поймах рек, у жилья, на пустырях; *Acer negundo*, произрастающий в населенных пунктах, лесополосах, у дорог, в пойменных лесах; *Solidago canadensis* на исследуемой территории пока не выходит за пределы поселений.

– Чужеродные виды (статус 2), активно расселяющиеся и натурализующиеся в нарушенных полуестественных и естественных местообитаниях, – *Centaurea diffusa* и *C. jacea*, довольно широко распространены на исследуемой территории на залежах, где могут образовывать почти монодоминатные заросли, по обочинам дорог, на лугах и лесных полянах; *Conyza canadensis*, *Cyclachaena xanthiifolia* распространяются вдоль дорог и в населенных пунктах; *Medicago sativa*, *Pastinaca sylvestris*, *Tripleurospermum inodorum*, растущие по обочинам дорог, в населенных пунктах, встречаются часто в зарослях кустарников и по лугам; *Armoracia rusticana* культивируется, дичает по мусорным местам, у жилья; *Ulmus laevis*, *U. pumila* еще не столь активно расселяются по территории, их можно обнаружить близ населенных пунктов и мест посадок.

– Чужеродные виды (статус 3), расселяющиеся и натурализующиеся в настоящее время в нарушенных местообитаниях, – *Echinochloa crusgalli*, встречающийся в основном по окраинам полей; *Amoria hybrida* (L.) C. Presl, *Conium maculatum*, *Echium vulgare*, *Hordeum jubatum* L., *Plantago lanceolata* L., *Sisymbrium officinale* (L.) Scop., произрастающие на залежах, у жилья, дорог; *Helianthus tuberosus* культивируется, дичает по мусорным местам в пределах населенных пунктов.

– Потенциально инвазионные виды (статус 4), способные к возобновлению в местах заноса и проявившие себя в других регионах Сибирского федерального округа в качестве инвазионных, – *Atriplex sagittata*, *Axyris amaranthoides*, *Lactuca serriola*, *Lepidium densiflorum*, встречающиеся у жилья и по обочинам дорог; в основном в пределах населенных пунктов произрастает

Lepidotheca suaveolens; культивируются, дичают по мусорным местам, у жилья, в лесополосах, у дорог *Saponaria officinalis*, *Malus baccata*; по берегам рек, в зарослях кустарников произрастают *Cuscuta europaea*, *C. lupuliformis*; находки на территории *Cuscuta approximata* Bab., *C. campestris* Yuncker. пока единичны.

К потенциально инвазионным можно отнести два вида – *Cirsium serratulatum*, *C. vulgare*, которые распространяются вдоль дорог с сопредельной территории Казахстана. Также мы отмечаем в последние годы активное расселение по обочинам дорог апофита *Echinops sphaerocephalus*.

В целом адвентивные виды во флоре западных низкогорий Алтая составляют 11,6% (с учетом 26 видов, не включенных в анализ, см. выше). Во флоре Алтайского края чужеродные виды составляют 13,7% [54]; Республики Алтай – 10,6% [55, 56]; Кемеровской области – 11% [57]; Байкальской Сибири – 13% [58]. В региональных флорах Восточной Европы доля адвентивных видов доходит до 20–25% [59], например, адвентивная флора Московской области насчитывает около 25% от общего числа видов сосудистых растений [60]. В мировом масштабе для 56% материковых регионов доля натурализованных пришельцев не превышает 10%, и только 2% территорий (умеренные и субтропические области Северной Америки и Австралии) характеризуются высокими уровнями натурализации адвентивных растений – 40% и выше [61]. Число заносных видов зависит от площади территории, широтного градиента, длительности периода, в течение которого происходит занос новых видов, степени урбанизации. Так, в лесных экосистемах Европы выявлено в общей сложности 386 чужеродных видов (что составляет 7% всех зарегистрированных сосудистых растений) [62], тогда как адвентивная фракция в городских флорах Средней Европы составляет 40,3% [59].

Флора западных низкогорий Алтая протестирована по шкалам гемеробиальности [44, 52] и гемероботолерантности [51]. По шкале Н.Г. Ильминских определены 656 видов (58,5% от флоры исследуемой территории); шкале М.М. Черосова, Б.Н. Пестрякова, разработанной для Якутии [50], – 515 (46,6%); шкале немецких исследователей С. Клотца, В. Кюника, Д. Франка [47–49] – 521 (47,2%). В их числе аборигенные виды – 50,6; 43,1; 39,7% соответственно. Эти шкалы разработаны для территорий, отличных по климатическим (как отмечалось ранее [50], в условиях Якутии степень гемеробии многих видов изменяется) и экономическим условиям, и не могут использоваться для характеристики флоры западных низкогорий Алтая. Высокое соответствие демонстрирует амплитудно-оптимальная шкала гемероботолерантности, разработанная для юга Сибири [51], где представлены данные для 1 015 видов (91,9%) исследуемой флоры; в их числе аборигенные растения – 92,8%. Тестовый вариант шкалы представлен в программе IBIS (версия 7.2), неполные (предварительные) статусы имеют 100 видов исследуемой флоры. Интегральный индекс нарушенно-

сти для флоры западных низкогорий Алтая – 3,5% (9 градаций в шкале), ее апофитной фракции – 3,3. В составе синантропной фракции флоры западных низкогорий Алтая существенно возрастает доля высокотолерантных видов, что показывает распределение оптимумов индикаторов по градациям шкалы (табл. 4).

Таблица 4 [Table 4]

**Распределение оптимумов индикаторов по градациям
шкалы гемероботолерантности**
[Distribution of indicator optimums on the hemeroby scale], %

Градация шкалы гемероботолерантности [Grades of the hemeroby scale (1-9)]	Флора юга Сибири [Flora of the south of Siberia]*	Флора западных низкогорий Алтая в целом [Flora of the western lowlands of the Altai mountains, in general]	Синантропная фракция флоры [The synanthropic fraction of the flora]
1	3,262	5,520	0,368
2	24,185	31,855	6,985
3	16,474	22,443	9,191
4	10,346	8,959	6,985
5	7,084	5,973	9,191
6	9,621	5,430	13,603
7	9,720	5,158	17,279
8	7,545	6,063	22,794
9	2,273	0,453	0,735
Статус не определен [Undefined status]	0	8,145	12,868

* Данные для юга Сибири [51] рассчитаны для 2 747 таксонов-индикаторов.

[* Data for the south of Siberia [51] were calculated for 2 747 indicator taxons].

Наиболее высокие показатели гемероботолерантности (градации 8 и 9) у 65 видов синантропной флоры, в их числе апофиты (*Artemisia sieversiana*, *A. vulgaris*, *Bromopsis inermis*, *Carduus crispus*, *Chelidonium majus*, *Chenopodium album*, *Cirsium setosum*, *Convolvulus arvensis*, *Crepis tectorum*, *Galeopsis bifida*, *Geranium sibiricum*, *Lappula squarrosa*, *Persicaria scabra*, *Polygonum aviculare*, *Taraxacum officinale* и др.) и 28 адвентивных растений (*Conium maculatum*, *Conyza canadensis*, *Echinochloa crusgalli*, *Echinocystis lobata*, *Echium vulgare*, *Lepidium ruderae*, *Medicago sativa*, *Panicum miliaceum*, *Pastinaca sylvestris*, *Tragopogon dubius*, *Tripleurospermum inodorum*). В то же время для 32 адвентивных видов статус гемероботолерантности на юге Сибири пока не определен; в их числе как изредка единично или небольшими зарослями встречающиеся (*Anchusa officinalis*, *Asperugo procumbens*, *Bromus squarrosus*, *Cuscuta campestris*, *C. epithymum*, *Datura stramonium*, *Draba huetii*, *Lapsana communis*, *Lycopsis orientalis*, *Silene dichotoma*), так и образующие обширные заросли виды (*Cyclachaena xanthiifolia*, *Euphorbia falcata*, *Galium vaillantii*, *Solidago canadensis*).

Доля адвентивных видов во флоре, а также анализ по шкале гемеробото-

лерантности свидетельствуют о невысокой степени трансформации флоры западных низкогорий Алтая, несмотря на то, что данная территория используется в сельском хозяйстве и горнодобывающей промышленности более 300 лет. Причинами, сдерживающими распространение синантропных растений, являются отсутствие крупных авто- и ж.-д. магистралей и низкий уровень урбанизации. Интенсивное развитие туристической инфраструктуры может привести к увеличению антропогенной трансформации флоры.

Заключение

Таким образом, установлено, что современный состав синантропной флоры западных низкогорий Алтая включает 272 вида, из которых 105 являются чужеродными, а 167 апофитами. Анализ таксономической структуры показал, что спектр ведущих семейств синантропной фракции близок к таковому генеральной совокупности флоры, но его структура изменяется – понижается ранг Poaceae, Fabaceae, Rosaceae, Cyperaceae; на лидирующие позиции выходят Brassicaceae, Lamiaceae, Chenopodiaceae. Анализ типологических элементов синантропной флоры выявил, что это главным образом широкоареальные виды (голарктические, палеарктические, западнопалеарктические, космополиты), предпочитающие местообитания с небольшим периодическим недостатком влаги или с достаточным увлажнением, – ксеромезофиты и мезофиты; две трети от общего числа являются непетрофитами. Данные эколого-ценотического анализа показывают, что 55% аборигенных видов апофитов, переходящих на антропогенные местообитания, относятся к степному и кустарниковому комплексам. Доля адвентивных видов (11,6%) и данные анализа по шкале гемероботолерантности свидетельствуют о невысокой степени антропогенной трансформации флоры западных низкогорий Алтая.

Литература

1. Falinski J.B. Synanthropization of plant cover : synanthropic flora and vegetation of towns connected with their natural condition history and function // *Materialy Zakladu Fitosocjologii Stosowanej Univ. Warszawa*. 1971. T. 2. S. 21–37.
2. Чопик В.И. Флора и технический прогресс // *Ботанический журнал*. 1972. Т. 57, № 3. С. 281–289.
3. Горчаковский П.Л. Тенденции антропогенных изменений растительного покрова Земли // *Ботанический журнал*. 1979. Т. 64, № 12. С. 1697–1714.
4. Малышев Л.И. Изменение флор земного шара под влиянием антропогенного давления // *Научные доклады высшей школы. Биологические науки*. 1981. № 3. С. 5–20.
5. Вульф Е.В. Введение в историческую географию растений. М. ; Л. : Сельхозгиз, 1933. 415 с.
6. Туганаев В.В., Пузырев А.Н. Гемерофиты Волжско-Камского междуречья. Свердловск : Изд-во Уральского ун-та, 1988. 128 с.
7. Миркин Б.М., Розенберг Г.С., Наумова Л.Г. Словарь понятий и терминов современной фитоценологии. М. : Наука, 1989. 223 с.

8. Дорогостайская Е.В. Сорные растения Крайнего Севера СССР // Растительность Крайнего Севера СССР и ее освоение / под ред. Б.А. Тихомирова. Л. : Наука, 1972. Вып. 13. 172 с.
9. Виноградова Ю.К., Майоров С.Р., Хорун Л.В. Черная книга Средней России (Чужеродные виды растений в экосистемах Средней России). М. : ГЕОС, 2009. 494 с.
10. Лысенко Д.С. Синантропная флора Магаданской области. Магадан : СВНЦ ДВО РАН, 2012. 111 с.
11. Третьякова А.С., Мухин В.А. Синантропная флора Среднего Урала. Екатеринбург, 2001. 148 с.
12. Sukopp H. On the early history of urban ecology in Europe // Preslia. 2002. Vol. 74. PP. 373–393.
13. Thellung A. Zur Terminologie der Adventiv- und Ruderal floristic // Allgemeine Botanische Zeitschrift. 1922 (1918–1919). Bd. 24–25. S. 36–42.
14. Вынаев Г.В., Третьяков Д.И. Классификации антропофитов и новых для флоры БССР интродуцированных видов растений // Ботаника: (Исследования). 1979. Вып. 21. С. 62–72.
15. Ключевые ботанические территории Алтае-Саянского экорегиона: опыт выделения / под ред. И.Э. Смелянского, Г.А. Пронькиной. Новосибирск : Гео, 2009. 260 с.
16. Смелянский И., Егорова А., Королук А. Предгорья Рудного Алтая – ключевой степной регион международного значения // Степной бюллетень. 2005. № 19. С. 4–11.
17. Энциклопедия Алтайского края / под ред. В.Т. Мищенко. Барнаул : Алтайское книжное изд-во, 1996. Т. 2. С. 67–213.
18. Алтай : путеводитель / под ред. С. Чесновицкой. М. : Авангард, 1999. С. 122–124.
19. Силантьева М.М. Этапы антропогенной трансформации растительного покрова, использования растительных ресурсов и динамика формирования адвентивного элемента флоры на территории Алтайского края // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии : материалы V Международной научно-практической конференции, 21–23 ноября 2006 г. Барнаул : АзБука, 2006. С. 218–252.
20. Красная книга Алтайского края : Особо охраняемые природные территории. 2-е изд. / И.В. Андреева, В.А. Балашова, О.Н. Барышникова, Д.М. Безматерных, С.А. Бондаревская, М.В. Бурмистров, А.А. Ваганов, В.К. Винстингаузен, А.В. Волынкин, А.Г. Вотинов, О.Я. Гармс, П.В. Голяков, А.Е. Гребенникова, Е.А. Давыдов, А.Н. Дубров, А.А. Дубров, Д.А. Дурников, Н.В. Елесова, О.Н. Жихарева, В.Б. Журавлев, Д.В. Золотов, А.Г. Иноземцев, Н.Л. Ирисова, М.В. Катернюк, А.В. Кечайкин, Т.М. Копытина, А.Ю. Королук, П.А. Косачев, А.Н. Куприянов, М.Г. Куцев, О.Н. Мироненко, А.А. Миронова, О.М. Маслова, Н.В. Овчарова, Е.Г. Папамонов, В.Ю. Петров, С.Г. Платонова, Е.В. Репетунова, И.Н. Ротанова, Д.В. Рыжков, Г.В. Силантьев, М.М. Силантьева, Р.Г. Скалозубов, Е.Ю. Скачко, В.В. Скрипко, И.Э. Смелянский, С.В. Смирнов, В.П. Соловов, Т.О. Стрельникова, Т.А. Терехина, И.А. Хрусталева, И.Г. Чухина, Ю.Г. Швецов, А.И. Шмаков, А.А. Шибанова, А.А. Шорина, К.С. Щербинин, Т.П. Ясюченя. Барнаул, 2009. Т. 3. С. 218–223.
21. Романов А.Н., Харламов С.В. Колыванский хребет : путеводитель. Барнаул : РЭМ, 2002. 78 с.
22. Харламов С.В., Корчагин П.А. Туризм и отдых в юго-западной части Алтайского края. Барнаул : Азбука, 2005. 124 с.
23. Алтай туристический / под ред. М.П. Щетинина. Барнаул : Красный угол, 2011. 223 с.
24. Шошина Н.А., Хомякова О.В. Туристско-рекреационные ресурсы Горной Колывани // Вестник алтайской науки. 2008. № 3. С. 95–101.
25. Гармс О.Я. Приоритеты национального парка «Горная Колывань» // География – теория и практика, современные проблемы и перспективы : материалы Всероссийской

- научно-практической конференции с участием иностранных ученых, 15–18 апреля 2009 г. Барнаул : Изд-во Алтайского гос. ун-та, 2009. С. 71–73.
26. Занин Г.В. Геоморфология Алтайского края (без Горно-Алтайской АО) // Природное районирование Алтайского края. М. : Изд-во АН СССР, 1958. Т. 1. С. 62–98.
27. Атлас. Алтайский край / отв. ред. И.П. Заруцкая. Москва ; Барнаул : ГУГК, 1978. Т. 1. 222 с.
28. Огуреева Г.Н. Ботаническая география Алтая. М. : Наука, 1980. 188 с.
29. Сляднев А.П., Фельдман Я.И. Важнейшие черты климата Алтайского края // Природное районирование Алтайского края. М. : Изд-во АН СССР, 1958. С. 9–61.
30. Бочарников М.В. Ценотическое разнообразие и разномасштабное картографирование растительности Западного Алтая // Растительный мир Азиатской России. 2017. № 1 (25). С. 86–97. doi :10.21782/RMAR1995-2449-2017-1(86-97)
31. Куминова А.В. Растительный покров Алтая. Новосибирск : Наука, 1960. 450 с.
32. Крылов Г.В., Салатова Н.Г. История ботанических и лесных исследований в Сибири и на Дальнем Востоке. Новосибирск : Наука, 1969. 276 с.
33. Крылов Г.В., Завалишин В.В., Козакова Н.Ф. Исследователи Западной Сибири. Новосибирск : Новосибирское книжное изд-во, 1988. 352 с.
34. Эбель А.Л. Конспект флоры северо-западной части Алтае-Саянской провинции. Кемерово : КРЭОО «Ирбис», 2012. 568 с.
35. Силантьева М.М. Конспект флоры Алтайского края. Барнаул : Изд-во Алтайского ун-та, 2013. 518 с.
36. Маслова О.М. Конспект флоры западных низкогорий Алтая // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. Барнаул, 2003. Вып. 9. С. 3–50.
37. Копытина Т.М., Терехина Т.А., Некрасова Н.В. Конспект флоры города Змеиногорска Алтайского края и его окрестностей // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. Барнаул, 2003. Вып. 9. С. 74–87.
38. Клещева Е.А., Королюк А.Ю., Лашинский Н.Н. Флористические находки в Новосибирской области и на юге Алтайского края // Turczaninowia. 2005. Т. 8 (2). С. 30–34.
39. Усик Н.А. Новые сведения о местонахождениях редких видов флоры Алтайского края // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии: сборник научных статей по материалам XIII Международной научно-практической конференции, 20–23 октября 2014 г. Барнаул : Концепт, 2014. С. 247–250.
40. Ульянова Т.Н. Сорные растения во флоре России и сопредельных государств. Барнаул : Изд-во Алтайского ун-та, 2005. 294 с.
41. Никитин В.В. Сорные растения флоры СССР. Л. : Наука, 1983. 452 с.
42. Терехина Т.А. Антропогенные фитосистемы. Барнаул : Изд-во Алтайского ун-та, 2000. С. 179–216.
43. Пяк А.И., Мерзлякова И.Е. Сосудистые растения г. Томска. Томск : Изд-во Том. ун-та, 2000. 80 с.
44. Зверев А.А. Использование шкал гемеробильности и урбанитета для оценки антропогенной трансформации флоры и растительности // Проблемы промышленной ботаники индустриально развитых регионов: материалы II Российской научной конференции с международным участием, 24–25 ноября 2009 г. Кемерово : КРЭОО Ирбис, 2009. С. 52–59.
45. Эбель А.Л., Куприянов А.Н., Стрельникова Т.О. Анкипович Е.С., Антипова Е.М., Антипова С.В., Буко Т.Е., Верховина А.В., Доронькин В.М., Ефремов А.Н., Зыкова Е.Ю., Кирина А.О., Ковригина Л.Н., Ламанова Т.Г., Михайлова С.И., Ножинков А.Е., Пликина Н.В., Силантьева М.М., Степанов Н.В., Тарасова И.В., Терехина Т.А., Филипова А.В., Хрусталева И.А., Шауло Д.В., Шереметова С.А. Черная книга флоры Сибири / науч. ред. Ю.К. Виноградова ; отв. ред. А.Н. Куприянов. Новосибирск : Гео, 2016. 440 с.

46. Горышина Т.К. Экология растений. М. : Высш. шк., 1979. 365 с.
47. Kunick W. Veränderungen vof Flora und Vegetation einer Großderstadt, dargestellt am Beispiel von Berlin (West) : Diss. Berlin : Technische Universität Berlin, 1974.
48. Klotz S. Phytoökologische Beiträge zur Charakterisierung und Gliederung urbaner Ökosysteme, dargestellt am Beispiel der Städte Halle und Halle-Neustadt: Diss. Halle : MartinLuter-Universität, 1984.
49. Frank D., Klotz S. Biologisch-ökologische Daten zur Flora der DDR. Halle-Wittenberg: MartinLuter-Universität, 1990. 167 S.
50. Пестряков Б.Н., Черосов М.М., Ишбирдин А.Р. Гемеробиальность растений Якутии // Научные ведомости Белгородского университета. Серия Естественные науки. 2011. Т. 15, № 9–1 (104). С. 131–135.
51. Зверев А.А., Шереметова С.А., Шереметов Р.Т. Шкала гемероботолерантности растений как инструмент для анализа флористических данных в рамках бассейнового подхода // Проблемы промышленной ботаники индустриально развитых регионов: материалы V Международной конференции, 2–3 октября 2018 г. Кемерово : ФИЦ УУХ СО РАН, 2018. С. 20–26.
52. Зверев А.А. Информационные технологии в исследованиях растительного покрова : учеб. пособие. Томск : ТМЛ-Пресс, 2007. 304 с.
53. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). Русское издание. СПб. : Мир и семья–95, 1995. 991 с.
54. Силантьева М.М. Адвентивные виды растений во флоре Алтайского края // Флора и растительность антропогенно нарушенных территорий. Кемерово, 2010. Вып. 6. С. 45–48.
55. Определитель растений Республики Алтай / отв. ред. И.М. Красноборов, И.А. Артемов. Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2012. 701 с.
56. Зыкова Е.Ю. Адвентивная флора Республики Алтай // Растительный мир Азиатской России. 2015. № 3 (19). С. 72–87.
57. Манаков Ю.А., Стрельникова Т.О., Куприянов А.Н. Формирование растительного покрова в техногенных ландшафтах Кузбасса. Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2011. 167 с.
58. Верховина А.В. Антропогенная трансформация флоры Байкальской Сибири // Синантропизация растений и животных: материалы Всероссийской конференции с международным участием, 21–25 мая 2007 г. Иркутск : Изд-во Института географии СО РАН, 2007. С. 13–15.
59. Морозова О.В. Участие адвентивных видов в разнообразии и структуре флор Восточной Европы // Известия РАН. Серия географическая. 2003. № 3. С. 63–71.
60. Игнатов М.С., Макаров В.В., Чичев А.В. Конспект флоры адвентивных растений Московской области // Флористические исследования в Московской области / отв. ред. А.К. Скворцов. М. : Наука, 1990. С. 5–105.
61. Pyšek P., Pergl J., Essl F., Lenzner B., Dawson W., Kreft H., Weigelt P., Winter M., Kartesz J., Nishino M., Antonova L.A., Barcelona J.F., Cabezas F.J., Cárdenas D., Cárdenas-Toro J., Castaño N., Chacón E., Chatelain C., Dullinger S., Ebel A.L., Figueiredo E., Fuentes N., Genovesi P., Groom Q.J., Henderson L., Inderjit, Kupriyanov A., Masciadri S., Maurel N., Meerman J., Morozova O., Moser D., Nickrent D., Nowak P.M., Pagad S., Patzelt A., Pelser P.B., Seebens H., Shu W., Thomas J., Velayos M., Weber E., Wieringa J.J., Baptiste M.P., van Kleunen M. Naturalized alien flora of the world: species diversity, taxonomic and phylogenetic patterns, geographic distribution and global hotspots of plant invasion // Preslia. 2017. Vol. 89, № 3. PP. 203–274. doi: 10.23855/preslia.2017.203
62. Wagner V., Chytrý M., Jiménez-Alfaro B., Perg J., Hennekens S., Biurrun I., Knollová I., Berg C., Vassiliev K., Rodwell J.S., Škvorec Ž., Jandt U., Ewald J., Jansen F., Tsiripidis I., Botta-Dukát Z., Casella L., Attorre F., Rašomavičius V., Čuštèrevska R., Schaminée J.H.J., Brunet J., Lenoir J., Svenning J.-C., Kačzi Z., Petrášová-Šibíková M., Šilc U., García-

Mijangos I., Campos J.A., Fernández-González F., Wohlgemuth T., Onyshchenko V., Pyšek P. Alien plant invasions in European woodlands // Diversity and Distributions. 2017. № 23. PP. 969–981. doi: 10.1111/ddi.12592

Поступила в редакцию 12.07.2018 г.; повторно 21.12.2018 г.; 31.05.2019 г.;
принята 19.07.2019 г.; опубликована 27.09.2019 г.

Авторский коллектив:

Маслова Ольга Михайловна – ст. преп. кафедры рекреационной географии, туризма и регионального маркетинга, географический факультет, Алтайский государственный университет (Россия, 656002, г. Барнаул, пр. Ленина, 61).

E-mail: maslova@geo.asu.ru

Хрусталева Ирина Артуровна – канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории экологической оценки и управления биоразнообразием отдела «Кузбасский ботанический сад», Институт экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН (Россия, 650065, г. Кемерово, пр. Ленинградский, 10).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6451-0152>

E-mail: atrimplex@rambler.ru

Стрельникова Татьяна Олеговна – канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории экологической оценки и управления биоразнообразием отдела «Кузбасский ботанический сад», Институт экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН (Россия, 650065, г. Кемерово, пр. Ленинградский, 10).

E-mail: strelnikova21@yandex.ru

For citation: Maslova OM, Khrustaleva IA, Strelnikova TO. Synanthropic flora of the western lowlands of the Altai mountains. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2019;47:74-102. doi: 10.17223/19988591/47/5 In Russian, English Summary

Olga M. Maslova¹, Irina A. Khrustaleva², Tatiana O. Strelnikova²

¹ Altai State University, Barnaul, Russian Federation

² Institute of Human Ecology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

Synanthropic flora of the western lowlands of the Altai mountains

The aim of the research was to study the composition and the characteristics of the synanthropic flora of the western lowlands of the Altai mountains. The territory is located in the north-west of the Altai mountains (*See Fig. 1*). It is represented by the Kolyvan Ridge and a part of the adjacent Pre-Altai Plain with low stony arrays along the Alei river, the Loktevka river, the Belaya river and the Charysh River (within geographical coordinates 50°45'-51°45'N, 81°35'-82°46'E). About 300 years ago, on this territory there were discovered deposits of non-ferrous metals and ornamental stones. The start of mining originated from the beginning of deforestation and plowing of the adjacent steppe territories. Besides agricultural use, touristic and recreational use of the territory is being intensively developed nowadays. However, the western lowlands of the Altai mountains are the main areas for keeping the biological diversity of the Altai-Sayan region, especially the steppe biome. Therefore, synanthropic plants of this region need to be studied due to the anthropogenic pressure on natural ecosystems that creates a problem today.

We have been studying the synanthropic flora of the western lowlands of the Altai mountains since 1996. This research includes the results of our field studies published earlier [Maslova OM, 2003] and recently (the herbarium is kept at ALTB and KUZ), as well as data of other researchers [Ebel AL, 2012; Silant'eva MM, 2013; Kopitina TM, Terehina TA and Nekrasova NV, 2003; Kleshcheva E, Korolyuk A and Lashchinsky N,

2005; Usik NA, 2014]. In the synanthropic flora, we included species which are adventive on the studied area and apophytes encountered in disturbed habitats. We analyzed systematic and typological structure of the synanthropic flora to identify its characteristics. The flora of the western lowlands was tested according to hemerobility [Kunick W, 1974; Klotz S, 1984; Frank D and Klotz S, 1990; Pestryakov BN, Cherosov MM and Ishbirdin AR, 2011] and hemeroby [Zverev AA, Sheremetova SA and Sheremetov RT, 2018] scales in the app IBIS (version 7.2).

We established that the flora of the western lowlands of the Altai mountains is represented by 1105 species, 455 genera and 109 families of vascular plants. The synanthropic fraction of the flora embraces 272 species, 173 genera and 41 families. Families Asteraceae, Brassicaceae, Poaceae, Chenopodiaceae, Lamiaceae are prevalent while Fabaceae, Rosaceae, Cyperaceae are losing their leading positions, traditional for the natural flora (See Table 1). Such genera as *Chenopodium* (8 species); *Potentilla* (7); *Centaurea*, *Artemisia*, *Cirsium*, *Rumex* (6 species each); *Cuscuta*, *Plantago* and *Trifolium* (including *Amoria*) (5 species each) are equally represented. The arealological analysis was carried out on the basis of the modern settlement of species; 11 types of areas were identified in the synanthropic fraction (See Table 2). Among alien species, Holarctic species hold the first place while Palearctic species prevail among apophytes. Ecological analysis was executed for the synanthropic fraction as a whole and its individual parts (apophytes and alien species) for two factors: the relation of plants to the conditions of moistening (See Table 3) and the stony substrate. In the synanthropic flora, xeromesophytes and mesophytes are prevalent. According to the stony factor of the substrate, two ecological groups were revealed: optional petrophytes (29.4%) and non-petrophytes (70.6%). There were 6 floristic complexes identified in the eco-coenotic structure of the synanthropic flora: ruderal, steppe, meadow, valley, shrub and forest. 105 adventive species and 44 apophytes are attributed to the ruderal complex. These are plants that are widespread in the anthropogenic habitats. Among them are apophytes, such as *Amaranthus retroflexus* L., *Arctium lappa* L., *Carduus crispus* L., *Chelidonium majus* L., *Chenopodium album* L., *Convolvulus arvensis* L., *Cynoglossum officinale* L., *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl, *Dracocephalum thymiflorum* L., *Lactuca serriola* L., *Polygonum aviculare* L., *Psammophilis muralis* (L.) Ikonn., *Setaria pumila* (Poir.) Roem. et Schult., *Sisymbrium loeselii* L., and *Spergularia rubra* (L.) J. Presl et C. Presl. Some apophytes (123) are also found in natural (or intact) communities. The steppe complex includes 34 species encountered in common (*Lappula consanguinea* (Fisch. et C.A. Mey.) Guerke, *Orobancha cumana* Wallr., *Sisymbrium polymorphum* (Murray) Roth) and stony steppes (*Artemisia frigida* Willd., *Erysimum cheiranthoides* L., *Potentilla bifurca* L., *Teloxys aristata* (L.) Moq.). The meadow complex comprises 22 species from dry (*Achillea millefolium* L., *Amoria repens* (L.) C. Presl, *Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub, *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth, *Medicago falcata* L., *Trifolium pratense* L.) and saline (*Cirsium esculentum* (Siev.) C.A. Mey., *Melilotus dentatus* (Waldst. et Kit.) Pers., *Polygonum patulum* M. Bieb.) meadows. The valley complex contains 23 species (*Calystegia sepium* (L.) R. Br., *Cirsium setosum* (Willd.) Besser, *Lycopus europaeus* L., *Potentilla anserina* L.). The shrub complex (34 species) is extremely heterogeneous (*Cuscuta lupuliformis* Krock., *Fallopia convolvulus* (L.) A. Love, *Galium vaillantii* DC. et DC., *Sonchus arvensis* L., *Artemisia glauca* Pall. ex Willd.). The forest complex (10 species) is represented by the plants of forest meadows and forest edges (*Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop., *Dactylis glomerata* L., *Leucanthemum vulgare* Lam., *Prunella vulgaris* L., *Rumex acetosella* L.). From the synanthropic flora of the western lowlands of the Altai mountains, 31 species are included in the Black Book of Siberian flora. On the whole, the adventive species in the flora of the western lowlands of the Altai mountains rise

up to 11.6%. To compare, the part of the alien species in the flora of Altai Region is 13.7%, in the Altai Republic - 10.6%, in Kemerovo Region - 11% and in the Baikal Siberia - 13%. In regional floras of Eastern Europe the part of alien species reaches 20-25%. The low level of urbanization and the absence of large transport routes restrains the spread of synanthropic plants. On the contrary, the increasing use of the territory for recreational and touristic purposes leads to the intensification of the anthropogenic flora transformation. We found out that to analyze the flora of the western lowlands of the Altai mountains, any scale of hemerobility and hemeroby is not suitable, specifically the scales of hemerobility developed for East Germany (DHEM), the Northern Volga region (IHEM) and the Yakutia (YA_HEM). This fact arises from a low compliance of these scales (IHEM - 58.5%; YA_HEM - 46.6%; DHEM - 47.2%) to the floristic list of the area being subject of studies. A high compliance was proved by using the hemeroby scale developed for the south of Siberia whose data amount to 91.9% of the studied flora. The integral disturbance index was calculated using the IBIS program. For the flora of the western lowlands of the Altai mountains, it is equal to 3.5 (9 grades in the scale); its apophytic fraction is 3.3. In the composition of the synanthropic fraction of the flora of the western lowlands of the Altai mountains, the proportion of highly tolerant species (gradations 8-9) significantly increases (See Table 4).

We can conclude that the modern composition of the synanthropic flora includes 105 alien species and 167 apophyte species. In the spectrum of the leading families of the synanthropic flora, we revealed significant modifications as compared with the data of the overall flora complex. The analysis of typological elements established that synanthropic plants are mainly species widespread in large areas (Holarctic, Palearctic, West Palearctic, cosmopolites); most of them are xeromesophytes and mesophytes; two thirds of them are non-petrophytes. Eco-cenotic analysis data show that 55% of aboriginal apophytes that migrate to anthropogenic habitats belong to the steppe and shrub complexes. The part of alien species (11.6%), as well as the results of the analysis on the hemeroby scale, indicate a low degree of transformation of the flora of the western lowlands of the Altai mountains.

The paper contains 1 Figure, 4 Tables and 62 References.

Key words: higher vascular plants; alien species; invasive plants; anthropogenic influence.

Funding: This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant No 16-04-01246).

Acknowledgment: The work was performed using the USU 508667 Herbarium of Kuzbass Botanical Garden (KUZ).

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Falinski JB. Synanthropization of plant cover: synanthropic flora and vegetation of towns connected with their natural condition history and function. *Materialy Zakladu Fitosocjologii Stosowanej UW*. 1971;2:21-37.
2. Chopik VI. Flora i tekhnicheskii progress [Flora and technical progress]. *Botanicheskiy zhurnal = Botanical Journal*. 1972;57(3):281-289. In Russian
3. Gorchakovskiy PL. Tendentsii antropogennykh izmeneniy rastitel'nogo pokrova Zemli [Trends for anthropogenic changes in the vegetation cover of the Earth]. *Botanicheskiy zhurnal = Botanical Journal*. 1979;64(12):1697-1714. In Russian
4. Malyshev LI. Izmenenie flor Zemnogo shara pod vliyaniem antropogennogo davleniya [The change in the flora of the globe under the influence of human pressure]. *Nauchnye doklady vysshey shkoly. Biologicheskie nauki* [Proceedings of the higher school. Biological sciences]. 1981;3:5-20. In Russian

5. Vulf EV. Vvedenie v istoricheskuyu geografiyu rasteniy [Introduction to the historical geography of plants]. Moscow;Leningrad: Sel'khozgiz Publ.; 1933. 415 p. In Russian
6. Tuganaev VV, Puzyrev AN. Gemerofity Volzhsko-Kamskogo mezhdurech'ya [Hemerophytes of the Volga-Kama interfluvium]. Sverdlovsk: Ural University Publ.; 1988. 128 p. In Russian
7. Mirkin BM, Rozenberg GS, Naumova LG. Slovar' ponyatiy i terminov sovremennoy fitotsenologii [Dictionary of concepts and terms of modern phytocenology]. Moscow: Nauka Publ.; 1989. 223 p. In Russian
8. Dorogostayskaya EV. Weed plants in the far north of the USSR. In: *The vegetation of the Far north of the USSR and its utilization*. Facs. 13. Tikhomirov BA, editor. Leningrad: Nauka Publ.; 1972. 172 p. In Russian
9. Vinogradova YuK, Mayorov SR, Khorun LV. Chernaya kniga Sredney Rossii (Chuzherodnye vidy rasteniy v ekosistemakh Sredney Rossii) [The Black Book of Central Russia (Alien plant species in the ecosystems of Central Russia)]. Moscow: GEOS Publ.; 2009. 494 p. In Russian
10. Lysenko DS. Sinantropic flora of Magadan region. Berkutenko AN, editor. Magadan: NESC Publ.; 2012. 111 p. In Russian
- Lysenko DS. Sinantropic flora of Magadan region. Berkutenko AN, editor. Magadan: NESC Publ.; 2012. 111 p. In Russian
11. Tret'yakova AS, Muhin VA. Sinantropnaya flora Srednego Urala [Synanthropic flora of the Middle Urals]. Yekaterinburg: Yekaterinburg Publ.; 2001. 148 p. In Russian
12. Sukopp H. On the early history of urban ecology in Europe. *Preslia*. 2002;74:373-393.
13. Thellung A. Zur Terminologie der Adventiv- und Ruderal floristic. *Allgem. Bot. Zeitschr.* 1922(1918-1919);24-25:36-42. In German
14. Vynaez GV, Tret'yakov DI. Klassifikatsii antropofitov i novykh dlya flory BSSR introdutsirovannykh vidov rasteniy [Classifications of anthropophytes and introduced plant species, new for the flora of the BSSR]. *Botanika (Issledovaniya)*. 1979;21:62-72. In Russian
15. *Important plant areas of Altai-Sayan ecoregion. Attempt of identification*. Artemov IA, Korolyuk AY, Lashchinsky NN, Kupriyanov AN, Ankipovich ES, Buko TE, Voronina MK, Golyakov PV, Davydov EA, Kipriyanova LM, Krasnikov AA, Krasnoborov IM, Kurbatov SS, Lipatkin OO, Lomonosova MN, Makunina NI, Maltseva TV, Maslova OM, Pronkina GA, Pyak AI, Sarbaa DD, Smelyanskiy IE, Strel'nikova TO, Usik NA, Khristaleva IA, Shaulo DN, Sheremetova SA, Yakovleva GI. Smelansky IE and Pronkina GA, editors. Novosibirsk: "Geo" Academic Publ.; 2009. 260 p. In Russian
16. Smelyanskiy I, Egorova A, Korolyuk A. Predgor'ya Rudnogo Altaya – klyuchevoy stepnoy region mezhdunarodnogo znacheniya [The foothills of Rudny Altai - a key steppe region of international importance]. *Stepnoy byulleten' = Steppe Bulletin*. 2005;19:4-11. In Russian
17. *Entsiklopediya Altayskogo kraya* [Encyclopedia of Altai Region]. Vol. 2. Mishchenko VT, editor. Barnaul: Altayskoe knizhnoe Publ.; 1996. pp. 67-213. In Russian
18. *Altay: Putevoditel'* [Altai: Travel Guide]. Chesnovitskaya S, editor. Moscow: Avangard Publ.; 1999. pp. 122-124. In Russian
19. Silantjeva M. Stages of anthropogenic transformation of vegetation cover and plant resources use, and dynamics of formation of adventive element of flora in Altaiskii krai. In: *Problems of Botany of South Siberia and Mongolia*. Proc. of the 5-th Int. Sci.-Pr. Conf. (Barnaul, Russia, 21-23 November, 2006). Shmakov AI, Kamelin RV, Terekhina TA, Dyachenko SA, Smirnov SV, Kuzev MG and German DA, editors. Barnaul: "Azbuka" Publ.; 2006. pp. 218-252. In Russian, English Summary
20. *Krasnaya kniga Altayskogo kraya: Osobo okhranyaemye prirodnye territorii* [The Red Data Book of Altai Region: Specially Protected Natural Territories]. Vol. 3. IV Andreeva, VA Balashova, ON Baryshnikova, DM Bezmaternykh, SA Bondarevskaya, MV Burmistrov, AA Vaganov, VK Vinstingauzen, AV Volynkin, AG Votinov, OYA Garms, PV Golyakov, AE Grebennikova, EA Davydov, AN Dubrov, AA Dubrov, DA Durnikin, NV Elesova, ON Zhikhareva, VB Zhuravlev, DV Zolotov, AG Inozemtsev, NL Irisova, MV Katernyuk,

- AV Kechaykin, TM Kopytina, AYu Korolyuk, PA Kosachev, AN Kupriyanov, MG Kutsev, ON Mironenko, AA Mironova, OM Maslova, NV Ovcharova, EG Papamonov, VYu Petrov, SG Platonova, EV Repetunova, IN Rotanova, DV Ryzhkov, GV Silant'ev, MM Silant'eva, RG Skalozubov, EYu Skachko, VV Skripko, IE Smelyanskiy, SV Smirnov, VP Solovov, TO Strel'nikova, TA Terekhina, IA Khrustaleva, IG Chukhina, YuG Shvetsov, AI Shmakov, AA Shibanova, AA Shorina, KS Shcherbinin, TP Yasyuchenya. 2nd ed. Barnaul; 2009. pp. 218-223. In Russian
21. Romanov AN, Kharlamov SV. Kolyvanskiy khrebet: Putevoditel' [Kolyvan Range: Guide]. Barnaul: REM Publ.; 2002. 78 p. In Russian
 22. Kharlamov SV, Korchagin PA. Turizm i otdykh v yugo-zapadnoy chasti Altayskogo kraya [Tourism and recreation in the southwestern part of Altai Region]. Barnaul: "Azbuka" Publ.; 2005. 124 p. In Russian
 23. *Altay turistscheskiy* [Touristic Altai]. Shchetinin MP, editor. Barnaul: Krasnyy ugol Publ.; 2011. 223 p. In Russian
 24. Shoshina NA, Khomyakova OV. Turistsko-rekreacionnye resursy Gornoy Kolyvani [Touristic and recreational resources of the Gornaya Kolyvan]. *Vestnik altayskoy nauki*. 2008;3(3):95-101. In Russian
 25. Garms OYa. Prioritety natsional'nogo parka "Gornaya Kolyvan" [Priorities of the Gornaya Kolyvan National Park]. In: *Geografiya – teoriya i praktika: sovremennye problemy i perspektivy*. Materialy nauch. konf. [Geography - Theory and Practice: Current Problems and Prospects. Proc. of the Sci. Conf. (Barnaul; Gorno-Altaysk, Russia, 15-18 April 2009)]. Barnaul: Altai State University Publ.; 2009. pp. 71-73. In Russian
 26. Zanin GV. Geomorfologiya Altayskogo kraya (bez Gorno-Altayskoy AO) [Geomorphology of Altai Region (without Gorno-Altai Autonomous Region)]. In: *Prirodnoe rayonirovanie Altayskogo kraya* [Natural zoning of Altai Region]. Vol. 1. Rozanov AN and Bazilevich NI, editors. Moscow: AS USSR Publ.; 1958. pp. 62-98. In Russian
 27. *Atlas. Altayskiy kray* [Atlas. Altai Region]. Vol. 1. Zarutskaya IP, editor. Moscow; Barnaul: GUGK Publ.; 1978. 222 p. In Russian
 28. Ogureeva GN. Botanicheskaya geografiya Altaya [Botanical Geography of Altai]. Moscow: Nauka Publ.; 1980. 188 p. In Russian
 29. Slyadnev AP, Feldman YaI. Vazhneyshie cherty klimata Altayskogo kraya [Major climate features of Altai Region]. In: *Prirodnoe rayonirovanie Altayskogo kraya* [Natural zoning of Altai Region]. Vol. 1. Rozanov AN and Bazilevich NI, editors. Moscow: AS USSR Publ.; 1958. pp. 9-61. In Russian
 30. Bocharnikov MV. Cenotic diversity and multi-scale vegetation mapping of the West Altai. *Plant Life of Asian Russia*. 2017;1(25):86-97. In Russian, English Summary
 31. Kuminova AV. Rastitel'nyy pokrov Altaya [The vegetation of the Altai]. Novosibirsk: Siberian Branch of Academy of Sciences of the USSR Publ.; 1960. 450 p. In Russian
 32. Krylov GV, Salatova NG. Istoriya botanicheskikh i lesnykh issledovaniy v Sibiri i na Dal'nem Vostoke [History of botanical and forest research in Siberia and the Far East]. Volkova KV, editor. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1969. 276 p. In Russian
 33. Krylov GV, Zavalishin VV, Kozakova NF. Issledovateli Zapadnoy Sibiri [Researchers in Western Siberia]. Novosibirsk: Novosibirskoe knizhnoe Publ.; 1988. 352 p. In Russian
 34. Ebel' AL. Konspekt flory severo-zapadnoy chasti Altae-Sayanskoy provintsii [Synopsis of the flora of the north-west part of Altai-Sayan province]. Kemerovo: KREOO "Irbis" Publ.; 2012. 568 p. In Russian
 35. Silantjeva MM. Konspekt flory Altayskogo kraya: monografiya [Synopsis of the flora of the Altai Region. Monograph]. Barnaul: Altai State University Publ.; 2013. 518 p. In Russian
 36. Maslova OM. The check-list of flora of west low mountains of Altai. In: *Botanicheskie issledovaniya Sibiri i Kazakhstana* [Botanical research in Siberia and Kazakhstan]. Barnaul: Altai University Press; 2003; Vol. 9. pp. 3-50. In Russian

37. Kopitina TM, Terehina TA, Nekrasova NV. Synopsis of flora of vascular plants of Zmeinogorsk district (Altai region). In: *Botanicheskie issledovaniya Sibiri i Kazakhstana* [Botanical research in Siberia and Kazakhstan]. Barnaul: Altai University Press; 2003; Vol. 9. pp. 74-87. In Russian
38. Kleshcheva E, Korolyuk A, Lashchinsky N. Floristic findings in the Novosibirskaya oblast and in the southern part of Altaiskii krai. *Turczaninowia*. 2005;8(2):30-34. In Russian
39. Usik NA. On some records of Altai krai flora rare species. In: *Problems of Botany of South Siberia and Mongolia*. Proc. of the Sci. Conf. (Barnaul, Russia, 20-23 October, 2014). Barnaul: Koncept Publ.; 2014. pp. 247-250. In Russian
40. Ul'yanova TN. Sornye rasteniya vo flore Rossii i sopredel'nykh gosudarstv [Weed plants in the flora of Russia and neighboring countries]. Barnaul: Altai State University Publ.; 2005. 294 p. In Russian
41. Nikitin VV. Sornye rasteniya flory SSSR [Weed plants in the flora of the USSR]. Leningrad: Nauka Publ.; 1983. 452 p. In Russian
42. Terekhina TA. Antropogennyye fitosistemy [Anthropogenic phytosystems]. Barnaul: Altai State University Publ.; 2000. pp. 179-216. In Russian
43. Pyak AI, Merzlyakova IE. Sosudistyye rasteniya g. Tomsk [Vascular plants of Tomsk]. Tomsk: Tomsk State University Publishing House; 2000. 80 p. In Russian
44. Zverev AA. Use of scales of hemeroby and urbanity for assessment of anthropogenic transformation of flora and vegetation. In: *Problems of Industrial Botany in Advanced Industrial Region*. Proc. of the Sci. Conf. (Kemerovo, Russia, 24-25 November, 2009). Kemerovo: KREOO Irbis Publ.; 2009. pp. 52-59. In Russian, English Summary
45. Ebel' AL, Kupriyanov AN, Strel'nikova TO, Ankipovich ES, Antipova EM, Antipova SV, Buko TE, Verkhovzina AV, Doron'kin VM, Efremov AN, Zykova EYu, Kirina AO, Kovrigina LN, Lamanova TG, Mikhaylova SI, Nozhnikov AE, Plikina NV, Silant'yeva MM, Stepanov NV, Tarasova IV, Terekhina TA, Filipova AV, Khrustaleva IA, Shaulo DN, Sheremetova SA. Chernaya Kniga flory Sibiri [Black Book of the flora of Siberia]. Vinogradova YuK and Kupriyanov AN, editors. Novosibirsk: Academic Publishing House "Geo"; 2016. 440 p. In Russian
46. Goryshina TK. Ekologiya rasteniy [Plant ecology]. Moscow: Vysshaya shkola Publ.; 1979. 365 p. In Russian
47. Kunick W. *Veränderungen vof Flora und Vegetation einer Großderstadt, dargestellt am Beispiel von Berlin (West)*: Dissertation. Berlin: Technische Universität Berlin; 1974. In German
48. Klotz S. *Phytoökologische Beiträge zur Charakterisierung und Gliederung urbaner Ökosysteme, dargestellt am Beispiel der Städte Halle und Halle-Neustadt*: Dissertation. Halle: MartinLuter-Universität; 1984. In German
49. Frank D, Klotz S. Biologisch-ökologische Daten zur Flora der DDR. Halle-Wittenberg: MartinLuter-Universität; 1990. 167 s. In German
50. Pestryakov BN, Cherosov MM, Ishbirdin AR. Hemeroby status of plants of Yakutia. *Belgorod State University Scientific Bulletin. Naturalsciences*. 2011;9(15/1):131-135. In Russian, English Summary
51. Zverev AA, Sheremetova SA, Sheremetov RT. Plant indicator values of tolerability for hemeroby as an analytical tool for floristic data using the basin approach. In: *Problems of Industrial Botany in Advanced Industrial Region*. Proc. of the Sci. Conf. (Kemerovo, Russia, 2-3 October, 2018). Kupriyanov AN, editor. Kemerovo: Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, SB RAS Publ.; 2018. pp. 20-26. In Russian
52. Zverev AA. Informatsionnye tekhnologii v issledovaniyakh rastitel'nogo pokrova [Information technologies in studies of vegetation: Textbook]. Tomsk: TML Press; 2007. 304 p. In Russian

53. Cherepanov SK. Sosudistye rasteniya Rossii i sopredel'nykh gosudarstv [Vascular plants of Russia and adjacent states (the former USSR)]. St. Petersburg: Mir & Sem'ya-95 Publ.; 1995. 991 p. In Russian
54. Silantjeva MM. Adventivnye vidy rasteniy vo flore Altayskogo kraja [Adventive plant species in the flora of the Altai Territory]. In: *Flora i rastitel'nost' antropogennno narushennykh territoriy* [Flora and vegetation of anthropogenically disturbed territories]. Kemerovo. 2010;6:45-48. In Russian
55. *Opredelitel' rasteniy Respubliki Altay* [Key to plants of the Altai Republic]. Krasnoborov IM and Artemov IA, editors. Novosibirsk: Siberian Branch of Russian Academy of Sciences Publ.; 2012. 701 p. In Russian
56. Zykova EYu. Alien flora of the Altai Republic. *Plant Life of Asian Russia*. 2015;3(19):72-87. In Russian, English Summary
57. Manakov YuA, Strelnikova TO, Kupriyanov AN. Formirovanie rastitel'nogo pokrova v tekhnogennykh landshaftakh Kuzbassa [Formation of vegetation cover in technogenic landscapes of Kuzbass]. Novosibirsk: Siberian branch of Russian Academy of Sciences Publ.; 2011. 167 p. In Russian
58. Verkhovozina AV. Antropogenic transformation of Baikal Siberia Flora. In: *Sinantropizatsiya rasteniy i zhivotnykh*. Materialy Vserossiyskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem [Synantropization of plants and animals. Proc. of the Russian Sci. Conf. with Int. Participation (Irkutsk, Russia, 21-25 May, 2007)]. Irkutsk: Institute of Geography SB RAS Publ.; 2007. pp. 13-15. In Russian
59. Morozova OV. Uchastie adventivnykh vidov v formirovanii raznoobraziya i struktury flor Vostochnoy Evropy [Participation of adventive species in diversity and structure flora formation of Eastern Europe]. *Izvestiya Rossiiskoi Akademii Nauk. Seriya Geograficheskaya*. 2003;3:63-71. In Russian
60. Ignatov MS, Makarov VV, Chichev AV. Konspekt flory adventivnykh rasteniy Moskovskoy oblasti [Synopsis of the flora of adventitious plants of Moscow region]. In: *Floristicheskie issledovaniya v Moskovskoy oblasti* [Floristic studies in Moscow region]. Skvortsov AK, editor. Moscow: Nauka Publ.; 1990. pp. 5-105. In Russian
61. Pyšek P, Pergl J, Essl F, Lenzner B, Dawson W, Kreft H, Weigelt P, Winter M, Kartesz J, Nishino M, Antonova LA, Barcelona JF, Cabezas FJ, Cárdenas D, Cárdenas-Toro J, Castaño N, Chacón E, Chatelain C, Dullinger S, Ebel AL, Figueiredo E, Fuentes N, Genovesi P, Groom QJ, Henderson L, Inderjit, Kupriyanov A, Masciadri S, Maurel N, Meerman J, Morozova O, Moser D, Nickrent D, Nowak PM, Pagad S, Patzelt A, Pélser PB, Seebens H, Shu W, Thomas J, Velayos M, Weber E, Wieringa JJ, Baptiste MP, van Kleunen M. Naturalized alien flora of the world: species diversity, taxonomic and phylogenetic patterns, geographic distribution and global hotspots of plant invasion. *Preslia*. 2017;89(3):203-274. doi: [10.23855/preslia.2017.203](https://doi.org/10.23855/preslia.2017.203) doi.org/10.23855/preslia.2017.203
62. Wagner V, Chytrý M, Jiménez-Alfaro B, Perg J, Hennekens S, Biurrun I, Knollová I, Berg C, Vassilev K, Rodwell JS, Škvorec Ž, Jandt U, Ewald J, Jansen F, Tsiripidis I, Botta-Dukát Z, Casella L, Attorre F, Rašomavičius V, Čušterevska R, Schaminée JHJ, Brunet J, Lenoir J, Svenning J-C, Kački Z, Petrášová-Šibíková M, Šilc U, García-Mijangos I, Campos JA, Fernández-González F, Wohlgemuth T, Onyshchenko V, Pyšek P. Alien plant invasions in European woodlands. *Diversity and Distributions*. 2017;23:969-981. doi: [10.1111/ddi.12592](https://doi.org/10.1111/ddi.12592)

Received 12 July 2018; Revised 21 December 2018 and 31 May 2019;

Accepted 19 July 2019; Published 27 September 2019

Author Info:

Maslova Olga M, Senior Lecturer, Department for Recreational Geography, Tourism and Regional Marketing, Geographical Faculty, Altai State University, 61 Lenin Ave., Barnaul 656002, Russian Federation.
E-mail: maslova@geo.asu.ru

Khrustaleva Irina A, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory for Environmental Assessment and Management of Biodiversity, Kuzbass Botanical Garden, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 10 Leningradskiy Ave., Kemerovo 650065, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6451-0152>

E-mail: atriplex@rambler.ru

Strelnikova Tatiana O, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory for Environmental Assessment and Management of Biodiversity, Kuzbass Botanical Garden, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 10 Leningradskiy Ave., Kemerovo 650065, Russian Federation.

E-mail: strelnikova21@yandex.ru

УДК 582.929.4:581.412+58:502.75(235.216.1)

doi: 10.17223/19988591/47/6

**В.А. Черёмушкина¹, Е.Б. Таловская¹,
А.Ю. Асташенков¹, А.А. Гусева¹, С. Джуманов²**

¹ Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, г. Новосибирск, Россия

² Аксу-Жабаглинский государственный заповедник, пос. Жабаглы, Казахстан

Биология *Thymus dmitrievae* Gamajun. (Lamiaceae) на заповедной территории (заповедник Аксу-Жабаглы)

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ в рамках научного проекта
№ 18-04-00621 и в рамках государственного задания Центрального
сибирского ботанического сада СО РАН № АААА-А17-117012610053-9.

Изучены архитектура и онтоморфогенез *Thymus dmitrievae* в условиях высокогорных степей Таласского Алатау (заповедник Аксу-Жабаглы). Установлено, что жизненная форма вида – кустарничек. Впервые в структуре побеговой системы *T. thymus dmitrievae* выделено три архитектурные единицы, которые отличаются по положению составной скелетной оси: ортотропно-плагиотропная, плагиотропная, ортотропная. Показано, что при изменении условий произрастания у особей вида проявляется поливариантность развития. На участках субстрата, свободных от каменисто-щебнистых выходов в степи, архитектура *T. dmitrievae* складывается за счет многократного повторения всех архитектурных единиц. Взрослая особь представляет собой куртину, состоящую из первичного и парциальных кустов. В морфогенезе особи проходят фазу первичного побега, первичного куста, куртины, парциального куста и системы парциальных кустов. У *T. dmitrievae* на почвенно-щебнистом субстрате структура складывается за счет многократного повторения двух архитектурных единиц: плагиотропной и ортотропной. В морфогенезе особи проходят фазы первичного побега и первичного куста. Особенности развития *T. dmitrievae* являются механизмами адаптации вида к произрастанию в высокогорных степях.

Ключевые слова: *Thymus dmitrievae*; архитектурная единица; морфогенез; морфологическая адаптация; кустарничек; Таласский Алатау.

Введение

Изучение биологии любого вида растений подразумевает тщательное изучение структуры особей и их развития. В связи с этим в последнее время отечественными и зарубежными исследователями применяется архитектурный анализ, позволяющий детально изучить побеговую систему и изменение архитектуры особей в онтогенезе. Накопленный фактический материал отражает особенности архитектуры у деревьев, кустарников [1–8] и частично у трав [9–11]. Кустарнички в этом плане изучены слабо [12, 13]. Жизненная

форма кустарничка характерна для видов рода *Thymus* L. Е.Е. Гогиной на примере в основном европейских видов подробно охарактеризованы их побегообразование, разнообразие жизненных форм, особенности морфогенеза [14–16]. С позиции архитектурного подхода структура и развитие тимьянов в литературе практически не описаны [17, 18].

Thymus dmitrievae Gamajun. (Lamiaceae Lindl.) – вид, распространенный в Средней Азии в горах Тянь-Шаня [19]. Его местообитания приурочены к открытым каменистым склонам, скальным выходам и осыпям, древним моренам и долинам рек. *T. dmitrievae* произрастает в степных сообществах лесного, субальпийского и альпийского поясов гор, где образует локальные популяции. Единично особи вида встречаются в арчевом поясе с *Juniperus semiglobosa* Regel, *J. turkestanica* Kom. и *Picea schrenkiana* Fisch. et Mey. [20, 21]. Исследования Г.А. Атажановой с соавт. [22] показали, что эфирное масло *T. dmitrievae* обладает высокой цитотоксической активностью и является источником новых соединений с противоопухолевым действием. По данным А.П. Гамаюновой и А.А. Дмитриевой [19], *T. dmitrievae* в разных местах обитания отличается плотностью головчатого соцветия, размерами листьев, формой зубцов чашечки и её опушением. Данные о биологии вида в литературе отсутствуют. Цель работы – изучение архитектуры и морфогенеза *T. dmitrievae* для выявления морфологических механизмов адаптации к условиям произрастания.

Материалы и методики исследования

Исследование проведено на территории заповедника Аксу-Жабаглы. Заповедник занимает большую часть северо-западной оконечности Таласского Алатау и смежный с ним участок Угамского хребта. Местообитания вида приурочены к степям, расположенным по каменисто-щебнистым склонам гор, моренам и осыпям среднегорий (1 700–2 300 м над ур. м.) и высокогорий (2400–3300) [23]. *T. dmitrievae* нередко доминирует в составе томилляров, встречающихся локально по всей территории заповедника [24]. Почвенный покров в местах произрастания вида покрыт щебнем, нередко с выходами крупных камней до метра в диаметре.

Материал собран в ущелье р. Кши-Каинды, северный макросклон Таласского Алатау. Для анализа архитектуры особей *T. dmitrievae* выбрано два участка, отличающихся по характеру субстрата.

1. Верховье р. Кши-Каинды, склон западной экспозиции, крутизна 20°, высота 2 206 м над ур. м. (42°22'3"N, 70°34'37"E). Верхняя граница арчевого пояса, разнотравно-типчаковая высокогорная степь (*Festuca kryloviana* Reverd., *Poa bulbosa* L., *Helictotrichon pubescens* (Huds.) Pilg., *Carex dimorphotheca* Stschegl., *Pedicularis dubia* B. Fedtsch., *Artemisia aschurbajewii* C. Winkl.). Почвы темно-коричневые с выходами камней. Общее проективное покрытие травостоя 30%, проективное покрытие *T. dmitrievae* – 2%.

2. Среднее течение р. Кши-Каинды, склон восточной экспозиции, крутизна 15°, высота 1 808 м над ур. м. (42°24'25"N, 70°34'4"E). Пояс арчевников, закустаренная разнотравно-ковыльная высокогорная степь (*Dasiphora phyllocalyx* Juz., *Stipa capillata* L., *Helictotrichon pubescens* (Huds.) Pilg., *Carex dimorphotheca* Stschegl., *Ziziphora clinopodioides* Lam., *T. dmitrievae*). Почвы выщелоченные, покрытые щебнем. Общее проективное покрытие травостоя 30%, проективное покрытие вида – 3%.

В соответствии с классификацией М.Т. Мазуренко и А.П. Хохрякова [25] в структуре куста у *T. dmitrievae* выделены эфемерные побеги, побеги ветвления и формирования, составная скелетная ось. Эфемерный побег – однолетний, выполняет роль обогащения куста ассимиляционными и репродуктивными органами, не участвует в построении многолетней системы побегов. Развивается силлептически. Побег ветвления – многолетний, предназначен для увеличения вегетативной многолетней массы ассимиляционных органов и семенной продуктивности. В основном развивается из зимующих почек. Побег формирования – это многолетний побег, выполняющий функцию омоложения побеговой системы куста и завоевания нового пространства; является основой для построения составной скелетной оси. Развивается из спящей или зимующей почки. Составная скелетная ось (ССО) – это совокупность последовательно сменяющих друг друга многолетних побегов формирования. Она развивается на основе моноподиально нарастающего побега формирования. После отмирания терминальной почки побега из спящей почки, наиболее близкой к месту отмирания, развивается новый замещающий побег формирования, повторяющий предыдущий. Нарастание ССО *T. dmitrievae* моноподиально-симподиальное. Каждый побег формирования в структуре оси представляет собой её прирост. В зависимости от происхождения выделены главная и материнская ССО. Главная ССО – это ось, которая сформировалась на основе первичного побега и имеет связь с главным корнем, материнская ССО – это любая ось n-го порядка. На главной и материнской ССО развиваются ССО 1-го (или n+1), 2-го (или n+2) и т.д. порядков. В работе применены термины: розеточный, безрозеточный, полурозеточный [26], верхнерозеточный [27] и среднерозеточный побег [28].

При описании побеговой системы *T. dmitrievae* использован архитектурный подход и выделена архитектурная единица [1, 18, 29]. Архитектурная единица (АЕ) – это основная структурно-функциональная единица, содержащая полный набор всех иерархически соподчиненных структур. Она характеризуется определенным набором признаков (направление роста, расположение репродуктивных структур, особенности нарастания, положение почек возобновления, число единиц более низкого уровня (метамер, элементарный побег, модуль), длина и т.д.) и является стабильной у каждого вида растения (меняется только количественно в зависимости от условий произрастания растения) [1]. Многократное повторение АЕ приводит к формированию общей архитектуры растения [29]. Архитектурная единица *T. dmit-*

rievae состоит из главной (или материнской n -го порядка) ССО, ССО 1-го (или $n+1$) порядка, одиночных побегов формирования 1-го порядка, побегов ветвления и эфемерных побегов.

Онтогенез *T. dmitrievae* изучен согласно концепции дискретного описания, разработанной Т.А. Работновым и А.А. Урановым [30]. У *T. dmitrievae* выделено 7 онтогенетических состояний: проросток (p), ювенильное (j), имматурное (im), виргинильное (v), молодое генеративное (g_1), зрелое генеративное (g_2) и старое генеративное (g_3). Фазы морфогенеза *T. karatavicus* выделены согласно характеристикам, приведенным О.В. Смирновой и дополненным Н.П. Савиных, В.А. Черёмушкиной [31].

Уточнение жизненной формы *T. dmitrievae* проведено с использованием эколого-морфологической классификации жизненных форм И.Г. Серебрякова [26]. Тип биоморфы установлен в соответствии с фитоценотической классификацией О.В. Smirnova [30], построенной на особенностях пространственного распределения побегов, почек возобновления и корней растения.

Для статистического анализа на первом участке (в разнотравно-типчаковой высокогорной степи) из 250 изученных особей отобрано по 25 особей каждого онтогенетического состояния. У каждой особи подсчитано число вегетативных и генеративных побегов в структуре куста, их длина, число составных скелетных осей и парциальных кустов, диаметр куста. Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью программы Microsoft Excel. Для каждого признака рассчитана средняя арифметическая со стандартной ошибкой, статистическая значимость различий рассчитана с помощью t -критерия Стьюдента (95%-ный уровень значимости).

Результаты исследования и обсуждение

В условиях высокогорных степей Таласского Алатау *T. dmitrievae* развивается по-разному. При изменении условий произрастания у особей вида меняются архитектура, ход онтоморфогенеза и тип биоморфы.

Изучение *T. dmitrievae*, произрастающего на свободных от каменисто-щебнистых выходов участках субстрата в разнотравно-типчаковой высокогорной степи показало, что в его популяции встречаются особи как семенного, так и вегетативного происхождения. В ходе морфогенеза генета последовательно проходит фазу первичного побега, первичного куста, куртины; рамета проходит фазу парциального куста, системы парциальных кустов.

На начальных этапах онтогенеза (проросток, ювенильное состояние) особи представляют собой ортотропный первичный побег (рис. 1). Побег проростка имеет две семядоли и одну-две пары супротивно расположенных настоящих листьев. Семядоли широкояйцевидные с сердцевидным основанием и выемчатой верхушкой, мелкие, до 0,4 см длины, черешковые. Листовые пластинки проростка также до 0,4 см длины, эллиптической формы с коротким черешком до 0,1 см длины. Гипокотиль 0,9 см, эпикотиль 0,6 см длины.

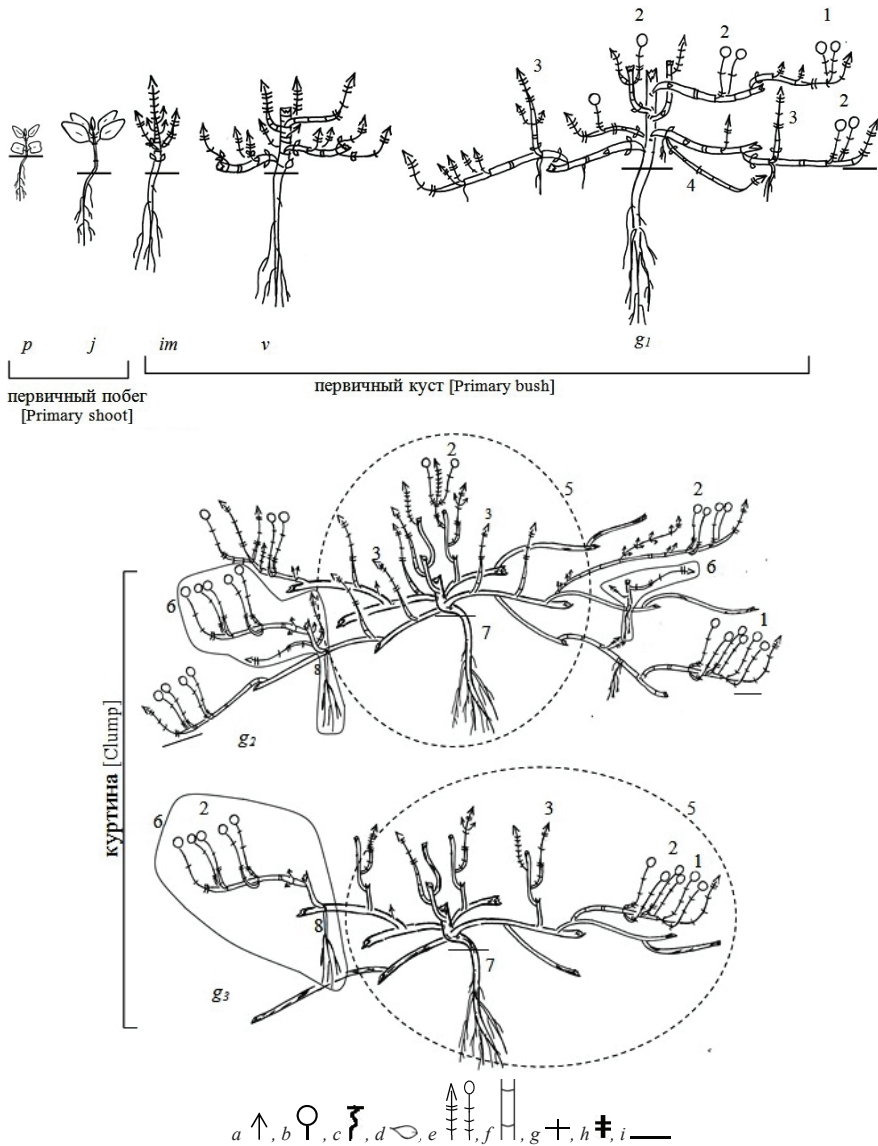


Рис. 1. Схема морфогенеза генеты *Thymus dmitrievae* (1 – эфемерный генеративный побег; 2 – дициклический генеративный побег ветвления; 3 – ортотропный генеративный побег формирования; 4 – плагиотропный вегетативный побег формирования; 5 – первичный куст; 6 – парциальный куст в составе куртины; 7 – главный корень; 8 – вторично стержневой корень; a – вегетативный побег; b – соцветие; c – придаточный корень; d – почка; e – годичный прирост вегетативного и генеративного побега соответственно; f – утолщенный многолетний участок побега или оси; g – узел; h – сближенные узлы; i – уровень почвы; онтогенетические состояния: p – проросток, j – ювенильное, im – имматурное, v – виргинильное, g₁ – молодое генеративное, g₂ – зрелое генеративное, g₃ – старое генеративное)

[Fig. 1. A development scheme of *Thymus dmitrievae* genet (1 - Ephemeroous generative shoot; 2 - Bicyclic generative branching shoot; 3 - Orthotropic vegetative shoot formation; 4 - Plagiotropic vegetative shoot formation; 5 - Primary bush; 6 - Partial bush as part of the clump; 7 - Main root; 8 - Secondary taproot; a - Vegetative shoot; b - Inflorescence; c - Secondary root; d - Bud; e - Annual growth of vegetative and generative shoots, respectively; f - Thickened perennial part of the shoot or axis; g - Node; h - Close nodes; i - Level of the soil; ontogenetic states: p - Seedling, j - Juvenile, im - Immature, v - Virginal, g₁ - Young generative, g₂ - Mature generative, g₃ - Old generative]

Главный корень 4 см длиной. Проростки появляются весной и в этом же году переходят в ювенильное состояние. На побеге ювенильных особей сохраняются сухие семядольные листья и разворачиваются еще 2–3 пары накрест супротивных листьев.

По структуре первичный побег верхнерозеточный длиной до 1,5 см. В пазухах всех листьев закладываются почки. Главный корень ветвится (до III порядка), удлиняется и достигает 7 см. Семенное возобновление *T. dmitrievae* очень слабое. Проростки и особи ювенильного состояния в популяции единичны.

На второй год развития у имматурных особей ортотропный первичный побег состоит из двух годовичных приростов (первого – верхнерозеточного и второго – розеточного) и достигает 2 см. Из почек в пазухах листьев первого годовичного побега разворачиваются ортотропные верхнерозеточные вегетативные побеги. Образуется моноцентрический первичный куст. Фаза первичного куста сохраняется на протяжении следующих 6 лет. В имматурном состоянии особи находятся два года. За этот период первичный побег достигает длины 2,5 см и состоит из трех годовичных приростов. Разворачиваются почки в пазухах листьев второго годовичного прироста, общее число боковых побегов колеблется от 3 до 5 шт. (таблица). Диаметр куста не превышает 3 см. Длина главного корня до 8 см, ветвление до IV порядка.

**Биометрические показатели онтогенетических состояний
особей *Thymus dmitrievae*
[Biometric indices of ontogenetic states of *Thymus dmitrievae* individuals]**

Биометрические показатели [Biometric indices]	Онтогенетические состояния [Ontogenetic states]				
	<i>im</i>	<i>v</i>	<i>g</i> ₁	<i>g</i> ₂	<i>g</i> ₃
Число вегетативных побегов, шт. [Number of vegetative shoots, pcs.]	4,0±0,3	6,5±0,5	21,6±0,8	45,3±0,3	26,0±0,5
Длина вегетативных побегов, см [Length of vegetative shoots, cm]	1,8±0,4	1,6±0,3	1,9±0,2	2,2±0,4	1,2±0,3
Диаметр особи, см [Individual diameter, cm]	1,5±0,2	4,4±0,6	15,4±0,3	38,0±0,3	26,3±0,5
Число генеративных побегов, шт. [Number of generative shoots, pcs.]			11,1±0,4	27,8±0,4	9,7±0,4
Длина генеративных побегов, см [Length of generative shoots, cm]			1,9±0,2	2,4±0,3	2,2±0,2
Число ортотропно-плаги- отропных ССО, шт. [Number of orthotropic- plagiotropic CSA, pcs.]				5,3±1,2	1,5±0,3

Окончание таблицы [Table (end)]

Биометрические показатели [Biometric indices]	Онтогенетические состояния [Ontogenetic states]				
	<i>im</i>	<i>v</i>	g_1	g_2	g_3
Число плагиотропных ССО, шт. [Number of plagiotropic CSA, pcs.]		1,5±0,3	2,0±0,3	7,9±0,7	3,3±0,3
Число ортотропных ССО, шт. [Number of orthotropic CSA, pcs.]			1,8±0,5	8,4±1,5	11,9±0,8
Число парциальных кустов, шт. [Number of partial bushes, pcs.]				3,2±0,6	1,1±0,2

Примечание. Представлено среднеарифметическое значение признака с ошибкой среднего. При подсчете ортотропно-плагиотропных ССО не учитывали главную ортотропно-плагиотропную ось. ССО – составная скелетная ось.

[*Note.* The arithmetic mean value of the feature and the error of the arithmetic mean value are given in the Table. When calculating orthotropic-plagiotropic compound skeletal axes, the main orthotropic-plagiotropic axis was not taken into account. CSA - Compound skeletal axis].

На четвертый год рост первичного побега заканчивается из-за отмирания терминальной почки в зимний период. Особи переходят в виргинильное состояние, их нарастание с моноподиального меняется на акросимподиальное. Боковой побег, близкий по положению к месту отмирания, становится замещающим побегом формирования и впоследствии полегает. Формируется ортотропно-плагиотропная моноподиально-акросимподиально нарастающая главная ССО. Боковые побеги сохраняют ортотропное положение и продолжают моноподиально нарастать. К концу пятого года в структуре куста прослеживается дифференциация боковых побегов: побеги в базальной части главной ССО полностью полегают и становятся основой для плагиотропных осей (ССО 1-го порядка), остальные сохраняют ортотропное направление роста и являются основой для формирования ортотропных ССО 1-го порядка. За счет ветвления боковых побегов диаметр куста увеличивается до 7 см. Главный и боковые корни I порядка утолщаются. Длина главного корня более 10 см.

На шестой год особи переходят в молодое генеративное состояние. Из силлептических почек годовых вегетативных побегов разворачиваются боковые безрозеточные эфемерные генеративные побеги. Кроме этого, в структуре куста появляются дициклические полу- и среднерозеточные генеративные побеги ветвления. Соцветие представляет собой головчатый тирс, состоящий из супротивно расположенных и сближенных 3–5 пар дихазиев. В структуре куста выделяются ортотропные слаборазветвленные в базальной части вегетативные побеги формирования (до 5 см длиной). Они состоят из двух-трех верхнерозеточных вегетативных годовых приростов. Развиваются эти побеги из спящих почек в узлах плагиотропных ССО 1-го порядка. В дальнейшем они станут основой для формирования ортотропно-плагиотропных ССО n-го порядка. Кроме этого, из спящих почек в базальной части плагиотропных ССО 1-го порядка развиваются многолетние плагиотропные верхнерозеточные побеги формирования, которые в дальнейшем также ста-

нут основой для соответствующих ССО n -го порядка. Куст разрастается, его диаметр достигает 20 см. Длительность молодого генеративного состояния 1–2 года.

На восьмой–девятый год особи переходят в зрелое генеративное состояние и представляют собой куртину, состоящую из первичного и парциальных кустов. Основой для формирования парциального куста становятся ортотропно-плагиотропные ССО n -го порядка, дальнейшее развитие которых соответствует развитию главной ортотропно-плагиотропной ССО. В том месте материнской оси, где развивается парциальный куст, придаточный корень утолщается, ветвится и становится вторично стержневым. Формируется новый центр закрепления территории. Расстояние от главного корня до парциального куста колеблется от 1 до 18 см.

Биоморфа меняется с моноцентрической на неявнополицентрическую. В зрелом генеративном состоянии особи находятся около 13 лет. За этот период куртина разрастается до 40 см в диаметре. В ее структуре выделяются 3–8 ортотропно-плагиотропных ССО, 5–15 плагиотропных ССО и 5–17 ортотропных ССО. В составе куртины может быть от 1 до 7 укореняющихся парциальных кустов. Практически все ортотропные побеги переходят к цветению. Особенностью побеговой системы является то, что чем выше по положению от субстрата располагаются побеги, тем больше в их структуре укороченных междоузлий, и наоборот, в структуре побегов, расположенных на поверхности субстрата, преобладают удлинённые междоузлия. В зрелом генеративном состоянии начинается вегетативное размножение, которое происходит в результате отмирания участка плагиотропной оси между первичным и парциальным кустами. Вегетативное размножение преобладает над семенным и обеспечивает самоподдержание популяции *T. dmitrievae*. К 20–21-му году материнская особь переходит в старое генеративное состояние, фаза куртины сохраняется. В её структуре уменьшается число парциальных кустов (1–2). Оси постепенно отмирают, их сухие остатки еще некоторое время сохраняются в структуре куртины. Диаметр особи уменьшается до 20 см. В течение следующих двух лет главный корень разрушается.

Морфогенез рамет, отделившихся от зрелой генеративной семенной особи, начинается с виргинильного (молодого генеративного) онтогенетического состояния. Раметы представляют собой отдельные парциальные кусты. Их морфогенез изображен на рис. 2. Раметы последовательно переходят из одного онтогенетического состояния в другое. В зрелом генеративном состоянии образуется система парциальных кустов, состоящая из 2–3 парциальных кустов, связанных участком материнской плагиотропной оси. В дальнейшем в этом состоянии наступает частичная морфологическая дезинтеграция. Образовавшиеся раметы второго поколения также омоложены до виргинильного (молодого генеративного) онтогенетического состояния и повторяют развитие материнской раметы. Последняя, в свою очередь, переходит в старое генеративное состояние и также представляет собой систему парциальных кустов.

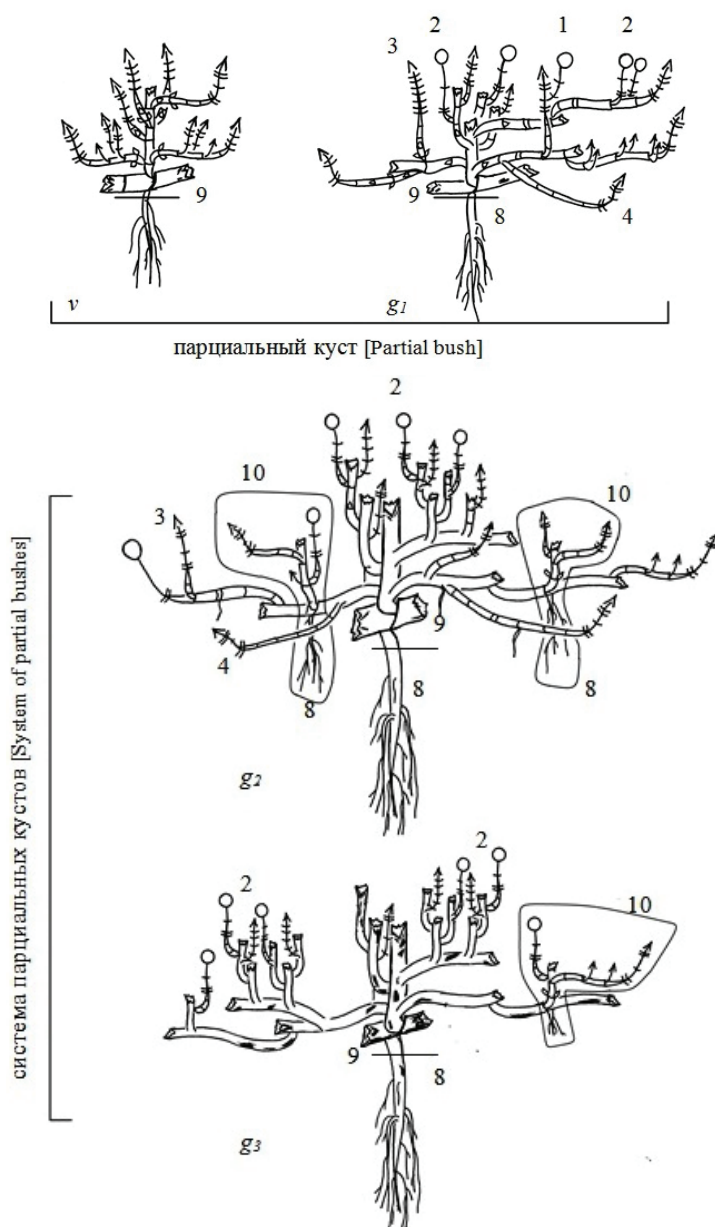


Рис. 2. Морфогенез раметы *Thymus dmitrievae* (обозначения, как на рис. 1; 9 – участок материнской скелетной оси; 10 – парциальный куст (рамета следующего поколения после частичной морфологической дезинтеграции)

[Fig. 2. A development scheme of *Thymus dmitrievae* ramet (for symbols see Fig. 1 and 9 - Part of the maternal axis, 10 - Partial bush (ramet of the secondary generation after morphological disintegration)]

Длительность старого генеративного состояния не превышает двух лет. Вторично стержневой корень материнской раметы разрушается и вся система засыхает. Онтогенез рамет одного поколения реализуется в течение 15–17 лет.

Морфогенез рамет, отделившихся от старой генеративной семенной особи, начинается с того же онтогенетического состояния. Раметы в виде парциальных кустов некоторое время существуют самостоятельно, но в дальнейшем быстро отмирают.

В закустаренной разнотравно-ковыльной высокогорной степи на почвенно-щебнистом субстрате *T. dmitrievae* не образует скоплений. Особи вида располагались отдельными локусами на участках, где скапливается влага. В развитии *T. dmitrievae* выявлены отличия. Главная ССО плагиотропная, ССО n -го порядка также плагиотропные или ортотропные. Плагиотропные оси распластаны по поверхности и редко укореняются нитевидными придаточными корнями. Диаметр кустов может достигать 50 см. В структуре зрелых генеративных особей не развиваются парциальные кусты. В морфогенезе особи проходят лишь две фазы: фазу первичного побега (проросток и особи ювенильного состояния) и первичного куста (особи в имматурном – старом генеративном состояниях). Первичный куст сохраняется до отмирания всей особи.

С использованием архитектурного подхода у взрослых особей *T. dmitrievae* выявлено разнообразие структуры. Установлено, что их структура складывается из разнообразных архитектурных единиц. Выделено 3 АЕ, отличающихся по положению в пространстве ССО: ортотропно-плагиотропная, плагиотропная, ортотропная.

Архитектурная единица I

Основой АЕ I является главная (или материнская n -го порядка) ортотропно-плагиотропная моноподиально-акросимподиально нарастающая ССО, состоящая из 3 последовательно сменяющих друг друга побегов формирования, моноподиальное нарастание каждого до трех лет (рис. 3). Также в состав АЕ I входят ССО 1-го (или $n+1$) порядка, одиночные побеги формирования 1-го порядка, побеги ветвления и эфемерные побеги. Составные скелетные оси 1-го (или $n+1$) порядка развиваются на первом, втором и в базальной части третьего прироста главной (или материнской n -го порядка) ССО. Одиночные побеги формирования 1-го порядка отличаются от побегов формирования в структуре главной ССО: часто они розеточные; длительность их моноподиального нарастания 2–3 года; развиваются из спящих почек в средней части главной ССО (или материнской n -го порядка); обеспечивают запас почек возобновления; приводят к увеличению плотности и образованию формы куста. Иногда на основе одиночных побегов формирования строятся ортотропные АЕ III, отличающиеся слабым разнообразием составляющих элементов (нет боковых ССО).

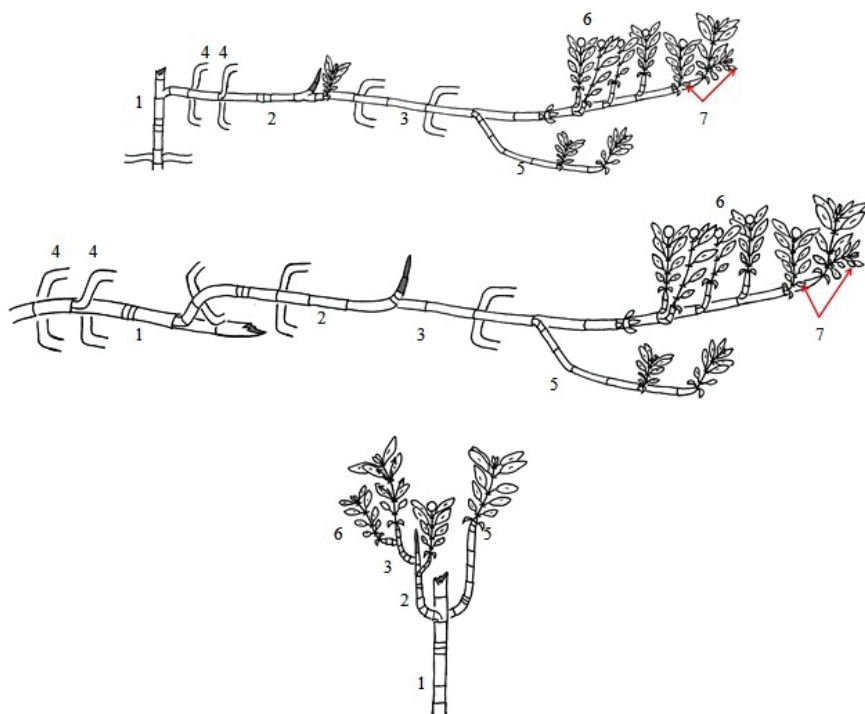


Рис. 3. Архитектурные единицы *Thymus dmitrievae* (1–3 – первый–третий побег формирования (годовой прирост) составной скелетной оси; 4 – составная скелетная ось 1-го (или n+1) порядка; 5 – одиночный побег формирования; 6 – побег ветвления; 7 – эфемерный побег)
[Fig. 3. Architectural units in *Thymus dmitrievae* (1-3 - First-third shoot formation (annual growth) of the composite skeletal axis; 4 - Composite skeletal axis of the 1st (or n+1) order; 5 - Single shoot formation; 6 - Branching shoot; 7 - Ephemeral shoot)]

Побеги ветвления и эфемерные побеги развиваются на последнем приросте ССО. Архитектурная единица I может строиться как на основе главной ССО, так и на основе материнской ССО n-го порядка. В первом случае нарастание главной ССО прекращается к 10 годам, ее длина достигает 26 см. На протяжении еще 10–13 лет ось сохраняется, постепенно разрушаясь в апикальной части. Ее базальный участок, на котором развиваются ССО 1-го порядка, сохраняется практически до отмирания всей особи. Во втором случае развитие АЕ I происходит аналогично, но отмирание оси происходит быстрее.

Архитектурная единица II

Структура АЕ II в целом соответствует структуре АЕ I. Она также состоит из главной (или материнской n-го порядка) ССО, ССО 1-го (или n+1) порядка и побегов, различных по функциональной значимости. Главная (или

материнская n -го порядка) моноподиально-акросимподиально нарастающая ССО имеет плагиотропное положение (см. рис. 3). Она также построена тремя последовательно сменяющимися друг друга побегами формирования, моноподиальное нарастание каждого до 3 лет. Дифференциация боковых побегов и осей соответствует боковым побегам и осям АЕ I. Развитие АЕ II происходит двумя способами: на основе главной ССО или на основе материнской ССО n -го порядка. Первый побег формирования (первый прирост) оси полегает, и все замещающие побеги формирования в дальнейшем имеют плагиотропное направление роста. Ортотропное положение сохраняется у побегов ветвления и эфемерных побегов. Длина главной (материнской n -го порядка) ССО в структуре АЕ II больше и достигает 40 см.

Архитектурная единица III

Основой АЕ III является материнская n -го порядка ортотропная моноподиально-акросимподиально нарастающая ССО, состоящая из 2–3 ПФ, моноподиальное нарастание каждого до двух (редко трех) лет. В отличие от двух описанных выше архитектурных единиц в составе АЕ III нет ССО 1-го (или $n+1$) порядка. Она образована материнской ССО n -го порядка, одиночными побегами формирования 1-го порядка, побегами ветвления и эфемерными побегами (см. рис. 3). Одиночные побеги формирования 1-го порядка развиваются на первом–втором приросте материнской ССО n -го порядка. Расположение побегов ветвления и эфемерных побегов такое же, как у двух других АЕ. Для всех боковых побегов характерно ортотропное положение. Еще одной особенностью является то, что по структуре практически все побеги в апикальной части АЕ розеточные. Нарастание материнской ССО n -го порядка прекращается к 7 годам, ее длина достигает 6 см. Ось полностью отмирает с апикальной части.

При описании *T. dmitrievae* А.П. Гамаюнова и А.А. Дмитриева [19] указывают, что жизненная форма вида – полукустарничек. Наши исследования показали, что в условиях высокогорных степей для *T. dmitrievae* характерна жизненная форма кустарничка (в зимний период отмирает только терминальная почка побега, акросимподиальный способ нарастания побегов). У взрослых генеративных особей за счет формирования парциальных кустов образуется несколько центров закрепления и удержания территории. По классификации О.В. Смирновой [30], такие виды относятся к видам с неявнополицентрической биоморфой.

Анализ особенностей онтоморфогенеза и архитектуры *T. dmitrievae* показал, что в зависимости от условий произрастания у особей проявляется ряд отличий. У особей, произрастающих на свободных от каменисто-щебнистых выходов участках субстрата в разнотравно-типчаковой высокогорной степи, архитектура складывается за счет повторения одновременно трех АЕ I–III. Главной является ортотропно-плагиотропная АЕ I, которая развивается из первичных структур. На ее основе строятся плагиотропные АЕ II

1-го порядка. Они, в свою очередь, становятся основой для формирования ортотропно-плагиотропных АЕ I n-го порядка, которые в дальнейшем будут новым звеном, для повторения предыдущей структуры. Ортотропная АЕ III n-го порядка развивается как на основе ортотропно-плагиотропных, так и на основе плагиотропных АЕ (I и II) в верхней части куста. Участие в сложении структуры особей трех АЕ, с одной стороны, обеспечивает захват территории, с другой – приводит к уплотнению куста. Такой способ сложения архитектуры приводит к формированию нескольких центров закрепления. Практически каждая ортотропно-плагиотропная АЕ I n-го порядка становится основой для формирования парциального куста. Морфогенез особей характеризуется разнообразием фаз (у генет: первичный побег, первичный куст, куртина; у рамет: парциальный куст, система парциальных кустов), среди которых самой длительной является фаза куртины (до 16 лет). Куртина формируется у особей в зрелом генеративном состоянии, а в старом генеративном состоянии происходит отмирание первичного куста, что приводит к засыханию всей куртины (иногда отделяются единичные парциальные кусты).

У особей, произрастающих на почвенно-щебнистом субстрате в закустаренной разнотравно-ковыльной высокогорной степи, структура складывается за счет многократного повторения двух АЕ: плагиотропной (АЕ II) и ортотропной (АЕ III). Главной является плагиотропная АЕ II. На ее основе формируются ортотропные и плагиотропные АЕ следующих порядков. Такое сложение архитектуры приводит к интенсивному разрастанию куста. Морфогенез состоит лишь из двух фаз, которые проходит генета: первичный побег и первичный куст. Фаза первичного куста наиболее продолжительна, она наступает в иматурном состоянии и сохраняется до отмирания особи в старом генеративном состоянии (до 22 лет).

Формирование жизненной формы кустарничка, поливариантность онтоморфогенеза и особенности архитектуры особей выявлены нами впервые для *T. dmitrievae* и являются механизмами адаптации вида к произрастанию в высокогорных степях.

Выводы

1. *Thymus dmitrievae* существует в условиях высокогорных степей Таласского Алатау в виде кустарничка.

2. Структура взрослых особей *T. dmitrievae* построена за счет многократного повторения архитектурной единицы, которая состоит из главной (или материнской n-го порядка) составной скелетной оси, составной скелетной оси 1-го (или n+1) порядка, одиночных побегов формирования 1-го порядка, побегов ветвления и эфемерных побегов. Выявлено разнообразие архитектурных единиц, которые отличаются друг от друга направлением роста главной (материнской n-го порядка) составной скелетной оси: орто-

тропно-плагиотропная, плагиотропная и ортотропная. Определено значение каждой архитектурной единицы в сложении структуры особей: ортотропно-плагиотропная и плагиотропная – способствуют интенсивному захвату территории, формированию нескольких центров закрепления, на основе ортотропно-плагиотропной единицы формируются парциальные кусты; ортотропная – приводит к уплотнению куста.

3. В зависимости от особенностей субстрата выявлена поливариантность развития, выражающаяся в перестройках архитектуры, изменении типа биоморфы (моноцентрическая или неявнополицентрическая), ходе онтоморфогенеза, появлении вегетативного размножения. Особенности архитектуры и онтоморфогенеза *T. dmitrievae* являются механизмами адаптации вида к произрастанию в высокогорных степях Таласского Алатау.

Авторы выражают глубокую признательность сотрудникам научного отдела Аксу-Жабаглинского заповедника за помощь в организации и проведении экспедиционных работ, а также администрации заповедника в лице директора А.Н. Менлибекова за поддержку и предоставление технического оснащения.

Литература

1. Caraglio Y., Edelin C. Architecture et dynamique de la croissance du platane. *Platanus hybrida* Brot. (Platanaceae) (syn. *Platanus acerifolia* (Aiton) Willd.) // Bulletin de la Société Botanique de France, Lettres botaniques. 1990. Vol. 137, № 4–5. PP. 279–291. <https://doi.org/10.1080/01811797.1990.10824889>
2. Charles-Dominique T., Edelin C., Bouchard A. Architectural strategies of *Cornus sericea*, a native but invasive shrub of Southern Quebec, Canada, under an open or a closed canopy // Annals of Botany. 2010. Vol. 105, № 2. PP. 205–220. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp273>
3. Антонова И.С., Гниловская А.А. Побеговые системы *Acer negundo* L. (Acereceae) в разных возрастных состояниях // Ботанический журнал. 2013. Т. 98, № 1. С. 53–68.
4. Гетманец И.А. Морфоадаптивная обусловленность структурного разнообразия биоморф рода *Salix* L. Южного Урала // Сибирский экологический журнал. 2015. Т. 22, № 5. С. 698–709. doi: [10.15372/SEJ20150504](https://doi.org/10.15372/SEJ20150504)
5. Костина М.В., Барабанщикова Н.С., Битюгова Г.В., Ясинская О.И., Дубах А.М. Структурные модификации кроны березы повислой (*Betula pendula* Roth.) в зависимости от экологических условий произрастания // Сибирский экологический журнал. 2015. Т. 22, № 5. С. 710–724. doi: [10.15372/SEJ20150505](https://doi.org/10.15372/SEJ20150505)
6. Недосеко О.И., Викторов В.П. Архитектурные модели *Salix traindra* L. и *Salix fragilis* L. // Социально-экологические технологии. 2016. № 2. С. 39–50.
7. Gambino S., Ratto F., Bartoli A. Architecture of the genus *Gutierrezia* (Asteraceae: Astereae, Solidagininae) // Boletín de Sociedad Argentina de Botánica. 2016. Vol. 51, № 4. PP. 657–663.
8. Горошкевич С.Н. Структура кроны у молодых генеративных деревьев кедра сибирского (*Pinus sibirica* Du Tour). Пространственная организация разнообразия побегов // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2018. № 42. С. 140–159. doi: [10.17223/19988591/42/7](https://doi.org/10.17223/19988591/42/7)
9. Bartušková A., Klimešová J. Reiteration in the short lived root-sprouting herb *Rorippa palustris*: does the origin of buds matter? // Botany. 2010. Vol. 88, № 7. PP. 630–638. <https://doi.org/10.1139/B10-044>

10. Савиных Н.П., Шишкина Н.И. Биоморфология *Centaurea sumensis* Kalen. с позиции охраны вида // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2016. № 2 (34). С. 69–86.
11. Черёмушкина В.А., Гусева А.А. Морфогенез *Scutellaria grandiflora* (Lamiaceae) и онтогенетическая структура его ценопопуляций // Растительные ресурсы. 2017. Т. 53, № 3. С. 380–393.
12. Navarro T., Pascual V., Cabezudo B., Alados C. Architecture and functional traits of semi-arid shrub species in Cabo de Gata Natural Park, SE Spain // Candollea. 2009. Vol. 64. PP. 69–84. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2008.09.009>
13. Götmark F., Götmark E., Jensen A.M. Why be a shrub? A basic model and hypotheses for the adaptive values of a common growth form // Frontiers in Plant Science. 2016. Vol. 7. 1095.
14. Гогина Е.Е. Род чабрец (тимьян) – *Thymus* L. // Биологическая флора Московской области / отв. ред. Т.А. Работнов. М. : МГУ, 1975. Вып. 2. С. 137–168.
15. Гогина Е.Е. О некоторых направлениях эволюции жизненных форм в роде *Thymus* L. // Жизненные формы: структура, спектры, эволюция / отв. ред. Т. И. Серебрякова. М. : Наука, 1981. С. 46–76.
16. Гогина Е.Е. Изменчивость и формообразование в роде тимьян. М. : Наука, 1990. 208 с.
17. Cheryomushkina V., Talovskaya E., Astashenkov A. Diversity of architectural units of *Thymus* (Lamiaceae) dwarf shrubs // Biharean biologist. 2019. № 13 (2). PP. 61–65.
18. Millan M., Rowe N.P., Edelin C. Deciphering the growth form variation of the Mediterranean chamaephyte *Thymus vulgaris* L. using architectural traits and their relations with different habitats // Flora. 2019. Vol. 251, PP. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.11.021>
19. Гамаюнова А.П., Дмитриева А.А. *Thymus* L. // Флора Казахстана / под ред. Н.В. Павлова. Т. 7. Алма-Ата : Изд-во АН КазССР, 1964. С. 445–461.
20. Иващенко А.А., Олонцева А.Х. Многолетние исследования арчевника (*Juniperus semiglobosa*+*J. turkestanica*) в заповеднике «Аксу-Джабаглы» // Роль природно-заповідних територій у підтриманні біорізноманіття : матеріали наукової конференції, присвяченої 80-річчю Канівського природного заповідника (Канів, 2003 р.). Канів : Київський національний ун-т ім. Тараса Шевченка, Канівський природний заповідник, 2003. С. 101–104.
21. Rachkovskaya E.I., Bragina T.M. Steppes of Kazakhstan: Diversity and Present State // Eurasian Steppes. Ecological Problems and Livelihoods in a Changing World. 2012. Vol. 6. PP. 103–148. <http://www.springer.com/series/7549>
22. Атажанова Г.А., Рязанцева О.Г., Сейдахметова Р.И., Адекенов С.М. Цитотоксическая активность эфирных масел и их компонентов // Российский биотерапевтический журнал. Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Противоопухолевая терапия: от эксперимента к клинике» (Москва, 20–21 марта 2014 года). 2014. Т. 13, № 1. С. 61.
23. Карамышева Н.Х. Флора и растительность заповедника Аксу-Джабаглы (Таласский Алатау). Алма-Ата : Наука Казахской ССР, 1973. 178 с.
24. Рачковская Е.И. Растительный покров Аксу-Жабаглинского заповедника // Труды Аксу-Жабаглинского государственного природного заповедника. 2016. Вып. 11. С. 149–170.
25. Мазуренко М.Т., Хохряков А.П. Структура и морфогенез кустарников. М. : Наука, 1977. 158 с.
26. Серебряков И.Г. Экологическая морфология растений: жизненные формы покрытосеменных и хвойных. М. : Высшая школа, 1962. 378 с.
27. Нухимовский Е.Л. Основы биоморфологии семенных растений. Т. 1. М. : Наука, 1997. 630 с.
28. Бобров Ю.А. Грушанковые России. Киров : ВятГГУ, 2009. 130 с.

29. Barthélémy D., Caraglio Y. Plant architecture: a dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny // *Annals of botany*. 2007. Vol. 99, № 3. PP. 375–407. <https://www.jstor.org/stable/42797608>
30. Smirnova O.V., Palenova M.M., Komarov A.S. Ontogeny of different life forms of plants and specific features of age and spatial structure of their populations // *Russian Journal of Developmental Biology*. 2002. Vol. 33, № 1. PP. 1–10. <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1013889926529>
31. Савиных Н.П., Черёмушкина В.А. Биоморфология: современное состояние и перспективы // *Сибирский экологический журнал*. 2015. Т. 22, № 5. С. 659–670. doi: [10.15372/SEJ20150501](https://doi.org/10.15372/SEJ20150501)

*Поступила в редакцию 12.04.2019 г.; повторно 30.08.2019 г.;
принята 11.09.2019 г.; опубликована 27.09.2019 г.*

Авторский коллектив:

Черёмушкина Вера Алексеевна – профессор, д-р биол. наук, г.н.с. лаборатории популяционной биологии и биоморфологии, Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-1502-7006>

E-mail: cher.51@mail.ru

Таловская Евгения Борисовна – канд. биол. наук, н.с. лаборатории популяционной биологии и биоморфологии, Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-5864-5712>

E-mail: kolegova_e@mail.ru

Астащенко Алексей Юрьевич – канд. биол. наук, с.н.с., зав. лабораторией популяционной биологии и биоморфологии, Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-5253-0842>

E-mail: astal@bk.ru

Гусева Александра Алексеевна – канд. биол. наук, м.н.с. лаборатории популяционной биологии и биоморфологии, Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101).

E-mail: guseva.sc@list.ru

Дзюманов Самат – зам. директора по науке Аксу-Жабаглинского государственного заповедника (Казахстан, 131610, пос. Жабаглы, ул. Абая, 8).

E-mail: samat.reserve@mail.ru

For citation: Cheryomushkina VA, Talovskaya EB, Astashenkov AY, Guseva AA, Dzhumanov S. Biology of *Thymus dmitrieva* Gamajun. (Lamiaceae) in the protected area (Aksu-Dzhabagly Reserve). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = *Tomsk State University Journal of Biology*. 2019;47:103–122. doi: [10.17223/19988591/47/7](https://doi.org/10.17223/19988591/47/7) In Russian, English Summary

**Vera A. Cheryomushkina¹, Evgeniya B. Talovskaya¹,
Alexey Yu. Astashenkov¹, Alexandra A. Guseva¹, Samat Dzhumanov²**

¹ Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

² Aksu-Zhabagly State Nature Reserve, Zhabagly, Kazakhstan

Biology of *Thymus dmitrieva* Gamajun. (Lamiaceae) in the protected area (Aksu-Dzhabagly Reserve)

The aim of our work was to study the architecture and morphogenesis of *Thymus dmitrievae* Gamajun. (Lamiaceae Lindl.) growing in the Tien-Shan mountains to identify

morphological mechanisms of its adaptation to growing conditions. The main habitat of the species is steppe communities in forest, subalpine and alpine zones of the mountains. According to AP Gamayunova and AA Dmitrieva (1964), *T. dmitrievae* in different habitats is characterized by the density of head inflorescence, leaf size, calyx teeth shape and its pubescence. Information about the biology of this species is absent in literature.

We conducted our study on the territory of the Aksu-Zhabagly Reserve (Western part of the Talas Alatau): 1) the Kshi-Kaindy upriver (42°22'31"N, 70°34'37"E, altitude of 2206 m above sea level), the upper limit of the juniper belt, forb-fescue high-mountain steppe, dark brown soil among the outcrops of stones; 2) middle reaches of the Kshi-Kaindy river, (42°24'25"N, 70°34'42"E, altitude of 1808 m above sea level), the belt of junipers, bushy forb-feather-grass mountain steppe, soils are leached and covered with cobbles. The life form of *T. dmitrieva* was specified using ecological-morphological classification of life forms by IG Serebryakov (1962). The biomorph type was established in accordance with OV Smirnova et al.'s (2002) phytocenotic classification developed on the features of spatial distribution of shoots, buds and roots of plants. The morphogenesis phases of *T. dmitrieva* were selected according to the characteristics given by OV Smirnova and supplemented by NP Savinykh and VA Cheryomushkina (2015). In 25 individuals of each ontogenetic state, we calculated the number of vegetative and generative shoots in the bush structure, their length, the number of compound skeletal axes and partial bushes, and the bush diameter. The data for each feature are presented as an arithmetic mean with a standard error. When describing the shoot system of *T. dmitrievae*, we used the architectural approach (Caraglio and Edelin, 1990; Barthélémy and Caraglio, 2007; Millan et al., 2019), according to which an architectural unit consisting of the main (or maternal n-order) composite skeletal axis, the composite skeletal axis of the 1st (or n+1) order, single shoots of the 1st order formation, branching shoots and ephemeral shoots was distinguished.

The analysis of shoot formation, the pattern of death of shoots and the method of their growth showed that *T. dmitrievae* was characterized by the life form of the dwarf shrub. Depending on the characteristics of the substrate, we revealed polyvariance of individuals. In the areas of substrate free from stony-gravelly outcrops, the morphogenesis of individuals is characterized by a variety of phases (in genet: primary shoot, primary bush, clump; in ramets: partial bush, the system of partial bushes), the clump phase being the longest of them (until 16 years) (See Fig. 1). The structure of individuals is formed by repeating three architectural units: orthotropic-plagiotropic, plagiotropic and orthotropic (See Fig. 3). The presence of an individual of simultaneously three architectural units in the structure ensures the seizure of the territory and leads to the compaction of the bush. In this case, several centers of consolidation form in the structure of the bush (See Table). In individuals growing on a soil and stony substrate, morphogenesis consists of two phases that take place in genet: primary shoot and primary bush. The phase of the primary bush is the longest. It occurs in the immature state and continues until the death of the individual in the old generative state (until 22 years) (See Fig. 2). The structure of individuals is formed by multiple repeating of two architectural units: plagiotropic and orthotropic (See Fig. 3), which leads to intensive growth of the bush.

The paper contains 3 Figures, 1 Table and 31 References.

Key words: *Thymus dmitrievae*; architectural unit; morphogenesis; morphological adaptation; dwarf shrub; Talas Alatau.

Funding: This work was carried out with the financial support of the grant of the Russian Foundation for Basic Research within the framework of Scientific Project No 18-04-00621-a and Project of the State Assignment of Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences No AAAA-A17-117012610053-9.

Acknowledgments: The Authors express their deep gratitude to the staff of the Scientific Department of the Aksu-Zhabagly Reserve for their help in organizing and conducting expedition works, as well as to the administration represented by the director Menlibekov AN for the support and provision of technical equipment.

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Caraglio Y, Edelin C. Architecture et dynamique de la croissance du platane. *Platanus hybrida* Brot. (Platanaceae) (syn. *Platanus acerifolia* (Aiton) Willd.). *Bulletin de la Société Botanique de France, Lettres botaniques*. 1990;137(4-5):279-291. doi: [10.1080/01811797.1990.10824889](https://doi.org/10.1080/01811797.1990.10824889)
2. Charles-Dominique T, Edelin C, Bouchard A. Architectural strategies of *Cornus sericea*, a native but invasive shrub of Southern Quebec, Canada, under an open or a closed canopy. *Annals of Botany*. 2010;105(2):205-220. doi: [10.1093/aob/mcp273](https://doi.org/10.1093/aob/mcp273)
3. Antonova IS, Gniovskaya AA. Shoot systems of *Acer negundo* L. (Aceraceae) crown in different age stages. *Botanicheskiy Zhurnal = Botanical Journal*. 2013;98(1):53-68. In Russian
4. Getmanets I. Morphoadaptive determination of structural diversity of biormorphs of *Salix* L. species in Southern Urals. *Contemporary Problems of Ecology*. 2015;8(5):574-583. doi: [10.1134/S1995425515050078](https://doi.org/10.1134/S1995425515050078)
5. Kostina MV, Barabanshikova NS, Bityugova GV, Yasinskaya OI, Dubach AM. Structural modifications of birch (*Betula pendula* Roth.) crown in relation to environmental conditions. *Contemporary Problems of Ecology*. 2015;8(5):584-597. doi: [10.1134/S1995425515050091](https://doi.org/10.1134/S1995425515050091)
6. Nedoseko O, Viktorov V. Arkhitekturnye modeli *Salix triandra* L. i *Salix fragilis* L. [Architectural models *Salix triandra* L. and *Salix fragilis* L.]. *Sotsial'no-ekologicheskie tekhnologii = Environment and Human: Environmental Studies*. 2016;2:39-50. In Russian
7. Gambino S, Ratto F, Bartoli A. Architecture of the genus *Gutierrezia* (Asteraceae: Astereae, Solidagininae). *Boletín de Sociedad Argentina de Botánica*. 2016;51(4):657-663.
8. Goroshkevich SN. Crown structure in Siberian stone pine (*Pinus sibirica* Du Tour) young generative trees. Spatial organization of shoot diversity. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2018;42:140-159. doi: [10.17223/19988591/42/7](https://doi.org/10.17223/19988591/42/7) In Russian, English Summary
9. Bartušková A, Klimešová J. Reiteration in the short lived root-sprouting herb *Rorippa palustris*: Does the origin of buds matter? *Botany*. 2010;88(7):630-638. doi: [10.1139/B10-044](https://doi.org/10.1139/B10-044)
10. Savinykh NP, Shishkina NI. *Centaurea sumensis* Kalen. biomorphology from the perspective of species protection. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2016;2(34):69-86. In Russian, English Summary
11. Cheryomushkina VA, Guseva AA. Morhogenesis of *Scutellaria grandiflora* (Lamiaceae) and ontogenetic structure of its coenopopulations. *Rastitel'nye resursy*. 2017;53(3):380-393. In Russian
12. Navarro T, Pascual V, Cabezudo B, Alados C. Architecture and functional traits of semi-arid shrub species in Cabo de Gata Natural Park, SE Spain. *Candollea*. 2009;64:69-84. doi: [10.1016/j.jaridenv.2008.09.009](https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2008.09.009)
13. Götmark F, Götmark E, Jensen AM. Why be a shrub? A basic model and hypotheses for the adaptive values of a common growth form. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:1095. doi: [10.3389/fpls.2016.01095](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01095)
14. Gogina EE. Rod chabrets (tim'yan) - *Thymus* L. [*Thymus* L. genus]. In: *Biologicheskaya flora Moskovskoy oblasti* [Biological flora of Moscow oblast]. Vol. 2. Rabotnov TA, editor. Moscow: Moscow State University Publ.; 1975. pp. 137-168. In Russian

15. Gogina EE. O nekotorykh napravleniyakh evolyutsii zhiznennykh form v rode *Thymus* L. [Some evolution trends of life forms in *Thymus* L.]. In: *Zhiznennye formy: struktura, spektry, evolyutsiya* [Life forms: Structure, spectra, evolution]. Serebryakova TI, editor. Moscow: Nauka Publ.; 1981. pp. 46-76. In Russian
16. Gogina EE. Izmenchivost' i formoobrazovanie v rode tim'yan [Variability and morphogenesis in *Thymus*]. Moscow: Nauka Publ.; 1990. 208 p. In Russian
17. Cheryomushkina V, Talovskaya E, Astashenkov A. Diversity of architectural units of *Thymus* (Lamiaceae) dwarf shrubs. *Biharean biologist*. 2019;13(2):61-65.
18. Millan M, Rowe NP, Edelin C. Deciphering the growth form variation of the Mediterranean chamaephyte *Thymus vulgaris* L. using architectural traits and their relations with different habitats. *Flora*. 2019;251:1-10. doi: [10.1016/j.flora.2018.11.021](https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.11.021)
19. Gamayunova AP, Dmitrieva AA. *Thymus* L. [*Thymus* L.]. In: *Flora Kazakhstana* [Flora of Kazakhstan]. Vol. 7. Pavlov NV, editor. Alma-Ata: Publishing house of Kazakh SSR Academy of Sciences Publ.; 1964. pp. 445-461. In Russian
20. Ivashchenko AA, Olontseva AKh. Mnogoletnie issledovaniya archevnika (*Juniperus semiglobosa*+*J. turkestanica*) v zapovednike «Aksu-Dzhabagly» [Long-term studies of *Juniperus semiglobosa*+*J. turkestanica* in the Aksu-Dzhabagly Reserve]. In: *Rol' prirodnoprirodnykh teritoriy u pidtri'anni bioriznomanitya*. Materiali naukovoï konferentsii [The role of Nature Reserves in supporting biodiversity. Proc. of the Sci. Conf. (Kaniv, Ukraine, 2003)]. Kyiv: Taras Shevchenko national University of Kyiv, Kiev Nature Reserve Publ.; 2003. pp. 101-104. In Russian
21. Rachkovskaya EI, Bragina TM. Steppes of Kazakhstan: Diversity and present state. In: *Eurasian Steppes. Ecological Problems and Livelihoods in a Changing World. Plant and Vegetation*. Werger MJA and van Staalduinen MA, editors. Dordrecht: Springer Publ.; 2012; Vol. 6. pp. 103-148. doi: [10.1007/978-94-007-3886-7_3](https://doi.org/10.1007/978-94-007-3886-7_3)
22. Atazhanova GA, Ryazantseva OG, Seydakhmetova RI, Adekenov SM. Tsitotoksicheskaya aktivnost' efirnykh masel i ikh komponentov [Cytotoxic activity of essential oils and their components]. In: *Materialy vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii "Protivoopukholevaya terapiya: ot eksperimenta k klinike"* [Antitumor therapy: From experiment to clinic. Proc. of the Sci. Conf. (Moscow, Russia, 20-21 March 2014)]. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy*. 2014;13(1):61. In Russian
23. Karmysheva NH. Flora i rastitel'nost' zapovednika Aksu-Dzhabagly (Talasskiy Alatau) [Flora and vegetation of the Aksu-Dzhabagly Reserve (Talas Alatau)]. Alma-Ata: Science of the Kazakh SSR Publ.; 1973. 178 p. In Russian
24. Rachkovskaya EI. Rastitel'nyy pokrov Aksu-Zhabaglinskogo zapovednika [Vegetation cover of Aksu-Dzhabagly nature reserve]. Kovshar' AF, editor. In: *Trudy Aksu-Zhabaglinskogo gosudarstvennogo prirodnogo zapovednika. Sbornik nauchnykh statey* [Proceedings of Aksu-Dzhabagly Nature Reserve]. Almaty: BKK Druck Publ.; 2016; Vol. 11. pp. 149-170. In Russian
25. Mazurenko MT, Khokhryakov AP. Struktura i morfogenez kustarnikov [Structure and morphogenesis of dwarf scrubs]. Moscow: Nauka Publ.; 1977. 158 p. In Russian
26. Serebryakov IG. Ekologicheskaya morfologiya rasteniy: Zhiznennye formy pokrytosemennykh i khvoynykh [Ecological plant morphology: Life forms of angiosperms and conifers]. Moscow: Vysshaya shkola Publ.; 1962. 378 p. In Russian
27. Nukhimovskiy EL. Osnovy biomorfologii semennykh rasteniy: Teoriya organizatsii biomorf [Fundamentals of biomorphology of seed plants: Theory of biomorph organization]. Moscow: Nauka Publ.; 1997. Vol. 1. 630 p. In Russian
28. Bobrov YuA. Grushankovye Rossii [Pyrolaceae of Russia]. Kirov: VyatGGU Publ.; 2009. 130 p. In Russian

29. Barthélémy D, Caraglio Y. Plant architecture: A dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Annals of Botany*. 2007;99(3):375-407. doi: [10.1093/aob/mcl260](https://doi.org/10.1093/aob/mcl260)
30. Smirnova OV, Palenova MM, Komarov AS. Ontogeny of different life forms of plants and specific features of age and spatial structure of their populations. *Russian Journal of Developmental Biology*. 2002;33(1):1-10. doi: [10.1023/A:1013889926529](https://doi.org/10.1023/A:1013889926529)
31. Savinykh NP, Cheryomushkina VA. Biomorphology: Current status and prospects. *Contemporary Problems of Ecology*. 2015;8(5):541-549. doi: [10.1134/S1995425515050121](https://doi.org/10.1134/S1995425515050121)

Received 12 April, 2019; Revised 30 August 2019;

Accepted 11 September 2019; Published 27 September 2019

Author info:

Cheryomushkina Vera A, Professor, Dr. Sci. (Biol.), Chief Researcher, Laboratory of Population Biology and Biomorphology, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskaya Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-1502-7006>

E-mail: cher.51@mail.ru

Talovskaya Evgeniya B, Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Laboratory of Population Biology and Biomorphology, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskaya Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-5864-5712>

E-mail: kolegova_e@mail.ru

Astashenkov Alexey Yu, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Head of the Laboratory of Population Biology and Biomorphology, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskaya Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-5253-0842>

E-mail: astal@bk.ru

Guseva Alexandra A, Cand. Sci. (Biol.), Junior Researcher, Laboratory of Population Biology and Biomorphology, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskaya Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

E-mail: guseva.sc@list.ru

Dzhumanov Samat, Deputy Director for Science, Aksu-Zhabagly State Nature Reserve, 8 Abaya Str., Village of Zhabagly 131610, Kazakhstan.

E-mail: samat.reserve@mail.ru

ЗООЛОГИЯ

УДК 591.111.1, 591.69-755.43

doi: 10.17223/19988591/47/7

А.К. Минеев, О.В. Минеева

*Институт экологии Волжского бассейна РАН – филиал
Самарского федерального исследовательского центра РАН, г. Тольятти, Россия*

Гематологические параметры и паразитофауна обыкновенного пескаря *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758) в рыбоводном водоеме

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН Институт экологии Волжского бассейна РАН, тема (проект) № АААА-А17-117112040039-7 «Экологические закономерности структурно-функциональной организации, ресурсного потенциала и устойчивого функционирования экосистем Волжского бассейна» (направление 51 «Экология организмов и сообществ»).

*Представлены результаты гематологического и паразитологического исследования обыкновенного пескаря *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758) из рыбоводного пруда, в котором он является «сорным» видом. В условиях относительно чистого водоема лейкоцитарный состав крови рыб представлен 6 группами клеток: клетками-предшественниками, нейтрофилами, эозинофилами, базофилами, лимфоцитами и моноцитами. Процентное соотношение форменных элементов белой крови, за исключением эозинофилов, находилось в пределах физиологической нормы. Обнаружено 8 типов морфологических нарушений клеток красной крови, частота встречаемости большинства из которых не превышала величину их образования при спонтанном мутагенезе. Паразитофауна обыкновенного пескаря в исследованном водоеме крайне обеднена и включала 3 вида многоклеточных паразитов. Отмечена 100%-ная инвазия рыб патогенным рачком *Ergasilus sieboldi* Nordmann, 1832, высокая степень инвазии которым (до 57 экз./особь) может являться причиной зарегистрированных отклонений гематологических параметров (наличие в кровяном русле пойкилоцитов и выраженная эозинофилия).*

Ключевые слова: *Gobio gobio*; *Ergasilus sieboldi*; лейкоцитарная формула; патологии эритроцитов; паразитофауна.

Введение

Несмотря на незначительную хозяйственную ценность и малые размеры, обыкновенный пескарь (*Gobio gobio* (Linnaeus, 1758)) не перестает привлекать внимание исследователей. Ранее считалось, что это один чрезвычайно полиморфный, широко распространенный евроазиатский вид с разорванным ареалом, в рамках которого выделялось большое число номинальных подвидов [1, 2].

Последняя ревизия рыб рода *Gobio* Европы показала, что таксон *G. gobio* – это совокупность морфологически близких видов, о чем убедительно свидетельствуют кариологические данные. Секвенирование митохондриального и ядерного генома подтвердило отдельный статус рода *Gobio* как монофилетической группы и выявило 15 евразийских линий, разделенных на 2 основные клады – Североевропейскую и Понто-Каспийскую [3, 4].

Пескарь – типично донный вид, весьма восприимчивый к загрязнению водной среды [5–7]. Одним из центральных вопросов в экологическом мониторинге рыб является поиск наиболее чувствительных индикаторов активного антропогенного воздействия на водоемы. Традиционным методом, направленным на изучение адаптивных механизмов, поддерживающих гомеостаз, в том числе и в экстремальных условиях, является исследование гематологических параметров [8–13].

Исследование паразитов *G. gobio* в разных точках его ареала также является перспективным и актуальным направлением. Пескарь, наряду с другими «малоценными» видами, составляет основу рациона хищных промысловых рыб и рыбоядных птиц, исполняя роль промежуточного хозяина в цикле развития многих гельминтов. В рыбоводных водоемах, где зачастую является нежелательным компонентом ихтиофауны, он может быть источником заболеваний ценных видов рыб. Помимо этого, на территории Самарской области паразитологического исследования пескаря ранее не проводилось.

Цель данной работы – исследование гематологических параметров и паразитофауны обыкновенного пескаря в условиях рыбоводного водоема.

Материалы и методики исследования

Ихтиологический материал собран в пруду Гранный, который расположен в Ставропольском районе Самарской области вблизи с. Новая Бинарадка (53°81'24"N, 49°93'74"E). Водоем с площадью акватории 25 га создан в 1978 г. на месте одноименного оврага в противопожарных и сельскохозяйственных целях. Питание пруда – комбинированное, осуществляется за счет грунтовых вод, впадающего ручья и осадков. В настоящий период водоем используется в рыборазводных целях (выращивается карп). Облов пруда с использованием мальковой волокуши (длина 15 м, ячея в кутке 5 мм), невода (длина 20 м, ячея 5 см) и набора крючковых снастей показал, что в нем присутствуют также «сорные виды» – окунь, карась, плотва, уклея, пескарь.

Постоянно проводимый мониторинг качества воды позволяет отнести пруд Гранный к чистым водоемам. По данным аккредитованной гидрохимической лаборатории ООО «Центр мониторинга водной и геологической среды» (аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.511096 на техническую компетентность и независимость), содержание основных загрязняющих веществ в воде в летний период, за исключением железа, не превышает нормативов ПДК, разработанных для водных объектов рыбохозяйственного значения (табл. 1).

Таблица 1 [Table 1]

Некоторые гидрохимические показатели пруда Гранный
[Some hydrochemical parameters of Granny pond]

Показатель [Parameter]	Нормативы качества воды водных объектов рыбо- хозяйственного значения, приказ Минсельхоз России № 552 от 13.12.2016 г. [Standards of water quality in water objects of commercial fishing impor- tance, the order of the Ministry of Agriculture of the Russian Federa- tion No. 552 dated 13.12.2016]	Концентрация в ис- следуемом водоеме [Concentration in the investigated reservoir]
pH, ед.	6,5–8,5	7,69
Растворенный кислород, мг/дм ³ [Dissolved oxygen, mg/dm ³]	6,0	7,75
Хлорид-ион, мг/дм ³ [Chloride ion, mg/dm ³]	300	17
Сульфат-ион, мг/дм ³ [Sulfate ion, mg/dm ³]	100	20
Ион аммония / азот аммонийный, мг/дм ³ [Ammonium ion / ammonium nitrogen, mg/dm ³]	0,5/0,4	0,08/0,06
Нитрит-ион / азот нитритный, мг/дм ³ [Nitrite ion / nitrite nitrogen, mg/dm ³]	0,08/0,02	<0,01
Нитрат-ион / азот нитратный, мг/дм ³ [Nitrate ion / nitrate nitrogen, mg/dm ³]	40/9	0,5/0,1
Железо общее, мг/дм ³ [Total iron, mg/dm ³]	0,1	0,25
Магний, мг/дм ³ [Magnesium, mg/dm ³]	40	15
Нефтепродукты, мг/дм ³ [Petroleum products, mg/dm ³]	0,05	0,022
Фосфат-ион (по фосфору), мг/дм ³ [Phosphate ion (by phos- phorus), mg/dm ³]	0,2	0,056
АПАВ, мг/дм ³ [Anionic surfactants, mg/dm ³]	0,5	< 0,01
Фенолы (летучие), мг/дм ³ [Phenols (volatile), mg/dm ³]	0,001	< 0,001

В июле 2018 г. отловлено 26 экз. обыкновенного пескаря с длиной тела (SL, стандартная длина) от 89,2 до 101,9 мм (среднее значение $96,0 \pm 0,6$ мм); возраст животных, установленный по отолитам, составлял 3–4 года. Для проведения гематологических исследований у рыб сразу после отлова брали периферическую кровь; всего изготовлен 21 препарат. Зафиксированные этанолом мазки окрашивали по методу Романовского–Гимза. Идентификацию клеток крови проводили по соответствующим определителям [14, 15]. На

каждом препарате вели дифференциальный подсчет лейкоцитов среди 1 000 эритроцитов в 5–10 полях зрения (в зависимости от плотности клеток на препарате) по методу зигзага [14]. Для оценки физиологического состояния рыб и их иммунного статуса анализировали соотношение форменных элементов крови, изучали лейкоцитарную формулу, определяли уровень эритропоэза, фиксировали возможные патологии эритроцитов. На основе анализа данных лейкограмм рассчитывали интегральный индекс сдвига лейкоцитов (ИСЛ), представляющий собой соотношение гранулоцитов и агранулоцитов [16, 17].

Методом полного паразитологического вскрытия исследовано 26 экз. обыкновенного пескаря; сбор, фиксацию и камеральную обработку макропаразитов проводили по общепринятой методике [18]. Видовая диагностика многоклеточных паразитов осуществлялась по соответствующему определителю [19]. Для количественной характеристики зараженности животных использовались следующие показатели: экстенсивность инвазии (процентная доля зараженных особей в общем числе исследованных рыб), интенсивность инвазии (минимальное и максимальное число паразитов на одной особи) и индекс обилия паразитов (средняя численность паразитов у всех исследованных рыб, включая незараженных).

Математическая обработка данных выполнена с использованием программы Microsoft Excel. Данные представлены в виде средних арифметических со стандартными ошибками среднего.

Результаты исследования и обсуждение

В силу выполнения разнообразных физиологических и иммунологических функций кровь рыб имеет достаточно сложную морфологическую картину. Состав белой крови обыкновенного пескаря в условиях относительно чистого водоема характеризовался большим разнообразием и включал две группы клеток – гранулоциты и агранулоциты (табл. 2).

Таблица 2 [Table 2]

Лейкограмма периферической крови обыкновенного пескаря
[Leukogram of the peripheral blood of the gudgeon]

Тип клеток [Type of cells]	Содержание клеток белой крови [Content of white blood cells], %		Коэффициент вариации [Coefficient of variation], %
	среднее значение [mean value]	min-max	
Гранулоциты [Granulocytes]			
Клетки-предшественники [Progenitor cells]	4,05±0,91	0–13,56	103,13
Эозинофилы [Eosinophils]	8,63±1,30	0–21,82	69,24
Базофилы [Basophils]	3,61±0,40	0,56–6,39	50,60
Нейтрофилы [Neutrophils]	7,55±1,07	0–17,07	64,64
Агранулоциты [Agranulocytes]			
Лимфоциты [Lymphocytes]	75,11±1,27	65,00–85,53	7,72
Моноциты [Monocytes]	1.05±0.19	0.54–3.67	84.76

Наиболее многочисленной группой в составе лейкоцитов пескаря являлись лимфоциты (белая кровь имеет ярко выраженный лимфоидный характер), что характерно в целом для рыб разных систематических групп [8, 13, 16, 20–22]. Лимфоциты крови и лимфоидных органов являются той иммунной системой, которая ограждает организм от чужеродных влияний и сохраняет его генетическое постоянство [14, 23]. Являясь предшественниками макрофагов, фибробластов, «мачтовых» клеток, лимфоциты рыб выполняют специфические иммунологические реакции [24, 25]. Содержание клеток этого типа в лейкограммах пескаря находилось в пределах нормы для карповых рыб [16], а значение коэффициента вариации (см. табл. 2) свидетельствует о значительной однородности исследуемой выборки по данному показателю.

Другие представители агранулоцитов – моноциты – являлись довольно редкими клетками белой крови обыкновенного пескаря (см. табл. 2). Зрелые клетки данного типа существуют 48 часов, по истечении которых покидают кровяное русло и превращаются в макрофаги. Присутствие в периферической крови рыб моноцитов, не перешедших еще в стадию макрофагов, свидетельствует о начале развития воспалительного процесса [13, 22].

Среди клеток зернистого ряда пескаря преобладали эозинофилы и нейтрофилы. Среднее содержание последних находилось в пределах физиологической нормы для карповых рыб [16]; их максимальное процентное количество в белой крови отдельных особей (17,07%) (см. табл. 2) свидетельствует о развитии у последних нейтрофилии. Нейтрофилы всегда многочисленны в зоне острого воспаления, полученного в результате инфекции [26–28]. Помимо этого, повышенное содержание нейтрофилов в периферической крови рыб является неспецифической реакцией на стрессоры разной природы (воздействие поллютантов, паразитарная инвазия, алиментарный токсикоз, травмы) [29–32].

Среднее процентное содержание эозинофилов в лейкограммах исследованных пескарей превышало нормальные значения [16], а встречаемость данных клеток у отдельных особей (до 21,82% от числа всех лейкоцитов) (см. табл. 2) свидетельствует о развитии эозинофилии. Клетки этого вида накапливаются в организме рыб при паразитарных инвазиях и воспалениях [8, 13, 14, 28], что, однако, не служит безусловным доказательством их антипаразитарной функции.

Базофилы в составе периферической крови пескаря встречались редко (см. табл. 2), в норме это самая малочисленная группа лейкоцитов, на полное отсутствие которых в крови разных видов рыб указывают некоторые авторы [14, 20, 21]. Повышенное содержание базофилов (до 6,39% от всех лейкоцитов) (см. табл. 2) свидетельствует о воспалительном процессе или развитии аллергической реакции у отдельных исследованных особей.

Характерной особенностью крови рыб является полиморфизм форменных элементов – одновременное присутствие в кровяном русле клеток различной степени зрелости. В лейкограммах пескаря пруда Гранный обнаружены молодые формы гранулоцитов – клетки-предшественники (см. табл. 2), содержание которых в белой крови пресноводных рыб может достигать 10% [14].

Лейкоцитарный состав крови рыб весьма изменчив. На соотношение отдельных групп клеток влияют различные биотические и абиотические факторы (возраст и пол животных, период нереста, сезонность, колебания температуры, алиментарный токсикоз, инфекционные и паразитарные заболевания, изменение физико-химических характеристик воды) [9, 20]. Соотношение гранулоцитов и агранулоцитов, на основании которого рассчитан индекс сдвига лейкоцитов (ИСЛ), информативно отражает нарушения в иммунологической реактивности отдельных особей и позволяет судить о наличии патологического процесса [17, 22].

В норме ИСЛ карповых рыб составляет 0,25–0,35 (в среднем 0,30) [16]. Отклонение ИСЛ в ту или иную сторону от нормальных значений является признаком заболевания или усиленного негативного пресса со стороны окружающей среды, а высокая частота встречаемости таких особей – признак неблагополучия популяции в целом [33].

В условиях рыбоводного водоема большая часть популяции обыкновенного пескаря представлена животными, здоровыми по данному показателю. У трети исследованных особей обнаружено повышение ИСЛ относительно нормы, что указывает на активацию гранулопоэза, преимущественно за счет роста числа эозинофилов (табл. 2, 3). У остальных рыб зарегистрирован агранулоцитоз разной степени выраженности (см. табл. 3).

Таблица 3 [Table 3]

Индекс сдвига лейкоцитов (ИСЛ) крови обыкновенного пескаря
[Index of leukocyte shift (ILS) in the blood of the gudgeon]

ИСЛ < 0,25 (агранулоцитоз) [ILS < 0,25 (agranulocytosis)]	ИСЛ = 0,25–0,35 (норма, здоровые особи) [ILS = 0,25–0,35 (normal, healthy individuals)]	ИСЛ > 0,35 (гранулоцитоз) [ILS > 0,35 (granulocytosis)]
23,81±9,52	42,86±11,07	33,33±10,54

Выявленные отклонения в соотношении различных форм лейкоцитов, которые можно рассматривать в качестве адаптационного механизма, повышающего защитную функцию крови в условиях воздействия комплекса неблагоприятных факторов разной природы [8, 9, 13, 33], являются достаточно распространенным и неспецифическим ответом организма рыб [34].

Морфологическая картина клеток красной крови пескаря пруда Гранный представлена зрелыми и незрелыми (нормобласты, базофильные и полихроматофильные эритроциты) формами эритропоэза. У всех исследованных рыб на одном мазке обнаружены и зрелые эритроциты, имеющие эллипсоидную форму, и незрелые клетки округлой формы.

Большинство исследованных особей пескаря пруда Гранный характеризовалось нормальным или слегка пониженным уровнем эритропоэза, лишь у небольшого числа рыб отмечалось более интенсивное образование красных кровяных клеток (табл. 4).

Таблица 4 [Table 4]

Интенсивность эритропоэза в сосудистой крови обыкновенного пескаря
[Intensity of erythropoiesis in the vascular blood of the gudgeon]

Содержание незрелых эритроцитов в периферической крови рыб [Content of young erythrocytes in the peripheral blood of fish]	Количество рыб [Number of fish], %
<5	42,86±11,07
5–10	42,86±11,07
>10	14,29±7,83

Регенерация форменных элементов крови (гемопоз) у рыб на протяжении всей жизни индивидуума обеспечивается кроветворными тканями (селезенкой, тимусом, почками, сердцем, полостями костей черепа, кишечником, жаберным аппаратом, сосудистой кровью) [14, 35]. Уровень эритропоэза (интенсивность образования красных клеток в кроветворных органах и тканях) определяется многими факторами: особенностями биологии рыб, гидрохимическим режимом водоема, периодом вегетационного сезона, неполноценностью и / или несбалансированностью пищи, способом выращивания, кровопотерями в результате травм и воздействия паразитов и др. [9, 36].

Анализ мазков крови продемонстрировал, что в условиях рыбоводного водоема у трети исследованных особей обыкновенного пескаря (33,33±10,54%) не обнаружено патологически измененных эритроцитов в кровяном русле. Клетки красной крови остальных животных характеризовались теми или иными нарушениями морфологии (табл. 5).

Таблица 5 [Table 5]

**Встречаемость aberrantных эритроцитов в периферической
крови обыкновенного пескаря**
[Occurrence of aberrant erythrocytes in the peripheral blood of the gudgeon]

Тип патологии [Type of pathology]	Встречаемость рыб с патологией [Occurrence of fish with pathology], %	Частота aberrantных эритроцитов среди проанализированных [Frequency of aberrant red blood cells among the analyzed], %	
		среднее значение [mean value]	min–max
Пойкилоцитоз [Poikilocytosis]	61,90±10,86	2,77±1,02	0–15,07
Фестончатый контур [Scalloped contour]	4,76±4,76	0,18±0,18	0–3,79
Ацентрическое расположение ядра [Acentric arrangement of the core]	33,33±10,54	1,29±0,49	0–7,16
Деформация ядра [Deformation of the nucleus]	9,52±6,56	0,08±0,07	0–1,46
Фрагментоз ядра [Fragments of the core]	4,76±4,76	0,03±0,03	0–0,55
Раздвоение ядра [Split core]	9,52±6,56	0,03±0,02	0–0,33
2 ядра [2 cores]	4,76±4,76	0,02±0,02	0–0,32
Вакуолизация цитоплазмы [Cytoplasmic vacuolization]	14,29±7,83	0,31±0,20	0–3,91

По характеру и степени проявления выявленные нарушения разделяются на несколько групп [37].

1. Аберрации, связанные с изменением формы клеток – пойкилоцитоз и фестончатые выросты (контур) цитоплазмы. Пойкилоцитоз (наличие в крови клеток, резко отличающихся по форме) является наиболее распространенной патологией эритроцитов обыкновенного пескаря пруда Гранный (см. табл. 5), внутри которой особо выделяется каплевидная и палочковидная деформации (встречаемость особей с таким типом аберраций составляет $38,10 \pm 10,86\%$ и $9,52 \pm 6,56\%$ соответственно). В целом около 2,77% проанализированных эритроцитов рыб характеризовались наличием данного нарушения, что выше величины их спонтанного образования, которая в норме составляет не более 1% [38, 39].

Незначительное количество исследованных эритроцитов пескаря имело фестончатые (волнистые) контуры оболочки (см. табл. 5) при сохранении нормальных размеров клетки.

Причинами появления указанных нарушений чаще всего являются патологии плазматической мембраны и осморезистентности клеток вследствие интоксикации организма различной этиологии [13, 20, 38].

2. Нарушения, связанные с изменениями ядра – ацентрическое расположение (смещение ядра к периферии), деформация (неправильная форма при сохранении нормальных размеров ядра) и фрагментоз (разделение ядра на несколько соединенных между собой сегментов). Последние 2 типа аберраций являются необратимыми дегенеративными изменениями, однако частота проявления данных патологий крайне низка (см. табл. 5).

3. Нарушения, связанные с делением клетки – раздвоение (амитоз) и удвоение ядра. Частота встречаемости клеток с подобными аномалиями среди общего числа проанализированных не превышает величину их появления при спонтанном мутагенезе (1%), лишь единичные особи пескаря являются носителями подобных нарушений (см. табл. 5).

4. Дегенеративные изменения клетки – вакуолизация цитоплазмы. Данный тип патологий эритроцитов характеризуется наличием в цитоплазме клеток единичных вакуолей разного размера, причиной чего являются нарушения внутриклеточного обмена [14].

Данные гематологического анализа обыкновенного пескаря свидетельствуют в целом об устойчивом морфофизиологическом состоянии и относительно благополучии популяции *G. gobio* в условиях рыбоводного водоема. Показатели периферической крови пескаря пруда Гранный, воды которого можно признать чистыми (см. табл. 1), значительно отличались от таковых у рыб из загрязненных водотоков с существенной антропогенной нагрузкой [6].

Обнаруженные нарушения морфологии и соотношения форменных элементов крови (патологически измененные эритроциты, отклонения от нормы в лейкограмме) не являются критическими и могут быть связаны как с

особенностями физиологического состояния рыб (только окончившийся период нереста вызвал определенное напряжение в функционировании системы крови), так и с паразитарной инвазией животных, что не раз отмечалось в литературе [8, 14, 28, 37].

Фауна макропаразитов обыкновенного пескаря в бассейне Волги достаточно богата в качественном отношении и представлена 44 видами разных таксономических групп: Monogenea – 10, Cestoda – 5, Trematoda – 15, Nematoda – 4, Acanthocephala – 5, Hirudinea – 2, Crustacea – 3 [40–45]. Значительное разнообразие паразитов со сложным жизненным циклом, которых пескарь приобретает алиментарным (трофическим) путем, определяется богатством пищевого рациона рыб в естественных водоемах. Обыкновенный пескарь – типичный бентофаг, молодь и взрослые особи *G. gobio* питаются личинками амфибиотических насекомых (хирономид, поденок, ручейников, мух-береговушек, мокрецов, симулид), а также ракообразными и моллюсками; отмечены случаи поедания икры других рыб [46–48].

В условиях рыбоводного водоема пескарь заражен тремя видами многоклеточных паразитов (табл. 6).

Таблица 6 [Table 6]

Фауна паразитов обыкновенного пескаря пруда Гранный
[The fauna of parasites in the gudgeon of Granny pond]

Паразит / локализация [Parasite / localization]	Экстенсивность инвазии [Prevalence], %	Интенсивность инвазии, экз. [Intensity of infection, ind.]	Индекс обилия, экз. [Mean abundance, ind.]
<i>Neogryporhynchus cheilancristrotus</i> (Wedl, 1855), pl. желчный пузырь [gallbladder]	3,85	1	0,04±0,04
<i>Contracaecum microcephalum</i> (Rudolphi, 1819), l. III печень [liver]	3,85	1	0,04±0,04
<i>Ergasilus sieboldi</i> Nordmann, 1832 плавники, жабры [fins, gills]	100,00	2–57	19,35±2,66

Плероцеркоид *N. cheilancristrotus* и личинка нематоды *C. microcephalum* заражают хозяина трофическим путем (через веслоногих рачков). Низкие показатели зараженности гельминтами (следует говорить о единичной инвазии) могут быть обусловлены несколькими причинами. Во-первых, в водоеме постоянно присутствуют искусственные корма (фуражная пшеница и зерноотходы), на питание которыми перешли в том числе и «сорные» виды рыб. Во-вторых, невысокая продуктивность пруда по показателям зоопланктона и исходно низкая зараженность кормовых беспозвоночных (это предположение требует дополнительного исследования). Оба вида червей заканчивают свое развитие в рыбоядных птицах. Отсутствие по берегам водоема

постоянных колоний птиц и, как следствие, инвазионного начала (яиц гельминтов) также может быть причиной низкой зараженности рыб личинками цестоды и нематоды.

Следует отметить, что *N. cheilancristrotus* и *C. microcephalum* впервые отмечены в составе паразитофауны обыкновенного пескаря бассейна Волги.

Особый интерес представляет 100%-ная инвазия рыб рачком *E. sieboldi* (см. табл. 6), интенсивность заражения которым отдельных особей достигает нескольких десятков экземпляров; паразиты локализуются не только на жабрах, но и на плавниках (в данном случае можно говорить о гиперинвазии). Этот вид характеризуется слабо выраженной специфичностью и паразитирует у большинства видов пресноводных рыб (карповых, окуневых, лососевых, сиговых и др.) [19, 49, 50].

Жизненный цикл эргазилюса связан с годовым ходом температуры воды. В холодный период года самки пребывают в состоянии покоя. С повышением температуры воды начинается процесс формирования яиц в яичнике; зрелые яйцевые мешки появляются при температуре воды не ниже 14°. В каждом яйцевом мешке по 100–110 науплиев. *E. sieboldi* – теплолюбивый вид, оптимальная температура его развития составляет 22–25°. Вспышки заболевания происходят главным образом летом, в июле–августе, но иногда и осенью. Поздно прикрепившиеся самки размножаются только весной следующего года. Срок развития от яйца до половозрелой особи длится 22 суток; при благоприятных условиях в течение трех недель самки дают два поколения личинок [49].

Питаясь жаберной тканью и кровью хозяина, рачки являются крайне патогенными паразитами. Прикрепляясь к жаберным лепесткам, паразит деформирует их, сдавливает и разрывает сосуды, вызывает слизееотделение, разрушение и некроз жаберной ткани. Зачастую к инвазии эргазилюсом присоединяется поражение сапролегнией [50].

Особый вред *E. sieboldi* наносит прудовым хозяйствам. Даже если не происходит массовой гибели рыб, наблюдается снижение темпов роста, масса животных уменьшается примерно в 2 раза. Ухудшается качество мяса за счет снижения количества жира. Отдельные самки после болезни становятся яловыми и не участвуют в нересте [49, 50].

В числе основных факторов, обуславливающих высокую зараженность пескаря пруда Гранный патогенным рачком *E. sieboldi*, носящую характер эпизоотии, можно выделить следующие:

1. Слабая проточность водоема, что создает оптимальные условия для развития этого лимнофильного вида.

2. Прогревание пруда в летние месяцы, дающее возможность самкам паразита давать несколько генераций в год.

3. Наличие зоны сублиторали с обильной водной растительностью, где наблюдаются максимальная концентрация свободноживущих стадий *E. sieboldi* и скопление их облигатных хозяев – рыб. Пескарь приурочен к

береговым участкам зарослей макрофитов, где происходит интенсивная аккумуляция рачков на рыбах, сопровождающаяся их перманентной реинвазией.

4. Наличие в достаточном количестве подходящих облигатных хозяев.

Выявленные нарушения в системе крови рыб, такие как появление в кровяном русле пойкилоцитов и изменения в лейкоцитарной формуле (эозинофилия), могут быть связаны в том числе и с высокой степенью зараженности пескаря *E. sieboldi*. Известно, что частота появления патологически измененных эритроцитов в крови инвазированных рыб существенно выше, чем у особей без паразитов [37]. Анализ лейкоцитарного профиля показывает, что зачастую эозинофилия является единственным процессом, характеризующим лейкоцитоз при паразитарных инвазиях рыб [8, 14, 16].

Полученные результаты свидетельствуют о достаточно устойчивом морфофизиологическом состоянии популяции обыкновенного пескаря в условиях относительно чистого водоема. Обнаруженные отклонения в гематологических показателях рыб не являются критическими и могут быть рассмотрены в качестве адаптационного механизма, повышающего защитную функцию крови в условиях воздействия комплекса неблагоприятных факторов разной природы. Одним из таких факторов может выступать паразитарная инвазия рыб.

Заключение

Проведена оценка паразитологического и морфофизиологического состояния обыкновенного пескаря в условиях относительно чистого водоема. Состав белой крови рыб включал 6 групп клеток, процентное соотношение которых, за исключением эозинофилов, находилось в пределах физиологической нормы. Интенсивность образования красных кровяных клеток в сосудистой крови (уровень эритропоза) у большинства животных не превышал 10%. 66,67% исследованных рыб характеризовалось наличием патологически измененных эритроцитов в кровяном русле. Всего выявлено 8 различных типов аберраций. Наиболее распространенной патологией являлся пойкилоцитоз, зарегистрированный у 61,90% рыб; 2,77% проанализированных эритроцитов характеризовалось наличием данного нарушения. Частота встречаемости клеток с другими типами аберраций среди общего числа исследованных не превышала величину их появления при спонтанном мутагенезе (1%). У 100% отловленных особей пескаря диагностирована инвазия патогенным рачком *E. sieboldi*. Плероцеркоид *N. cheilancristrotus* и личинка нематоды *C. microcephalum* впервые отмечены в составе паразитофауны обыкновенного пескаря бассейна Волги.

Авторы благодарят И.Ф. Абдуллова (ООО «Акватория», г. Самара, Россия) за помощь в сборе ихтиологического материала.

Литература

1. Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. М. ; Л. : Наука, 1949. Ч. 2. С. 469–925.
2. Богуцкая Н.Г., Насека А.М. Каталог бесчелюстных и рыб пресных и солоноватых вод России с номенклатурными и таксономическими комментариями. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2004. 389 с.
3. Mendel J., Lusk S., Vasil'eva E.D., Vasil'ev V.P., Lusková V., Erk'akan F., Ruchin A., Košeo J., Vetešník L., Halačka K., Šanda R., Pashkov A.N., Reshetnikov S.I. Molecular phylogeny of the genus *Gobio* Cuvier, 1816 (Teleostei: Cyprinidae) and its contribution to taxonomy // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2008. № 47 (3). PP. 1061–1075.
4. Nowak M., Koščo J., Popek W. Review of the current status of systematics of gudgeons (Gobioninae, Cyprinidae) in Europe // AACL Bioflux. 2008. № 1. PP. 27–38.
5. Гилева Т.А., Костицына Н.В., Зиновьев Е.А., Бакланов М.А. К содержанию тяжелых металлов в органах и тканях ряда популяций пескаря *Gobio gobio* (L.) бассейна р. Камы // Вестник Пермского университета. 2010. Вып. 2. С. 31–36.
6. Шеина Т.А. Состав крови и содержание тяжелых металлов в органах и тканях у трех видов рыб в бассейне реки Камы: Дисс. ... канд. биол. наук. Пермь, 2014. 235 с.
7. Nastova R., Kostov V., Ushlinovska I. Heavy metals in organs of gudgeon (*Gobio gobio* L.) from Vardar River, R. Macedonia // Agricultural science and technology. 2017. Vol. 9, № 4. PP. 340–346.
8. Clauss T.M., Dove A., Arnold J.E. Hematologic disorders of fish // Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice. 2008. Vol. 11. PP. 445–462.
9. Серпунин Г.Г. Гематологические показатели адаптаций рыб. Калининград : Изд-во КГТУ, 2010. 460 с.
10. Morera D., MacKenzie S.A. Is there a direct role for erythrocytes in the immune response? // Veterinary Research. 2011. Vol. 42. P. 89.
11. Nagasawa T., Nakayasu C., Rieger A.M., Barreda D.R., Somamoto T., Nakao M. Phagocytosis by thrombocytes is a conserved innate immune mechanism in lower vertebrates // Frontiers in Immunology. 2014. Vol. 5. Article 445.
12. Fedonenko O., Yesipova N., Sharamok T. The accumulation of heavy metals and cytometric characteristics features of red blood cells in different ages of carp fish from Zaporozhian Reservoir // International Letters of Natural Sciences. 2016. Vol. 53. PP. 72–79.
13. da Silva E.B., da Silva Corrêa S.A., de Souza Abessa D.M., da Silva B.F., Rivero D.H., Seriani R. Mucociliary transport, differential white blood cells, and cyto-genotoxicity in peripheral erythrocytes in fish from a polluted urban pond // Environmental Science and Pollution Research. 2018. Vol. 25, № 3. PP. 2683–2690.
14. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб (сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб). М. : Легкая и пищевая промышленность, 1983. 184 с.
15. Groff J.M., Zinkl J.G. Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish: common carp and goldfish // Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice. 1999. Vol. 2. PP. 741–776.
16. Житенева Л.Д., Рудницкая О.А., Калюжная Т.И. Эколого-гематологические характеристики некоторых видов рыб. Ростов н/Д : Молот, 1997. 152 с.
17. Ткаченко Е.А., Дерхо М.А. Лейкоцитарные индексы при экспериментальной кадмиевой интоксикации мышей // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 3 (47). С. 81–83.
18. Быховская-Павловская И.Е. Паразиты рыб : руководство по изучению. Л. : Наука, 1985. 121 с.
19. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Л. : Наука, 1987. Т. 3. 583 с.
20. Бугаев Л.А., Зинчук О.А., Смыр Т.М., Рудницкая О.А., Войкина А.В. Гематологические показатели бычка кругляка (*Neogobius melanostomus*, Pallas, 1814), обитающего в

- Азовском море // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2012. № 1. С. 73–76.
21. Гилева Т.А., Костицына Н.В. Характеристика периферической крови и содержания тяжелых металлов в органах и тканях окуня водоемов бассейна р. Камы // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 2. С. 46–51.
 22. Шахова Е.В. Морфофизиологическая характеристика молоди европейского сига (*Coregonus lavaretus* (Linnaeus, 1758)), выпущенной в Куршский залив Балтийского моря в 2015 году // Вестник рыбохозяйственной науки. 2016. Т. 3, № 4 (12). С. 28–34.
 23. Scapigliati G., Fausto A.M., Picchiatti S. Fish lymphocytes: an evolutionary equivalent of mammalian innate-like lymphocytes? // Frontiers in Immunology. 2018. Vol. 9. Article 971.
 24. Joerink M., Ribeiro C.M., Stet R.J., Hermesen T., Savelkoul H.F., Wiegertjes G.F. Head kidney-derived macrophages of common carp (*Cyprinus carpio* L.) show plasticity and functional polarization upon differential stimulation // Journal of Immunology. 2006. Vol. 177 (1). PP. 61–69.
 25. Dobson J.T., Seibert J., Teh E.M., Daas S., Fraser R.B., Paw B.H., Lin T.J., Berman J.N. Carboxypeptidase A5 identifies a novel mast cell lineage in the zebrafish providing new insight into mast cell fate determination // Blood. 2008. Vol. 112 (7). PP. 2969–2972.
 26. Finn J.P. The protective mechanisms in diseases of fish // The Veterinary Bulletin. 1970. Vol. 40. PP. 873–886.
 27. Bruno D.W., Munro A.L.S. Haematological assessment of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, and Atlantic salmon, *Salmo salar* L., infected with *Renibacterium salmoninarum* // Journal of fish Diseases. 1986. Vol. 9. PP. 195–204.
 28. Roubal F.R. Blood and other possible inflammatory cells in the sparid *Acanthopagrus australis* (Gunter) // Journal of Fish Biology. 1986. Vol. 28. PP. 573–593.
 29. Hlavek R.R., Bulkley R.V. Effects of malachite green on leucocyte abundance in rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson) // Journal of Fish Biology. 1980. Vol. 17. PP. 431–444.
 30. Ellis A.E. Non-specific defense mechanisms in fish and their role in disease processes // Developments in Biological Standardization. 1981. Vol. 49. PP. 337–352.
 31. Dunn S.E., Murad A., Houston A.H. Leucocytes and leucopoietic capacity in thermally acclimated goldfish, *Carassius auratus* L. // Journal of Fish Biology. 1989. Vol. 34. PP. 901–911.
 32. Peters G., Nubgen A., Raabe A., Mock A. Social stress induces structural and functional alterations of phagocytes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Fish & Shellfish Immunology. 1991. Vol. 1. PP. 17–31.
 33. Федоненко Е.В., Шарамок Т.С., Ананьева Т.В. Особенности лейкоцитарной формулы некоторых карповых рыб Запорожского водохранилища (Украина) // Труды ВНИРО. 2017. Т. 167. С. 59–65.
 34. Минеев А.К. Неспецифические реакции у рыб из водоемов Средней и Нижней Волги // Известия Самарского научного центра РАН. 2013. Т. 15, № 3–7. С. 2301–2318.
 35. Грушко М.П. Особенности гемопоэза у воблы // Вестник АГТУ. Сер. Рыбное хозяйство. 2009. № 1. С. 126–131.
 36. Pronina G.I., Koryagina N.Y., Petrushin A.B., Revyakin A.O. Comparative physiological and immunological characteristics of Carps (Cyprinidae) grown in aquaculture with different types of food // Journal of Ichthyology. 2017. Vol. 57, № 3. PP. 490–493.
 37. Конькова А.В., Федорова Н.Н., Иванов В.П. Оценка эпизоотического и морфологического состояния молоди леща *Abramis brama* (Linnaeus, 1758) в Волго-Каспийском регионе // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2015. № 3 (27). С. 38–43.
 38. Шляхтин Г.В., Перевозникова Т.В., Дмитриев С.Г. Биологический мониторинг вокруг крупных техногенных объектов г. Саратова // Известия Саратовского университета. Новая серия. Сер. Химия. Биология. Экология. 2014. Т. 14, вып. 4. С. 96–104.

39. Кузина Т.В., Галактионова М.Л. Анализ взаимосвязи цитогенетического гомеостаза и оксидативного стресса в организме бычковых рыб Северного Каспия // Юг России: экология, развитие. 2018. Т. 13, № 2. С. 64–72.
40. Молодожникова Н.М., Жохов А.Е. Таксономическое разнообразие паразитов бесчелюстных и рыб бассейна Волги. II. Паразитические кишечнорастворимые (Coelenterata) и моногенеи (Monogenea) // Паразитология. 2006. Т. 40, вып. 4. С. 328–354.
41. Жохов А.Е., Молодожникова Н.М. Таксономическое разнообразие паразитов рыбообразных и рыб бассейна Волги. IV. Амфилины (Amphilinida) и цестоды (Cestoda) // Паразитология. 2007. Т. 41, вып. 2. С. 89–102.
42. Молодожникова Н.М., Жохов А.Е. Таксономическое разнообразие паразитов рыбообразных и рыб бассейна Волги. III. Аспидогастры (Aspidogastrea) и трематоды (Trematoda) // Паразитология. 2007. Т. 41, вып. 1. С. 28–54.
43. Жохов А.Е., Молодожникова Н.М. Таксономическое разнообразие паразитов бесчелюстных и рыб бассейна Волги. V. Нематоды (Nematoda) и волосатики (Gordiaceae) // Паразитология. 2008. Т. 42, вып. 2. С. 114–128.
44. Жохов А.Е., Молодожникова Н.М. Таксономическое разнообразие паразитов рыб бассейна Волги. VII. Ракообразные (Crustacea) и водные клещи (Hydracarina) // Паразитология. 2008. Т. 42, вып. 6. С. 476–485.
45. Молодожникова Н.М., Жохов А.Е. Таксономическое разнообразие паразитов бесчелюстных и рыб бассейна Волги. VI. Скребни (Acanthocephala), пиявки (Hirudinea), моллюски (Bivalvia) // Паразитология. 2008. Т. 42, вып. 3. С. 179–190.
46. Артаев О.Н., Ручин А.Б. Экологические ниши синтопичных видов пескарей *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758) и *Romanogobio alpinus* (Lukasch, 1933). Сообщение 1. Трофическая ниша // Астраханский вестник экологического образования. 2013. № 2 (24). С. 92–97.
47. Стрельникова А.П., Столбунов И.А., Жгарева Н.Н., Шляпкин И.В. Размерно-массовая характеристика и питание молоди обыкновенного пескаря *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758) в некоторых реках бассейна Верхней и Средней Волги // Вестник АГТУ. Сер. Рыбное хозяйство. 2016. № 3. С. 7–15.
48. Стрельникова А.П., Жгарева Н.Н., Шляпкин И.В. Расхождение трофических ниш у сеголетков двух совместно обитающих видов рыб – обыкновенного голяка *Phoxinus phoxinus* (L.) и обыкновенного пескаря *Gobio gobio* (L.) // Вестник АГТУ. Сер. Рыбное хозяйство. 2018. № 2. С. 15–24.
49. Воронин В.Н., Кузнецова Е.В., Стрелков Ю.А., Чернышева Н.Б. Болезни рыб в аквакультуре России: практическое руководство. СПб. : ГосНИОРХ, 2011. 265 с.
50. Рахконен Р., Веннерстрем П., Ринтамяки П., Каннел Р. Здоровая рыба. Профилактика, диагностика и лечение болезней. Издание второе, переработанное и дополненное. Хельсинки : НИИ охотничьего и рыбного хозяйства Финляндии, 2013. 180 с.

Поступила в редакцию 02.07.2019 г.; повторно 09.09.2019 г.;
принята 11.09.2019 г.; опубликована 27.09.2019 г.

Авторский коллектив:

Минеев Александр Константинович – д-р биол. наук, с.н.с. Института экологии Волжского бассейна РАН – филиала Самарского федерального исследовательского центра РАН (Россия, 445003, г. Тольятти, ул. Комзина, 10).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-3464-0554>

E-mail: mineev7676@mail.ru

Минеева Оксана Викторовна – канд. биол. наук, м.н.с. Института экологии Волжского бассейна РАН – филиала Самарского федерального исследовательского центра РАН (Россия, 445003, г. Тольятти, ул. Комзина, 10).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-5050-8545>

E-mail: ksukala@mail.ru

For citation: Mineev AK, Mineeva OV. Hematological parameters and parasite fauna of the gudgeon *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758) in a fish-breeding pond. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2019;47:123-141. doi: 10.17223/19988591/47/7 In Russian, English Summary

Alexandr K. Mineev, Oksana V. Mineeva

Institute of Ecology of the Volga River Basin of the Russian Academy of Sciences – Branch of Samara Federal Research Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Tolyatti, Russian Federation

Hematological parameters and parasite fauna of the gudgeon *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758) in a fish-breeding pond

The gudgeon (*Gobio gobio* (Linnaeus, 1758)) is a very interesting object for genetic, ichthyopathological and parasitological studies. This typical bottom species is sensitive to water pollution. Analysis of hematological parameters of the gudgeon can be used as an objective indicator of the ecological state and the degree of anthropogenic impact on the ecosystem of the reservoir. *G. gobio* is characterized by a wide range of nutrition and is itself included in the diet of predatory fish and fish-eating birds, thus playing a significant role in circulation of various parasites. In fish-breeding ponds, the gudgeon is often the object of unwanted fish because it can be a source of diseases of valuable fish species.

The aim of this research was to study hematological parameters and parasite fauna of the gudgeon in a fish-breeding pond, in which it is a “weed” species. The ichthyological material was caught in July 2018 in Granny pond (53°81'24"N, 49°93'74"E). Table 1 shows hydrochemical parameters of the pond, allowing it to be attributed to relatively clean water bodies. The research complies with the ethical principles of the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental or other scientific purposes (Strasbourg, 18 March 1986). The fish were kept in separate rooms in aerated aquariums with optimal planting density, which minimized stress and anxiety levels. Animals received sufficient food. The study used a minimum number of fish, which were killed in a humane way. We conducted hematological studies of 21 individuals of *G. gobio*. Blood smears were fixed with ethanol and stained according to Romanovsky-Giemsa. We identified blood cells by Groff, Zinkl (1999). With each drug, differential count of white blood cells among 1000 erythrocytes in 5-10 fields of view was conducted. In order to assess the physiological state of fish and their immune status, we analyzed the ratio of blood elements, studied the leukocyte formula, determined the level of erythropoiesis, and recorded possible pathologies of erythrocytes. Research of macroparasites in 26 individuals of the gudgeon was carried out according to Bykhovskaya-Pavlovskaya (1985). For quantitative characteristics of infection of the animals, we used the following indicators: prevalence, intensity of infection and mean abundance.

The leukocyte composition of the blood of the gudgeon was characterized by a wide variety (See Tables 2 and 3). The most numerous group of cells were lymphocytes. The average percentage of individual groups of leukocytes was within the physiological norm. The exception was eosinophils, the occurrence of which in the leukogram (up to 21.82% in ind.) indicated the development of eosinophilia. The proportion of immature red blood cells in most of the studied smears did not exceed 10% (See Table 4). 66.67% of gudgeon individuals had pathologically altered red blood cells in the bloodstream; 8 different types of disorders were observed (See Table 5). The most common pathology was poikilocytosis, registered in 61.90% of fish; 2.77% of the analyzed erythrocytes were characterized by the presence of this aberration. The frequency of occurrence of cells

with other types of disorders among the total number of the studied ones did not exceed the value of their appearance in spontaneous mutagenesis (1%). The parasite fauna of fish in terms of fish ponds significantly depleted (See Table 6). 2 species of parasites (the cestode *Neogryporhynchus cheilancristrotus*, pl. (Wedl, 1855) and the nematode *Contracaecum microcephalum*, larva III (Rudolphi, 1819)) infect the host by alimentary means. These species were first observed in the parasite fauna of the gudgeon of the Volga river basin. All studied individuals of the gudgeon were infected with parasitic crustaceans *Ergasilus sieboldi* Nordmann, 1832, which is an extremely pathogenic parasite. A high degree of fish invasion by crustaceans (up to 57 specimens per individual) can be a factor causing deviations in hematological parameters of the gudgeon.

The paper contains 6 Tables and 50 References.

Key words: *Gobio gobio*; *Ergasilus sieboldi*; leukocytic formula; pathology of erythrocytes; parasite fauna.

Funding: This research was financed by the state contract of the Institute of Ecology of the Volga river basin, Russian Academy of Sciences (Project No AAAA-A17-117112040039-7 “Ecological regularities of structural and functional organization, resource potential and sustainable functioning of the Volga basin ecosystems” (direction 51 “Ecology of organisms and communities”).

Acknowledgments: The authors thank IF Abdulloev (“Akvatoria” LLC, Samara, Russian Federation) for assistance in collecting ichthyological material.

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Berg LS. Ryby presnykh vod SSSR i sopredel'nykh stran [Freshwater fishes of the U.S.S.R. and adjacent countries]. Pt. 2. Moscow–Leningrad: Nauka Publ.; 1949. pp. 469-925. In Russian
2. Bogutskaya NG, Naseka AM. Katalog beschelyustnykh i ryb presnykh i solonovatykh vod Rossii s nomenklaturnymi i taksonomicheskimi kommentariyami [Catalogue of agnathans and fishes of fresh and brackish waters of Russia with comments on nomenclature and taxonomy]. Moscow: KMK Scientific Press Ltd Publ.; 2004. 389 p. In Russian
3. Mendel J, Lusk S, Vasil'eva ED, Vasil'ev VP, Lusková V, Erk'akan F, Ruchin A, Košeo J, Vetešník L, Halačka K, Šanda R, Pashkov AN, Reshetnikov SI. Molecular phylogeny of the genus *Gobio* Cuvier, 1816 (Teleostei: Cyprinidae) and its contribution to taxonomy. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2008;47(3):1061-1075. doi: [10.1016/j.ympev.2008.03.005](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.03.005)
4. Nowak M, Koščo J, Popek W. Review of the current status of systematics of gudgeons (Gobioninae, Cyprinidae) in Europe. *AACL Bioflux*. 2008;1:27-38.
5. Gileva TA, Kostitsyna NV, Zinovjev EA, Baklanov MA. The content of heavy metals in organs and tissues of some populations minnow *Gobio gobio* (L.) Kama river basin. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologiya = Bulletin of Perm University. Biology*. 2010;2:31-36. In Russian
6. Sheina TA. *Sostav krovi i soderzhanie tyazhelykh metallov v organakh i tkanyakh u trekh vidov ryb v bassejne reki Kamy* [Blood composition and heavy metal content in organs and tissues of three fish species from the Kama river basin. CandSci. Dissertation, Biology]. Perm: Perm State University; 2014. 235 p. In Russian
7. Nastova R, Kostov V, Ushlinovska I. Heavy metals in organs of gudgeon (*Gobio gobio* L.) from Vardar River, R. Macedonia. *Agricultural Science and Technology*. 2017;9(4):340-346. doi: [10.15547/ast.2017.04.064](https://doi.org/10.15547/ast.2017.04.064)
8. Clauss TM, Dove A, Arnold JE. Hematologic disorders of fish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. 2008;11:445-462. doi: [10.1016/j.cvex.2008.03.007](https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.007)
9. Serpunin GG. Gematologicheskie pokazateli adaptatsiy ryb [Hematological parameters of fish adaptation]. Kaliningrad: Kaliningrad State Technical University Publ.; 2010. 460 p. In Russian

10. Morera D, MacKenzie SA. Is there a direct role for erythrocytes in the immune response? *Veterinary Research*. 2011;42:89. doi: [10.1186/1297-9716-42-89](https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-89)
11. Nagasawa T, Nakayasu C, Rieger AM, Barreda DR, Somamoto T, Nakao M. Phagocytosis by thrombocytes is a conserved innate immune mechanism in lower vertebrates. *Frontiers in Immunology*. 2014;5:445. doi: [10.3389/fimmu.2014.00445](https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00445)
12. Fedonenko O, Yesipova N, Sharamok T. The accumulation of heavy metals and cytometric characteristics features of red blood cells in different ages of carp fish from Zaporozhian Reservoir. *International Letters of Natural Sciences*. 2016;53:72-79. doi: [10.18052/www.scipress.com/ILNS.53.72](https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILNS.53.72)
13. da Silva EB, da Silva Corrêa SA, de Souza Abessa DM, da Silva BF, Rivero DH, Seriani R. Mucociliary transport, differential white blood cells, and cyto-genotoxicity in peripheral erythrocytes in fish from a polluted urban pond. *Environmental Science and Pollution Research*. 2018;25(3):2683-2690. doi: [10.1007/s11356-017-0729-0](https://doi.org/10.1007/s11356-017-0729-0)
14. Ivanova NT. Atlas kletok krovi ryb (sravnitel'naya morfologiya i klassifikatsiya formennykh elementov krovi ryb) [Atlas of fish blood cells (Comparative morphology and classification of fish blood elements)]. Moscow: Legkaya i pishchevaya promyshlennost' Publ.; 1983. 184 p. In Russian
15. Groff JM, Zinkl JG. Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish: common carp and goldfish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. 1999;2:741-776.
16. Zhiteneva LD, Rudnitskaya OA, Kalyuzhnaya TI. Ekologo-gematologicheskie kharakteristiki nekotorykh vidov ryb [Ecological and hematological characteristics of some fish species]. Rostov-on-Don: Molot Publ.; 1997. 152 p. In Russian
17. Tkachenko YeA, Derkho MA. Leukocytic indices in experimental cadmium intoxication of mice. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2014;3(47):81-83. In Russian
18. Bykhovskaya-Pavlovskaya IE. Parazity ryb. Rukovodstvo po izucheniyu [Parasites of fishes. Study Guide]. Leningrad: Nauka Publ.; 1985. 121 p. In Russian
19. *Opredelitel' parazitov presnovodnykh ryb fauny SSSR. Paraziticheskie mnogokletochnye* [Keys to parasites of freshwater fish of the USSR. Vol. 3. Pt. 2. Parasitic multicellular]. Bauer ON, general editor; Gusev AV, volume editor. Leningrad: Nauka Publ.; 1987. 583 p. In Russian
20. Bugaev LA, Zinchuk OA, Smyr TM, Rudnitskaya OA, Voykina AV. Gematologicheskie pokazateli bychka kruglyaka (*Neogobius melanostomus*, Pallas, 1814), obitayushchego v Azovskom more [Hematological parameters of bull logs (*Neogobius melanostomus*, Pallas, 1814) inhabiting in the Azov Sea]. *Izvestiya VUZov. Severo-Kavkazskii region. Estestvennye nauki = University News North-Caucasian Region Natural Sciences Series*. 2012;1:73-76. In Russian
21. Gileva TA, Kostitsyna NV. Kharakteristika perifericheskoy krovi i sodержaniya tyazhelykh metallov v organakh i tkanyakh okunya vodoemov basseyna r. Kamy [The characteristics of peripheral blood and the content of heavy metals in tissues and organs of a perch *Perca fluviatilis* (L.) inhabiting water bodies of the Kama basin]. *Theoretical and Applied Ecology*. 2014;2:46-51. In Russian
22. Shakhova EV. Morpho-physiological characteristics of European whitefish (*Coregonus lavaretus* (Linnaeus, 1758)) fry released into the Couronian lagoon of the Baltic Sea in 2015. *Vestnik rybokhozyaystvennoy nauki = The Bulletin of Fisheries Science*. 2016;3(4(12)):28-34. In Russian
23. Scapigliati G, Fausto AM, Picchiatti S. Fish lymphocytes: an evolutionary equivalent of mammalian innate-like lymphocytes? *Frontiers in Immunology*. 2018;9:971. doi: [10.3389/fimmu.2018.00971](https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00971)
24. Joerink M, Ribeiro CM, Stet RJ, Hermesen T, Savelkoul HF, Wiegertjes GF. Head kidney-derived macrophages of common carp (*Cyprinus carpio* L.) show plasticity and functional polarization upon differential stimulation. *J Immunology*. 2006;177(1):61-69. doi: [10.4049/jimmunol.177.1.61](https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.1.61)

25. Dobson JT, Seibert J, Teh EM, Daas S, Fraser RB, Paw BH, Lin TJ, Berman JN. Carboxypeptidase A5 identifies a novel mast cell lineage in the zebrafish providing new insight into mast cell fate determination. *Blood*. 2008;112(7):2969-2972. doi: [10.1182/blood-2008-03-145011](https://doi.org/10.1182/blood-2008-03-145011)
26. Finn JP. The protective mechanisms in diseases of fish. *The Veterinary Bulletin*. 1970;40:873-886.
27. Bruno DW, Munro ALS. Haematological assessment of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, and Atlantic salmon, *Salmo salar* L., infected with *Renibacterium salmoninarum*. *J Fish Diseases*. 1986;9:195-204.
28. Roubal FR. Blood and other possible inflammatory cells in the sparid *Acanthopagrus australis* (Gunter). *J Fish Biology*. 1986;28:573-593. doi: [10.1111/j.1095-8649.1986.tb05194.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1986.tb05194.x)
29. Hlavek RR, Bulkley RV. Effects of malachite green on leucocyte abundance in rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson). *J Fish Biology*. 1980;17:431-444. doi: [10.1111/j.1095-8649.1980.tb02776.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1980.tb02776.x)
30. Ellis AE. Non-specific defense mechanisms in fish and their role in disease processes. *Developments in Biological Standardization*. 1981;49:337-352.
31. Dunn SE, Murad A, Houston AH. Leucocytes and leucopoietic capacity in thermally acclimated goldfish, *Carassius auratus* L. *J Fish Biology*. 1989;34:901-911. doi: [10.1111/j.1095-8649.1989.tb0337.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1989.tb0337.x)
32. Peters G, Nubgen A, Raabe A, Mock A. Social stress induces structural and functional alterations of phagocytes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*. 1991;1:17-31. doi: [10.1016/S1050-4648\(06\)80017-3](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(06)80017-3)
33. Fedonenko EV, Sharamok TS, Ananieva TV. Features of the leukocyte formula in some carp fish from the Zaporozhian Reservoir (Ukraine). *Trudy VNIRO*. 2017;167:59-65. In Russian
34. Mineev AK. Nonspecific reactions in fish from waters Middle and Lower Volga. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2013;15(3(7)):2301-2318. In Russian
35. Grushko MP. Features of Vobla hemopoiesis. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: rybnoe khozyaystvo = Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*. 2009;1:126-131. In Russian
36. Pronina GI, Koryagina NY, Petrushin AB, Revyakin AO. Comparative physiological and immunological characteristics of Carps (Cyprinidae) grown in aquaculture with different types of food. *J Ichthyology*. 2017;57(3):490-493. doi: [10.1134/S0032945217020163](https://doi.org/10.1134/S0032945217020163)
37. Konkova AV, Federova NN, Ivanov VP. The estimation of epizootic and morphophysiological condition of Bream juveniles *Abramis brama* (Linnaeus, 1758) in the Volga-Caspian region. *Aktual'nye voprosy veterinarnoy biologii = Actual Questions of Veterinary Biology*. 2015;3(27):38-43. In Russian
38. Shlyakhtin GV, Perevoznikova TV, Dmitriev SG. The biological monitoring around large technogenic objects of the Saratov. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya: Khimiya. biologiya. ekologiya = Izvestiya of Saratov University. New Series. Series: Chemistry. Biology. Ecology*. 2014;14(4):96-104. In Russian
39. Kuzina TV, Galaktionova ML. Analysis of the interrelation of cytogenetic homeostasis and oxidative stress in the organism of goby fish (Gobiidae) of the Northern Caspian. *South of Russia: Ecology, development*. 2018;13(2):64-72. doi: [10.18470/1992-1098-2018-2-64-72](https://doi.org/10.18470/1992-1098-2018-2-64-72) In Russian
40. Molodozhnikova NM, Zhokhov AE. Taxonomic diversity of parasites from agnathans and fishes in the Volga basin. II. Parasitic Coelenterata and Monogenea. *Parazitologiya*. 2006;40(4):328-354. In Russian
41. Zhokhov AE, Molodozhnikova NM. Parasites taxonomic diversity of agnathans and fishes of Volga river basin. IV. Amphilinida and Cestoda. *Parazitologiya*. 2007;41(2):89-102. In Russian
42. Molodozhnikova NM, Zhokhov AE. The taxonomic diversity of the parasites of agnathans and fishes in the Volga basin. III. Aspidogastrea and Trematoda. *Parazitologiya*. 2007;41(1):28-54. In Russian

43. Zhokhov AE, Molodozhnikova NM. Taxonomic diversity of parasites in agnathans and fishes from the Volga river basin. V. Nematoda and Gordiacea. *Parazitologiya*. 2008;42(2):114-128. In Russian
44. Zhokhov AE, Molodozhnikova NM. Taxonomic diversity of parasites in agnathans and fishes from the Volga river basin. VII. Crustacea and Hydracarina. *Parazitologiya*. 2008;42(6):476-485. In Russian
45. Molodozhnikova NM, Zhokhov AE. Taxonomic diversity of parasites in agnathans and fishes from the Volga river basin. VI. Acanthocephala, Hirudinea and Bivalvia. *Parazitologiya*. 2008;42(3):179-190. In Russian
46. Artaev ON, Ruchin AB. The ecological niches of synthopic minnows *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758) and *Romanogobio albipinnatus* (Lukasch, 1933). Report 1. Trophic niche. *Astrakhan Bulletin for Environmental Education*. 2013;2(24):92-97. In Russian
47. Strelnikova AP, Stolbunov IA, Zhgareva NN, Shlyapkin IV. Size-weight characteristics and feeding of gudgeon *Gobio gobio* (L.) fry in some rivers of Upper and Middle Volga basin. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: rybnoe khozyaystvo = Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*. 2016;3:7-15. In Russian
48. Strelnikova AP, Zhgareva NN, Shlyapkin IV. Splitting of trophic niches in underyearlings of minnow *Phoxinus phoxinus* (L.) and gudgeon *Gobio gobio* (L.) sharing the same habitat. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: rybnoe khozyaystvo = Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*. 2018;2:15-24. In Russian
49. Voronin VN, Kuznetsova EV, Strelkov YuA, Chernysheva NB. Bolezni ryb v akvakul'ture Rossii: prakticheskoe rukovodstvo [Fish diseases in Russian aquaculture: A practical guide]. St. Petersburg: GosNIORKh; 2011. 265 p. In Russian
50. Rakhkonen R, Vennerstrem P, Rintamyaki P, Kannel R. Zdorovaya ryba. Profilaktika, diagnostika i lechenie bolezney [Healthy fish. Disease prevention, diagnostics and disease treatment]. 2nd ed. Helsinki: NII okhotnich'ego i rybnogo khozyaystva Finlyandii Publ.; 2013. 180 p. In Russian

*Received 2 July, 2019; Revised 9 September 2019;
Accepted 11 September 2019; Published 27 September 2019*

Author Info:

Mineev Alexandr K, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Institute of Ecology of the Volga River Basin of the Russian Academy of Sciences – Branch of Samara Federal Research Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, 10 Komzina Str., Tolyatti 445003, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-3464-0554>

E-mail: mineev7676@mail.ru

Mineeva Oksana V, Cand. Sci. (Biol.), Junior Researcher, Institute of Ecology of the Volga River Basin of the Russian Academy of Sciences – Branch of Samara Federal Research Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, 10 Komzina Str., Tolyatti 445003, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-5050-8545>

E-mail: ksukala@mail.ru

УДК 575.174:595.799

doi: 10.17223/19988591/47/8

**Н.В. Островерхова, С.А. Россейкина, О.Л. Конусова,
А.Н. Кучер, Т.Н. Киреева**

*Национальный исследовательский Томский государственный университет,
г. Томск, Россия*

Разнообразие медоносной пчелы *Apis mellifera* L. в Томской области по морфометрическим и молекулярно-генетическим маркерам

Представлены результаты исследования породного состава и генетического разнообразия медоносных пчел, обитающих на территории Томской области. Всего исследовано 337 пчелиных семей, полученных с 65 пасек области. На основании анализа изменчивости морфометрических признаков (показатели крыла, а именно кубитальный и гантельный индексы, дискоидальное смещение) и вариабельности локуса COI-COII мтДНК установлено, что большинство исследованных пчелиных семей представляют собой гибриды, имеющие происхождение от среднерусской породы по материнской линии (зарегистрированы варианты RQQ и RQQQ локуса COI-COII мтДНК). Выявлены пасеки в Чаинском, Тегульдетском, Молчановском, Зырянском и Томском районах, где сохранились и разводятся медоносные пчелы среднерусской породы. Согласно данным о вариабельности 9 микросателлитных локусов, ядерный геном гибридных пчел, имеющих происхождение, как от среднерусской, так и карпатской пород, более близок по спектру и частоте аллелей изученных ДНК-маркеров геному среднерусской породы. Обсуждаются факторы, определяющие генетическое разнообразие медоносных пчел.

Ключевые слова: *Apis mellifera*; генетическое разнообразие; морфометрический метод; локус COI-COII мтДНК; микросателлитные локусы.

Введение

Генетическое разнообразие, характерное для природных популяций медоносной пчелы, является одним из наиболее важных условий, необходимых для существования и устойчивого развития пчеловодства [1–3]. В настоящее время во всем мире наблюдается глобальная потеря разнообразия и численности пчел [4–9], поэтому одной из основных задач пчеловодства является сохранение аборигенных подвидов и популяций медоносной пчелы [3, 10–14]. Нативные подвиды наиболее приспособлены к местным природно-климатическим условиям, и их исчезновение означает потерю уникальных генетических комбинаций (и признаков), сформированных путем естественного отбора в течение длительного периода времени. Основными причинами потери генетического разнообразия медоносной пчелы *Apis*

mellifera L. рассматриваются замещение естественных популяций более миролюбивыми и продуктивными коммерческими (неместными) подвидами, распространение паразитов и патогенов медоносной пчелы, а также бессистемное использование пестицидов и ядохимикатов [10, 11, 13–19]. Мониторинг местного подвида (экотипа) медоносной пчелы и ограничение интродукции коммерческих пчелиных семей позволят снизить уровень межпородной гибридизации пчел и сохранить генетическое разнообразие и уникальный генофонд аборигенных пчел [11].

В Сибири первоначально культивировалась среднерусская пчела (темная лесная) *Apis mellifera mellifera* L., которая была завезена 230 лет назад, как наиболее адаптированная к суровым природно-климатическим условиям региона, таким как низкие температуры, продолжительная зима и короткий летний взятки. С конца XX в. отмечен массовый завоз пчел южного происхождения, преимущественно карпатской пчелы *Apis mellifera carpathica* [20], в результате чего на территории Сибири изменились представленность подвидов медоносной пчелы и их генотипический состав. Однако изученность медоносных пчел в Сибири недостаточна, а имеющиеся данные фрагментарны и не дают целостного представления о породном составе, текущем состоянии популяций и их генофонда, что является препятствием для более полного понимания путей развития популяций *A. mellifera*, реальной оценки процесса гибридизации пчел и его последствий, а также решения задач практического пчеловодства. Кроме того, в отличие от других регионов России и Европы, где отмечены такие негативные процессы в популяциях медоносной пчелы, как коллапс пчелиных семей [4–9, 21, 22], на территории Томской области зарегистрированы только единичные случаи массовой гибели семей, поэтому значительный интерес представляет оценка биологического разнообразия и адаптационного потенциала медоносной пчелы в условиях Сибири.

Систематические исследования медоносной пчелы на территории Сибири, включая Томскую область, были начаты в 2004 г. сотрудниками научно-практического центра «Апис» Томского государственного университета. Первоначально породный состав медоносных пчел на территории Томской области изучался с использованием классического морфологического метода, включающего исследование окраски тела, крыловых показателей и других морфометрических признаков [23]. Начиная с 2009 г. для исследования медоносных пчел стали применяться молекулярно-генетические методы с использованием ДНК-маркеров митохондриального (мтДНК) и ядерного геномов и выполнены пилотные исследования с целью первичной характеристики генетического разнообразия пчел, а также поиска высокополиморфных информативных ДНК-маркеров [24–30].

Однако следует указать, что классические морфометрические признаки и маркеры митохондриального и ядерного геномов, широко применяемые для исследования породного состава медоносных пчел, обладают разной

информативностью [31–35]. Так, анализ полиморфизма мтДНК позволяет определить происхождение пчелиных семей только по материнской линии; исследования изменчивости ядерного генома (в том числе и микросателлитных локусов) все еще не получили широкого распространения (мало информации по породной и территориальной специфичности генофондов), а морфометрические признаки, с учетом широкого распространения межпородной гибридизации, не всегда позволяют корректно определить породный состав медоносных пчел [31, 36, 37]. В связи с этим только использование комплекса разных методов исследования обеспечит четкую и полную идентификацию подвидов медоносной пчелы.

В данной статье представлены результаты 10-летнего комплексного исследования медоносных пчел, обитающих на пасеках Томской области, с использованием морфометрического и молекулярно-генетических методов (проведен анализ вариабельности локуса *COI-COII* мтДНК и микросателлитных локусов ядерного генома).

Цель работы – выявить биологическое разнообразие медоносной пчелы *Apis mellifera*, обитающей на территории Томской области, по морфометрическим и молекулярно-генетическим маркерам.

Материалы и методики исследования

Материалом для исследования послужили образцы рабочих особей, полученных с 65 пасек 47 населенных пунктов 13 районов Томской области (рис. 1). Исследование медоносных пчел проведено с использованием морфометрического и молекулярно-генетических методов.

Для исследования породного состава медоносных пчел первоначально проведен анализ мтДНК (изучена вариабельность локуса *COI-COII*), чтобы определить происхождение пчелиной семьи по материнской линии. Анализировалось 3–5 особей от семьи. Затем для более полной характеристики пчелиной семьи и ее соответствия стандарту породы выполнен морфометрический анализ (20–30 особей от семьи). Всего исследовано 337 пчелиных семей.

Для оценки генетического разнообразия медоносных пчел проведен анализ изменчивости 9 микросателлитных локусов; изучено 5–15 особей от семьи. Анализ ядерного генома выполнен для медоносных пчел, полученных от 106 семей; всего 893 особи.

Морфометрический метод

Изучены основные пороодоопределяющие морфометрические показатели крыла: кубитальный и гантельный индексы, дискоидальное смещение [17, 26]. Полученные результаты морфометрического исследования сравнивали со стандартами значений, принятыми для рабочих особей разных пород пчел [10, 27, 28].

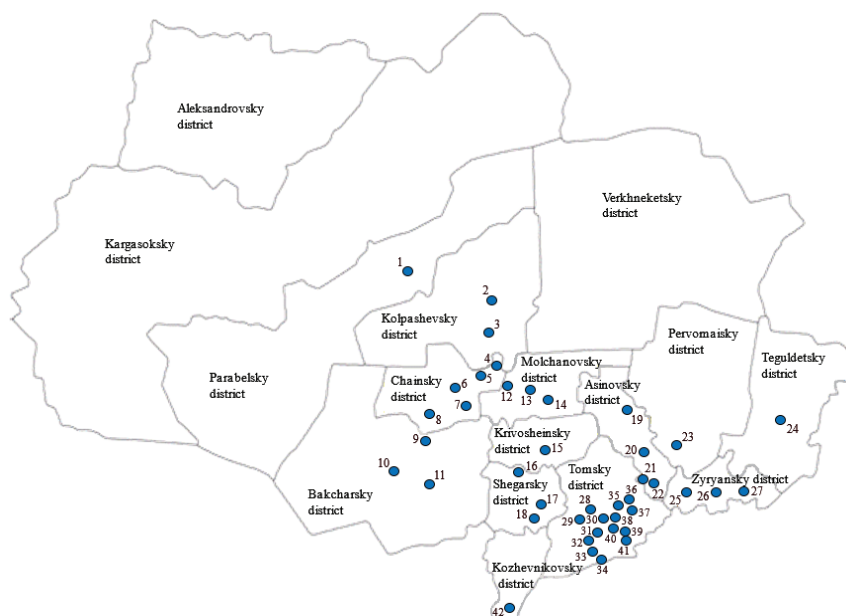


Рис. 1. Карта локализации исследованных пасек Томской области (здесь и на рис. 2, 3): 1 – с. Парабель; 2 – окр. г. Колпашево; 3 – д. Новоабрамкино; 4 – с. Чалково; 5 – с. Леботер; 6 – с. Подгорное; 7 – д. Стрельниково; 8 – с. Гореловка; 9 – с. Высокий Яр, д. Крыловка; 10 – с. Парбиг; 11 – с. Бакчар; 12 – д. Сарафановка; 13 – с. Могочино; 14 – с. Соколовка; 15 – с. Кривошеино; 16 – с. Монастырка; 17 – с. Каргала, с. Старая Шегарка; 18 – с. Баткат; 19 – д. Тихомировка; 20 – урочище Кужербак; 21 – с. Новиковка; 22 – д. Цветковка; 23 – д. Крутоложное; 24 – с. Тегульдэт; 25 – с. Дубровка; 26 – с. Зырянское; 27 – с. Окунеево; 28 – д. Губино; 29 – с. Рыбалово, д. Кудринский участок; 30 – окр. г. Томска, д. Просекино, с. Коларово; 31 – п. Синий Утес; 32 – д. Кандинка; 33 – с. Курлек; 34 – с. Яр; 35 – д. Кусково; 36 – п. Заречный (Малиновское сельское поселение); 37 – с. Семилужки; 38 – д. Бодажково; 39 – с. Межениновка; 40 – д. Большое Протопопово; 41 – п. Заречный (Межениновское сельское поселение); 42 – д. Еловка. Пасеки, расположенные на расстоянии менее 20 км друг от друга, отмечены одной точкой.

Примечание. В северных районах Томской области (Александровском, Каргасокском, Верхнекетском) пчеловодство отсутствует из-за суровых природно-климатических условий

[**Fig. 1.** Map of sample locations in Tomsk region. Here and in Fig. 2 and 3, the numbers indicate the studied settlements: 1 - v. Parabel; 2 - vicinity of Kolpashevo; 3 - v. Novoabramkino; 4 - v. Chalkovo; 5 - v. Leboter; 6 - v. Podgornoe; 7 - v. Strelnikovo; 8 - v. Gorelovka; 9 - v. Vysokiy Yar, d. Krylovka; 10 - v. Parbig; 11 - v. Bakchar; 12 - v. Saraphanovka; 13 - v. Mogochino; 14 - v. Sokolovka; 15 - v. Krivosheino; 16 - v. Monastyrka; 17 - v. Kargala, v. Staraya Shegarka; 18 - v. Batkat; 19 - v. Tichomirovka; 20 - v. Kuzherbak; 21 - v. Novikovka; 22 - v. Tsvetkovka; 23 - v. Krutolozhnoe; 24 - v. Teguldet; 25 - v. Dubrovka; 26 - v. Zyryanskoe; 27 - v. Okunevo; 28 - v. Gubino; 29 - v. Rybalovo, v. Kudrinsky uchastok; 30 - vicinity of Tomsk, v. Prosekiro, v. Kolarovo; 31 - p. Sinii Utes; 32 - v. Kandinka; 33 - v. Kurlek; 34 - v. Yar; 35 - v. Kuskovo; 36 - v. Zarechnyi (Malinovskoe rural settlement); 37 - v. Semiluzhki; 38 - v. Bodazhkov; 39 - v. Mezheninovka; 40 - v. Bol'shoe Protopopovo; 41 - v. Zarechnyi (Mezheninovskoe rural settlement); 42 - v. Elovka. Apiaries located at a distance less than 20 km from each other are marked as a single point.

Note. In the northern districts of Tomsk region (Aleksandrovsky, Kargasoksky, Verkhneketsky), there is no beekeeping due to harsh climatic conditions]

Молекулярно-генетические методы

Для проведения молекулярно-генетического исследования использованы образцы пчел, которые хранились в 96%-ном спирте при температуре 4°C. Выделение ДНК из индивидуальных особей проведено модифицированным методом экстракции смесью гуанидинтиоцианат-фенол-хлороформ [18, 29].

Выделенная ДНК анализировалась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием праймеров, маркирующих межгенный локус *COI-COI* митохондриального генома. Использованы следующие последовательности праймеров: F-5'-CACATTTAGAAATTCATTA, R-5'-ATAAATATGAATCATGTGGA [29]. Продукты амплификации фракционировали в 1,5%-ном агарозном геле, окрашивали в бромистом этидии, визуализировали в ультрафиолетовом свете и документировали с использованием специальной программы для визуализации гель-электрофореза.

Изучен полиморфизм 9 микросателлитных локусов: *A008*, *Ap049*, *A043*, *AC117*, *Ap243*, *H110*, *A024*, *A113*, *SV185*. ПЦР проводили согласно описанной ранее методике с применением специфических праймеров [30]. Использовали один меченный флуоресцентной меткой праймер из каждой пары. Генотипирование выполнено на базе Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики ТНИМЦ РАН, г. Томск) на генетическом анализаторе ABI Prism 3730 (Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA) с применением стандартов длины молекул ДНК GeneScan500-ROX в условиях, рекомендуемых производителем. Размер фрагментов проанализирован с помощью программного обеспечения GeneMapper Software.

Для статистической обработки данных (расчет частот аллелей со стандартной ошибкой, показателей наблюдаемой (*Ho*) и ожидаемой (*He*) гетерозиготности) использованы стандартные методы, применяемые при изучении генетического разнообразия популяций [31, 32]. Оценка статистически значимых различий между наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготностью проведена с использованием *t*-критерия Стьюдента. Морфометрические данные представлены в виде среднего арифметического значения со стандартной ошибкой. Для оценки дифференциации различных подвидов медоносной пчелы и определения уровня генетической гетерогенности выборок пчел из популяций различной географической локализации использован метод главных координат (Principal Coordinates Analysis, PCoA), основанный на расчете генетических дистанций между выборками пчел. Расчеты проведены в программах Microsoft Office Excel 2010, StatSoft STATISTICA 8.0 for Windows, GENALEX 6 [32].

Результаты исследования и обсуждение

Распространение пород медоносной пчелы в Томской области

Для выявления породного состава медоносных пчел, обитающих на пасеках Томской области, проведено комплексное исследование, включающее

морфометрический и молекулярно-генетический анализ (полиморфизм локуса *COI-COII* мтДНК) медоносных пчел.

Генетическое разнообразие медоносных пчел по митохондриальной ДНК

Согласно данным анализа полиморфизма мтДНК (вариабельность локуса *COI-COII*) у медоносных пчел Томской области зарегистрировано три варианта локуса *COI-COII* мтДНК: PQQ, PQQQ (характерны для *A. m. mellifera*, эволюционная линия М) и Q (свойствен породам южного происхождения, эволюционная линия С). Из исследованных 337 пчелиных семей 62,9% семей имели происхождение по материнской линии от среднерусской породы, 29,1% семей – от пород южного происхождения и 8,0% составляли смешанные семьи, которые формируются пчеловодами путем объединения нескольких семей, в том числе семей разного происхождения, с целью их усиления (в этих семьях регистрировались особи с вариантами локуса *COI-COII*, характерными как для среднерусской, так и для «южных» пород медоносной пчелы) (рис. 2).

Для пчелиных семей, имеющих происхождение от среднерусской породы (всего идентифицировано 212 семей), характерна генетическая гетерогенность по локусу *COI-COII*: в 85,3% семей регистрировался вариант PQQ, у 10,7% – вариант PQQQ, а у 4,0% семей выявлены как особи с вариантом PQQ, так и пчелы с вариантом PQQQ (от общего числа семей среднерусской породы). Среди пчелиных семей смешанного породного состава (выявлено 27 семей) наиболее часто регистрировались семьи с вариантами PQQ и Q (85,2% семей от общего числа смешанных семей), реже – с вариантами PQQQ и Q (11,1%), а в одной семье (3,7%) в с. Курлек Томского района были выявлены пчелы со всеми зарегистрированными вариантами локуса *COI-COII* – PQQ, PQQQ и Q.

В различных районах Томской области пчелиные семьи отличались между собой по частоте регистрации вариантов локуса *COI-COII* мтДНК. На северных территориях области (Парабельский, Колпашевский, Чаинский, Бакcharский, Молчановский, Кривошеинский и Тегульдетский районы) выявлено 95,9% пчелиных семей (всего исследовано 194 пчелосемьи), однородных по варианту локуса мтДНК: 67,0% семей имели происхождение от среднерусской породы (зарегистрировано два варианта локуса мтДНК – PQQ и PQQQ); 28,9% семей происходили от пород южного происхождения. Остальные пчелосемьи (4,1%) имели смешанное происхождение (выявлены разные аллели локуса *COI-COII* в одной семье – PQQ и Q). Так, в Парабельском и Кривошеинском районах выявлены пчелиные семьи только с вариантом PQQ, в Тегульдетском – только с вариантом PQQQ. На пасеках Колпашевского, Чаинского, Молчановского и Бакcharского районов выявлены семьи разного происхождения (зарегистрированы варианты PQQ и Q). При этом на пасеках Чаинского и Молчановского районов преобладали пчелиные семьи, имеющие происхождение от среднерусской породы (86 и 95% соответственно), тогда как на пасеках Колпашевского и Бакcharского райо-

нов, наоборот, преобладали семьи южного происхождения (93 и 65% соответственно). В Бакcharском и Чаинском районах также выявлено несколько смешанных пчелиных семей, особи которых имели варианты PQQ и Q (рис. 2).

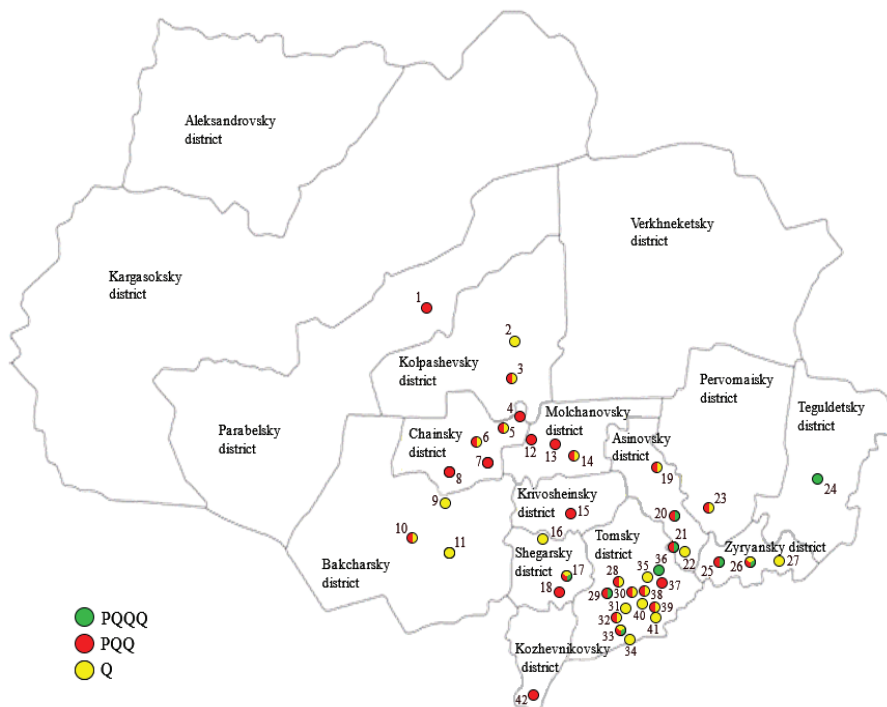


Рис. 2. Распространенность вариантов локуса *COI-COI* мтДНК (PQQ, PQQQ и Q) у медоносных пчел на территории Томской области
[Fig. 2. Distribution of the *COI-COI* mtDNA locus variants (PQQ, PQQQ, and Q) in honeybees in Tomsk region]

В южных районах области (Асиновском, Первомайском, Зырянском, Томском, Шегарском и Кожевниковском) однородные по вариантам локуса *COI-COI* мтДНК пчелиные семьи (всего изучено 143 семьи) составили 80,4%, тогда как смешанные семьи – 19,6%. Среди смешанных семей выявлено 6,3% семей, имеющих происхождение от среднерусской породы (у особей зарегистрированы варианты PQQ или PQQQ), и 13,3% семей разного породного происхождения (у особей зарегистрированы варианты PQQ/PQQQ или Q). Всего в южных районах выявлено 57,3% пчелиных семей, имеющих происхождение от среднерусской породы (зарегистрированы варианты PQQ или PQQQ), 29,4% – семьи южного происхождения, 13,3% – смешанные семьи, пчелы которых имели разное породное происхождение.

Пчелиные семьи, имеющие происхождение от среднерусской породы, были зарегистрированы на пасеках всех южных районов области. При этом

преобладали пчелы с вариантом PQQ (65,9% от общего числа семей среднерусской породы), реже встречались семьи с пчелами, имеющими вариант PQQQ (23,1%), и смешанные семьи с пчелами, имеющими варианты PQQ или PQQQ (11,0%). Например, в Кожевниковском районе во всех исследованных семьях у пчел выявлен только вариант PQQ; в Первомайском районе половина исследованных семей имела происхождение от среднерусской породы (зарегистрирован вариант PQQ) и половина семей – южного происхождения (выявлен вариант Q); в остальных районах – у пчел выявлены все варианты локуса *COI-COII* (PQQ, PQQQ и Q). Семьи смешанного состава были выявлены на пасеках Шегарского и Томского районов, причем зарегистрированы сочетания вариантов локуса мтДНК – PQQ и Q (67%), PQQQ и Q (33%).

Таким образом, на основе анализа полиморфизма локуса *COI-COII* мтДНК установлено различное происхождение медоносных пчел на пасеках Томской области, хотя и преобладали пчелиные семьи, имеющие происхождение от среднерусской породы. Тот факт, что на одной и той же территории обитают пчелы разных пород, позволяет предположить высокий уровень гибридизации. Поскольку анализ мтДНК позволяет установить происхождение медоносной пчелы (семьи) только по линии матки без оценки вклада «отцовских» генов, пчелы с пасек Томской области были изучены с использованием морфометрического анализа.

Характеристика морфометрической изменчивости медоносных пчел

Изучена изменчивость трех пороодоопределяющих морфометрических показателей (кубитального и гантельного индексов, дискоидального смещения) у медоносных пчел, обитающих на пасеках Томской области (табл. 1). Для всех изученных морфометрических показателей выявлен значительный уровень вариабельности. Так, для пчел, обитающих на пасеках Томской области, значения кубитального и гантельного индексов зарегистрированы в пределах 1,00–5,56 и 0,643–1,250 отн. ед. соответственно (среднее значение кубитального индекса изменялось в пределах – 1,45–3,41 отн. ед.; среднее значение гантельного индекса – 0,789–1,125 отн. ед.). Что касается качественного показателя «дискоидальное смещение», то у изученных пчел отмечены все три варианта признака (отрицательное, нейтральное и положительное).

При сравнении полученных данных значений экстерьерных признаков со стандартными показателями, принятыми для рабочих особей разных пород медоносной пчелы [10, 27, 28], установлено, что среди всех исследованных пчелиных семей 13,5% семей демонстрировали полное соответствие крыловых параметров стандарту среднерусской породы, 5,3% – стандарту карпатской породы, 2,2% – серой горной кавказской породы. Например, по всем исследованным крыловым показателям стандарту среднерусской породы соответствовали пчелиные семьи с пасек с. Чалково (Чаинский район) и с. Тегульдэт (Тегульдетский район), а также семья № 2 с пасеки с. Могочино

(Молчановский район) и семья № 2 с пасеки с. Дубровка (Зырянский район); стандарту карпатской породы – пчелиная семья с пасеки в д. Цветковка (Асиновский район) и семья № 1 с пасеки в окр. г. Томска (см. табл. 1).

Около 56% исследованных семей соответствовали стандарту среднерусских пчел по большинству морфометрических показателей, но по отдельным признакам (преимущественно показателю «дискоидальное смещение») регистрировалось отклонение от принятых для этой породы значений. Так, отклонение только одного показателя «дискоидальное смещение» от стандарта среднерусской породы показано для семьи № 1 с пасеки с. Дубровка (Зырянский район), для двух семей с пасеки с. Заречный (Томский район), для семьи с пасеки с. Еловка (Кожевниковский район), что может указывать на следы гибридизации с породами южного происхождения. Отклонение нескольких морфометрических показателей у особей пчелосемьи от стандарта среднерусской породы, например кубитального индекса и дискоидального смещения, позволяет нам рассматривать эти семьи как гибриды на основе среднерусской породы (например, пчелосемьи с пасек с. Гореловка и д. Стрельниково Чаинского района, семья с пасеки с. Рыбалово Томского района и др.).

Наблюдалась также противоположная картина, когда пчелиные семьи по исследованным параметрам крыла более соответствовали стандартам пород южного происхождения, но также имели отдельные признаки, характерные для среднерусской породы (гибриды на основе «южных» пород пчел). Так, выявлено 23,6% семей (от общего числа исследованных), пчелы которых имели большинство морфометрических показателей, характерных для карпатской породы, например, семьи № 1 и № 3 с пасеки с. Подгорное (Чаинский район), семья с пасеки п. Синий Утес (Томский район).

Наконец, при использовании сравнительного анализа изменчивости морфометрических признаков и вариабельности локуса *COI-COII* мтДНК были идентифицированы пчелиные семьи (так называемые «семьи-перевертыши»), которые по морфометрическим показателям соответствовали среднерусской породе, тогда как мтДНК (выявлен вариант Q) указывала на происхождение семьи по материнской линии от породы южного происхождения (например, семья № 2 с пасеки п. Курлек Томского района) или, наоборот, по морфометрическим показателям семья более соответствовала «южной» породе, тогда как по мтДНК (вариант PQQQ) – среднерусской (например, семья № 1 с пасеки п. Курлек).

Таким образом, исследование породного состава медоносных пчел Томской области с использованием морфометрического и мтДНК-анализа показало, что большинство пчелиных семей представлено гибридами между местным подвидом (среднерусской пчелой *A. m. mellifera*) и завезенными коммерческими линиями южного происхождения (преимущественно карпатской пчелой *A. m. carpatica*), что характерно для многих регионов России и Европы. Так, в Европе выявлен высокий уровень интрогрессии между

Таблица 1 [Table 1]
Значения морфометрических показателей у рабочих особей некоторых пчелиных семей с пасек Томской области
[Values of morphometric indicators in workers of some bee colonies from apiaries of Tomsk region]

Географическая локализация: район, населенный пункт [Geographical locality: district, place]	Географические координаты точек сбора материала [Geo-coordinates of the sampling sites]		№ семьи [Colony, №]	N	Вариант локуса COI-COI/II мтДНК [Variant of the COI-COI/II mtDNA locus]	Кубитальный индекс, относительные единицы [Cubital Index, relative units]		Гангельный индекс, относительные единицы [Hantel Index, relative units]		Дискоидальное смещение [Discoidal shift], %		
	Широта, с.ш. [Latitude, N]	Долгота, в.д. [Longitude, E]				Lim: min-max	M±m	Lim: min-max	M±m	–	0	+
СЕВЕРНЫЕ РАЙОНЫ [Northern districts]												
Парабельский [Parabelsky]												
с. Парабель [v. Parabel]	58°41'52"	81°29'57"	1	38	PQQ	1,31–2,31	1,83±0,05	0,714–1,00	0,870±0,020	77,78	19,44	2,78
Чанский [Chainsky]												
с. Подгорное [v. Podgornoe]	57°47'00"	82°39'00"	1	35	Q	1,68–3,21	2,56±0,07	0,879–1,122	0,998±0,010	17,14	51,43	31,42
			2	35	Q	1,35–2,87	2,19±0,10	0,797–1,100	0,910±0,010	34,30	45,70	20,00
			3	35	Q	1,72–3,01	2,53±0,06	0,852–1,178	0,977±0,011	51,40	14,30	34,30
			4	30	PQQ	1,50–2,00	1,75±0,05	0,700–1,000	0,858±0,013	Нет данных [No data]		
с. Чалково [v. Chalkovo]	57°55'45"	83°21'73"	1	30	PQQ	1,30–2,00	1,75±0,04	0,720–0,871	0,811±0,010	100,00	0,00	0,00
			2	30	PQQ	1,32–2,00	1,57±0,04	0,712–0,851	0,789±0,010	100,00	0,00	0,00
			3	30	PQQ	1,17–1,81	1,51±0,03	0,693–0,923	0,808±0,010	100,00	0,00	0,00
			4	30	PQQ	1,32–1,82	1,53±0,03	0,722–0,903	0,802±0,010	97,00	3,00	0,00
с. Леботер [v. Leboter]	57°52'50"	83°11'50"	Σ	50	PQQ/Q	1,14–2,89	1,91±0,05	0,643–1,030	0,864±0,012	64,52	19,36	16,13
д. Стрельниково [v. Strelnikovo]	57°42'45"	82°26'48"	1	30	PQQ	1,60–2,36	2,00±0,06	0,686–0,938	0,883±0,013	56,00	44,00	0,00
с. Гореловка [v. Gorelovka]	57°28'00"	82°12'00"	1	30	PQQ	1,33–2,65	1,98±0,06	0,708–0,969	0,40±0,012	66,7	33,3	0,00
Молчановский [Molchanovsky]												
с. Могочино [v. Mogochino]	57°42'42"	83°34'30"	1	30	PQQ	1,26–2,56	1,92±0,05	0,806–1,000	0,879±0,010	70,00	30,0	0,00
			2	43	PQQ	1,36–2,00	1,73±0,02	0,693–0,923	0,821±0,006	100,0	0,00	0,00
			3	30	PQQ	1,57–2,82	1,88±0,04	0,770–1,000	0,855±0,015	92,00	8,00	0,00
Кривошеинский [Krivosheinsky]												
с. Кривошеино [v. Krivosheino]	57°20'63"	83°55'80"	Σ	55	PQQ	1,00–2,67	1,79±0,07	0,707–1,000	0,884±0,018	27,27	18,18	54,55
Тегульдеский [Teguldetsky]												
с. Тегульдет [v. Teguldet]	57°18'00"	88°10'00"	1	30	PQQQ	1,44–2,10	1,75±0,03	0,692–1,000	0,854±0,011	100,0	0,00	0,00
			2	30	PQQQ	1,28–1,90	1,50±0,05	0,707–0,923	0,823±0,012	93,30	6,70	0,00
			3	30	PQQQ	1,26–2,22	1,74±0,04	0,701–0,914	0,825±0,010	100,0	0,00	0,00

Продолжение табл. 1 [Table 1 (cont.)]

Географическая локализация: район, населенный пункт [Geographical locality: district, place]	Географические координаты точек сбора материала [Geo-coordinates of the sampling sites]		№ семьи [Colony, №]	Вариант локуса COI-COI мтДНК [Variant of the COI-COI mtDNA locus]	Кубитальный индекс, относительные единицы [Cubital index, relative units]		Гангальный индекс, относительные единицы [Hantel index, relative units]		Дискоидальное смещение, % [Discoidal shift, %]			
	широта [Latitude, N]	Долгота, в.д. [Longitude, E]			Lim: min-max	M±m	Lim: min-max	M±m	–	0	+	
ЮЖНЫЕ РАЙОНЫ [Southern districts]												
Асиновский [Asinovskiy]												
д. Цветовка [v. Tsvetkovka]	56°48'21"	85°50'10"	1	30	Q	1,68–3,64	2,51±0,06	0,867–1,210	1,050±0,010	4,00	20,00	76,00
д. Тихомировка [v. Tichomirovka]	56°55'50"	86°04'35"	1	30	PQQ/Q	1,41–2,82	1,90±0,06	0,656–1,176	0,880±0,018	54,60	35,50	9,90
ур. Кузержбак [v. Kuzherbak]	57°00'00"	86°09'00"	Σ	50	PQQ/PQQQ	1,45–2,91	2,20±0,05	0,733–1,000	0,858±0,012	66,00	32,00	2,00
Первомайский [Pervomaiskiy]												
д. Крутоложное [v. Krutozhnoe]	57°04'38"	86°14'20"	1	30	PQQ	1,50–2,72	1,78±0,04	0,800–1,053	0,911±0,031	16,70	76,70	6,60
Зырянский [Zyryanskiy]												
с. Зырянское [v. Zyryanskoe]	56°49'50"	86°37'38"	1	30	PQQ	1,28–2,80	1,73±0,06	0,707–1,000	0,834±0,016	66,7	33,3	0,00
			2	30	PQQ/Q	1,43–2,35	1,86±0,04	0,733–1,057	0,885±0,011	10,00	46,70	43,30
с. Дубровка [v. Dubrovka]	56°43'45"	86°26'33"	1	30	PQQ	1,43–2,47	1,69±0,05	0,672–0,933	0,849±0,011	73,33	26,67	0,00
			2	30	PQQQ	1,36–2,22	1,68±0,05	0,733–1,000	0,842±0,010	93,30	6,70	0,00
Томский [Tomskiy]												
п. Заречный [v. Zarechnyy]	56°39'03"	85°18'57"	1	30	PQQQ	1,39–2,33	1,65±0,04	0,712–0,932	0,825±0,009	73,50	26,50	0,00
			2	30	PQQQ	1,19–2,05	1,64±0,06	0,679–1,000	0,865±0,012	73,10	26,90	0,00
с. Семилужки [v. Semiluzhki]	56°37'05"	85°21'20"	1	26	PQQ	1,35–2,06	1,64±0,05	0,696–1,000	0,817±0,017	90,00	10,00	0,00
п. Курлек [v. Kurlek]	56°13'02"	84°51'43"	1	28	PQQQ	1,74–3,29	2,14±0,07	0,857–1,053	0,937±0,100	32,14	57,14	10,72
			2	29	Q	1,30–2,29	1,66±0,04	0,735–0,965	0,878±0,011	72,40	27,60	0,00
с. Коларово [v. Kolarovo]	56°20'11"	84°56'35"	1	30	PQQ	1,25–2,11	1,70±0,03	0,667–0,917	0,804±0,011	79,40	20,60	0,00
			2	30	PQQ	1,45–2,80	1,78±0,06	0,754–1,000	0,846±0,013	58,30	33,30	8,40
п. Синий Утес [v. Sinii Utes]	56°20'07"	84°55'11"	1	30	Q	1,83–2,87	2,37±0,06	0,815–1,053	0,931±0,012	6,70	76,70	16,60
с. Рыболово [v. Rybalovo]	56°30'14"	84°30'47"	1	30	PQQ	1,13–3,00	1,89±0,05	0,667–1,074	0,864±0,012	63,04	21,74	15,22
с. Болажово [v. Bolazhovo]	56°30'35"	85°14'70"	1	30	PQQ	1,40–2,50	1,79±0,05	0,691–0,905	0,790±0,009	94,30	5,70	0,00
с. Губино [d. Gubino]	56°34'60"	84°37'60"	1	24	PQQ	1,15–2,53	1,77±0,07	0,714–0,917	0,819±0,012	29,17	20,83	50,00

Окончание табл. 1 [Table 1 (end)]

Географическая локализация: район, населенный пункт [Geographical locality: district, place]	Географические координаты точек сбора материала [Geo-coordinates of the sampling sites]		№ семьи [Colony, №]	Вариант локуса <i>COL-COI</i> /мтДНК [Variant of the <i>COL-COI</i> mtDNA locus]	Кубитальный индекс, относительные единицы [Cubital index, relative units]		Гангельный индекс, относительные единицы [Hantel index, relative units]		Дискоидальное смещение, % [Discoidal shift, %]	
					Lim:	M±m	Lim:	M±m	–	0 +
с. Яр [v. Yar]	Широта, с.ш. [Latitude, N]	Долгота, в.д. [Longitude, E]	1	10	1,76–4,09	2,58±0,28	0,800–1,000	0,924±0,025	30,00	10,00 60,00
окр. г. Томска [vicinity of Tomsk]	56°29'51"	84°58'27"	1	30	1,95–3,73	2,53±0,07	0,964–1,250	1,069±0,021	6,67	10,00 83,33
			2	30	1,64–2,69	2,12±0,05	0,722–0,946	0,895±0,011	90,00	6,70 3,30
д. Кудринский участок [v. Kudrinsky uchastok]	56°32'80"	84°40'16"	3	33	2,0–5,56	3,41±0,02	0,905–1,310	1,125±0,016	0,00	3,00 97,00
			1	16	1,13–2,06	1,71±0,05	0,630–0,945	0,801±0,013	76,00	24,00 0,00
д. Просекино [v. Prosekiino]	56°23'00"	85°04'00"	1	30	1,33–3,25	1,98±0,07	0,750–1,100	0,911±0,120	26,67	50,00 23,33
Кожвинниковский [Kozhevnikovskiy]										
д. Еловка [v. Elovka]	55°57'00"	83°43'60"	1	30	1,36–2,67	1,67±0,05	0,714–0,964	0,845±0,090	63,30	36,60 0,00
СТАНДАРТЫ ПОРОД [Breed standards]										
<i>Apis mellifera mellifera</i> *	PQQ/PQQQ		PQQ/PQQQ		1,30–2,10	1,70	0,600–0,923	–	–	–
<i>Apis mellifera mellifera</i> **					1,30–1,90	1,5–1,7	0,600–0,923	–	91–95,100	5–10 0,00
<i>Apis mellifera carpatica</i> *					2,30–3,00	2,65	–	≥ 0,925	0–5	80–100
<i>Apis mellifera caucasica</i> *	Q		Q		1,70–2,30	2,00	–	He установлен [Not installed]	60–70	20–30 3–5

Примечание. N – число исследованных образцов; Lim – пределы значения признака; M±m – среднее значение признака (±стандартная ошибка); Σ – суммарная проба с пасеки (минимум 10 пчелиных семей). * – Европейский стандарт подвидов пчел, основанный на значениях кубитального и гангельного индексов [28]; ** – стандарты пород пчел, принятые в России.

[Note. N - Number of samples examined; Lim - Limits of the value of the sign; M±m - Mean value of the sign ± the standard error of the mean; Σ - Total sample from the apiary (minimum 10 bee colonies). * - European breed standard based on values of cubital and hantel indexes [28]; ** - Russian breed standard].

подвидами разных эволюционных линий – М (*A. m. mellifera* и *A. m. iberica*) и С (*A. m. ligustica* и *A. m. carnica*) и произошла замена аборигенных подвидов медоносной пчелы завезенными [3, 10–12]. На территории России процессы интродукции подвидов из южных областей страны в более северные и восточные регионы (Урал, Сибирь, Алтай), где традиционно разводилась среднерусская пчела, также приобрели массовый характер в последние десятилетия [29, 40, 43].

Существование на одной территории (часто на одной пасеке) разных пород медоносной пчелы повышает уровень гибридизации медоносных пчел и создает неблагоприятный фон для сохранения генофонда среднерусской пчелы *A. m. mellifera*, первоначально культивируемой на территории Томской области. В отличие от многих стран Европы, где темная лесная пчела признана исчезающим подвидом и популяции *A. m. mellifera* являются уникальными [3, 10–14], на территории Томской области сохранились локальные популяции (пасеки) пчел, близких по комплексу признаков к среднерусской породе (рис. 3). Так, пчелиные семьи среднерусской породы выявлены на пасеках с. Могочино (Молчановский район), с. Чалково (Чаинский район), с. Тегульдэт (Тегульдетский район), д. Дубровка (Зырянский район), с. Семилужки и п. Заречный (Томский район). Исследованные пасеки в с. Могочино, с. Тегульдэт и с. Чалково расположены на относительно изолированных территориях северных районов области (Молчановский, Тегульдетский и Чаинский районы соответственно) и рассматриваются как потенциально «чистые», хотя отмечен единичный завоз пчел южного происхождения в эти районы. Пасеки в д. Дубровка, с. Семилужки и п. Заречный расположены в южных районах области (Зырянский и Томский), характеризующихся хорошо развитым пчеловодством и близким расположением пасек друг к другу. Вместе с тем пасека в п. Заречный (Томский район) существует более 50 лет и специализируется на разведении среднерусских пчел (по словам пчеловода, на пасеку в течение длительного времени не завозились новые семьи и постоянно проводится контроль породности семей).

В условиях повсеместной гибридизации пчел необходимо совершенствовать генетические методы контроля чистоты пчелосемей. Эти исследования требуют молекулярных подходов как наиболее информативных и надежных. Так, исследования, контролирующие интрогрессию между эндемической *A. m. mellifera* и интродуцированными подвидами С-линии на территории Европы и России, проводились с использованием локусов мтДНК и микросателлитных локусов, ПЦР-ПДРФ и SNP маркеров [10–13, 32, 34, 35, 40, 44]. На основании широкомасштабных исследований, выполненных на территории Европы (поиск информативных маркеров был проведен из числа более 1 000 SNP с применением 5 различных аналитических методов), было разработано 5 панелей, состоящих из 48, 96, 144, 192 и 284 маркеров, информативных для определения предкового происхождения особей, которые авторы предлагают использовать для выявления и оценки примеси С-линий

(в частности, *A. m. ligustica* и *A. m. carnica*, а также сочетание этих подвидов) в М-линию *A. m. mellifera* [13, 32]. Однако, для оценки примеси других подвидов линии С и/или их сочетаний (а также более сложных комбинаций) в М-линию требуется тестирование разработанных панелей. Наконец, уменьшенные варианты панелей (48 или 96 маркеров) не подходят для стандартного генетического анализа популяций, в том числе для определения аллельного разнообразия или для оценки изоляции расстоянием, генетического дрейфа или эффекта «горлышка бутылки» [13].

В настоящем исследовании для оценки характеристики генетического разнообразия медоносных пчел, обитающих на пасеках Томской области, а также оценки процесса гибридизации пчел проведен анализ варибельности микросателлитных локусов у медоносных пчел.

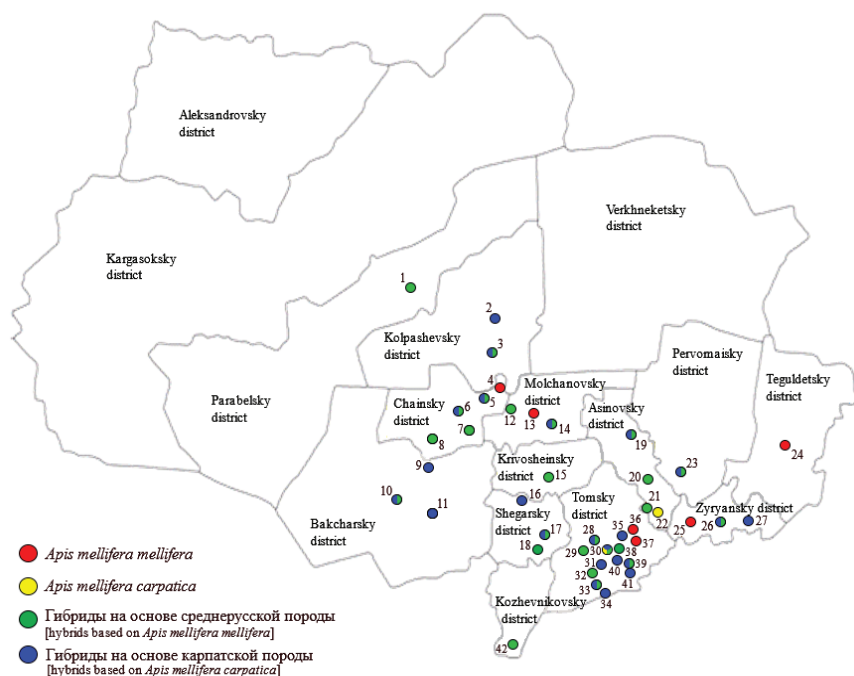


Рис. 3. Распределение пород и гибридов медоносной пчелы на пасеках Томской области согласно результатам анализа мтДНК и морфометрических показателей

[Fig. 3. Distribution of honeybee subspecies and hybrids at apiaries of Tomsk region according to the analysis of mtDNA and morphometric parameters]

Разнообразие медоносных пчел Томской области по микросателлитным локусам

Для характеристики генетического разнообразия медоносных пчел, обитающих на территории Томской области, и выявления высокополиморфных

ДНК-маркеров была изучена изменчивость 9 микросателлитных локусов (*A008*, *AC117*, *A043*, *A113*, *A024*, *Ap243*, *Ap049*, *H110*, *SV185*) (табл. 2). Были сформированы четыре выборки, включающие образцы чистопородных и гибридных пчел:

1) среднерусские пчелы, полученные от семей *A. m. mellifera* и имеющие варианты PQQ или PQQQ локуса *COI-COI* мтДНК (М-линия); регистрировалось соответствие стандарту породы по морфометрическим признакам;

2) карпатские пчелы, полученные от семей *A. m. carpathica*, завезенных на территорию области из пчелопитомника, и имеющие вариант Q локуса *COI-COI* мтДНК (С-линия); регистрировалось соответствие стандарту породы по морфометрическим признакам;

3) пчелы, полученные от гибридных семей на основе среднерусской породы (выявлены варианты PQQ или PQQQ локуса *COI-COI* мтДНК, однако наблюдается несоответствие морфометрических показателей стандарту среднерусской породы);

4) пчелы, полученные от гибридных семей на основе карпатской породы (выявлен вариант Q локуса *COI-COI* мтДНК, однако наблюдается несоответствие морфометрических показателей стандарту карпатской породы).

Все исследованные локусы были полиморфными: минимальное число аллелей зарегистрировано для локуса *AC117* (4 аллеля); максимальное – для локуса *A113* (15 аллелей); среднее число аллелей на локус – 8. Для пчел среднерусской породы минимальное число аллелей выявлено для локуса *H110* (3 аллеля), максимальное – для локуса *A113* (11 аллелей); для пчел карпатской породы минимальное число аллелей выявлено для локуса *Ap243* (1 аллель); максимальное – для локуса *A008* (9 аллелей); среднее число аллелей на локус для обеих пород составило 5. Кроме того, изученные локусы отличались по вариабельности спектра аллелей у пчел двух выборок (среднерусская и карпатская породы). Например, по локусу *Ap243* у пчел карпатской породы зарегистрирован только один аллель «255» (все исследованные особи были гомозиготными), тогда как у пчел среднерусской породы выявлено 8 аллелей.

В результате сравнительного анализа вариабельности изученных микросателлитных локусов у чистопородных пчел (среднерусских и карпатских пчел) для большинства локусов выявлены различия по спектру и/или частоте регистрации аллелей между подвидами. Кроме того, для некоторых локусов (*A008*, *A043*, *A113*, *A024* и *Ap049*) зарегистрированы преобладающие аллели (встречались с частотой более 0,40), спектр которых отличался у пчел разных эволюционных линий (М и С) (см. табл. 2). Так, для локуса *A008* преобладающим аллелем у *A. m. mellifera* (линия М) был аллель «162» (частота регистрации 0,87), тогда как у *A. m. carpathica* (линия С) – аллель «174» (частота регистрации 0,46); для локуса *A113* преобладающий аллель у *A. m. carpathica* – «212» (частота регистрации 0,91), у *A. m. mellifera* – аллель «218» (частота регистрации 0,57).

Таблица 2 [Table 2]

**Частота регистрации ($\pm$ ошибка) преобладающих аллелей
9 микросателлитных локусов у пород медоносной пчелы (*Apis mellifera mellifera* и *Apis mellifera carpathica*) и гибридов разного происхождения**
[The frequency of registration ($\pm$ error) of the predominant alleles
of 9 microsatellite loci in honeybee breeds (*Apis mellifera mellifera*
and *Apis mellifera carpathica*) and hybrids of different origin]

Размер аллеля, пн [Allele size, bp]	<i>Apis mellifera mellifera</i> [PQQ/PQQQ of the <i>COI-COI</i> locus, M-lineage]	<i>Apis mellifera carpathica</i> [Q of the <i>COI-COI</i> locus, C-lineage]	Гибриды на основе [Hybrids based on]	
			<i>Apis mellifera mellifera</i> [PQQ/PQQQ of the <i>COI-COI</i> locus]	<i>Apis mellifera carpathica</i> [Q of the <i>COI-COI</i> locus]
Локус <i>A008</i> [Locus <i>A008</i>]				
162	0,868$\pm$0,014	0,026 $\pm$ 0,013	0,721$\pm$0,018	0,687$\pm$0,021
174	0,023 $\pm$ 0,006	0,455$\pm$0,040	0,083 $\pm$ 0,011	0,124 $\pm$ 0,015
Ho	0,226 $\pm$ 0,024	0,500 $\pm$ 0,057***	0,409 $\pm$ 0,028	0,463 $\pm$ 0,032
He	0,243 $\pm$ 0,023	0,729 $\pm$ 0,028	0,459 $\pm$ 0,023	0,505 $\pm$ 0,026
N	306	78	316	246
Локус <i>AC117</i> [Locus <i>AC117</i>]				
181	0,292 $\pm$ 0,019	0,031 $\pm$ 0,017	0,443$\pm$0,024	0,278 $\pm$ 0,020
185	0,517$\pm$0,020	0,959$\pm$0,020	0,343 $\pm$ 0,023	0,534$\pm$0,022
Ho	0,389 $\pm$ 0,028***	0,082 $\pm$ 0,039	0,446 $\pm$ 0,034***	0,391 $\pm$ 0,031***
He	0,629 $\pm$ 0,014	0,079 $\pm$ 0,037	0,662 $\pm$ 0,012	0,609 $\pm$ 0,015
N	301	49	220	248
Локус <i>A043</i> [Locus <i>A043</i>]				
128	0,831$\pm$0,015	0,076 $\pm$ 0,023	0,844$\pm$0,017	0,637$\pm$0,024
140	0,156 $\pm$ 0,015	0,629$\pm$0,042	0,138 $\pm$ 0,016	0,292 $\pm$ 0,023
Ho	0,279 $\pm$ 0,026	0,242 $\pm$ 0,053***	0,249 $\pm$ 0,029	0,451 $\pm$ 0,035
He	0,285 $\pm$ 0,021	0,553 $\pm$ 0,042	0,269 $\pm$ 0,025	0,507 $\pm$ 0,020
N	305	66	221	204
Локус <i>A113</i> [Locus <i>A113</i>]				
212	0,107 $\pm$ 0,013	0,906$\pm$0,023	0,171 $\pm$ 0,018	0,203 $\pm$ 0,019
218	0,571$\pm$0,021	0,013 $\pm$ 0,009	0,571$\pm$0,024	0,545$\pm$0,023
Ho	0,521 $\pm$ 0,029*	0,075 $\pm$ 0,029*	0,567 $\pm$ 0,034	0,572 $\pm$ 0,032
He	0,596 $\pm$ 0,017	0,177 $\pm$ 0,041	0,626 $\pm$ 0,023	0,645 $\pm$ 0,020
N	290	80	211	236
Локус <i>A024</i> [Locus <i>A024</i>]				
92	0,660$\pm$0,019	0,066 $\pm$ 0,021	0,500$\pm$0,025	0,472$\pm$0,024
100	0,186 $\pm$ 0,016	0,427$\pm$0,042	0,194 $\pm$ 0,020	0,421$\pm$0,024
102	0,007 $\pm$ 0,003	0,463$\pm$0,043	0,043 $\pm$ 0,010	0,082 $\pm$ 0,013
Ho	0,505 $\pm$ 0,029	0,529 $\pm$ 0,061	0,480 $\pm$ 0,036***	0,636 $\pm$ 0,033
He	0,513 $\pm$ 0,020	0,598 $\pm$ 0,022	0,687 $\pm$ 0,019	0,593 $\pm$ 0,012
N	307	68	196	214
Локус <i>Ap243</i> [Locus <i>Ap243</i>]				
252	0,014 $\pm$ 0,006	0	0,184 $\pm$ 0,023	0,395 $\pm$ 0,027
255	0,427 $\pm$ 0,024	1,000$\pm$0,000	0,367 $\pm$ 0,029	0,214 $\pm$ 0,023
263	0,330 $\pm$ 0,023	0	0,306 $\pm$ 0,028	0,157 $\pm$ 0,020
Ho	0,439 $\pm$ 0,034***	0,000 $\pm$ 0,000	0,252 $\pm$ 0,037***	0,331 $\pm$ 0,037***
He	0,694 $\pm$ 0,014	—	0,722 $\pm$ 0,012	0,738 $\pm$ 0,013
N	212	60	139	166
Локус <i>Ap049</i> [Locus <i>Ap049</i>]				
127	0,673$\pm$0,019	0,208 $\pm$ 0,039	0,645$\pm$0,023	0,609$\pm$0,023
130	0,175 $\pm$ 0,015	0,679$\pm$0,002	0,240 $\pm$ 0,020	0,144 $\pm$ 0,017
Ho	0,447 $\pm$ 0,028	0,585 $\pm$ 0,068	0,353 $\pm$ 0,032***	0,418 $\pm$ 0,033***
He	0,501 $\pm$ 0,020	0,490 $\pm$ 0,048	0,518 $\pm$ 0,021	0,556 $\pm$ 0,020
N	309	53	221	225

Окончание табл. 2 [Table 2 (end)]

Размер аллеля, пн [Allele size, bp]	<i>Apis mellifera mellifera</i> [PQQ/PQQQ of the <i>COI-COI</i> locus, M-lineage]	<i>Apis mellifera carpathica</i> [Q of the <i>COI-COI</i> locus, C-lineage]	Гибриды на основе [Hybrids based on]	
			<i>Apis mellifera mellifera</i> [PQQ/PQQQ of the <i>COI-COI</i> locus]	<i>Apis mellifera carpathica</i> [Q of the <i>COI-COI</i> locus]
Локус <i>H110</i> [Locus <i>H110</i>]				
162	0,789±0,017	0,806±0,038	0,625±0,024	0,806±0,019
Ho	0,333±0,028	0,389±0,066	0,559±0,035	0,349±0,032
He	0,343±0,022	0,320±0,049	0,531±0,021	0,325±0,025
N	282	54	204	229
Локус <i>SV185</i> [Locus <i>SV185</i>]				
263	0,288±0,021	0,094±0,026	0,310±0,024	0,222±0,020
266	0,117±0,015	0,266±0,039	0,216±0,021	0,290±0,022
269	0,578±0,022	0,359±0,042	0,367±0,025	0,205±0,020
Ho	0,527±0,032	0,594±0,061	0,662±0,034	0,676±0,033**
He	0,569±0,017	0,712±0,014	0,718±0,010	0,781±0,006
N	243	64	192	207

Примечание. N – число исследованных образцов; Ho – наблюдаемая гетерозиготность; He – ожидаемая гетерозиготность. Значения частот преобладающих аллелей (частота регистрации >0,40) у разных подвидов выделены жирным шрифтом. * – отмечены статистически значимые отличия наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой (* – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001).

[Note. N - Number of samples examined; Ho - Observed heterozygosity; He - Expected heterozygosity. Frequencies of the prevailing alleles (registration frequency >0.40) in different subspecies are in bold. Statistically significant differences in the observed heterozygosity from the expected heterozygosity are marked with *p<0.05, **p<0.01 and ***p<0.001].

Оценка генетического разнообразия по показателям гетерозиготности большинства изученных локусов выявила сходные результаты для двух подвидов пчел, а именно более низкие значения наблюдаемой гетерозиготности по сравнению с ожидаемой гетерозиготностью (см. табл. 2). Только для локусов *AC117* и *Ap049* у пчел карпатской породы, *A024* у гибридов на основе карпатской породы и *H110* у пчел карпатской породы и всех гибридов значение наблюдаемой гетерозиготности превышало значение ожидаемой гетерозиготности. В то же время статистически значимый уровень различий между наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготностью показан только для следующих локусов: у пчел среднерусской породы – для локусов *A113* (t=2,23, p<0,05), *AC117* (t=5,93, p<0,001) и *Ap243* (t=6,94, p<0,001); у пчел карпатской породы – для локусов *A008* (t=3,61, p<0,001), *A043* (t=4,60, p<0,001) и *A113* (t=2,03, p<0,05); у гибридов на основе среднерусской породы – для локусов *AC117* (t=5,99, p<0,001), *Ap243* (t=12,08, p<0,001), *A024* (t=5,09, p<0,001), *Ap049* (t=4,31, p<0,001); у гибридов на основе карпатской породы – для локусов *AC117* (t=6,33, p<0,001), *Ap243* (t=10,38, p<0,001), *Ap049* (t=3,58, p<0,001) и *SV185* (t=3,13, p<0,01).

Выявленные различия между медоносными пчелами среднерусской и карпатской пород по вариабельности изученных локусов были использованы для оценки генетического разнообразия гибридных пчел, полученных с пасек Томской области. На основе анализа вариабельности 9 микросател-

литных локусов было установлено, что как у гибридов на основе среднерусской породы (варианты PQQ и PQQQ локуса *COI-COII* мтДНК), так и у гибридов на основе пород южного происхождения (вариант Q локуса *COI-COII*) ядерный геном более близок по спектру и частоте аллелей изученных ДНК-маркеров геному среднерусской породы. Например, по локусу *A043* аллель «128» является специфичным для среднерусской породы (частота регистрации 0,83), тогда как у карпатской породы этот аллель встречается с частотой 0,08; наоборот, для карпатской породы характерным является аллель «140» (частота встречаемости 0,63), тогда как у среднерусских пчел этот аллель регистрируется с частотой 0,16 (см. табл. 2). В то же время у гибридов как на основе среднерусской, так и на основе карпатской породы преобладающим является «среднерусский» аллель «128» (частота регистрации 0,84 и 0,64 соответственно), тогда как частота «карпатского» аллеля «140» у гибридов на основе карпатской породы снижается в два раза (0,29). Аналогичная картина наблюдается для большинства изученных локусов (*A008*, *A113*, *A024*, *Ap049*, *Ap243*). Следовательно, у гибридов на основе карпатской породы происходит интрогрессия генетических вариантов линии М (среднерусская порода).

Факторы, определяющие генетическое разнообразие медоносных пчел, обитающих на пасеках Томской области

Для выявления факторов, определяющих генетическое разнообразие медоносных пчел, полученных с пасек Томской области, был использован метод главных координат (Principal Coordinate Analysis – PCoA). Первоначально были проанализированы 24 выборки пчел, полученные из 24 населенных пунктов Томской области, с использованием метода PCoA по данным о вариативности 9 микросателлитных локусов для визуализации дистанционности между собой выборок различного породного происхождения (рис. 4).

Согласно проведенным расчетам генетических дистанций, которые оценивались на основании анализа изменчивости 9 микросателлитных локусов, первая главная координата объясняет 29,5% суммарной изменчивости, вторая – 19,1%. Сравнимые выборки пчел отчетливо кластеризуются в зависимости от породной принадлежности (Coordinate 1): четко дифференцируются выборки пчел, имеющие происхождение от среднерусских пчел (кластер «среднерусские пчелы»), от выборок пчел на основе карпатской породы. Так, выборки пчел среднерусской породы (пчелы с пасек с. Могочино, д. Дубровка, с. Семилужки, п. Заречный, с. Тегульдэт) и выборки гибридов на основе среднерусской породы (выборки пчел с пасек с. Леботор, с. Кривошеино, с. Парабель, с. Подгорное, д. Стрельниково, урочище Кужербак, д. Тихомировка, с. Кожевниково и д. Еловка), расположенные в одном большом кластере, дистанционированы от группы пчел, представленной гибридами на основе карпатской породы (пчелы с пасек п. Синий Утес, с. Высокий Яр и д. Крыловка).

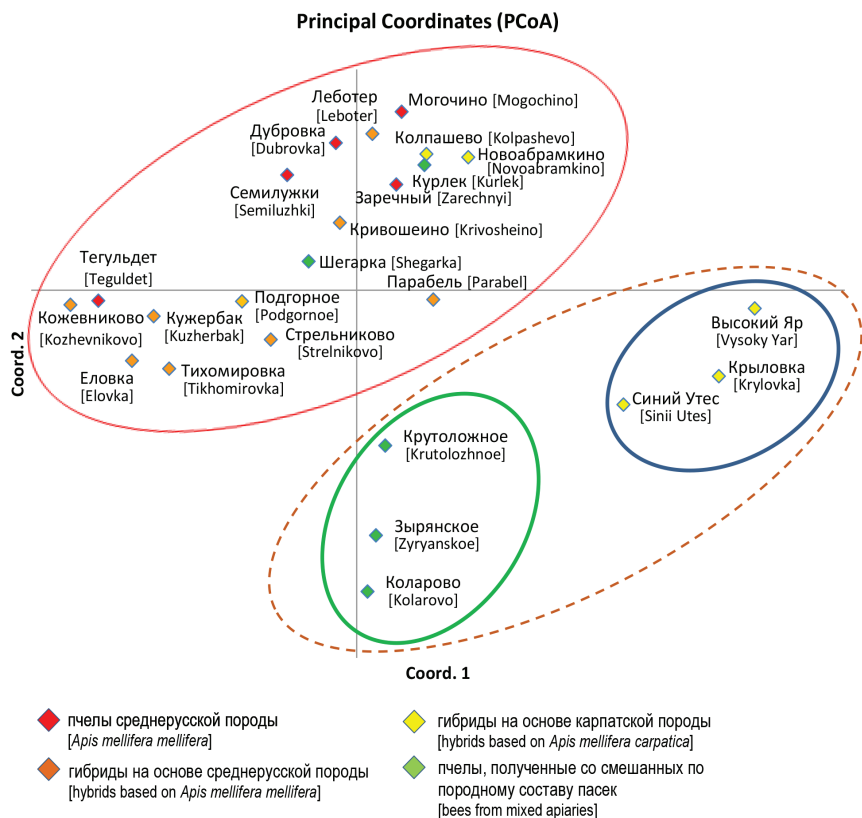


Рис. 4. Расположение в пространстве главных координат (PCoA) выборок медоносных пчел различного происхождения с пасек Томской области по данным об изменчивости 9 микросателлитных локусов. Coord. 1 – первая главная координата, Coord. 2 – вторая главная координата
[Fig. 4. Projection of *Apis mellifera* individuals (comparison between bee groups of different origin) on the two-coordinate system according to the PCoA-analysis of the Nei genetic distances matrix. Coord. 1 - Coordinate 1; Coord. 2 - Coordinate 2]

В то же время близкими к кластеру «среднерусские пчелы» оказались две выборки гибридных пчел на основе карпатской породы (пчелы с пасек в окр. г. Колпашево и д. Новоабрамкино), а также выборки пчел с пасек со смешанным породным составом (пчелы с пасек д. Шегарка и с. Курлек, а также д. Крутоложное, с. Зырянское, с. Коларово). Вместе с тем выборки гибридных пчел, прежде всего гибриды на основе карпатской породы и гибридные пчелы с пасек со смешанным породным составом, несколько дистанцированы друг от друга (Coordinate 2). Следовательно, кроме породной принадлежности на определение генетического разнообразия медоносных пчел, возможно, оказывают влияние и другие факторы, такие как уровень гибридизации (интрогрессия генов между линиями М и С), географическая

локализация пасек и др. Так, пчелы (семьи) с пасек со смешанным породным составом характеризуются разным уровнем гибридизации. Особенно сильно выборки с пасек д. Шегарка и с. Курлек являются преобладание пчел, имеющих происхождение от среднерусской породы по материнской линии (около 70% особей выборки имели варианты PQQ или PQQQ локуса *COI-COII* мтДНК, характерные для среднерусской породы). В отличие от выборок с пасек д. Шегарка и с. Курлек, три выборки пчел, полученные с пасек д. Крутоложное, с. Зырянское и с. Коларово, образуют обособленную периферийную группу, что может быть связано с тем, что в данных выборках преобладают гибридные пчелы на основе «южных» пород.

Что касается выборок гибридных пчел на основе карпатской породы, то на генетическое разнообразие данных выборок пчел кроме показателя интрогрессии генов может оказывать влияние изолированность пасек. Так, гибридизация со среднерусской породой и, возможно, большее замещение «карпатских» генов «среднерусскими» генами отмечено для пчел выборок с пасек в окр. г. Колпашево, д. Новоабрамкино по сравнению с выборками пчел с пасек с. Высокий Яр, д. Крыловка и п. Синий Утес. Это, возможно, объясняет интеграцию выборок с пасек в окр. г. Колпашево и д. Новоабрамкино в основную группу пчел, имеющих происхождение от среднерусской породы. Кроме того, выборки пчел с пасек в окр. г. Колпашево и д. Новоабрамкино были сформированы на основе семей, длительно и изолированно обитающих на пасеках северного района (Колпашевский район – один из наиболее удаленных районов Томской области), в отличие от выборок, образующих отдельный кластер (с. Высокий Яр, д. Крыловка (Бакчарский район, северный район) и п. Синий Утес (Томский район, южный район)).

Таким образом, с одной стороны, генетическое разнообразие медоносных пчел определяется их породной принадлежностью (разные эволюционные линии М и С). С другой стороны, выборки пчел могут группироваться в зависимости от степени гибридизации пчел и от соотношения пчел разного происхождения (для смешанных выборок). Следует отметить, что представленность разных вариантов мтДНК в смешанных пчелиных семьях оказалась неодинаковой. Например, при объединении двух семей разного происхождения у пчел обычно регистрируется равное соотношение разных вариантов локуса *COI-COII* мтДНК, тогда как в случаях, когда происходит «миграционный» обмен между семьями, например вследствие блуждания и «впрашивания» рабочих пчел, в семьях регистрируется выраженная диспропорция по представленности разных вариантов мтДНК. Наконец, на представленное распределение выборок может оказывать влияние географический фактор.

Для оценки роли географического фактора в генетической гетерогенности выборок пчел были проанализированы выборки пчел с пасек 13 районов Томской области с использованием метода главных координат (РСоА) на основании данных частот аллелей 9 микросателлитных локусов (рис. 5).

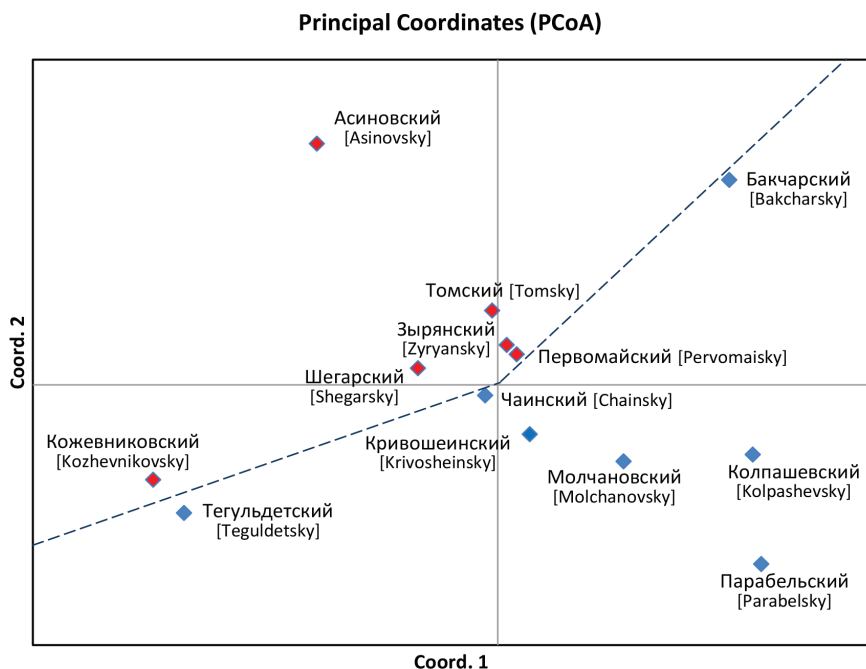


Рис. 5. Расположение в пространстве главных координат (PCoA) выборок медоносных пчел с пасек 13 районов Томской области по данным об изменчивости 9 микросателлитных локусов. Coord. 1 – первая главная координата, Coord. 2 – вторая главная координата. Красным цветом отмечены выборки пчел с пасек южных районов; синим – выборки пчел с пасек северных районов

[Fig. 5. Projection of *Apis mellifera* individuals (comparison between bee groups from the apiaries of 13 districts of Tomsk region) on the two-coordinate system according to the PCoA-analysis of the Nei genetic distances matrix. Coord. 1 - coordinate 1; Coord. 2 - coordinate 2. Bee samples from apiaries in the southern regions are marked in red; bee samples from apiaries of the northern regions are in blue]

Суммарно первая и вторая главные координаты объясняют менее 50% изменчивости (25,6 и 20,3% соответственно для первой и второй координат), что свидетельствует о том, что географическая локализация, вероятно, вносит вклад в определение генетического разнообразия медоносных пчел, но является не единственным фактором. Согласно полученным результатам, по проанализированным генетическим маркерам исследуемые выборки пчел разделяются в зависимости от географической принадлежности (северные и южные районы) (Coordinate 1), но не образуют четких кластеров (наблюдается значительный разброс выборок пчел, особенно северных районов, что может быть связано с удаленностью и изолированностью пасек этих районов). Наиболее близкими между собой по генетическим особенностям были выборки пчел с пасек южных районов (Томского, Зырянского и Шегарского), характеризующихся высоким уровнем пчеловодства, активным завозом пчелиных семей карпатской породы и большим количеством ги-

бридных пасек. Вероятно, что в данном случае факторами, определяющими их генетическое разнообразие, являются не столько географическая локализация, сколько породная принадлежность пчел и уровень интрогрессии генов (выборки представлены преимущественно пчелами гибридных семей). Следовательно, среди факторов, определяющих генетическое разнообразие медоносных пчел на пасеках Томской области, можно выделить следующие: породная принадлежность пчелиных семей, уровень интрогрессии генов в процессе гибридизации, географическая локализация пасек, а также изолированность пасек. Каждый из предполагаемых факторов не является определяющим, но, вероятно, имеет место их комплексное воздействие на формирование генетического разнообразия пчел, причем значительное влияние на проявление этих факторов оказывает деятельность человека (выбор породы пчел, контроль чистопородности пчелиных семей и др.).

Заключение

В результате комплексного исследования медоносных пчел с использованием классического морфометрического и молекулярно-генетического методов представлено распространение пород медоносной пчелы на территории Томской области, установлены пасеки, где сохранилась среднерусская порода *A. m. mellifera*, определены зоны гибридизации пчел и др. Большинство пчелиных семей на пасеках Томской области представлено гибридами между среднерусской и карпатской породами. На основе анализа изменчивости 9 микросателлитных локусов установлено, что ядерный геном гибридных пчел, имеющих происхождение как от среднерусской, так и карпатской пород, более близок по спектру и частоте изученных маркеров геному среднерусской породы. Генетическое разнообразие медоносных пчел, обитающих на пасеках Томской области, вероятно, определяется не отдельно взятым показателем (географическая локализация и изолированность пасек, породная принадлежность пчел (происхождение), уровень интрогрессии генов в процессе гибридизации), а комплексным воздействием вышеуказанных факторов, значимость которых в определенной степени зависит от деятельности человека.

Литература

1. Meixner M.D., Costa C., Kryger P., Hatjina F., Bouga M., Ivanova E., Büchler R. Conserving diversity and vitality for honey bee breeding // Journal of Apicultural Research. 2010. Vol. 49, № 1. PP. 85–92. doi: 10.3896/IBRA.1.49.1.12
2. Büchler R., Costa C., Hatjina F., Andonov S., Meixner M.D., Le Conte Y., Uzunov A., Berg S., Bienkowska M., Bouga M., Drazic M., Dyrba W., Kryger P., Panasiuk B., Pechhacker H., Petrov P., Kezić N., Korpela S., Wilde J. The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* L. colonies in Europe // Journal of Apicultural Research. 2014. Vol. 53. PP. 205–214. doi: 10.3896/IBRA.1.53.2.03

3. Pinto M.A., Henriques D., Chávez-Galarza J., Kryger P., Garnery L., van der Zee R., Dahle B., Soland-Reckeweg G., De la Rúa P., Dall'Olio R., Carreck N.L., Johnston J.S. Genetic integrity of the dark European honey bee (*Apis mellifera mellifera*) from protected populations: a genome-wide assessment using SNPs and mtDNA sequence data // Journal of Apicultural Research. 2014. Vol. 53. PP. 269–278. doi: 10.3896/IBRA.1.53.2.08
4. Porrini C., Mutinelli F., Bortolotti L., Granato A., Laurenson L., Roberts K., Gallina A., Silvester N., Medrzycki P., Renzi T., Sgolastra F., Lodesani M. The status of honey bee health in Italy: results from the nationwide Bee Monitoring Network // PLoS One. 2016. Vol. 11, № 5. e0155411. doi: 10.1371/journal.pone.0155411
5. Martinello M., Baratto C., Manzinello C., Piva E., Borin A., Toson M., Granato A., Boniotti M.B., Gallina A., Mutinelli F. Spring mortality in honey bees in northeastern Italy: detection of pesticides and viruses in dead honey bees and other matrices // Journal of Apicultural Research. 2017. Vol. 56, № 3. PP. 239–254. doi: 10.1080/00218839.2017.1304878
6. Brodschneider R., Gray A., Adjlane N., Ballis A., Brusbardis V., Charrière J.-D., Chlebo R., Coffey M.F., Dahle B., de Graaf D., Dražić M.M., Evans G., Fedoriak M., Forsythe I., Gregorc A., Grzęda U., Hetzroni A., Kauko L., Kristiansen P., Martikkala M., Martín-Hernández R., Medina-Flores C.A., Mutinelli F., Raudmets A., Ryzhikov V.A., Simon-Delso N., Stevanovic J., Uzunov A., Vejsnæs F., Wöhl S., Zammit-Mangion M., Danihlík J. Multi-country loss rates of honey bee colonies during winter 2016/2017 from the COLOSS survey // Journal of Apicultural Research. 2018. Vol. 57, № 3. PP. 452–457. doi: 10.1080/00218839.2018.1460911
7. Browne P., Newstrom-Lloyd L.E., Foster C.B.J., Badger P.H., McLeane J.A. Winter 2016 honey bee colony losses in New Zealand // Journal of Apicultural Research. 2018. Vol. 57, № 2. PP. 278–291. doi: 10.1080/00218839.2018.1430980
8. Requier F., Antúnez K., Morales C.L., Sánchez P.A., Castilhos D., Garrido P.M., Giacobino A., Reynaldi F.J., Londoño J.M.R., Santos E., Garibaldi L.A. Trends in beekeeping and honey bee colony losses in Latin America // Journal of Apicultural Research. 2018. Vol. 57, № 3. PP. 657–662. doi: 10.1080/00218839.2018.1494919
9. Gray A., Brodschneider R., Adjlane N., Ballis A., Brusbardis V., Charrière J.-D., Chlebo R., Coffey M.F., Cornelissen B., Amaro da Costa C., Csáki T., Dahle B., Danihlík J., Dražić M.M., Evans G., Fedoriak M., Forsythe I., de Graaf D., Gregorc A., Johannesen J., Kauko L., Kristiansen P., Martikkala M., Martín-Hernández R., Medina-Flores C.A., Mutinelli F., Patalano S., Petrov P., Raudmets A., Ryzhikov V.A., Simon-Delso N., Stevanovic J., Topolska G., Uzunov A., Vejsnæs F., Williams A., Zammit-Mangion M., Soroker V. Loss rates of honey bee colonies during winter 2017/18 in 36 countries participating in the COLOSS survey, including effects of forage sources // Journal of Apicultural Research. 2019. Vol. 58, № 4. PP. 479–485. doi: 10.1080/00218839.2019.1615661
10. Jensen A.B., Pedersen B.V. Honeybee conservation: a case story from Læsø island, Denmark // Beekeeping and conserving biodiversity of honeybee. Sustainable bee breeding. Hebdén Bridge : Northern Bee Books, 2005. PP. 142–164.
11. De la Rúa P., Jaffé R., Dall'Olio R., Serrano J., Muñoz I. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees // Apidologie. 2009. Vol. 40, № 3. PP. 263–284. doi: 10.1051/apido/2009027
12. Soland-Reckeweg G., Heckel G., Neumann P., Fluri P., Excoffier L. Gene flow in admixed populations and implications for the conservation of the Western honeybee, *Apis mellifera* // Journal of Insect Conservation. 2009. Vol. 13. PP. 317–328. doi: 10.1007/s10841-008-9175-0
13. Muñoz I., Henriques D., Johnston J.S., Chávez-Galarza J., Kryger P., Pinto M.A. Reduced SNP panels for genetic identification and introgression analysis in the dark honey bee (*Apis mellifera mellifera*) // PLoS One. 2015. Vol. 10. e0124365. doi: 10.1371/journal.pone.0124365

14. Hassett J., Browne K.A., McCormack G.P., Moore E., Native Irish Honey Bee Society, Soland G., Geary M. A significant pure population of the dark European honey bee (*Apis mellifera mellifera*) remains in Ireland // Journal of Apicultural Research. 2018. Vol. 57, № 3. PP. 337–350. doi: 10.1080/00218839.2018.1433949
15. Budge G.E., Pietravalle S., Brown M., Laurenson L., Jones B., Tomkies V., Delaplane K.S. Pathogens as predictors of honey bee colony strength in England and Wales // PLoS One. 2015. Vol. 10, № 7. e0133228. doi: 10.1371/journal.pone.0133228
16. Chauzat M.-P., Jacques A., Laurent M., Bougeard S., Hendrikx P., Ribière-Chabert M. Risk indicators affecting honeybee colony survival in Europe: one year of surveillance // Apidologie. 2016. Vol. 47, № 3. PP. 348–378. doi: 10.1007/s13592-016-0440-z
17. Simone-Finstrom M., Li-Byarlay H., Huang M.H., Strand M.K., Rueppell O., Tarry D.R. Migratory management and environmental conditions affect lifespan and oxidative stress in honey bees // Scientific Reports. 2016. Vol. 6. 32023. doi: 10.1038/srep32023
18. Wilfert L., Long G., Leggett H.C., Schmid-Hempel P., Butlin R., Martin S.J.M., Boots M. Honeybee disease: Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites // Science. 2016. Vol. 351. PP. 594–597. doi: 10.1126/science.aac9976
19. Molineri A., Giacobino A., Pacini A., Bulacio Cagnolo N., Merke J., Orellano E., Bertozzi E., Zago L., Aignasse A., Pietronave H., Rodríguez G., Crisanti P., Palacio M.A., Signorini M. Environment and *Varroa* destructor management as determinant of colony losses in apiaries under temperate and subtropical climate // Journal of Apicultural Research. 2018. Vol. 57, № 4. PP. 551–564. doi: 10.1080/00218839.2018.1475697
20. Конусова О.Л., Погорелов Ю.Л., Островерхова Н.В., Нечипуренко А.О., Воротов А.А., Климова Е.А., Прокопьев А.С. Медоносная пчела и пчеловодство в Томской области: прошлое, настоящее и будущее // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2009. № 4 (8). С. 15–28.
21. Ильясов Р.А., Поскряков А.В., Николенко А.Г. Семь причин смертности семей пчелы *Apis mellifera mellifera* в России // Пчеловодство. 2017. № 9. С. 10–14.
22. van Engelsdorp D., Traynor K.S., Andree M., Lichtenberg E.M., Chen Y., Saegerman C., Cox-Foster D.L. Colony Collapse Disorder (CCD) and bee age impact honey bee pathophysiology // PLoS One. 2017. Vol. 12, № 7. e0179535. doi: 10.1371/journal.pone.0179535
23. Конусова О.Л., Погорелов Ю.Л., Островерхова Н.В., Россейкина С.А., Нечипуренко А.О., Воротов А.А., Климова Е.А., Прокопьев А.С. Биологическая и хозяйственная оценка семей медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) в некоторых районах Томской области // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2010. № 1 (9). С. 29–41.
24. Островерхова Н.В., Конусова О.Л., Погорелов Ю.Л., Климова Е.А., Воротов А.А. Характеристика митохондриального генома медоносной пчелы *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) в популяциях Томской области // II Симпозиум стран СНГ по перепончатокрылым насекомым и 8-й Коллоквиум Российской секции Международного союза исследователей общественных насекомых (IUSSI): Программа и тезисы докладов. СПб., 2010. С. 110.
25. Конусова О.Л., Островерхова Н.В., Кучер А.Н., Курбатский Д.В., Киреева Т.Н. Характеристика морфометрической изменчивости медоносных пчел *Apis mellifera* L., отличающихся вариантами локуса *COI-COI* мтДНК // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2016. № 1 (33). С. 62–81. doi: 10.17223/19988591/33/5
26. Островерхова Н.В., Конусова О.Л., Кучер А.Н., Погорелов Ю.Л., Белых Е.А., Воротов А.А. Популяционно-генетическая структура медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) в районе д. Леботёр Чаинского района Томской области // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. № 1 (21). С. 161–172.

27. Островерхова Н.В., Конусова О.Л., Кучер А.Н., Киреева Т.Н., Воротов А.А., Белых Е.А. Генетическое разнообразие локуса COI-COI мтДНК медоносной пчелы *Apis mellifera* L. в Томской области // Генетика. 2015. Т. 51, № 1. С. 89–100. doi: 10.7868/S0016675815010105
28. Островерхова Н.В., Конусова О.Л., Кучер А.Н., Киреева Т.Н., Багиров Р.Т.-о. Характеристика генетического разнообразия медоносных пчел (*Apis mellifera* L.) томской популяции по комплексу ДНК-маркеров // Чтения памяти А. И. Куренцова. 2015. Вып. XXVI. С. 227–240.
29. Ostroverkhova N.V., Kucher A.N., Konusova O.L., Kireeva T.N., Sharakhov I.V. Genetic diversity of honeybees in different geographical regions of Siberia // International Journal of Environmental Studies. 2017. Vol. 74, № 5. PP. 771–781. doi: 10.1080/00207233.2017.1283945
30. Ostroverkhova N.V., Konusova O.L., Kucher A.N., Sharakhov I.V. A comprehensive characterization of the honeybees in Siberia (Russia) // E. Dechechi Chambo (Ed.) Beekeeping and Bee Conservation – Advances in Research. Grotia : InTech, 2016. PP. 1–37. doi: 10.5772/62395
31. Meixner M.D., Pinto M.A., Bouga M., Kryger P., Ivanova E., Fuchs S. Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera* // COLOSS BEEBOOK / Eds. V. Dietemann, J.D. Ellis, P. Neumann. Vol. I : standard methods for *Apis mellifera* research // Journal of Apicultural Research. 2013. Vol. 52, № 4. PP. 1–27. doi: 10.3896/IBRA.1.52.4.05
32. Muñoz I., Henriques D., Jara L., Johnston J.S., Chávez-Galarza J., De La Rúa P., Pinto M.A. SNPs selected by information content outperform randomly selected microsatellite loci for delineating genetic identification and introgression in the endangered dark European honeybee (*Apis mellifera mellifera*) // Molecular Ecology Resources. 2017. Vol. 17, № 4. PP. 783–795. doi: 10.1111/1755-0998.12637
33. Nawrocka A., Kandemir İ., Fuchs S., Tofilski A. Computer software for identification of honey bee subspecies and evolutionary lineages // Apidologie. 2018. Vol. 49. PP. 172–184. doi: 10.1007/s13592-017-0538-y
34. Parejo M., Henriques D., Pinto M.A., Soland-Reckeweg G., Neuditschko M. Empirical comparison of microsatellite and SNP markers to estimate introgression in *Apis mellifera mellifera* // Journal of Apicultural Research. 2018. Vol. 57, № 4. PP. 551–564. doi: 10.1080/00218839.2018.1494894
35. Henriques D., Chávez Galarza J.C., Quaresma A., Pinto M.A. From the popular tRNAleu-COX2 intergenic region to the mitogenome: insights from diverse honey bee populations of Europe and North Africa // Apidologie. 2019. Vol. 50, № 2. PP. 111–120. doi: 10.1007/s13592-019-00632-9
36. Ruttner F. Biogeography and taxonomy of honey bees. Berlin : Springer-Verlag, 1988. 284 p.
37. Авдеев Н.В., Макарова Н.Е., Петухов А.В. Выявление уровня «генетического загрязнения» по характеристикам жилкования крыла // Пчеловодство. 2009. № 7. С. 21–24.
38. Алпатов В.В. Породы медоносной пчелы. М. : Изд-во Моск. общества испытателей природы, 1948. 183 с.
39. Căuia E., Usurelu D., Magdalena L.M., Cimponeriu D., Apostol P., Siceanu A., Holban A., Gavrila L. Preliminary researches regarding the genetic and morphometric characterization of honeybee (*A. mellifera* L.) from Romania // Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies. 2008. Vol. 41, № 2. PP. 278–286.
40. Никоноров Ю.М., Беньковская Г.В., Поскряков А.В., Николенко А.Г., Вахитов В.А. Использование метода ПЦР для контроля чистопородности пчелосемей *Apis mellifera mellifera* L. в условиях Южного Урала // Генетика. 1998. Т. 34, № 11. С. 1574–1577.

41. Solignac M., Vautrin D., Loiseau A., Mougel F., Baudry E. Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honey bee (*Apis mellifera* L.) genome // Molecular Ecology Notes. 2003. Vol. 3. PP. 307–311. doi: 10.1046/j.1471-8286.2003.00436.x
42. Животовский Л.А. Статистические методы анализа частот генов в природных популяциях // Итоги науки и техники. Общая генетика. М. : ВИНТИ, 1983. Т. 8. С. 76–104.
43. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population Genetic Software for teaching and research // Molecular Ecology Notes. 2006. Vol. 6. PP. 288–295.
44. Ильясов Р.А., Поскряков А.В., Петухов А.В., Николенко А.Г. Молекулярно-генетический анализ пяти сохранившихся резерватов темной лесной пчелы *Apis mellifera mellifera* Урала и Поволжья // Генетика. 2016. Т. 52, № 8. С. 931–942. doi: 10.7868/S0016675816060059
45. Селекционный центр (ассоциация) по среднерусской породе пчел медоносных. URL: <http://apis-mellifera-mellifera-l.ru/novosti/v-mezhdunarodnaya-nauchno-prakticheskaya-konferenciya.html> (дата обращения: 25.08.2019).
46. Bourgeois L., Beaman L. Tracking the genetic stability of a honey bee (Hymenoptera: Apidae) breeding program with genetic markers // Journal of Economic Entomology. 2017. Vol. 110, № 4. PP. 1419–1423. doi: 10.1093/jee/tox175

Поступила в редакцию 27.03.2019 г.; повторно 02.07.2019 г.;
принята 15.08.2019 г.; опубликована 27.09.2019 г.

Авторский коллектив:

Острове́рхова Надежда Васи́льевна – доцент, канд. биол. наук, доцент кафедры зоологии беспозвоночных, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9837-4905>

E-mail: nvostrov@mail.ru

Россе́йкина Светла́на Алекса́ндровна – м.н.с. НПЦ «Апис», кафедра зоологии беспозвоночных, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36).

E-mail: rosseykina75@mail.ru

Конусова О́льга Леони́довна – ст. преп. кафедры зоологии беспозвоночных, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36).

E-mail: olga.konusova@mail.ru

Куче́р Акса́на Никола́евна – профессор, д-р биол. наук, проф. кафедры цитологии и генетики, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3824-3641>

E-mail: aksana.kucher@medgenetics.ru

Кирее́ва Татя́на Никола́евна – лаборант-исследователь лаборатории физиологии растений и биотехнологии, Сибирский ботанический сад, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36).

E-mail: emilia30@mail.ru

For citation: Ostroverkhova NV, Rosseykina SA, Konusova OL, Kucher AN, Kireeva TN. Diversity of the honeybee *Apis mellifera* L. in Tomsk region according to morphometric and molecular genetic markers. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2019;47:142-173. doi: 10.17223/19988591/47/8 In Russian, English Summary

Nadezhda V. Ostroverkhova, Svetlana A. Rosseykina,
Olga L. Konusova, Aksana N. Kucher, Tatyana N. Kireeva

Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

Diversity of the honeybee *Apis mellifera* L. in Tomsk region according to morphometric and molecular genetic markers

In Siberia, the honeybee was introduced about 230 years ago. It was the dark-colored forest bee *Apis mellifera mellifera* L., that was cultivated in Siberia as the most adapted to the harsh climatic conditions of the region. At the end of the last century, bees of the southern breeds, mainly *Apis mellifera carpathica* subspecies (a derivative of *A. m. carnica* subspecies), were actively imported to Siberia. Introgressive bee hybridization leads to the reduction of the range of native subspecies and the formation of hybrids, modifies the genetic pool of local honeybee populations leading to the loss of their genetic identity. Russia, including Siberia, still has unique abilities to preserve the aboriginal populations of the honeybee. For Siberia, such a unique subspecies is the dark-colored forest bee *A. m. mellifera*, which is considered endangered in Europe. At present, the knowledge of honeybee subspecies living in Siberia, including Tomsk region, is insufficient; data on the genetic diversity of honeybees are fragmentary. In this regard, the aim of this work was to identify the biological diversity of the *A. mellifera* honeybee living in Tomsk region using morphometric and molecular genetic markers.

A total of 337 bee colonies obtained from 65 apiaries of Tomsk region were investigated using mtDNA analysis (variability of the *COI-COII* locus) and morphometric method (analysis of wing parameters: cubital and hantel indexes, discoidal shift) (See Fig. 1). The genetic diversity of honeybees was studied using 9 microsatellite loci (*A008*, *AC117*, *A043*, *A113*, *A024*, *Ap243*, *Ap049*, *H110*, *SV185*); a total of 106 bee colonies and 893 individuals were investigated.

According to the analysis of variability of the *COI-COII* mtDNA locus, 62.9% of bee colonies were of *A. m. mellifera* origin on maternal line, 29.1% of bee colonies were of the origin from the southern subspecies and 8.0% were from mixed colonies. Three variants of the mtDNA *COI-COII* locus were registered: PQQ, PQQQ (characteristic of *A. m. mellifera*) and Q (characteristic of subspecies of the southern origin) (See Fig. 2). According to a morphometric study, about 56% of the studied bee colonies conformed to the *A. m. mellifera* standard according to the majority of morphometric parameters, but for some individual characteristics (mainly the indicator “discoidal shift”), a deviation from the values adopted for this subspecies was recorded. About 24% of the studied bee colonies are more consistent with the *A. m. carpathica* standard, but also have some signs characteristic of *A. m. mellifera* (hybrids based on the *A. m. carpathica* subspecies). Finally, a comparative analysis of the variability of morphometric parameters and variability of the *COI-COII* mtDNA locus allowed us to identify bee colonies (the so-called “inverted colonies”), which corresponded to the *A. m. mellifera* standard according to morphometric parameters, but had the Q variant of mtDNA (colony origin from the southern bee subspecies on the maternal line) or, on the contrary, the colonies were the *A. m. carpathica* subspecies according to morphometric parameters, while mtDNA was specific for *A. m. mellifera* (See Table 1). Consequently, the study of honeybees in Tomsk region using a comprehensive approach, including morphometric and mtDNA analysis, showed that most bee colonies are represented by hybrid forms both on the basis of *A. m. mellifera* subspecies and on the basis of *A. m. carpathica*; hybrids based on *A. m. mellifera* prevail (See Fig. 3). No large areas were found with a genetically homogeneous array of bees, originating from *A. m.*

mellifera subspecies. At the same time, the apiaries, where *A. m. mellifera* bees are preserved and bred, were identified in some districts of Tomsk region (Molchanovsky, Chainsky, Zyryansky, Teguldetsky, Tomsky) (See Fig. 3). In order to characterize the genetic diversity of honeybees in Tomsk region, as well as to assess the process of bee hybridization, we analyzed the variability of nine microsatellite loci in honeybees (See Table 2). A comparative analysis of the variability of the studied microsatellite loci in purebred bees (*A. m. mellifera* and *A. m. carpathica*) showed differences in the spectrum and/or frequency of alleles between subspecies for most loci. In addition, for some loci (*A008*, *A043*, *A113*, *A024*, and *Ap049*), the predominant alleles were recorded (the frequency of their registration was more than 0.40), and the spectrum of these alleles differed in bees of different evolutionary lineages (M and C) (See Table 2). Evaluation of genetic diversity on heterozygosity of most of the studied loci revealed similar results for two bee subspecies, namely lower values of the observed heterozygosity compared with the expected heterozygosity (See Table 2). The revealed differences between honeybees of *A. m. mellifera* and *A. m. carpathica* subspecies on the variability of the studied loci were used to assess the genetic diversity of hybrid bees obtained from apiaries of Tomsk region. We have established that both in hybrids based on *A. m. mellifera* subspecies (variants PQQ and PQQQ of the *COI-COII* mtDNA locus) and in hybrids based on subspecies of the southern origin (variant Q of the *COI-COII* locus) the nuclear genome is more consistent with the *A. m. mellifera* genome in the spectrum and/or frequency of alleles of the studied DNA markers. Using the Principal Coordinate Analysis (PCoA) method (See Fig. 4 and 5), we showed that the genetic diversity of honeybees living in apiaries of Tomsk region is not determined by a single indicator (geographical localization and isolation of apiaries, the bee breed (origin), the level of gene introgression), but by the complex effect of the above factors, whose importance to a certain extent depends on human activity.

Thus, the study of genetic diversity, which is determined by numerous factors, as well as evaluation of the level of introgression between aboriginal and adventive subspecies of honey bees are important to establish the effects of hybridization and to preserve the gene pool of local bee subspecies. To preserve and restore the unique gene pool of *A. m. mellifera*, a Coordinating Council on the problems of selection, rational use and protection of *A. m. mellifera* gene pool was created in 2019 in Russia. Two researchers from “Apis” Scientific and Production Center, Tomsk State University are its members. The success of measures to preserve aboriginal bee ecotypes will primarily depend on detecting and restoring the unique surviving populations, creating bee nurseries and reserves, as well as on studying the current state of various honeybee populations to understand genetic processes going on in them.

The paper contains 5 Figures, 2 Tables and 46 References.

Key words: *Apis mellifera* L.; genetic diversity; morphometric method; *COI-COII* locus mtDNA; microsatellite loci.

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Meixner MD, Costa C, Kryger P, Hatjina F, Bouga M, Ivanova E, Büchler R. Conserving diversity and vitality for honey bee breeding. *J Apicultural Research*. 2010;49(1):85-92. doi: [10.3896/IBRA.1.49.1.12](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.1.12)
2. Büchler R, Costa C, Hatjina F, Andonov S, Meixner MD, Le Conte Y, Uzunov A, Berg S, Bienkowska M, Bouga M, Drazic M, Dyrba W, Kryger P, Panasiuk B, Pechhacker H, Petrov P, Kezić N, Korpela S, Wilde J. The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* L. colonies in Europe. *J Apicultural Research*. 2014;53:205-214. doi: [10.3896/IBRA.1.53.2.03](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.03)

3. Pinto MA, Henriques D, Chávez-Galarza J, Kryger P, Garnery L, van der Zee R, Dahle B, Soland-Reckeweg G, De la Rúa P, Dall'Olio R, Carreck NL, Johnston JS. Genetic integrity of the dark European honey bee (*Apis mellifera mellifera*) from protected populations: a genome-wide assessment using SNPs and mtDNA sequence data. *J Apicultural Research*. 2014;53:269-278. doi: [10.3896/IBRA.1.53.2.08](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.08)
4. Porrini C, Mutinelli F, Bortolotti L, Granato A, Laurenson L, Roberts K, Gallina A, Silvester N, Medrzycki P, Renzi T, Sgolastra F, Lodesani M. The status of honey bee health in Italy: Results from the nationwide Bee Monitoring Network. *PLoS One*. 2016;11(5):e0155411. doi: [10.1371/journal.pone.0155411](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155411)
5. Martinello M, Baratto C, Manzinello C, Piva E, Borin A, Toson M, Granato A, Boniotti MB, Gallina A, Mutinelli F. Spring mortality in honey bees in northeastern Italy: detection of pesticides and viruses in dead honey bees and other matrices. *J Apicultural Research*. 2017;56(3):239-254. doi: [10.1080/00218839.2017.1304878](https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1304878)
6. Brodschneider R, Gray A, Adjlane N, Ballis A, Brusbardis V, Charrière J-D, Chlebo R, Coffey MF, Dahle B, de Graaf D, Dražić MM, Evans G, Fedoriak M, Forsythe I, Gregorc A, Grzęda U, Hetzroni A, Kauko L, Kristiansen P, Martikkala M, Martín-Hernández R, Medina-Flores CA, Mutinelli F, Raudmets A, Ryzhikov VA, Simon-Delso N, Stevanovic J, Uzunov A, Vejsnaes F, Wöhl S, Zammit-Mangion M, Daniluk J. Multi-country loss rates of honey bee colonies during winter 2016/2017 from the COLOSS survey. *J Apicultural Research*. 2018;57(3):452-457. doi: [10.1080/00218839.2018.1460911](https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1460911)
7. Brown P, Newstrom-Lloyd LE, Foster BJ, Badger PH, McLeane JA. Winter 2016 honey bee colony losses in New Zealand. *J Apicultural Research*. 2018;57(2):278-291. doi: [10.1080/00218839.2018.1430980](https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1430980)
8. Requier F, Antúnez K, Morales CL, Sánchez PA, Castilhos D, Garrido PM, Giacobino A, Reynaldi FJ, Londoño JMR, Santos E, Garibaldi LA. Trends in beekeeping and honey bee colony losses in Latin America. *J Apicultural Research*. 2018;57(3):657-662. doi: [10.1080/00218839.2018.1494919](https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1494919)
9. Gray A, Brodschneider R, Adjlane N, Ballis A, Brusbardis V, Charrière J-D, Chlebo R, Coffey MF, Cornelissen B, Amaro da Costa C, Csáki T, Dahle B, Daniluk J, Dražić MM, Evans G, Fedoriak M, Forsythe I, de Graaf D, Gregorc A, Johannesen J, Kauko L, Kristiansen P, Martikkala M, Martín-Hernández R, Medina-Flores CA, Mutinelli F, Patalano S, Petrov P, Raudmets A, Ryzhikov VA, Simon-Delso N, Stevanovic J, Topolska G, Uzunov A, Vejsnaes F, Williams A, Zammit-Mangion M, Soroker V. Loss rates of honey bee colonies during winter 2017/18 in 36 countries participating in the COLOSS survey, including effects of forage sources. *J Apicultural Research*. 2019;58(4):479-485. doi: [10.1080/00218839.2019.1615661](https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1615661)
10. Jensen AB, Pedersen BV. Honeybee conservation: A case story from Læsø island, Denmark. In: *Beekeeping and conserving biodiversity of honeybee. Sustainable bee breeding*. Lodesani M and Costa C, editors. Mytholmroyd, Hebden Bridge UK: Northern Bee Books, 2005. pp. 142-164.
11. De la Rúa P, Jaffé R, Dall'Olio R, Serrano J, Muñoz I. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. *Apidologie*. 2009;40(3):263-284. doi: [10.1051/apido/2009027](https://doi.org/10.1051/apido/2009027)
12. Soland-Reckeweg G, Heckel G, Neumann P, Fluri P, Excoffier L. Gene flow in admixed populations and implications for the conservation of the Western honeybee, *Apis mellifera*. *J Insect Conservation*. 2009;13:317-328. doi: [10.1007/s10841-008-9175-0](https://doi.org/10.1007/s10841-008-9175-0)
13. Muñoz I, Henriques D, Johnston JS, Chávez-Galarza J, Kryger P, Pinto MA. Reduced SNP panels for genetic identification and introgression analysis in the dark honey bee (*Apis mellifera mellifera*). *PLoS One*. 2015;10:e0124365. doi: [10.1371/journal.pone.0124365](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124365)
14. Hassett J, Browne KA, McCormack GP, Moore E, Native Irish Honey Bee Society, Soland G, Geary M. A significant pure population of the dark European honey bee (*Apis*

- mellifera mellifera*) remains in Ireland. *J Apicultural Research*. 2018;57(3):337-350. doi: [10.1080/00218839.2018.1433949](https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1433949)
15. Budge GE, Pietravalle S, Brown M, Laurenson L, Jones B, Tomkies V, Delaplane KS. Pathogens as predictors of honey bee colony strength in England and Wales. *PLoS One*. 2015;10(7):e0133228. doi: [10.1371/journal.pone.0133228](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133228)
 16. Chauzat M-P, Jacques A, Laurent M, Bougeard S, Hendrikx P, Ribière-Chabert M. Risk indicators affecting honeybee colony survival in Europe: One year of surveillance. *Apidologie*. 2016;47(3):348-378. doi: [10.1007/s13592-016-0440-z](https://doi.org/10.1007/s13592-016-0440-z)
 17. Simone-Finstrom M, Li-Byarlay H, Huang MH, Strand MK, Rueppell O, Tarpy DR. Migratory management and environmental conditions affect lifespan and oxidative stress in honey bees. *Scientific Reports*. 2016;6:e32023. doi: [10.1038/srep32023](https://doi.org/10.1038/srep32023)
 18. Wilfert L, Long G, Leggett HC, Schmid-Hempel P, Butlin R, Martin SJM, Boots M. Honeybee disease: Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites. *Science*. 2016;351:594-597. doi: [10.1126/science.aac9976](https://doi.org/10.1126/science.aac9976)
 19. Molineri A, Giacobino A, Pacini A, Bulacio Cagnolo N, Merke J, Orellano E, Bertozzi E, Zago L, Aignasse A, Pietronave H, Rodríguez G, Crisanti P, Palacio MA, Signorini M. Environment and *Varroa* destructor management as determinant of colony losses in apiaries under temperate and subtropical climate. *J Apicultural Research*. 2018;57(4):551-564. doi: [10.1080/00218839.2018.1475697](https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1475697)
 20. Konusova OL, Pogorelov YuL, Ostroverkhova NV, Nechipurenko AO, Vorotov AA, Klimova EA, Prokopiev AS. Honey bee and bee-farming in the Tomsk region: Past, present and future. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2009;4(8):15-28. In Russian
 21. Ilyasov RA, Poskryakov AV, Nikolenko AG. Seven causes of mortality of the dark forest honeybee *Apis mellifera mellifera* colonies in Russia. *Pchelovodstvo = Beekeeping*. 2017;9:10-14. In Russian
 22. vanEngelsdorp D, Traynor KS, Andree M, Lichtenberg EM, Chen Y, Saegerman C, Cox-Foster DL. Colony Collapse Disorder (CCD) and bee age impact honey bee pathophysiology. *PLoS One*. 2017;12(7):e0179535. doi: [10.1371/journal.pone.0179535](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179535)
 23. Konusova OL, Pogorelov YuL, Ostroverkhova NV, Rosseykina SA, Nechipurenko AO, Vorotov AA, Klimova EA, Prokop'ev AS. Colonies Biological and business assessment of Honey Bee (*Apis mellifera* L.) in some areas of the Tomsk Region. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2010;1(9):29-41. In Russian
 24. Ostroverkhova NV, Konusova OL, Pogorelov YuL, Klimova EA, Vorotov AA. Charakteristika mitochondrial'nogo genoma medonosnoy pchely *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) v populatsiyach Tomskoy oblasti [Characteristics of the mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) in the populations of Tomsk region]. In: *II Simpozium stran SNG po pereponchatokrylym nasekomym i 8 Collokvium Rossiyskoy sekcii Mezhdunarodnogo soyuza issledovateley obshchestvennykh nasekomykh (IUSSI): Programma i tezisy dokladov* [II Symposium of the CIS countries of the Hymenoptera and the 8th Colloquium of the Russian Section of the International Union for the Study of Social Insects, IUSSI (St. Petersburg, Russia, 13-20 September, 2010)]. St. Petersburg. 2010. pp. 110. In Russian
 25. Konusova OL, Ostroverkhova NV, Kucher AN, Kurbatskij DV, Kireeva TN. Morphometric variability of honeybees *Apis mellifera* L., differing in variants of the *COI-COII* mtDNA locus. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2016;1(33):62-81. doi: [10.17223/19988591/33/5](https://doi.org/10.17223/19988591/33/5). In Russian, English Summary
 26. Ostroverkhova NV, Konusova OL, Kucher AN, Pogorelov YuL, Belich EA, Vorotov AA. Population genetic structure of honey bee (*Apis mellifera* L.) in the village of Leboter in

- Chainskiy district of Tomsk region. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = *Tomsk State University Journal of Biology*. 2013;1(21):161-172. In Russian
27. Ostroverkhova NV, Konusova OL, Kucher AN, Kireeva TN, Vorotov AA, Belich EA. Genetic diversity of the locus *COI-COII* of mitochondrial DNA in honeybee populations (*Apis mellifera* L.) from the Tomsk Region. *Russian Journal of Genetics*. 2015;51(1):80-90. doi: [10.1134/s102279541501010x](https://doi.org/10.1134/s102279541501010x)
 28. Ostroverkhova NV, Konusova OL, Kucher AN, Kireeva TN, Bagirov RT-o. Characterization of the genetic diversity of honey bees (*Apis mellifera* L.) in Tomsk population using mtDNA and microsatellite markers. *Chteniya pamyati A.I. Kurentsova* = *A.I. Kurentsov's Annual Memorial Meetings*. 2015;XXVI:227-240. In Russian, English Summary
 29. Ostroverkhova NV, Kucher AN, Konusova OL, Kireeva TN, Sharakhov IV. Genetic diversity of honeybees in different geographical regions of Siberia. *International J Environmental Studies*. 2017;74(5):771-781. doi: [10.1080/00207233.2017.1283945](https://doi.org/10.1080/00207233.2017.1283945)
 30. Ostroverkhova NV, Konusova OL, Kucher AN, Sharakhov IV. A comprehensive characterization of the honeybees in Siberia (Russia). In: *Beekeeping and Bee Conservation – Advances in Research*. Chambo ED, editor. Grotia: InTech; 2016. pp. 1-37. doi: [10.5772/62395](https://doi.org/10.5772/62395)
 31. Meixner MD, Pinto MA, Bouga M, Kryger P, Ivanova E, Fuchs S. Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. In: The COLOSS BEEBOOK, Vol. I: Standard methods for *Apis mellifera* research. Dietemann V, Ellis JD and Neumann P, editors. *J Apicultural Research*. 2013;52(4):1-27. doi: [10.3896/IBRA.1.52.4.05](https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.05)
 32. Muñoz I, Henriques D, Jara L, Johnston JS, Chávez-Galarza J, De La Rúa P, Pinto MA. SNPs selected by information content outperform randomly selected microsatellite loci for delineating genetic identification and introgression in the endangered dark European honeybee (*Apis mellifera mellifera*). *Molecular Ecology Resources*. 2017;17(4):783-795. doi: [10.1111/1755-0998.12637](https://doi.org/10.1111/1755-0998.12637)
 33. Nawrocka A, Kandemir İ, Fuchs S, Tofilski A. Computer software for identification of honey bee subspecies and evolutionary lineages. *Apidologie*. 2018;49:172-184. doi: [10.1007/s13592-017-0538-y](https://doi.org/10.1007/s13592-017-0538-y)
 34. Parejo M, Henriques D, Pinto MA, Soland-Reckeweg G, Neuditschko M. Empirical comparison of microsatellite and SNP markers to estimate introgression in *Apis mellifera mellifera*. *J Apicultural Research*. 2018;57(4):551-564. doi: [10.1080/00218839.2018.1494894](https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1494894)
 35. Henriques D, Chávez Galarza JC, Quaresma A, Pinto MA. From the popular tRNA^{leu}-COX2 intergenic region to the mitogenome: insights from diverse honey bee populations of Europe and North Africa. *Apidologie*. 2019;50(2):111-120. doi: [10.1007/s13592-019-00632-9](https://doi.org/10.1007/s13592-019-00632-9)
 36. Ruttner F. Biogeography and taxonomy of honey bees. Berlin: Springer-Verlag; 1988. 284 p.
 37. Adeeve NV, Makarova NE, Petukhov AV. Vyyavlenie urovnya “geneticheskogo zagryazneniya” po kharakteristikam zhilkovaniya kryla [Identifying the level of “genetic pollution” by wing venation characteristics]. *Pchelovodstvo* = *Beekeeping*. 2009;7:21-24. In Russian
 38. Alpatov VV. Porody medonosnoy pchely [Honey bee breeds]. Moscow: Izdatel'stvo Moskovskogo obshchestva ispytateley prirody Publ.; 1948. 183 p. In Russian
 39. Cauia E, Usurelu D, Magdalena LM, Cimponeriu D, Apostol P, Siceanu A, Holban A. Preliminary researches regarding the genetic and morphometric characterization of honeybee (*A. mellifera* L.) from Romania. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*. 2008;41(2):278-286.
 40. Nikonorov YuM, Ben'kovskaya GV, Poskryakov AV, Nikolenko AG, Vakhitov VA. The use of the PCR technique for control of the pure-breeding of honeybee (*Apis mellifera mellifera* L.) colonies from the Southern Urals. *Russian J Genetics*. 1998;34(11):1344-1347.

41. Solignac M, Vautrin D, Loiseau A, Mougél F, Baudry E. Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honey bee (*Apis mellifera* L.) genome. *Molecular Ecology Notes*. 2003;3:307-311. doi: [10.1046/j.1471-8286.2003.00436.x](https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2003.00436.x)
42. Zhivotovsky LA. Statisticheskie metody analiza chastot genov v prirodnykh populyatsiyakh [Statistical methods for analyzing gene frequencies in natural populations]. In: *Itogi nauki i tekhniki. Obshchaya genetika* [Results of science and technology. General genetics]. Moscow: VINITI Publ.; 1983;8:76-104. In Russian
43. Peakall R, Smouse P.E. GenALEx 6: Genetic analysis in Excel. Population Genetic Software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 2006;6:288-295.
44. Ilyasov RA, Poskryakov AV, Petukhov AV, Nikolenko AG. Molecular genetic analysis of five extant reserves of black honeybee *Apis mellifera mellifera* in the Urals and the Volga region. *Russian Journal of Genetics*. 2016;52(8):828-839. doi: [10.1134/S1022795416060053](https://doi.org/10.1134/S1022795416060053)
45. Russian Association for Conservation *Apis mellifera mellifera* L. (RACAMM). [Electronic resource]. Available at: <http://apis-mellifera-mellifera-l.ru/novosti/v-mezhdunarodnaya-nauchno-prakticheskaya-konferenciya.html> (accessed 25.08.2019). In Russian
46. Bourgeois L, Beaman L. Tracking the genetic stability of a honey bee (Hymenoptera: Apidae) breeding program with genetic markers. *J Economic Entomology*. 2017;110(4):1419-1423. doi: [10.1093/jee/tox175](https://doi.org/10.1093/jee/tox175)

Received 27 March 2019; Revised 2 July 2019;

Accepted 15 August 2019; Published 27 September 2019

Author info:

Ostroverkhova Nadezhda V, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Department of Invertebrate Zoology, Institute of Biology, Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9837-4905>

E-mail: nvostrov@mail.ru

Rosseykina Svetlana A, Junior Researcher of “Apis” Center, Department of Invertebrate Zoology, Institute of Biology, Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: rosseykina75@mail.ru

Konusova Olga L, Senior Lecturer, Department of Invertebrate Zoology, Institute of Biology, Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: olga.konusova@mail.ru

Kucher Aksana N, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Department of Cytology and Genetics, Institute of Biology, Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3824-3641>

E-mail: aksana.kucher@medgenetics.ru

Kireeva Tatyana N, Research Assistant, Laboratory of Plant Physiology and Biotechnology, Siberian Botanical Garden, Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: emilia30@mail.ru

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 513.234

doi: 10.17223/19988591/47/9

**Н.В. Нарайкина, В.Н. Попов, К.С. Миронов,
В.П. Пчелкин, Т.И. Трунова, И.Е. Мошков**

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва, Россия

Транскрипция генов десатураз жирных кислот хлоропластов при низкотемпературном закаливании *Solanum tuberosum* L.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 16-34-00604 мол_а).

Исследованы изменения относительного содержания транскриптов генов $\Delta 9$ -(*SAD*), $\Delta 12$ -(*FAD6*) и $\omega 3$ -(*FAD7*) десатураз хлоропластной локализации в процессе низкотемпературного закаливания (3°C , 7 сут) растений *Solanum tuberosum* L., сорт Юбилей Жукова. Среди изученных генов в начале периода закаливания обнаружено почти 3-кратное кратковременное увеличение относительного содержания транскриптов гена *FAD6*, кодирующего $\Delta 12$ -ацил-липидную десатуразу хлоропластов. В процессе закаливания содержание транскриптов гена *FAD7*, кодирующего $\omega 3(\Delta 15)$ -ацил-липидную десатуразу, поддерживалось на уровне вегетирующих растений, а гена *SAD*, кодирующего одну из стеароил-АПБ десатураз, – снижалось. Суммарная доля полиненасыщенных жирных кислот липидов хлоропластов в незакаленных растениях достигала почти 90% от общего содержания всех жирных кислот (ЖК) и за время закаливания поддерживалась на высоком конститутивном уровне. Обнаружено увеличение содержания пальмитиновой ($\text{C}_{16:0}$) кислоты, что может свидетельствовать о повышении интенсивности синтеза ЖК *de novo*. Кроме того, показано повышение содержания $\text{C}_{16:1}^{\Delta 7}$ кислоты, что также является важным для закаливания, поскольку поддержание текучести мембран определяется в том числе и содержанием ЖК с меньшим числом углеродных атомов. Сделано предположение, что повышение относительного содержания транскриптов гена *FAD6* в начале закаливания и поддержание транскрипции *FAD7* способствовало сохранению хлоропластных мембран в нативном состоянии и повышению устойчивости растений картофеля к гипотермии в процессе закаливания.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*; холодоустойчивость; промораживание; относительное содержание транскриптов; *SAD*; *FAD6*; *FAD7*; α -линоленовая кислота; полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК).

Введение

Проблема выживания растений в условиях действия низких температур становится все более актуальной в свете глобальных изменений кли-

мата и возрастающей потребности населения в продовольствии. В связи с этим исследования воздействия гипотермии на растения имеют не только фундаментальный, но и прикладной характер [1, 2]. Картофель – важная продовольственная культура, занимающая четвертое место в мире по объемам производства после пшеницы, риса и кукурузы. Развитие его клубней зависит от температурных условий выращивания. Реальная урожайность картофеля существенно ниже его потенциальной продуктивности, причем одним из главных ограничивающих урожай факторов является недостаточная устойчивость многих современных сортов к весенним заморозкам [3]. В связи с этим поиски путей повышения урожайности картофеля тесно связаны с фундаментальными исследованиями процессов формирования устойчивости растений к гипотермии.

В литературе широкое распространение получила теория, согласно которой при пониженных температурах происходит фазовый переход мембранных липидов, приводящий к снижению текучести мембран, инаktivации мембранных ферментов, потере барьерных свойств мембранами и как результат, к гибели клеток [4]. Клетки растений способны поддерживать текучесть мембран за счет работы ферментов из группы дегидрогеназ – десатураз жирных кислот (ЖК), катализирующих превращение одинарной (C–C) связи между атомами углерода в ацильных цепях ЖК в двойную (C=C). В ходе этой реакции насыщенные ЖК превращаются в ненасыщенные, что приводит к изменению свойств мембранных липидов. Десатуразы работают строго последовательно, продукт каждой реакции служит субстратом для последующей [5, 6]. Для высших растений большая часть информации о функциях и специфичности десатураз ЖК получена при изучении мутантов *Arabidopsis thaliana*, отдельных по специфичной десатуразной активности [7]. Известно, что десатуразы арабидопсиса (FAD – fatty acid desaturase) подразделяются на несколько подсемейств. Стеароил-АПБ десатураза (FAB2 или SSI2) является растворимой десатуразой и катализирует десатурацию стеариновой кислоты ($C_{18:0}$) до моноеновой олеиновой ($C_{18:1}^{\Delta 9}$) ЖК в связанной с ацилпереносящим белком (АПБ) форме. Кроме того, у арабидопсиса имеется $\Delta 9$ -ацил-липидная десатураза (ADS), которая участвует в десатурации $C_{16:0}$ в ЭПР. Микросомальная десатураза FAD2 и хлоропластная десатураза FAD6 представляют собой $\Delta 12$ -ацил-липидные десатуразы, которые участвуют в образовании диеновой линолевой кислоты ($C_{18:2}^{\Delta 9,12}$) в эндоплазматическом ретикулуме и пластидах соответственно. Микросомальная $\omega 3(\Delta 15)$ -десатураза FAD3 и пластидные $\omega 3(\Delta 15)$ -десатуразы FAD7, FAD8 участвуют в образовании линоленовой ($C_{18:3}^{\Delta 9,12,15}$) ЖК. Хлоропластные транс $\Delta 3$ -десатураза (FAD4 или FADA) и $\Delta 7$ -десатураза (FAD5) специфически образуют $C_{16:1}$ в ФГ и МГДГ соответственно. Кроме того, имеются специфичные $\Delta 8$ - и $\Delta 4$ -десатуразы сфинголипидов (SLD и DES) [8]. При этом основная роль в поддержании текучести мембран хлоропластов отводится $\Delta 12$ - и $\omega 3$ -ацил-липидным десатуразам, участвующим в образовании полинена-

сыщенных ЖК (ПНЖК) с двумя и тремя двойными связями соответственно [9,10]. Так, мутант *A. thaliana* по гену *FAD6* с неактивной хлоропластной $\Delta 12$ -десатуразой накапливал высокие концентрации пальмитолеиновой ($C_{16:1}$) и олеиновой ($C_{18:1}$) кислот. При этом уменьшалось содержание диеновых и триеновых ЖК в галактолипидах хлоропластов и наблюдалось снижение устойчивости к низкой температуре [7, 11].

Среди всех мембран растительной клетки хлоропластные мембраны играют особую роль в формировании устойчивости растений к низким температурам, поскольку именно в хлоропластах происходит фотосинтез, продукты которого служат основным источником энергии, необходимой для перестройки клеточной структуры и метаболизма, происходящей в период низкотемпературного закаливания [12]. В тилакоидных мембранах растений картофеля локализованы $\Delta 12$ -десатураза *FAD6*, а также единственная $\omega 3$ -десатураза *FAD7*, хотя, согласно данным литературы, в хлоропластах многих других растений присутствуют две $\omega 3$ -ацил-липидных десатуразы – *FAD7* и *FAD8*, причем экспрессия последней индуцируется низкой температурой [7, 8, 13]. Кроме того, у картофеля имеются растворимые стеароил-АПБ десатуразы (*SAD*) в хлоропластах, участвующие в образовании первой двойной связи в положении $\Delta 9$ у их субстрата – стеароил-АПБ. Именно данные гены выбраны нами для анализа изменений относительного содержания транскриптов в процессе закаливания растений картофеля к гипотермии. Цель работы – исследование роли $\Delta 9$ -, $\Delta 12$ - и $\omega 3(\Delta 15)$ -ацил-липидных десатураз хлоропластной локализации, задействованных в биосинтезе основных моно-, ди-, и триненасыщенных жирных кислот, в преобразованиях жирнокислотного состава мембран хлоропластов в процессе формирования холодостойкости растений картофеля при низкотемпературном закаливании.

Материалы и методики исследования

Объект исследования – растения картофеля (*Solanum tuberosum* L., с. Юбилей Жукова), которые выращивали из клубней в течение 3 недель в торфогрунте (50% верхового торфа, 50% пойменной земли с добавлением перлита) при температуре 22°C, освещенности 100 мкмоль/(м² с) и 16-часовом фотопериоде в камере фитотрона ИФР РАН (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева, РАН). Сорт Юбилей Жукова в Госреестре с 2000 г., выведен ВНИИКХ им. А.Г. Лорха, описан как экологически пластичный, устойчивый к вирусным болезням, альтернариозу, среднеустойчивый к фитофторозу, парше обыкновенной и ризиктониозу [14]. По отношению к пониженным температурам почвы описан как относительно устойчивый [14]. Закаливание растений проводили в климатической камере KBW-240 «Binder» (Германия) в условиях 16-часового фотопериода и освещенности 100 мкмоль/(м² с) при температуре 3°C в течение 7 суток. В качестве контроля использовали растения, не подвергнутые действию закаливающей температуры.

Для оценки эффективности закаливания целые растения картофеля промораживали при температуре -2°C в течение 18 часов в климатической камере MIR-153 «Sanyo» (Япония), затем их переносили в нормальные условия выращивания (22°C) и через двое суток визуально оценивали выживаемость.

Для выделения РНК использовали листья 3–4-х ярусов, которые отделяли от растений контрольной группы (22°C) до начала закаливания, а также растений, находившихся в условиях закаливания при 3°C в течение двух часов, 1, 3, 5, и 7 суток.

Тотальную РНК из листьев растений выделяли с помощью набора Spectrum Plant Total RNA Kit «Sigma» (США) согласно протоколу производителя. Реакцию обратной транскрипции проводили, используя набор реагентов и протокол MMLV RT Kit «Евроген» (Россия). Полученную кДНК использовали для проведения ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с помощью амплификатора CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System «Bio-Rad» (США), используя набор реагентов qPCRMix-HS SYBR kit «Евроген» (Россия). Расчет относительного содержания мРНК гена в пробе проводили с помощью вычисления величины нормализованной экспрессии ($\Delta\Delta C_T$). Эффективности ОТ-ПЦР, рассчитанные методом калибровочных кривых для всех пар праймеров, учитывали при проведении анализа [15]. Праймеры к исследуемым генам десатураз ЖК подобраны с использованием базы данных NCBI и интернет-ресурса Primer3Plus: *SAD* (LOC 102577562) – (F) CCAGTGAAGGACGCAGAGCAC, (R) GGGACTTCGTTGCTTGGCCC; *FAD6* (LOC 102590621) – (F) GCACGAAGACACAGCTTGGC, (R) TGACAGAGCCACCACTGAGC; *FAD7* (LOC 102597672) – (F) TCTACCCCTTCCCTTGCTGGCA, (R) CATTGCCGTCCAGCAGACAGT; к референсным генам: фактор элонгации 1а *eEF1a* (LOC DQ252497) – (F) GGCCAACAGACAAACCCCTCC, (R) GCCTCGTGGTGCATCTCAACA; рибосомальный белок *L2* (LOC 102577640) – (F) GGAGCCAAAAAGATTGTGCCC, (R) AGCAGTTCCTCTTCACACGG. В качестве контроля ответной реакции на действие холода использовали ген белка теплового шока (БТШ) *HSE48* (LOC 102594276) – (F) TCCAGCTTCATTCGTCAACTCAAC, (R) CTCCTCCAGCTGGGATGGTT.

Интактные хлоропласты выделяли в буфере, содержащем 0,33 М сорбит, 50 мМ трицин pH 8.0, 2 мМ ЭДТА, 1 мМ MgCl_2 , 5 мМ меркаптоэтанол. Гомогенат фильтровали через 2 слоя Miracloth (США), центрифугировали при 2000 g, используя центрифугу K23D (Германия). Осадок ресуспендировали в буфере, наслаивали на ступенчатый градиент перкола (40/80%). Интактные хлоропласты отбирали на границе 40 и 80% перкола. [16]. Липиды хлоропластов подвергали метилированию посредством кипячения в смеси CH_3OH и CH_3COCl в течение 1 ч, как описано ранее [17]. В качестве внутреннего стандарта использовали маргариновую кислоту. Полученные метиловые эфиры ЖК очищали с помощью ТСХ на пластинке с силикагелем, в качестве растворителя применяя смесь гексан : эфир : уксусная кислота в соотношении 90:10:1, экстрагировали бензолом и анализировали методом ГЖХ-МС на приборе Agilent 7890A GC (США) [18]. Для оценки уровня не-

насыщенности ЖК в липидах мембран хлоропластов табака рассчитывали индекс ненасыщенности (ИН): $ИН = \sum P_i e_i / 100$, где P_i – содержание i -той ЖК (%), e_i – число двойных связей в i -той ЖК [17].

Все эксперименты проведены в 5–6 биологических повторностях и 3–4 аналитических. Статистическая обработка данных проведена в программе SigmaPlot 11. Данные представлены в виде средних значений и их стандартных ошибок.

Результаты исследования и обсуждение

Известно, что устойчивость растений к действию холода формируется в процессе закаливания при низких (но не повреждающих) температурах [2] и обуславливается структурно-функциональной перестройкой клеток, связанной с изменениями на молекулярном уровне, в зависимости от генотипа растений. Поэтому на первом этапе работы необходимо было убедиться, что закаливание растений картофеля при 3°C в течение 7 суток приводило к повышению их устойчивости к действию повреждающих температур. Поскольку низкие положительные температуры не вызывают у холодостойких растений визуальных повреждений, мы применили метод прямого промораживания растений с последующим определением их выживаемости. Показано, что после действия температуры –3°C в течение 18 ч растения обоих вариантов погибали, в связи с чем использовали температурную экспозицию –2°C в течение 18 ч. При этом режиме закаленные растения картофеля выживали, а незакаленные – погибали, что свидетельствует о достаточно высокой эффективности закаливания *Solanum tuberosum* L., сорта Юбилей Жукова (рис. 1).

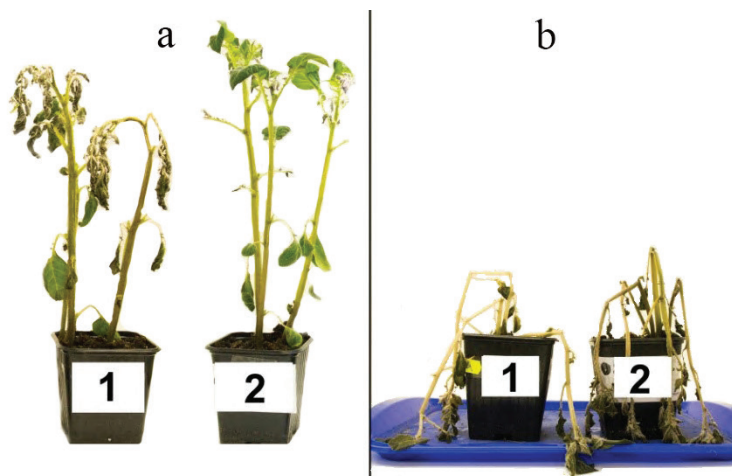


Рис. 1. Контрольные (1) и закаленные (2) растения картофеля через сутки после промораживания при температуре –2°C (a) и –3°C (b) в течение 18 ч. Автор фото Н.В. Нарайкина
[Fig. 1. Control (1) and cold-adapted (2) potato plants (one day after freezing at –2°C (a) and –3°C (b) for 18 hours). Photo by NV Naraikina]

Изменения относительного содержания транскриптов генов растворимой стеароил-АПБ десатуразы, $\Delta 12$ - и $\omega 3(\Delta 15)$ -ацил-липидных десатураз хлоропластов представлены на рис. 2. За единицу принято нормализованное содержание транскриптов исследуемых генов у незакаленных растений. Показано, что относительное содержание транскриптов гена *FAD7* оставалось стабильным и поддерживалось на уровне контроля. Для гена *FAD6* наблюдали кратковременное повышение содержания транскриптов в первые два часа закаливания, что соответствует данным литературы [19]. К пятым суткам закаливания у генов *FAD6* и *FAD7* наблюдали статистически значимое снижение относительного содержания транскриптов.

Характер экспрессии гена *SAD*, кодирующего $\Delta 9$ стеароил-АПБ десатуразу ЖК, резко отличался от остальных: относительное содержание его транскриптов снижалось в ходе закаливания в разной степени. Выбранный нами для исследования ген стеароил-АПБ десатуразы имеет высокую гомологию с геном *SSI2* арабидопсиса. Из данных литературы известно, что мутант арабидопсиса с «выключенным» геном *ssi2/fab2* имеет высокое содержание стеариновой ($C_{18:0}$) ЖК и низкое содержание олеиновой ($C_{18:1}$) ЖК. Несмотря на то, что в дополнение к *SSI2* в геноме *A. thaliana* присутствуют гены еще шести подобных ферментов, их экспрессия не способна компенсировать мутацию в *ssi2* [20]. То есть этот ген является ключевым в семействе генов стеароил-АПБ. Согласно данным литературы, этот фермент настолько активен, что практически весь новообразованный стеароил-АПБ быстро превращается в олеил-АПБ [5, 13, 21]. Поэтому мы связываем снижение относительного содержания мРНК данного гена с некоторым угнетением биосинтеза C_{18} жирных кислот в условиях холодового стресса. Следует отметить, что в геноме картофеля обнаружено 13 генов, кодирующих растворимые ацил-АПБ десатуразы, образующие первую двойную связь, белки которых локализуются в строме хлоропластов, в связи с чем требуется дальнейшее изучение этой группы генов.

Данные по составу и содержанию ЖК липидов хлоропластов картофеля представлены в таблице. В липидах хлоропластов, выделенных из листьев контрольных растений как до, так и после закаливания, идентифицированы восемь различных остатков C_{16} - и C_{18} -ЖК, основными представителями которых являлись пальмитиновая ($C_{16:0}$), гексадекатриеновая ($C_{16:3}^{\Delta 7,10,13}$), линолевая ($C_{18:2}^{\Delta 9,12}$) и α -линоленовая ($C_{18:3}^{\Delta 9,12,15}$) ЖК, причем на долю α -линоленовой кислоты приходилось почти 60% от суммы ЖК хлоропластов. Следует отметить, что картофель, как и *A. thaliana*, относится к группе «16:3» растений, у которых в отличие от «18:3» растений в хлоропластах содержится значительное количество $C_{16:3}$ ЖК [10].

За время низкотемпературного закаливания (3°C , 7 сут) состав ЖК мало изменялся. Анализ содержания ПНЖК показал, что в процессе закаливания происходило увеличение содержания пальмитиновой ($C_{16:0}$) кислоты, что может свидетельствовать о повышении интенсивности синтеза ЖК *de novo*.

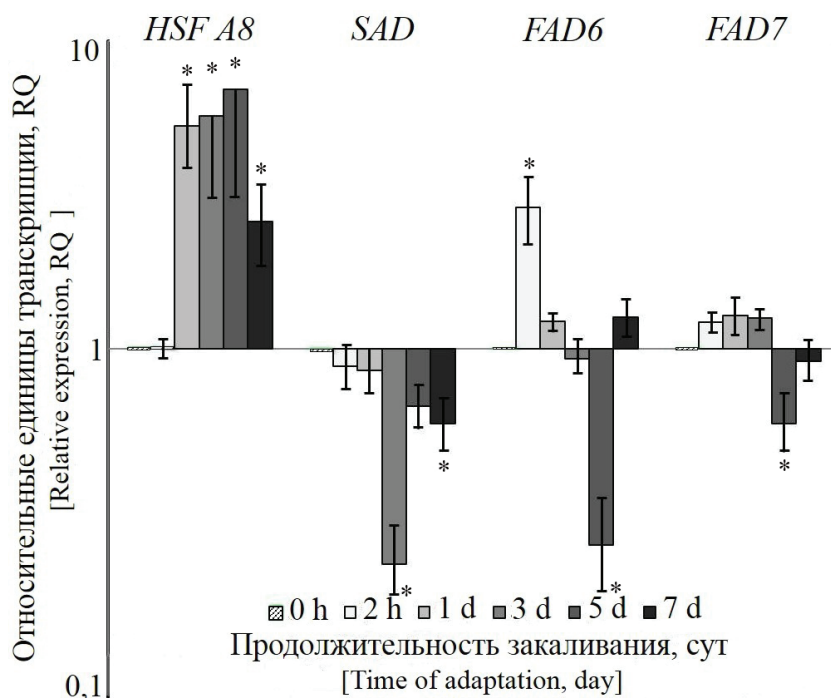


Рис. 2. Изменение относительного содержания транскриптов генов десатураз жирных кислот хлоропластов растений картофеля в динамике низкотемпературного закаливания (3°C, 7 сут). *SAD* – растворимая $\Delta 9$ -АПБ десатураза, *FAD6* – $\Delta 12$ -ацил-липидная десатураза, *FAD7* – $\omega 3(\Delta 15)$ -ацил-липидная десатураза и *HSF A8* – БТШ A8 (контроль холодового воздействия). На оси Y «Относительные единицы транскрипции, RQ», на оси X «продолжительность закаливания, сут». RQ определено методом $\Delta\Delta C_T$. Данные представлены в виде средних значений и их стандартных ошибок с использованием *t*-критерия Стьюдента. * – Статистически значимое отличие от контроля ($p < 0,05$)

[Fig. 2. Changes in the transcript content of potato plant chloroplast fatty acid desaturase genes in the dynamics of low-temperature adaptation (3°C, 7 days). *SAD* - soluble $\Delta 9$ -ACP desaturase, на *FAD6* - acyl-lipid $\Delta 12$ -desaturase, *FAD7* - acyl-lipid $\omega 3(\Delta 15)$ -desaturase and *HSF A8* (control of cold exposure). On the Y-axis - Relative expression, RQ; on the X-axis -Time of adaptation, day.*RQ was determined by the method $\Delta\Delta C_T$. The data are expressed as the mean with standard error using Student's *t*-test ($p < 0.05$). *Statistically significant difference from control ($p < 0.05$)]

Соединение $C_{16:0}$ -АПБ, являющееся предшественником $C_{16:0}$ ЖК, используется в разных путях биосинтеза. Так, оно может в дальнейшем удлиняться до стеароил-АПБ с помощью фермента кетоацилсинтазы II (КАС II) или $C_{16:0}$ ЖК может отделиться от АПБ с помощью ацил-АПБ тиоэстеразы (фермент, принадлежащий к классу ацил-АПБ-гидролаз) и подвергаться дальнейшей десатурации в липидсвязанной форме или транспортироваться из пластид в ЭПР. Таким образом, снижение активности фермента КАС II (одного из ферментов многокомпонентной синтазы ЖК), который удлиняет $C_{16:0}$ -АПБ до $C_{18:0}$ -АПБ, может приводить к повышению содержания пальмитиновой

кислоты. С другой стороны, повышение активности ацил-АПБ тиоэстеразы также может приводить к повышению содержания пальмитиновой ЖК. Так, в литературе имеются данные о повышении содержания транскриптов гена пальмитоил-АПБ тиоэстеразы почти в четыре раза после кратковременного действия закаливающей температуры на растения картофеля [19].

Кроме того, в настоящей работе наблюдали повышение содержания $C_{16:1}^{\Delta 7}$ ЖК, как известно, играющей положительную роль в поддержании текучести мембран, поскольку при низкой температуре необходимо не только повышение количества ЖК с большим числом двойных связей, но и увеличение содержания ЖК с меньшим числом углеродных атомов. Это может свидетельствовать о повышении активности $\Delta 7$ -десатуразы *FAD5*, которая специфически образует $C_{16:1}^{\Delta 7}$ ЖК в ФГ и МГДГ хлоропластов соответственно.

Согласно нашим данным, представленным в таблице, содержание α -линоленовой ЖК – главной ПНЖК хлоропластов, к седьмым суткам закаливания поддерживалось на высоком конститутивном уровне и составляло 50% от суммы ЖК. Представляет интерес сравнить эти показатели с данными литературы, согласно которым у картофеля сорта Невский происходило повышение содержания α -линоленовой кислоты после низкотемпературного закаливания с 38 до 43% [22], но эти показатели оставались даже ниже, чем у изученного нами сорта. Широко известно, что α -линоленовая кислота (и ее структурный аналог – гексадекатриеновая кислота) имеет уникальное значение в жизни растений [23] благодаря системе двойных связей. Она способна принимать спиральную конформацию и образовывать комплексы с мембранными липидами. Такие комплексы галактолипидов с белками обеспечивают построение фотосинтетических субъединиц хлоропласта, оптимальную пространственную ориентацию гидрофильных структур хлорофилла и возможность беспрепятственного переноса электронов в безводной среде. Следует отметить, что незначительное снижение содержания ПНЖК может быть связано как со снижением относительного содержания транскриптов гена *SAD* (рис. 2), кодирующего $\Delta 9$ стеароил-АПБ десатуразу ЖК, участвующую в образовании олеиновой кислоты, так и с интенсификацией пероксидного окисления липидов при резком снижении температуры в начале закаливания. Так, ранее нами показано возрастание его интенсивности у картофеля к третьим суткам низкотемпературного закаливания с последующим снижением до уровня вегетирующих растений к шестым суткам закаливания [24].

Таким образом, среди изученных генов $\Delta 9$ -, $\Delta 12$ -, $\omega 3$ -десатураз хлоропластов обнаружено кратковременное (через 2 ч закаливания) увеличение содержания транскриптов только гена *FAD6*, кодирующего $\Delta 12$ -ацил-липидную десатуразу хлоропластов. Относительная транскрипция гена *FAD7*, кодирующего единственную $\omega 3$ -десатуразу хлоропластов, оставалась на неизменном уровне, что, вероятно, способствовало поддержанию высокого конститутивного уровня триеновых ЖК.

**Изменение относительного содержания жирных кислот липидов хлоропластов
в результате низкотемпературного закаливания (3°C, 7 сут)
растений картофеля, мас % + m
[Change in the relative content of fatty acids of chloroplast lipids
after low-temperature adaptation (3°C, 7 days) of potato, mas% + m]**

Название ЖК [Name of FA]	Состав ЖК [FA composition]	
	мас [mas] %	мас [mas] %
	22°C (до закаливания) [before adaptation]	7 сут., 3°C (после закаливания) [7 days, 3°C after adaptation]
C _{16:0}	13,0±2,1	19,1±4,1*
C _{16:1} ^{Δ7}	0,0±0,0	3,1±2,0*
C _{16:1} ^{Δ9}	4,3±0,1	3,6±0,3*
C _{16:2} ^{Δ7,10}	1,7±0,1	1,2±0,4
C _{16:3} ^{Δ7,10,13}	12,6±0,2	12,1±0,4
C _{18:0}	0,9±0,1	1,1±0,7
C _{18:1} ^{Δ9}	1,2±0,1	1,2±0,1
C _{18:2} ^{Δ9,12}	9,0±0,3	8,4±0,2
C _{18:3} ^{Δ9,12,15}	57,2±0,9	50,2±1,7*
Сумма НЖК [Sum of SFA]	13,9±2,3	20,2±3,1*
Сумма ПНЖК [Sum of PUFA]	86,1±0,8	79,8±1,5*
Сумма ЖК [Sum of FA]	100	100
ИН [The Index of Unsaturation]	2,11	2,02

Примечание. Мас % – отражает содержание ЖК относительно суммы ЖК, ± m – стандартная ошибка, * – статистически значимое отличие от контроля (p < 0,05).

[Note. Mas % - Reflects FA content relative to the total of FA, ± m - standard error of the mean, * statistically significant difference from control (p < 0.05)].

Суммарная доля ПНЖК липидов хлоропластов картофеля в незакаленных растениях составляла почти 90% от общего содержания всех ЖК и за время низкотемпературного закаливания сохранялась на высоком уровне. Высокое содержание ПНЖК способствует поддержанию тилакоидных мембран хлоропластов в функциональном состоянии, что в свою очередь позволяет растениям картофеля реализовать прохождение других процессов, способствующих закаливанию растений к низким температурам [25].

Заключение

На основании полученных данных можно предположить, что закаливание изученного сорта картофеля в целом направлено на поддержание конститутивно высокого содержания ПНЖК хлоропластов в процессе закаливания и увеличение синтеза ЖК *de novo*. Повышение содержания транскриптов гена *FAD6* в начале этого периода, по-видимому, способствовало сохранению и поддержанию в активном состоянии пула Δ12-десатураз, осуществляющих синтез линолевой кислоты, благодаря чему растения были обеспечены достаточным количеством этих жизненно важных ЖК. Стабильно высокое содержание ПНЖК, входящих в состав мембранных липидов хлоропластов,

на протяжении всего периода закаливания способствует поддержанию тилакоидных мембран хлоропластов в функциональном состоянии, что позволяя растениям картофеля успешно закаливаться к гипотермии.

Литература

1. Liu Y., Dang P., Liu L., He C. Cold acclimation by the CBF–COR pathway in a changing climate: Lessons from *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell Reports*. 2019. Vol. 38. PP. 511–519. doi: [10.1007/s00299-019-02376-3](https://doi.org/10.1007/s00299-019-02376-3)
2. Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс (64-е Тимирязевские чтения). М. : Наука, 2007. 54 с.
3. Титов А.Ф., Акимов Т.В., Таланова В.В., Топчиева Л.В. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. М. : Наука, 2006. 143 с.
4. Lyons J.M. Chilling injury in plants // *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 1973. Vol. 24. PP. 445–466.
5. Лось Д.А. Молекулярные механизмы холодоустойчивости растений // *Вестник РАН*. 2005. Т. 75. С. 338–345.
6. Harwood J.L. Lipids: structure and function // *The biochemistry of plants* / ed. P.K. Stumpf. New York : Acad. Press, 1980. PP. 1–55.
7. Iba K. Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance // *Ann. Rev. Plant Biol.* 2002. Vol. 53. PP. 225–244. doi: [10.1146/annurev.arplant.53.100201.160729](https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.100201.160729)
8. Chi X., Zhang Z., Chen N., Zhang X., Wang M., Chen M., Wang T., Pan L., Chen J., Yang Z., Guan X., Yu S. Isolation and functional analysis of fatty acid desaturase genes from peanut (*Arachis hypogaea* L.) // *PLoS ONE*. 2017. Vol. 12(12): e0189759. PP. 1–28. doi: [10.1371/journal.pone.0189759](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189759)
9. Ishizaki-Nishizawa O., Fujii T., Azuma M., Sekiguchi K., Murata N., Ohtani T., Toguri T. Low-temperature resistance of higher plants is significantly enhanced by a nonspecific cyanobacterial desaturase // *Nat. Biotechnol.* 1996. Vol. 14. PP. 1003–1006.
10. Lee S.H., Ahn S.J., Im Y.J., Cho K., Chung C.-C., Cho B.H., Han O. Differential impact of low temperature on fatty acid unsaturation and lipoxygenase activity in figleaf gourd and cucumber roots // *Biochem. and Biophys. Research Communications*. 2005. Vol. 330. PP. 1194–1198.
11. Miquel M., James D., Dooner H., Browse J. *Arabidopsis* requires polyunsaturated lipids for low-temperature survival // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993. Vol. 90. PP. 6208–6212.
12. Crosatti C., Rizza F., Badeck F.W., Mazzucotelli E., Cattivelli L. Harden the chloroplast to protect the plant // *Physiologia Plantarum*. 2013. Vol. 147. PP. 55–63. doi: [10.1111/j.1399-3054.2012.01689.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01689.x)
13. Лось Д.А. Десатуразы жирных кислот. М. : Научный мир, 2014. 372 с.
14. Анисимов Б.В., Еланский С.Н., Зейрук В.Н., Кузнецова М.А. Сорты картофеля, возделываемые в России: справочное издание. М. : Агроспас, 2013. 144 с.
15. Rao X., Huang X., Zhou Z., Lin X. An improvement of the $\Delta\Delta C_T$ method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis // *Biostat. Bioinforma. Biomath.* 2013. Vol. 3. PP. 71–85.
16. Lang E.G.E., Mueller S.J., Hoernstein S.N.W., Porankiewicz-Asplund J., Vervliet-Scheebaum M., Reski R. Simultaneous isolation of pure and intact chloroplasts and mitochondria from moss as the basis for sub-cellular proteomics // *Plant Cell Rep.* 2011. Vol. 30. PP. 205–215. doi: [10.1007/s00299-010-0935-4](https://doi.org/10.1007/s00299-010-0935-4)
17. Маали Амири Р., Голденкова-Павлова И.В., Юрьева Н.О., Пчелкин В.П., Цыдендамбаев В.Д., Верещагин А.Г., Дерябин А.Н., Трунова Т.И., Лось Д.А., Носов А.М. Жирнокислотный состав липидов растений картофеля, трансформированных геном $\Delta 12$ -десатуразы цианобактерий // *Физиология растений*. 2007. Т. 54. С. 678–685. doi: [10.1134/S1021443707050056](https://doi.org/10.1134/S1021443707050056)

18. Сидоров Р.А., Жуков А.В., Верещагин А.Г., Цыдендамбаев В.Д. Низшие алкиловые эфиры жирных кислот из плодов бересклета // Физиология растений. 2012. Т. 59. С. 362–368. doi: [10.1134/S1021443712030156](https://doi.org/10.1134/S1021443712030156)
19. Koc I., Vatansever R., Ozyigit I. I., Filiz E. Identification of differentially expressed genes in chilling-Induced potato (*Solanum tuberosum* L.); a data analysis study // Appl. Biochem. Biotechnol. 2015. Vol. 177. PP. 792–811. doi: [10.1007/s12010-015-1778-9](https://doi.org/10.1007/s12010-015-1778-9)
20. Kachroo A., Shanklin J., Whittle E., Lapchuk L., Hildebrand D., Kachroo P. The Arabidopsis stearyl-acyl carrier protein-desaturase family and the contribution of leaf isoforms to oleic acid synthesis // Plant Mol. Biol. 2007. Vol. 63. PP. 257–271. doi: [10.1007/s11103-006-9086-y](https://doi.org/10.1007/s11103-006-9086-y)
21. Жуков А.В. Жирные кислоты с очень длинной цепью в составе мембранных липидов растений // Физиология растений. 2018. Т. 65. С. 418–437. doi: [10.1134/S1021443718050187](https://doi.org/10.1134/S1021443718050187)
22. Лаврова В.В., Сысоева М.И., Матвеева Е.М. Жирнокислотный состав липидов листьев картофеля в условиях периодической и длительной гипотермии // Труды Карельского научного центра РАН. 2012. № 2. С. 91.
23. Верещагин А.Г. Липиды в жизни растений (66-е Тимирязевские чтения). М.: Наука, 2007. 78 с.
24. Нарайкина Н.В., Синькевич М.С., Дёмин И.Н., Селиванов А.А., Мошков И.Е., Трунова Т.И. Изменения активности изоформ СОД при низкотемпературной адаптации у растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.) дикого типа и трансформированных геном $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы // Физиология растений. 2014. Т. 61. С. 359–366.
25. Нарайкина Н.В., Астахова Н.В., Дерябин А.Н., Синькевич М.С., Трунова Т.И. Адаптивные изменения ультраструктуры хлоропластов, содержания пигментов и сахаров при низкотемпературном закаливании растений картофеля: роль $\Delta 12$ -ациллипидной десатуразы // Известия РАН. Серия биологическая. 2018. № 6. С. 635–642.

Поступила в редакцию 12.07.2019 г.; повторно 03.08.2019 г.;
принята 15.08.2019 г.; опубликована 27.09.2019 г.

Авторский коллектив:

Нарайкина Наталья Владимировна – канд. биол. наук, н.с. лаборатории зимостойкости, ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН» (Россия, 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 35).
E-mail: narai@yandex.ru

Попов Валерий Николаевич – канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории зимостойкости, ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН» (Россия, 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 35).
E-mail: vnpopov@mail.ru

Миронов Кирилл Сергеевич – канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории клеточной регуляции, ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН» (Россия, 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 35).
E-mail: ksmironov@gmail.com

Пчёлкин Василий Петрович – канд. хим. наук, с.н.с. лаборатории липидного обмена, ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН» (Россия, 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 35).
E-mail: pchel_vp@ippras.ru

Трунова Тамара Ильинична – проф., д-р биол. наук, г.н.с. лаборатории зимостойкости, ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН» (Россия, 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 35).
E-mail: trunova@ippras.ru

Мошков Игорь Евгеньевич – д-р биол. наук, зав. лабораторией зимостойкости, ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН» (Россия, 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 35).
ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9165-2351>

E-mail: ie.moshkov@mail.ru

For citation: Naraikina NV, Popov VN, Mironov KS, Pchelkin VP, Trunova TI, Moshkov IE. Fatty acid desaturase gene transcription at *Solanum tuberosum* L. cold adaptation. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = *Tomsk State University Journal of Biology*. 2019;47:174-188. doi: 10.17223/19988591/47/9 In Russian, English Summary

**Natalia V. Naraikina, Valery N. Popov, Kirill S. Mironov,
Vasily P. Pchelkin, Tamara I. Trunova, Igor E. Moshkov**

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Fatty acid desaturase gene transcription at *Solanum tuberosum* L. cold adaptation

The problem of the survival of plants under low temperatures becomes more relevant in the light of global climate change and the growing needs of the population. In this regard, studies of the impact of hypothermia on plants are not only fundamental, but also applied. Potatoes are an important food crop, ranking fourth in the world in terms of growing. The actual yield of potatoes is significantly lower than its potential productivity, and one of the limiting factors is the lack of resistance of many modern varieties to spring frosts. Decoding of the potato genome made it possible to use advances in molecular biology to study the role of individual genes and identify key proteins that can increase resistance to low temperature. It is widely known that under the action of low temperatures, there is a phase transition of membrane lipids, which is accompanied by a decrease in membrane fluidity and loss of their barrier properties and, as a result, by inactivation of enzymes. In response to changes in physical properties of membranes, cells activate protection systems, among which an important role is played by the cold-induced increase in the degree of unsaturation of fatty acids of membrane lipids. Therefore, one of the main goals of adaptation is the stabilization of membranes, for example, due to the work of enzymes, fatty acid desaturase (encoded by genes *FAD*), catalyzing the conversion of saturated fatty acids (FA) into unsaturated. Among all plant cell membranes, chloroplast membranes play a special role in the formation of plant resistance to low temperatures, since it is in chloroplasts that photosynthesis, the main source of energy necessary for the restructuring of metabolism during the adaptation period, takes place. The aim of the research was to study the role of chloroplast localized $\Delta 9$ -, $\Delta 12$ - and $\omega 3(\Delta 15)$ -desaturases in adaptive transformations of the fatty acid composition of chloroplast membranes when forming potato plant cold resistance during hardening.

The object of the study was potato plants (*Solanum tuberosum* L., cultivar Jubilee Zhukov), 3 weeks of age, grown in soil culture at a temperature of 22°C, illumination of 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \text{ c})$ and 16-h photoperiod. Hardening of plants was carried out in the climatic chamber KBW-240 "Binder" (Germany) under 16-h photoperiod and illumination of 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \text{ c})$ at a temperature of 3°C for 7 days. Controls were non-hardened plants. To assess the effectiveness of adaptation, whole plants were frozen at a temperature of 2°C for 18 hours in the climatic chamber MIR-153 "Sanyo" (Japan), and then transferred to the growing conditions to determine survival. The following genes of *FA* desaturases were selected for the study: *SAD* (encodes one of the soluble $\Delta 9$ -ACP-), *FAD6* (encodes membrane-bound acyl-lipid $\Delta 12$ -), *FAD7* (encodes membrane-bound acyl-lipid $\Delta 15(\omega 3)$ -desaturase). Protein products of these genes are localized in chloroplasts. Total RNA from leaves was isolated using Spectrum Plant Total RNA Kit "Sigma" (USA). The reverse transcription reaction was performed using a set of reagents and the Protocol MMLV RT Kit "Eurogen" (Russia). The resulting cDNA was

used for real-time PCR (q-PCR) using the amplifier CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System “Bio-Rad” (USA), using a set of reagents qPCRMix-HS SYBR kit “Eurogen” (Russia). The relative transcript content was calculated by calculating the normalized expression ($\Delta\Delta C_T$). Primers for the genes of FA desaturases were selected using the database NCBI and Internet resource Primer3Plus. Intact chloroplasts were isolated by centrifugation in a percol step gradient. Chloroplast lipids were methylated by boiling in a mixture of CH_3OH and CH_3COCl . The obtained LC methyl esters were analyzed by GL-MS using Agilent 7890A GC (USA). The experiments were conducted in 5-6 biological replicates and 3-4 analytical ones. Statistical data processing was performed using the program SigmaPlot 11. The data are presented as means and their standard errors.

We showed that the hardened potato plants survived after -2°C for 18 h, which indicates the successful hardening of *S. tuberosum*, Jubilee Zhukov cultivar (See Fig. 1). Among the studied genes $\Delta 9$ -, $\Delta 12$ - and $\omega 3$ -desaturases of chloroplasts, a short-term (after 2 h of adaptation) increase in the transcripts of the *FAD6* gene encoding acyl-lipid $\Delta 12$ -desaturase was found. The relative content of *FAD7* gene transcripts encoding $\omega 3$ -desaturase remained stable and maintained at the level of control. The character of *SAD* gene expression encoding $\Delta 9$ -ACP desaturase differed from the others: the relative transcript content decreased during adaptation (See Fig. 2). It should be noted that potatoes have 13 soluble $\Delta 9$ -ACP-desaturase genes forming the first double bond, whose proteins are localized in the stroma of chloroplasts. Perhaps, the studied gene is not cold-inducible. The total percentage of polyunsaturated fatty acids (PUFA) of lipids in chloroplasts of potato was high and constitutive in non-hardened plants accounted for almost 90% of the total content of all FA (See Table). Probably, therefore, in the process of adaptation there was no noticeable increase in the relative content of the transcripts of the studied genes $\Delta 12$ - and $\omega 3$ -desaturases of chloroplasts. During the period of low-temperature hardening, the part of PUFA, and especially α -linolenic acid, was maintained at a high level; there was an increase in the content of palmitic acid, which may indicate an increase in the intensity of synthesis of FA *de novo*. In addition, an increase in the content of $\text{C}_{16:1}^{\Delta 7}$ acid was observed, which is also important for adaptation. It is known that the fluidity of membranes with decreasing temperature is determined not only by the content of FA with a larger number of double bonds, but also by the content of FA with a smaller number of carbon atoms. Maintaining a high amount of PUFA helped to maintain the thylakoid membranes of chloroplasts in a functional state during the hardening process, which, in turn, allowed the potato plants to realize other processes of adaptation.

The paper contains 2 Figures, 1 Table and 25 References.

Key words: *Solanum tuberosum*; low-temperature adaptation; cold resistance; relative transcript content; *SAD*; *FAD6*; *FAD7*; α -linolenic acid; polyunsaturated fatty acids (PUFA).

Funding: The research was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant No 16-34-00604 mol_a).

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Liu Y, Dang P, Liu L, He C. Cold acclimation by the CBF–COR pathway in a changing climate: Lessons from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Reports*. 2019;38(5):511-519. doi: 10.1007/s00299-019-02376-3
2. Trunova TI. Rastenie i nizkotemperaturnyy stress (64-e Timiryazevskoe chtenie) [Plants and Cold Stress (64th Timiryazev Memorial Lectures)]. Moscow: Nauka Publ.; 2007. 54 p. In Russian

3. Titov AF, Akimova TV, Talanova VV, Topchieva LV. Ustoychivost' rasteniy v nachal'nyy period deystviya neblagopriyatnykh temperature [Plant resistance during the initial period of adverse temperatures]. Moscow: Nauka Publ.; 2006. 143 p. In Russian
4. Lyons JM. Chilling injury in plants. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 1973;24:445-466.
5. Los DA. Molecular mechanisms of cold tolerance in plants. *Herald of the Russian Academy of Sciences.* 2005;75(4):338-345. In Russian
6. Harwood JL. Lipids: structure and function. The biochemistry of plants. Stumpf PK, editor. New York: Acad. Press Publ.; 1980. 1-55 p.
7. Iba K. Acclimative response to temperature stress in higher plants: Approaches of gene engineering for temperature tolerance. *Ann. Rev. Plant Biol.* 2002;53:225-244. doi: [10.1146/annurev.arplant.53.100201.160729](https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.100201.160729)
8. Chi X, Zhang Z, Chen N, Zhang X, Wang M, Chen M, Wang T, Pan L, Chen J, Yang Z, Guan X, Yu S. Isolation and functional analysis of fatty acid desaturase genes from peanut (*Arachis hypogaea* L.). *PLoS ONE.* 2017;12(12):1-28. doi: [10.1371/journal.pone.0189759](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189759)
9. Ishizaki-Nishizawa O, Fujii T, Azuma M, Sekiguchi K, Murata N, Ohtani T, Toguri T. Low-temperature resistance of higher plants is significantly enhanced by a nonspecific cyanobacterial desaturase. *Nat. Biotechnol.* 1996;14:1003-1006.
10. Lee SH, Ahn SJ, Im YJ, Cho K, Chung CC, Cho BH, Han O. Differential impact of low temperature on fatty acid unsaturation and lipoxygenase activity in figleaf gourd and cucumber roots. *Biochem. and Biophys. Research Communications.* 2005;330:1194-1198.
11. Miquel M, James D, Dooner H, Browse J. Arabidopsis requires polyunsaturated lipids for low-temperature survival. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993;90(13):6208-6212.
12. Crosatti C, Rizza F, Badeck FW, Mazzucotelli E, Cattivelli L. Harden the chloroplast to protect the plant. *Physiologia Plantarum.* 2013;147(1):55-63. doi: [10.1111/j.1399-3054.2012.01689.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01689.x)
13. Los DA. Desaturazy zhirnykh kislot [Fatty acid desaturases]. Moscow: Scientific World.; 2014. 372 p. In Russian
14. Anisimov BV, Elanskiy SN, Zeyruk VN, Kuznetsova MA. Sorta kartofelya, vzdelyvaemye v Rossii: Spravochnoe izdanie [Potato varieties cultivated in Russia: Reference edition]. Moscow: Agropas Publ.; 2013. 144 p. In Russian
15. Rao X, Huang X, Zhou Z, Lin X. An improvement of the $\Delta\Delta C_T$ method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostat. Bioinforma. Biomath.* 2013;3:71-85.
16. Lang EGE, Mueller SJ, Hoernstein SNW, Porankiewicz-Asplund J, Vervliet-Scheebaum M, Reski R. Simultaneous isolation of pure and intact chloroplasts and mitochondria from moss as the basis for sub-cellular proteomics. *Plant Cell Rep.* 2011;30(2):205-215. doi: [10.1007/s00299-010-0935-4](https://doi.org/10.1007/s00299-010-0935-4)
17. Maali-Amiri R, Goldenkova-Pavlova IV, Yur'eva NO, Pchelkin VP, Tsydendambaev VD, Vereshchagin AG, Deryabin AN, Trunova TI, Los DA, Nosov AM. Lipid fatty acid composition of potato plants transformed with the $\Delta 12$ -desaturase gene from cyanobacterium. *Russian J Plant Physiology.* 2007;54(5):600-606. doi: [10.1134/S1021443707050056](https://doi.org/10.1134/S1021443707050056)
18. Sidorov RA, Zhukov AV, Vereshchagin AG, Tsydendambaev VD. Occurrence of fatty acid lower -alkyl esters in euonymus fruits. *Russian J Plant Physiology.* 2012;59(3):326-332. doi: [10.1134/S1021443712030156](https://doi.org/10.1134/S1021443712030156)
19. Koc I, Vatansever R, Ozyigit I I, Filiz E. Identification of differentially expressed genes in chilling-Induced potato (*Solanum tuberosum* L.); a data analysis study. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2015;177(4):792-811. doi: [10.1007/s12010-015-1778-9](https://doi.org/10.1007/s12010-015-1778-9)
20. Kachroo A, Shanklin J, Whittle E, Lapchik L, Hildebrand D, Kachroo P. The Arabidopsis stearoyl-acyl carrier protein-desaturase family and the contribution of leaf isoforms to oleic acid synthesis. *Plant Mol. Biol.* 2007;63(2):257-271. doi: [10.1007/s11103-006-9086-y](https://doi.org/10.1007/s11103-006-9086-y)
21. Zhukov AV. Very Long-chain fatty acids in composition of plant membrane lipids. *Russian J Plant Physiology.* 2018;65(6):784-800. doi: [10.1134/S1021443718050187](https://doi.org/10.1134/S1021443718050187)

22. Lavrova VV, Sysoeva MI, Matveeva EM. Zhirnokislottnyy sostav lipidov list'ev kartofelya v usloviyakh periodicheskoy i dlitel'noy gipotermii [Lipid fatty acids in potato leaves under periodic and long-term hypothermia]. *Transactions of the Karelian Research Centre of RAS*. 2012;2:91-95. In Russian
23. Vereshchagin AG. Lipidy v zhizni rasteniy (66-e Timiryazevskoe chtenie) [Lipids in life of plants (The 66th Timiryazevsky reading)]. Moscow: Nauka Publ.; 2007. 78 p. In Russian
24. Naraikina NV, Sin'kevich MS, Demin IN, Selivanov AA, Moshkov IE, Trunova TI. Changes in the activity of superoxide dismutase isoforms in the course of low-temperature adaptation in potato plants of wild type and transformed with $\Delta 12$ -acyl-lipid desaturase gene. *Russian J Plant Physiology*. 2014;61(3):332-338. doi: [10.1134/S1021443714030091](https://doi.org/10.1134/S1021443714030091)
25. Naraikina NV, Astakhova NV, Deryabin AN, Sinkevich MS, Trunova TI. Adaptive alterations in the ultrastructure of chloroplasts, pigments and sugar content at low temperature hardening of potato plants: The role of $\Delta 12$ -acyl-lipid desaturase. *Biology Bulletin*. 2018;6:635-642. doi: [10.1134/S0002332918060097](https://doi.org/10.1134/S0002332918060097) In Russian

Received 12 July 2019; Revised 3 August 2019;

Accepted 15 August 2019; Published 27 September 2019

Author info:

Naraikina Natalia V, Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Laboratory of Winter Hardiness, K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, 35 Botanicheskaya Str., Moscow 127276, Russian Federation.

E-mail: narai@yandex.ru

Popov Valery N, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Winter Hardiness, K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, 35 Botanicheskaya Str., Moscow 127276, Russian Federation.

E-mail: vnpopov@mail.ru

Mironov Kirill S, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Cell Regulation, K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, 35 Botanicheskaya Str., Moscow 127276, Russian Federation.

E-mail: ksmironov@gmail.com

Pchelkin Vasily P, Cand. Sci. (Chem.), Senior Researcher, Laboratory of Lipid Metabolism, K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, 35 Botanicheskaya Str., Moscow 127276, Russian Federation.

E-mail: pchel_vp@ippras.ru

Trunova Tamara I, Dr. Sci. (Biol.), Chief Researcher, Laboratory of Winter Hardiness, K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, 35 Botanicheskaya Str., Moscow 127276, Russian Federation.

E-mail: trunova@ippras.ru

Moshkov Igor E, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Winter Hardiness, K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, 35 Botanicheskaya Str., Moscow 127276, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9165-2351>

E-mail: ie.moshkov@mail.ru