

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ВЕСТНИК ТОМСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

БИОЛОГИЯ

Tomsk State University Journal of Biology

Научный журнал

2021

№ 54

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 завершённых 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, учитывающая 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)

Баранова О.Г. – отв. редактор (Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия)

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

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

Данилец М.Г. – отв. редактор (НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ, Томск, Россия)

Денисов Е.В. – отв. редактор (НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск, 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)

Литвяков Н.В. – отв. редактор (НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск, Россия)

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

Тамбовцева Р.В. – отв. редактор (Российский государственный университет физической культуры, спорта, молодёжи и туризма, Москва, Россия)

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

Шефтель Б.И. – отв. редактор (Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, 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); **Кривец С.А.** (Институт мониторинга и климатических систем РАН, Томск); **Минеева Н.М.** (Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова 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); **Лодыгин Е.Д.** (Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Коми научный центр УрО РАН, Сыктывкар, Россия); **Лушагин В.В.** (Университет Арканзаса медицинских наук, Арканзас, США); **Максимов Т.Х.** (Институт биологических проблем криолиозоны СО РАН, Якутск, Россия); **Носов А.М.** (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия); **Олеников Д.Н.** (Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия); **Пердисес А.** (Национальный Музей естественных наук, Мадрид, Испания); **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: Издательство Томского государственного университета. Редактор К.Г. Шилько; редактор-переводчик М.Б. Кузьменко; оригинал-макет А.И. Лелюар; дизайн обложки Л.Д. Кривцова

Подписано в печать 26.06.2021 г. Формат 70x108^{1/16}. Усл. печ. л. 15,1. Тираж 50 экз. Заказ № 4710. Цена свободная.

Дата выхода в свет 29.06.2021 г.

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

**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

biojournalsu@gmail.com, biotsu@mail.ru

Baranova OG - Editor, Komarov Botanical Institute, RAS, St. Petersburg, Russia

Bromovsky MV - Editor, Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, RAS, Pyschino, Russia

Gromovyykh TI - Editor, IM Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Danilets MG - Editor, ED Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Denisov EV - Editor, Cancer Research Institute of Tomsk NRCM, Tomsk, Russia

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

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

Litviakov NV - Editor, Cancer Research Institute of Tomsk NRCM, Tomsk, Russia

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

Tambovtseva RV - Editor, Russian State University of Physical Education, Sport, Youth and Tourism, Moscow, Russia

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

Sheftel BI - Editor, AN Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, Moscow, 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, Russia).

EDITORIAL BOARD [In Russian Alphabetical order]

Alexandrovskiy AL, Institute of Geography RAS (Moscow, Russia); **Ananjeva NB**, Zoological Institute RAS (St. Petersburg, Russia); **Af-**

tanas 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, Nether-

lands); **Kryukov VY**, Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS (Novosibirsk, Russia); **Kuznetsov VIV**, Timiryazev Institute of

Plant Physiology RAS (Moscow, Russia); **Lodygin ED**, Institute of Biology of Komi Scientific Centre UB RAS (Syktyvkar, Russia); **Lupash-**

in 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); **Olennikov DN**, Institute of General

and Experimental Biology SB RAS (Ulan-Ude, Russia); **Perdices A**, National Museum of Natural Sciences (Madrid, Spain); **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: TSU Press (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 26.06.2021. Format 70x108^{1/16}. Conventional printed sheets 15,1. Circulation is 50 copies. Orders No. 4710
Open price. Date of publication 29.06.2021.

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

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

Третьякова И.Н., Пак М.Э., Пахомова А.П., Шевелева И.С., Муратова Е.Н. Индукция соматического эмбриогенеза у ели сибирской (*Picea obovata*) в культуре *in vitro*6

БОТАНИКА

Кучеров И.Б. Об инвазиях орнитохорных кустарников на особо охраняемых природных территориях Санкт-Петербурга и Ленинградской области.....21
Лащинский Н.Н., Писаренко О.Ю. Еловые леса долины р. Копту (Республика Тыва) – реликт растительности позднего плейстоцена.....45

ФИЗИОЛОГИЯ

Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Бекетова Н.А., Кошелева О.В., Леоненко С.Н., Зорин С.Н., Громовых П.С. Влияние сочетанного дефицита витаминов, кальция, магния и йода на проявление безусловного рефлекса и обучаемость растущих крыс64
Трусов Н.В., Апрытин С.А., Тимонин А.Н., Шипелин В.А., Гмошинский И.В., Никитюк Д.Б. Сравнительная оценка влияния ресвератрола и карнитина на полнотранскриптомный профиль ткани печени мышей с различной предрасположенностью к развитию алиментарного ожирения83

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

Кокорев А.И., Колупаев Ю.Е., Шкляревский М.А., Луговая А.А. Влияние кадаверина на редокс-гомеостаз корней проростков пшеницы и их устойчивость к повреждающему нагреву 116

ЭКОЛОГИЯ

Беседина Е.Н., Исмаилов В.Я. Мониторинг развития клопа дубовая кружевница (*Corythucha arcuata* Say) на основе использования теплосодержания атмосферы 138
Иванова Н.В., Шашков М.П., Шанин В.Н. Определение характеристик смешанных древостоев по данным аэрофотосъёмки с применением беспилотного летательного аппарата (БПЛА)..... 158

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Киприянова Л.М., Романов Р.Е. Флористические находки в Республике Алтай 176

TABLE OF CONTENTS

BIOTECHNOLOGY & MICROBIOLOGY

- Tretyakova IN, Park ME, Pakhomova PA, Sheveleva IS, Muratova EN.** Induction of somatic embryogenesis in Siberian spruce (*Picea obovata*) in *in vitro* culture.....6

BOTANY

- Kucherov IB.** Invasions of bird-dispersed shrub species in specially protected natural reservations of Saint-Petersburg and Leningrad Region21
- Lashchinskiy NN, Pisarenko OYu.** Spruce forests of the Koptu River valley (the Republic of Tuva) as a relict of Late Pleistocene vegetation.....45

PHYSIOLOGY

- Sidorova YuS, Petrov NA, Vrzhesinskaya OA, Kodentsova VM, Beketova NA, Kosheleva OV, Leonenko SN, Zorin SN, Gromovych PS.** Influence of multiple deficiency of vitamins, calcium, magnesium and iodine on cognitive function in growing rats64
- Trusov NV, Apyatin SA, Timonin AN, Shipelin VA, Gmoshinski IV, Nikityuk DV.** Comparative evaluation of the effect of resveratrol and carnitine on the full transcriptomic profile of liver tissue in mice with different sensitivity to the development of alimentary obesity83

PLANT PHYSIOLOGY & BIOCHEMISTRY

- Kokorev AI, Kolupaev YE, Shkliarevskiy MA, Lugovaya AA.** The effect of cadaverine on redox homeostasis of wheat seedling roots and their resistance to damage heating 116

ECOLOGY

- Besedina EN, Ismailov VYa.** Monitoring the development of the oak lace bug (*Corythucha arcuata* Say) based on the use of atmospheric heat content138
- Ivanova NV, Shashkov MP, Shanin VN.** Obtaining tree stand attributes from unmanned aerial vehicle (UAV) data: the case of mixed forests158

SHORT COMMUNICATIONS

- Kipriyanova LM, Romanov RE.** Floristic novelties in the Republic of Altai176

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 57.085.23:582.475.2

doi: 10.17223/19988591/54/1

И.Н. Третьякова^{1,2}, М.Э. Пак¹, А.П. Пахомова¹,
И.С. Шевелева², Е.Н. Муратова¹

¹ Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, г. Красноярск, Россия

² Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, Россия

Индукция соматического эмбриогенеза у ели сибирской (*Picea obovata*) в культуре *in vitro*

Работа выполнена в рамках базового проекта ИЛ СО РАН-2021-2025
«Функционально-динамическая индикация биоразнообразия лесов Сибири»
№ 0356-2021-0009 и при частичной финансовой поддержке
Российского фонда фундаментальных исследований, правительства
Красноярского края, Красноярского краевого фонда поддержки научной
и научно-технической деятельности в рамках научного проекта № 19-44-240009.

Исследован процесс культивирования in vitro соматических зародышей ели сибирской в культуре изолированных зародышей в зависимости от стадии развития экплантов, генотипов деревьев-доноров, состава питательной среды. Выявлено, что наиболее активная индукция каллуса шла из экплантов ели сибирской на стадии развитых семядолей (87–95% экплантов) на трех базовых средах DCR, ½LV, A1 с добавлением гормонов (2,4-D и BAP). Среда MS оказала негативное влияние на рост каллусных культур ели сибирской. Цитологический анализ показал, что каллусные культуры состояли из изодиаметрических клеток. Проллиферирующие эмбриогенные культуры содержали массовые глобулярные зародыши и длинные суспензоры. Успешность соматического эмбриогенеза ели сибирской, а также качество полученных соматических зародышей зависели от генотипа растения-донора. Формирование эмбриогенных культур отмечено у трех клеточных линий, полученных от экплантов двух деревьев-доноров (из тридцати опытных).

Ключевые слова: *Picea obovata*; *in vitro*; каллус; эмбриогенные культуры; стадия развития экпланта; дерево-донор.

Сокращения [Abbreviations]: ECs – эмбриогенные культуры [Embryogenic cultures]; ESM – эмбрионально-суспензорная масса [Embryonic suspension mass]; CL – клеточная линия [Cell line]; 2,4-D – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота [2,4-dichlorophenoxyacetic acid]; BAP – 6-бензоаминопурина [N⁶-benzaminopurine].

Для цитирования: Третьякова И.Н., Пак М.Э., Пахомова А.П., Шевелева И.С., Муратова Е.Н. Индукция соматического эмбриогенеза у ели сибирской (*Picea obovata*) в культуре *in vitro* // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 54. С. 6–20. doi: 10.17223/19988591/54/1

Введение

Ель сибирская (*Picea obovata*) – один из основных лесообразующих видов Сибири, произрастающий от районов северной Европы до Магаданской области. Ель сибирская имеет большое значение в лесоперерабатывающей промышленности, её применяют в защитном лесоразведении, создании снегозадерживающих полос, живых изгородей. Высокие стройные вечнозеленые деревья ели с густой мутовчатой конусовидной кроной перспективны для городского озеленения и ландшафтного дизайна, в особенности разновидности с голубоватой окраской хвои. Ель сибирская растет в жестких условиях резко континентального климата, в том числе на почвах с вечной мерзлотой, является теневыносливой [1]. Однако длительный репродуктивный цикл ели, как и других видов хвойных, нерегулярные урожаи – серьезное препятствие для размножения данного вида. Кроме того, традиционные методы размножения ели не решают проблемы воспроизводства элитных деревьев с необходимыми наследственными свойствами. Так, при семенном размножении только 4–6% деревьев приобретают необходимую окраску хвои, растения, полученные путем прививки, нередко наследуют болезни от взрослых деревьев [2].

Наиболее перспективное направление в размножении хвойных – технология соматического эмбриогенеза, которая позволяет не только массово тиражировать элитные генотипы деревьев, но и служит моделью для исследования структурных, физиологических и молекулярно-генетических механизмов как соматического, так и зиготического эмбриогенеза хвойных. Между тем именно у ели (*Picea abies*) впервые открыли соматический эмбриогенез в 1985 г. [3, 4]. Схема прохождения соматического эмбриогенеза также показана для *Picea abies* [5, 6]. К настоящему времени успешная регенерация через соматический эмбриогенез выявлена у разных видов ели: черной (*P. mariana*) [7], белой (*P. glauca*) [8], обыкновенной (*P. abies*) [9, 10], голубой (*P. pugnans*) [11, 12], гибридной (*P. glauca* × *P. engelmannii*) [13]. До сих пор ученые разных стран проводят активные исследования по оптимизации протоколов соматического эмбриогенеза, изучению мультипликации зародышей [14], физиолого-биохимических [15, 16] и молекулярно-генетических процессов [17–23] соматического эмбриогенеза хвойных, в том числе видов ели. При этом каждый вид ели требует разработки своего протокола получения эмбриогенной культуры. Однако публикации о регенерации ели сибирской (*P. obovata*) в культуре *in vitro* через соматический эмбриогенез до сих пор отсутствуют, что является серьезным препятствием для развития технологий размножения *in vitro* данного вида. В данной статье мы приводим разработку биотехнологии инициации соматического эмбриогенеза в культуре *in vitro* ели сибирской.

Цель данного исследования – получить эмбриогенные культуры, продуцирующие соматические зародыши и эмбрионально-суспензорную массу *Picea obovata*.

Материалы и методики исследования

Исследования проведены в 2014–2019 гг. на 30 деревьях ели сибирской, произрастающих в пригородах г. Красноярска (микрорайоны Академгород, Ветлужанка) и стационаре «Погорельский бор» ИЛ СО РАН (38 км от г. Красноярска). Для обнаружения компетентных к соматическому эмбриогенезу генотипов каждый год для эксперимента выбирали новые деревья-доноры. С каждого дерева собирали 3–10 шишек, которые до анализа хранили при 4 ± 1 °С. Поверхность собранных шишек стерилизовали: промывали с мылом, обрабатывали 5%-ным раствором гипохлорита натрия, затем извлекали семена, собранные на разных стадиях эмбриогенеза – глобулярного зародыша, инициации семядолей, развития семядолей и зрелого зародыша. Поверхностная стерилизация семян проведена 10% раствором H_2O_2 (ЗАО «Химреактивснаб», Россия) в течение 10 мин, затем семена однократно промывали стерильной дистиллированной водой в течение 10 мин. В асептических условиях зародыши извлекали из мегагаметофитов и инокулировали на питательные среды по 10 эксплантов на колбу в 25 повторностях.

Для инициации соматического эмбриогенеза из зиготических зародышей использовали базовые среды DCR [24], $\frac{1}{2}$ LV [25], Мурасиге-Скуга (MS) [26] и AI [27]. Все среды дополняли мезоинозитом – 100 мг/л (Sigma-Aldrich, США), гидролизатом казеина – 500–1000 мг/л (Sigma-Aldrich, США), L-глутамином – 500 мг/л (Sigma-Aldrich, США), сахарозой 30 г/л (ЗАО «Омскреактив», Россия) и агаром – 7 г/л (Sigma-Aldrich, США). В качестве антиоксидантов применяли аскорбиновую кислоту (АК) (Sigma-Aldrich, США) в концентрации 400 мг/л. Уровень регуляторов роста составлял: 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-D) – 2 мг/л (Sigma-Aldrich, США) и 6-бензоаминопурина (BAP) – 1 мг/л (Sigma-Aldrich, США). Для пролиферации полученной эмбриональной массы применяли базовые среды DCR и AI, содержащие 2,4-D (2 мг/л), BAP (0,5 мг/л) и сахарозу (20 г/л). Водородный показатель доводили до значения pH = 5,8. Все питательные среды и компоненты стерилизовали в зависимости от их термолабильных свойств. Культуры инкубировали в темноте при температуре 24 ± 1 °С. Субкультивирование на свежие питательные среды проводили каждые 14 суток.

Для контроля качества клеточных линий (CL) при субкультивировании проведены цитологические анализы с использованием временных препаратов. Для приготовления препаратов кусочки каллуса помещали на предметное стекло и 2–3 мин выдерживали в красителе (2%-ный водный раствор сафранина). Далее добавляли глицерин и накрывали препарат покровным стеклом. Просмотр микроскопических образцов с помощью микроскопа МИКМЕД-6 ЛОМО (Санкт-Петербург, Россия) с видеонасадкой DSM510. Объем выборки составил 3–5 препаратов на каждую CL. Качественным показателем эмбриогенности культур служило наличие в них даже единичных структур с выраженной полярностью: глобулярного зародыша с супензором.

Результаты исследования

Индукция соматического эмбриогенеза. Исследование ели сибирской в окрестностях г. Красноярска в 2014–2020 гг. показало нерегулярность урожая этого вида. В 2018 и 2020 гг. урожай шишек у ели сибирской был очень слабым – на деревьях формировались единичные мегастробилы.

Проведенные эксперименты показали, что на индукцию каллусогенеза и формирование эмбрионных культур влияет стадия развития экспланта. Введенные в культуру экспланты (зиготические зародыши) в течение июля–августа лучше всего индуцировали каллус на стадии развития семядолей (87–95 %) (табл. 1). На стадии инициации семядолей индукция эмбрионного каллуса была низкой (10–15%). У эксплантов, введенных на стадии глобулярного зародыша (сбор материала с 8–15 июля), как извлеченных из мегагаметофитов, так и вместе с ними, у всех исследуемых генотипов ели никаких морфогенетических реакций на протяжении двух месяцев культивирования не наблюдали. У введенных в культуру зрелых зародышей (август) образование каллуса составило 40% (см. табл. 1).

Таблица 1 [Table 1]

Влияние стадии развития эксплантов ели сибирской на формирование эмбрионного каллуса

[Effect of the development stage of Siberian spruce explants on the formation of embryogenic callus]

Стадия развития экспланта [Development stage of the explant]	Сроки взятия образца [Terms of collecting explants]	Частота формирования каллуса [Callus formation frequency], %
Глобулярный зародыш [Globular embryo]	01–14.07	0
Стадия инициации семядолей [Cotyledon initiation stage]	15–17.07	10–15
Стадия развития семядолей [Cotyledon development stage]	21–27.07	87–95
Зрелый зародыш [Mature embryo]	17–30.08	40

Индукция каллусных культур на стадии развития семядолей проведена на четырех средах: DCR, $\frac{1}{2}$ LV, MS и AI. Частота формирования каллуса у ели сибирской на среде DCR составила 90%, на среде $\frac{1}{2}$ LV – 87%, AI – 82%, на среде MS частота формирования каллуса не превышала 41% (табл. 2). У значительного числа эксплантов формировался плотный каллус (рис. 1, A). У 5% эксплантов образовывался рыхлый каллус белого или желтого цвета (рис. 1, B). Плотный каллус состоял из изодиаметрических клеток (рис. 2, A, B, C), рыхлый – из удлиненных клеток (рис. 2, D), а впоследствии – из эмбрионально-суспензорной массы (ESM).

Цитологический анализ показал, что каллус состоит из клеток разных типов. Первый тип клеток составили удлиненные клетки, достигающие в

длину $100,0 \pm 3$ мкм (рис. 2, D), другие – состояли из изодиаметрических клеток диаметром $60 \pm 3,5$ мкм (рис. 2, A–C).

Таблица 2 [Table 2]

Индукция каллусов и эмбрионных культур *Picea obovata* *in vitro*
[Induction of *Picea obovata* calli and embryonic cultures *in vitro*]

Питательная среда [Nutrient medium]	Дата введения в культуру <i>in vitro</i> [Date of introduction into <i>in vitro</i> culture]	Число эксплантов введенных в культуру, шт. [The number of explants introduced into the culture, pcs]	Первичный отклик [Primary response], %	Сохранность каллусов через 6 мес. культивирования [Preservation of calli after 6 months of cultivation], %	Частота формирования эмбрионных культур [The frequency of formation of embryonic cultures], %
DCR	25.07	250	90	32	3
½LV	26.07	250	87	32	0
MS	24–27.07	250	41	15	0
AI	17.07– 02.08	250	82	30	0,8

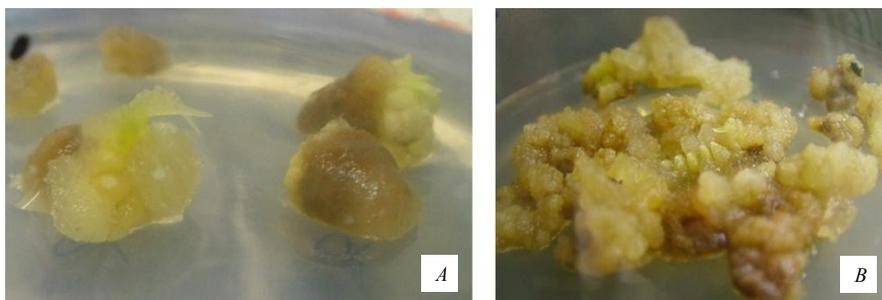


Рис. 1. Каллусная масса *Picea obovata*: A – плотный каллус; B – рыхлый каллус. Автор фото А.П. Пахомова

[Fig. 1. Callus *Picea obovata*: A - Dense callus, B - Friable callus. Photo by Angelica Pakhomova]

Активной способностью к пролиферации обладали только 3 клеточные линии (из 300), две из которых получены в 2017 г. и одна в 2019 г. В этих клеточных линиях удлиненные клетки – эмбриональные трубки делились и формировали дополнительные эмбриональные трубки и эмбриональные инициали. Шло активное формирование глобулярных соматических зародышей (рис. 3, A). Соматические зародыши увеличивались в размерах и достигали 200 ± 1 мкм. К глобуле соматического зародыша примыкал хорошо развитый, массивный суспензор, характерный для зиготических зародышей ели сибирской (рис. 3, A, B). Образовывались активно пролиферирующая ESM и эмбриональные комплексы (рис. 3, B). Число соматических зародышей на глобулярной стадии развития в 1 г свежей массы ESM составляло $50,0 \pm 5$ шт.

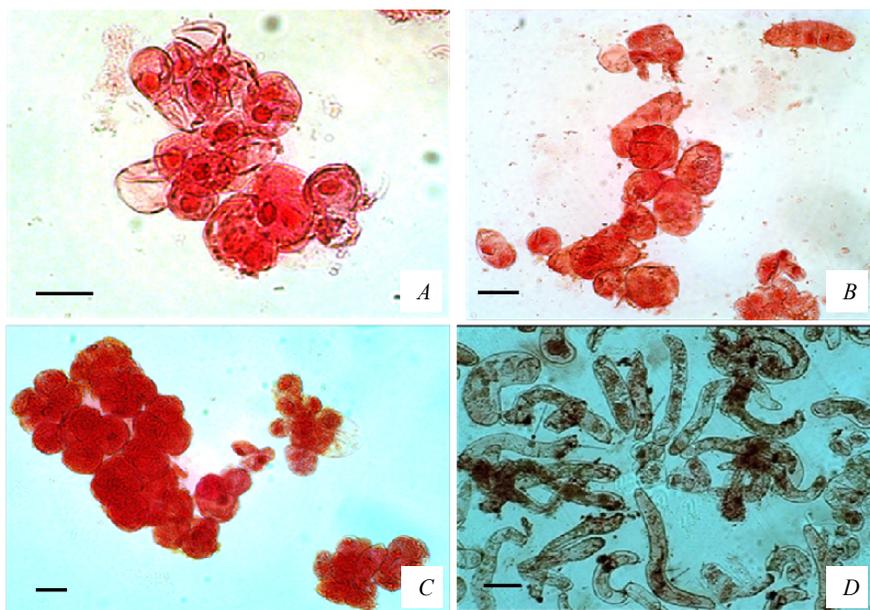


Рис. 2. Гистология культур *in vitro* *Picea obovata*: *A, B, C* – изодиаметрические клетки ($\times 200$) (автор фото М.Э. Пак), *D* – удлинённые клетки (автор фото А.П. Пахомова). Масштабная линейка 50 мкм

[**Fig. 2.** Histology of *Picea obovata* cultures *in vitro* ($\times 200$): *A, B, C* - Isodiametric cells (Photo by Maria Park), *D* - Elongated cells (Photo by Angelica Pakhomova). Scale 50 μm]

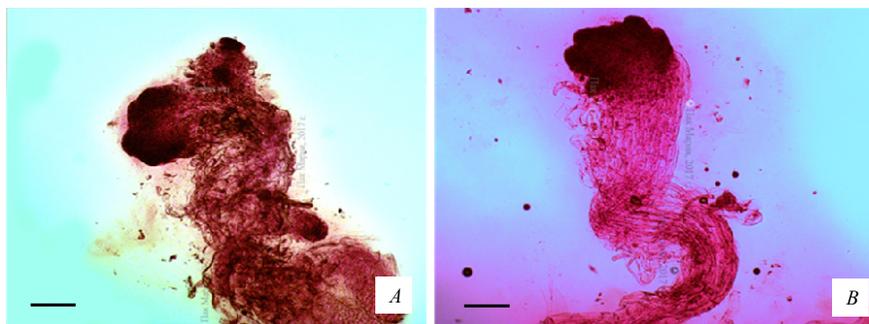


Рис. 3. Глобулярные соматические зародыши клеточных линий ели сибирской, полученных в 2017 г. ($\times 50$): *A* – CL2, *B* – CL3.

Масштабная линейка 200 мкм. Автор фото М.Э. Пак

[**Fig. 3.** Globular somatic embryos ($\times 50$) of Siberian spruce cell lines obtained in 2017: *A* - CL2, *B* - CL3. Scale 200 μm . Photo by Maria Park]

Обсуждение результатов исследования

Проведенное нами исследование показало, что на индукцию и развитие соматических зародышей ели сибирской влияют такие факторы, как стадия

развития экспланта, состав питательной среды (минеральная основа), генотип дерева-донора. По нашим данным введение в культуру незрелых зиготических зародышей *P. obovata* в качестве первичных эксплантов на стадии раннего эмбриогенеза (глобулярный зародыш) как с мегагаметофитами, так и извлеченными из них, оказалось неэффективным. В то же время у других видов елей, например *P. abies* [29] и *P. mariana* [30], индукция соматического эмбриогенеза более активно происходила именно из зиготических зародышей на этапе раннего эмбриогенеза на посткливажной стадии развития (мегагаметофиты). Введение в культуру *in vitro* незрелых зиготических зародышей *P. obovata* на стадии инициации семядолей привело к незначительному образованию каллусных культур (10–13%). Индукция каллусной массы происходила только из незрелых зиготических зародышей, инокулированных на питательные среды на стадии сформированных семядолей. Подобная морфогенная реакция отмечена у *P. glauca*, *P. engelmannii* [31] и *P. abies* [4]. Значительно снижалась индукция каллусных культур у ели сибирской при введении в культуру зрелых зиготических зародышей. В то же время у других видов елей, например *P. abies* [9, 28, 10], *P. mariana* [30], *P. morrisonicola* [32], индукция соматического эмбриогенеза шла активно из зрелых зиготических зародышей, хранившихся в течение трех лет.

На качество культур ели определенное влияние оказывает и состав питательных сред. Большинство сред, используемых для *P. glauca*, основано на среде MS и LV с различными модификациями [9, 33–35]. Среды, как правило, отличаются по составу макроэлементов. Использование других сред, например GD [36] и LP [10], при культивировании видов ели также не оказало значительного влияния на индукцию каллусных культур. В наших опытах с *P. obovata* мы использовали четыре базовые среды – MS, DCR, $\frac{1}{2}$ LV и AI. Оказалось, что только богатая нитратами среда MS значительно снижала выход каллусных культур у ели сибирской. При образовании каллусных культур, в том числе и эмбрионных, мы использовали в работе классическую схему содержания ауксинов и цитокининов, используемую разными экспериментаторами – 2,4-D (2 мг/л) и BAP (1 мг/л).

Успешность соматического эмбриогенеза ели сибирской, а также качество полученных соматических зародышей во многом зависели от генотипа растения-донора. В литературе отмечено, что индукция и пролиферация ESM у хвойных в культуре *in vitro* происходят с ограниченного числа деревьев [37–39, 14]. Известно, что соматический эмбриогенез идет под строгим генетическим контролем, так как только отдельные деревья-доноры способны формировать ESM и соматические зародыши в культуре *in vitro* [40, 41]. По данным Stasolla, Yeung [6], способностью к образованию ESM могут обладать 22% деревьев. В наших исследованиях с елью сибирской экспланты только двух деревьев-доноров (из 30 опытных) образовывали эмбрионные культуры.

Заключение

Таким образом, проведена комплексная оценка факторов, влияющих на индукцию соматического эмбриогенеза у ели сибирской. Полученные результаты свидетельствуют, что для успешного формирования соматических зародышей определяющим фактором является не только выбор донорных растений, но и стадия развития экспланта. Установлено, что лучшей стадией развития зиготических зародышей при введении в культуру *in vitro* у ели сибирской является этап незрелых зародышей со сформированными семядолями, при этом оптимальными питательными средами являются DCR, ½LV и AI.

Литература

1. Фирсов Г.А., Орлова Л.В. Хвойные в Санкт-Петербурге. СПб. : Дом садовой литературы, 2019. 492 с.
2. Железниченко Т.В., Новикова Т.И. Влияние аскорбиновой кислоты и глутатиона на индукцию соматического эмбриогенеза *Picea pungens* Engelm. // Turczaninowia. 2017. Т. 20, № 3. С. 27–35.
3. Chalupa W. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from cultured immature and mature embryos of *Picea abies* (L.) // Karst. Com. Inst. For. Cech. 1985. Vol. 14. P. 57.
4. Hakman I., Fowke L.C., von Arnold S. The development of somatic embryos in tissue cultures initiated from immature embryos of *Picea abies* (Norway spruce) // Plant Sci. 1985. Vol. 38. PP. 53–59. doi: [10.1016/0168-9452\(85\)90079-2](https://doi.org/10.1016/0168-9452(85)90079-2)
5. Arnold S. von, Clapham D., Egertsdotter U., Mo L.H. Somatic embryogenesis in conifers—a case study of induction and development of somatic embryos in *Picea abies* // Plant Growth Regulation. 1996. Vol. 20, № 1. PP. 3–9. doi: [10.1007/BF00024050](https://doi.org/10.1007/BF00024050)
6. Stasolla C., Yeung E.-C. Recent advances in conifer somatic embryogenesis: improving somatic embryo quality // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2003. Vol. 74, PP. 15–35. doi: [10.1023/A:1023345803336](https://doi.org/10.1023/A:1023345803336)
7. Hakman I., Rennie P., Fowke L.C. A light and electron microscopy study of *Picea glauca* (white spruce) somatic embryos // Protoplasma. 1987. Vol. 140. PP. 100–109. doi: [10.1007/BF01273718](https://doi.org/10.1007/BF01273718)
8. Dunstan D.I., Bekkaoui F., Pilon M., Fowke L.C., Abram S.R. Effects of abscisic acid and analogues on the maturation of white spruce (*Picea glauca*) somatic embryos // Plant Sci. 1988. Vol. 58, PP. 77–84. doi: [10.1016/0168-9452\(88\)90156-2](https://doi.org/10.1016/0168-9452(88)90156-2)
9. Gupta P.K., Durzan D.J. Plantlet regeneration via somatic embryogenesis from subcultured callus of mature embryos of *Picea abies* (Norway spruce) // In Vitro Cell. Dev. Biol. 1986. Vol. 22. PP. 685–688.
10. Mauleová M., Vítámvás J. Differential success of somatic embryogenesis in random gene pool of Norway spruce // J. For. Sci. 2007. Vol. 53, № 2. PP. 74–87.
11. Afele J.C., Senaratna T., McKersie B.D., Saxena P.K. Somatic embryogenesis and plant regeneration from zygotic embryo culture in blue spruce (*Picea pungens* Engelman.) // Plant cell reports. 1992. Vol. 11, № 5–6. PP. 299–303. doi: [10.1007/BF00235086](https://doi.org/10.1007/BF00235086)
12. Afele J.C., Saxena P.K. Somatic embryogenesis in blue spruce (*Picea pungens* Engelman) // Somatic embryogenesis in woody plants. Springer, Dordrecht. 1995. PP. 99–109. doi: [10.1007/978-94-011-0960-4_7](https://doi.org/10.1007/978-94-011-0960-4_7)
13. Roberts D.R., Sutton B.C.S., Flinn B.S. Synchronous and high frequency germination of interior spruce somatic embryos following partial drying at high relative humidity // Canadian Journal of Botany. 1990. Vol. 68, № 5. PP. 1086–1090. doi: [10.1139/b90-136](https://doi.org/10.1139/b90-136)

14. Tret'yakova I.N., Park M.E. Somatic polyembryogenesis of *Larix sibirica* in embryogenic *in vitro* culture // Russian Journal of Developmental Biology. 2018. Vol. 49, № 4. PP. 222–233. doi: [10.1134/S1062360418040069](https://doi.org/10.1134/S1062360418040069)
15. Vondrakova Z., Dobrev P. I., Pesek B., Fischerova L., Vagner M., Motyka, V. Profiles of endogenous phytohormones over the course of Norway spruce somatic embryogenesis // Frontiers in Plant Science. 2018. Vol. 9. P. 1283. doi: [10.3389/fpls.2018.01283](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01283)
16. Tret'yakova I.N., Kudoyarova G.R., Park M.E., Kazachenko A.S., Shuklina A.S., Akhiyarova G.R., Korobova A.V. Veselov S.U. Content and immunohistochemical localization of hormones during *in vitro* somatic embryogenesis in long-term proliferating *Larix sibirica* cultures // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2019. Vol. 136, № 3. PP. 511–522. doi: [10.1007/s11240-018-01533-y](https://doi.org/10.1007/s11240-018-01533-y)
17. Dong J.-Z., Dunstan D.I. Molecular biology of somatic embryogenesis in conifers // In: Molecular Biology of Woody Plants Vol. 1. Jain SM & Minocha SC (eds). The Netherlands, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. PP. 51–87. doi: [10.1007/978-94-017-2311-4_3](https://doi.org/10.1007/978-94-017-2311-4_3)
18. MacKay J., Becwar M., Park V-S., Corderro J.P., Pullman G.S. Genetic control of somatic embryogenesis initiation in loblolly pine and implication for breeding // Tree Genetics & Genomes. 2006. Vol. 2, № 1. PP. 1–9. doi: [10.1007/s11295-005-0020-2](https://doi.org/10.1007/s11295-005-0020-2)
19. Cairney J., Pullman G. The cellular and molecular biology of conifer embryogenesis // New Phytologist. 2007. Vol. 176. PP. 511–536. doi: [10.1111/j.1469-8137.2007.02239.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02239.x)
20. Zhang L., Li W.F., Xu H.Y., Qi L.W., Han S.Y. Cloning and characterization of four differentially expressed c DNAs encoding NEYA homologs involved in response to ABA during somatic embryogenesis in Japanese larch (*Larix leptolepis*) // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2014. Vol. 117. PP. 293–304. doi: [10.1007/s11240-014-0440-5](https://doi.org/10.1007/s11240-014-0440-5)
21. Li S., Li W., Han S., Yang W., Qi L. The post-transcriptional regulation of LaSCL6 by miR 171 during maintenance of embryogenic potential in *Larix kampferi* (Lamb) // Carr Tree Genetics and Genomics. 2014. Vol. 100, № 1. PP. 223–229. doi: [10.1007/s11295-013-0668-y](https://doi.org/10.1007/s11295-013-0668-y)
22. Li S., Li W., Han S., Li W., Xu H., Yang W., Lin Y., Fan Y., Qi I. Over-expression of mi R166a inhibits cotyledons formation in somatic embryos and promotes lateral root development in seedlings of *Larix leptolepis* // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2016. Vol. 127, № 2. PP. 461–473. doi: [10.1007/s11240-016-1071-9](https://doi.org/10.1007/s11240-016-1071-9)
23. Rupps A., Rasche J., Rummeler V., Linke B., Zoglauer K. Identification of putative homologs of *Larix decidua* to Baby Boom (BBM) LeafyCotyledon1 (LEG1), Wuschel-related Homeobox2 (WOX2) and Somatic Embryogenesis Receptor-like Kinase (SERK) during somatic embryogenesis // Planta. 2016. Vol. 243, № 2. PP. 473–478. doi: [10.1007/s00425-015-2409-y](https://doi.org/10.1007/s00425-015-2409-y)
24. Gupta P.K., Durzan D.J. Shoot multiplication from mature trees of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugar pine (*Pinus lambertiana*) // Plant Cell Reports. 1985. Vol. 4, № 4. PP. 177–179. doi: [10.1007/BF00269282](https://doi.org/10.1007/BF00269282)
25. Litvay J.D., Verma D.C., Johnson M.A. Influence of loblolly pine (*Pinus taeda*) culture medium and its components on growth and somatic embryogenesis of the wild carrot (*Daucus carota*) // Plant Cell Reports. 1985. Vol. 4. PP. 325–328. doi: [10.1007/BF00269890](https://doi.org/10.1007/BF00269890)
26. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. Vol. 15, № 4. PP. 473–497.
27. Третьякова И.Н. Способ микроклонального размножения лиственницы сибирской в культуре *in vitro* через соматический эмбриогенез на среде АИ для плантационного лесовыращивания // Патент RU 2 456 344 С2. Российская Федерация. МПК: C12N 5/04 A01H 4/00; Заявка № 2010114891/10; заявлено 13.04.2010; опубликовано 20.07.2012. Бюл. 2012. № 20. 7 с. URL: https://new.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet?DB=RUPA_T&DocNumber=2456344&TypeFile=html

28. Ramarosandratana A.V., Van Staden J. Effects of auxins and 2, 3, 5-triiodobenzoic acid on somatic embryo initiation from Norway spruce zygotic embryos (*Picea abies*) // Plant cell, tissue and organ culture. 2004. Vol. 79, № 1. PP. 105–107. doi: [10.1023/B:TICU.0000049446.77837.d7](https://doi.org/10.1023/B:TICU.0000049446.77837.d7)
29. Krogstrup P. Embryolike structures from cotyledons and ripe embryos of Norway spruce (*Picea abies*) // Canadian Journal of Forest Research. 1986. Vol. 16, № 3. PP. 664–668. doi: [10.1139/x86-116](https://doi.org/10.1139/x86-116)
30. Lelu M.-A., Bornman C.H. Induction of somatic embryogenesis in excised cotyledons of *Picea abies* and *Picea mariana* // Plant Physiol. Biochem. 1990. Vol. 28. PP. 785–791.
31. Webb D.T., Webster F., Flinn B.S., Roberts D.R., Ellis D.D. Factors influencing the induction of embryogenic and caulogenic callus from embryos of *Picea glauca* and *P. engelmannii* // Canadian Journal of Forest Research. 1989. Vol. 19, № 10. PP. 1303–1308. doi: [10.1139/x89-200](https://doi.org/10.1139/x89-200)
32. Liao Y.K., Liao C.K., Ho Y.L. Maturation of somatic embryos in two embryogenic cultures of *Picea morrissonicola* Hayata as affected by alternation of endogenous IAA content // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2008. Vol. 93. PP. 257–268. doi: [10.1007/s11240-008-9371-3](https://doi.org/10.1007/s11240-008-9371-3)
33. Arnold S.V., Eriksson T. *In vitro* studies of adventitious shoot formation in *Pinus contorta* // Canadian Journal of Botany. 1981. Vol. 59, № 5. PP. 870–874. doi: [10.1139/b81-121](https://doi.org/10.1139/b81-121)
34. Jain S.M., Newton R.J., Soltes E.J. Enhancement of somatic embryogenesis in Norway spruce (*Picea abies* L.) // Theoretical and Applied Genetics. 1988. Vol. 76, № 4. PP. 501–506. doi: [10.1007/BF00260899](https://doi.org/10.1007/BF00260899)
35. Klimaszewska K., Lachance D., Pelletier G., Lelu M.A., Séguin A. Regeneration of transgenic *Picea glauca*, *P. mariana*, and *P. abies* after cocultivation of embryogenic tissue with *Agrobacterium tumefaciens* // *In Vitro Cellular and Developmental Biology*. 2001. Vol. 37, № 6. PP. 748–755. doi: [10.1007%252Fs11627-001-0124-9](https://doi.org/10.1007%252Fs11627-001-0124-9)
36. Vágner M., Vondráková Z., Strnadová Z., Eder J., Macháčková I. Endogenous levels of plant growth hormones during early stages of somatic embryogenesis of *Picea abies* // *Advances in horticultural science*. 1998. PP. 11–18. URL: <https://www.jstor.org/stable/42881908>
37. Arnold S. von, Egertsdotter U., Ekberg I., Gupta P.K., Mo H. Somatic embryogenesis in Norway spruce (*Picea abies*) // In: *Somatic Embryogenesis in Woody Plants*. The Netherlands, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1995. Vol. 3. PP. 17–36. doi: [10.1007/978-94-011-0960-4_2](https://doi.org/10.1007/978-94-011-0960-4_2)
38. Filonova L.H., Bozhkov P.V., Arnold S. von. Developmental pathway of somatic embryogenesis in *Picea abies* as revealed by time-lapse tracking // *Journal of Experimental Botany*. 2000. Vol. 51. PP. 249–264. doi: [10.1093/jexbot/51.343.249](https://doi.org/10.1093/jexbot/51.343.249)
39. Tret'yakova I.N., Barsukova A.V. Somatic embryogenesis in *in vitro* culture of three larch species // *Russ J Developmental Biology*. 2012. Vol. 43, №. 6. PP. 353–361. doi: [10.1134/S1062360412060082](https://doi.org/10.1134/S1062360412060082)
40. MacKay J. Becwar M., Park Y., Perfetti C., Cordero J., Pullman G., Lockhart L. Genetics of somatic embryogenesis in loblolly pine // In: *Proceedings (publ no 48) 26th southern forest tree improvement Conference*. Deab JF(ed). University of Georgia Athens. 2001. PP. 40–47.
41. MacKay J., Becwar M., Park V.-S., Cordero J.P., Pullman G.S. Genetic control of somatic embryogenesis initiation in loblolly pine and implication for breeding // *Tree Genetics & Genomes*. 2006. Vol. 2, № 1. PP. 1–9. doi: [10.1007/s11295-005-0020-2](https://doi.org/10.1007/s11295-005-0020-2)

Поступила в редакцию 10.02.2021 г.; повторно 15.05.2021 г.;
принята 27.05.2021 г.; опубликована 29.06.2021 г.

Авторский коллектив:

Третьякова Ираида Николаевна, профессор, д-р биол. наук, в.н.с. лаборатории лесной генетики и селекции, Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН (Россия, 660036, г. Красноярск, Академгородок, 50/28).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2029-5163>

E-mail: culture@ksc.krasn.ru

Пак Мария Эдуардовна, н.с. лаборатории лесной генетики и селекции, Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН (Россия, 660036, г. Красноярск, Академгородок, 50/28).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6048-0769>

E-mail: mtavi@bk.ru

Пахомова Анжелика Павловна, аспирант лаборатории лесной генетики и селекции, Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН (Россия, 660036, г. Красноярск, Академгородок, 50/28).

E-mail: culture@ksc.krasn.ru

Шевелева Ирина Сергеевна, аспирант кафедры водных и наземных экосистем, Сибирский федеральный университет (Россия, 660041, г. Красноярск, пр-т Свободный, 79).

E-mail: culture@ksc.krasn.ru

Муратова Елена Николаевна, профессор, д-р биол. наук, зав. лабораторией лесной генетики и селекции, Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН (Россия, 660036, г. Красноярск, Академгородок, 50/28).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-5951-4968>

E-mail: culture@ksc.krasn.ru

For citation: Tretyakova IN, Park ME, Pakhomova AP, Sheveleva IS, Muratova EN. Induction of somatic embryogenesis in Siberian spruce (*Picea obovata*) in *in vitro* culture. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;54:6-20. doi: 10.17223/19988591/54/1 In Russian, English Summary

**Iraida N. Tretyakova^{1,2}, Maria E. Park¹, Angelica P. Pakhomova¹,
Irina S. Sheveleva², Elena N. Muratova¹**

¹ VN Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

² Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Induction of somatic embryogenesis in Siberian spruce (*Picea obovata*) in *in vitro* culture

The biotechnology of somatic embryogenesis in *in vitro* culture is the most promising direction in the reproduction of conifers. The use of this technology makes it possible not only to massively propagate the best genotypes of trees, but also serves a model for studying the structural, physiological and molecular and genetic mechanisms of both somatic and zygotic embryogenesis in conifers. The main aim of this research was to obtain embryogenic cultures (ECs) producing somatic embryos and embryonic suspension mass (ESM) of *Picea obovata*.

The studies were carried out in 2014-2019 on 30 Siberian spruce trees growing in the vicinity of the city of Krasnoyarsk. To detect genotypes competent for somatic embryogenesis, new donor trees were selected every year for the experiment. 3-10 cones were collected from each tree at different stages of embryo development: globular embryo (the first decade of July), the initiation stage cotyledons (second decade of July), the stage of developed cotyledons (third decade of July) and mature embryos (August). Sterilized explants (zygotic embryos at different stages of development) were introduced into *in vitro* culture on basic media DCR (Gupta PK and Durzan DJ, 1985), ½LV (Litvay JD et al., 1985), MS (Murashige T and Skoog F, 1962) and AI (Tretyakova IN, 2012). All media were supplemented with myo-inositol - 100 mg/L, casein hydrolyzate - 500-1000 mg/L, L-glutamine - 500 mg/L, sucrose - 30 g/L and

agar - 7 g/L. Ascorbic acid at a concentration of 400 mg/L was used as an antioxidant. The level of growth regulators was: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) - 2 mg/L and N⁶-benzoaminopurine (BAP) - 1 mg/L. For the proliferation of the ESM, DCR and AI basic media containing 2,4-D (2 mg/L), BAP (0.5 mg/L) and sucrose (20 g/L) were used. The pH was adjusted to pH = 5.8. All culture medium and components were sterilized depending on their termolabile properties. Under aseptic conditions, embryos were removed from megagametophytes and inoculated into nutrient media, 10 explants per flask in 25 replicates. The cultures were incubated in the dark at 24 ± 1 °C. Subcultivation to fresh nutrient medium was carried out every 14 days. To control the quality of cell lines (CL) during subculturing, we performed cytological analyzes using temporary preparations (3-5 preparations for each CL). We evaluated the quality of the embryogenicity of the cultures by the presence of even single structures with pronounced polarity - a globular embryo with a suspensor.

The results of the study showed that the induction of callus cultures of Siberian spruce is influenced by such factors as the development stage of the explant, the nutrient medium and the genotype of the donor tree. The introduction of *P. obovata* immature zygotic embryos into *in vitro* culture at the stage of the globular embryo, both with megagametophytes and extracted from them, turned out to be ineffective. The induction of callus cultures in Siberian spruce was significantly reduced when mature zygotic embryos were introduced into the culture *in vitro*. The highest response of explants of Siberian spruce was at the stage of developed cotyledons (See Table 1). In the DCR medium, 90% of explants formed callus (See Table 2). The mineral composition of the media did not significantly affect the induction of callus formation in Siberian spruce. The exception was the MS medium, in which callus cultures were formed only in 41% of explants (See Table 2). The growth of callus cultures was most active in the DCR medium. After 6 months of cultivation, 15-32% of calli remained viable (See Table 2). Cytological analysis of callus cultures showed that they include cells of different types (See Fig. 1 and 2). The first type of cells consisted of elongated cells reaching a length of 10 ± 3 μm, others consisted of isodiametric cells with a diameter of 60 ± 3.5 μm. The somatic embryo globule and embryonic tubes were formed from elongated cells. Isodiametric cells were actively dividing and forming callus. Only 3 cell lines (out of 300 cell lines) belonging to two donor trees had an active ability to proliferate. Globular somatic embryos were actively forming in these cell lines (See Fig. 3). An actively proliferating ESM was formed.

Thus, we carried out a comprehensive assessment of the factors influencing the induction of somatic embryogenesis in Siberian spruce. The results obtained indicate that for the successful formation of somatic embryos, the determining factor is not only the choice of donor plants, but also the development stage of the explant. We found that the best stage in the development of zygotic embryos when introduced into *in vitro* culture of Siberian spruce is the stage of immature embryos with formed cotyledons, while the DCR, ½LV and AI nutrient medium supplemented with growth regulators (2,4-D and BAP) is optimal.

The paper contains 3 Figures, 2 Tables and 41 References.

Key words: *Picea obovata*; *in vitro*; callus; embryogenic cultures; stage of explant development; nutrient medium; donor tree; somatic embryogenesis.

Funding: The reported study was carried out within the framework of the basic project IL SB RAS-2021-2025 No. 0356-2021-0009 and partially financed by the Russian Foundation for Basic Research, Government of Krasnoyarsk Krai, Krasnoyarsk Region Science and Technology Support Fund (Project No. 19-44-240009).

The Authors declare no conflict of interest.

References

1. Firsov GA, Orlova LV. Khvoynye v Sankt-Peterburge [Conifers in St. Petersburg]. St. Petersburg: Dom sadovoy literatury Publ.; 2019. 492 p. In Russian
2. Zheleznichenko TV, Novikova TI. Effect of ascorbic acid and glutathione on somatic embryogenesis induction in *Picea pungens* Engelmann. *Turczaninowia*. 2017;20(3):27-35. doi: [10.14258/turczaninowia.20.3.4](https://doi.org/10.14258/turczaninowia.20.3.4) In Russian, English Summary
3. Chalupa W. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from cultured immature and mature embryos of *Picea abies* (L.). Karst. *Commun Inst Forest Cech*. 1985;14:57.
4. Hakman I, Fowke LC, von Arnold S. The development of somatic embryos in tissue cultures initiated from immature embryos of *Picea abies* (Norway spruce). *Plant Science*. 1985;38:53-59. doi: [10.1016/0168-9452\(85\)90079-2](https://doi.org/10.1016/0168-9452(85)90079-2)
5. Von Arnold S, Clapham D, Egertsdotter U, Mo LH. Somatic embryogenesis in conifers—a case study of induction and development of somatic embryos in *Picea abies*. *Plant Growth Regulation*. 1996;20(1):3-9. doi: [10.1007/BF00024050](https://doi.org/10.1007/BF00024050)
6. Stasolla C, Yeung E-C. Recent advances in conifer somatic embryogenesis: improving somatic embryo quality. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2003;74:15-35. doi: [10.1023/A:1023345803336](https://doi.org/10.1023/A:1023345803336)
7. Hakman I, Rennie P, Fowke LC. A light and electron microscopy study of *Picea glauca* (white spruce) somatic embryos. *Protoplasma*. 1987;140:100-109. doi: [10.1007/BF01273718](https://doi.org/10.1007/BF01273718)
8. Dunstan DI, Bekkaoui F, Pilon M, Fowke LC, Abram SR. Effects of abscisic acid and analogues on the maturation of white spruce (*Picea glauca*) somatic embryos. *Plant Science*. 1988;58:77-84. doi: [10.1016/0168-9452\(88\)90156-2](https://doi.org/10.1016/0168-9452(88)90156-2)
9. Gupta PK, Durzan DJ. Plantlet regeneration via somatic embryogenesis from subcultured callus of mature embryos of *Picea abies* (Norway spruce). *In Vitro Cellular and Developmental Biology*. 1986;22:685-688.
10. Mauleová M, Vitámváš J. Differential success of somatic embryogenesis in random gene pool of Norway spruce. *Journal of Forest Science*. 2007;53(2):74-87.
11. Afele JC, Senaratna T, McKersie BD, Saxena PK. Somatic embryogenesis and plant regeneration from zygotic embryo culture in blue spruce (*Picea pungens* Engelmann.). *Plant Cell Reports*. 1992;11(5-6):299-303. doi: [10.1007/BF00235086](https://doi.org/10.1007/BF00235086)
12. Afele JC, Saxena PK. Somatic embryogenesis in blue spruce (*Picea pungens* Engelmann). In: *Somatic embryogenesis in woody plants*. Vol. 44-46. Jain SM, Gupta PK and Newton RJ, editors. Dordrecht: Springer Publ.; 1995. pp. 99-109. doi: [10.1007/978-94-011-0960-4_7](https://doi.org/10.1007/978-94-011-0960-4_7)
13. Roberts DR, Sutton BCS, Flinn BS. Synchronous and high frequency germination of interior spruce somatic embryos following partial drying at high relative humidity. *Canadian Journal of Botany*. 1990;68(5):1086-1090. doi: [10.1139/b90-136](https://doi.org/10.1139/b90-136)
14. Tretyakova IN, Park ME. Somatic polyembryogenesis of *Larix sibirica* in embryogenic *in vitro* culture. *Russian Journal of Developmental Biology*. 2018;49(4):222-233. doi: [10.1134/S1062360418040069](https://doi.org/10.1134/S1062360418040069)
15. Vondrakova Z, Dobrev, PI, Pesek B, Fischerova L, Vagner M, Motyka V. Profiles of endogenous phytohormones over the course of Norway spruce somatic embryogenesis. *Frontiers in Plant Science*. 2018;9:1283. doi: [10.3389/fpls.2018.01283](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01283)
16. Tretyakova IN, Kudoyarova GR, Park ME, Kazachenko AS, Shuklina AS, Akhiyarova GR, Korobova AV, Veselov SU. Content and immunohistochemical localization of hormones during *in vitro* somatic embryogenesis in long-term proliferating *Larix sibirica* cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2019;136(3):511-522. doi: [10.1007/s11240-018-01533-y](https://doi.org/10.1007/s11240-018-01533-y)
17. Dong J-Z, Dunstan DI. Molecular biology of somatic embryogenesis in conifers. In: *Molecular Biology of Woody Plants Vol. 1* Jain SM and Minocha SC, editors. The Netherlands, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 2000. pp. 51-87. doi: [10.1007/978-94-017-2311-4_3](https://doi.org/10.1007/978-94-017-2311-4_3)

18. MacKay J, Becwar M, Park V-S, Corderro JP, Pullman GS. Genetic control of somatic embryogenesis initiation in loblolly pine and implication for breeding. *Tree Genetics & Genomes*. 2006;2(1):1-9. doi: [10.1007/s11295-005-0020-2](https://doi.org/10.1007/s11295-005-0020-2)
19. Cairney J, Pullman G. The cellular and molecular biology of conifer embryogenesis. *New Phytologist*. 2007;176:511-536. doi: [10.1111/j.1469-8137.2007.02239.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02239.x)
20. Zhang L, Li WF, Xu HY, Qi LW, Han SY. Cloning and characterization of four differentially expressed c DNAs encoding NEYA homologs involved in response to ABA during somatic embryogenesis in Japanese larch (*Larix leptolepis*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2014;117:293-304. doi: [10.1007/s11240-014-0440-5](https://doi.org/10.1007/s11240-014-0440-5)
21. Li S, Li W, Han S, Yang W, Qi L. The post-transcriptional regulation of LaSCL6 by miR 171 during maintenance of embryogenic potential in *Larix kaempferi* (Lamb). *Tree Genetics & Genomes*. 2014;100(1):223-229. doi: [10.1007/s11295-013-0668-y](https://doi.org/10.1007/s11295-013-0668-y)
22. Li S, Li W, Han S, Li W, Xu H, Yang W, Lin Y, Fan Y, Qi I. Over-expression of mi R166a inhibits cotyledons formation in somatic embryos and promotes lateral root development in seedlings of *Larix leptolepis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2016;127(2):461-473. doi: [10.1007/s11240-016-1071-9](https://doi.org/10.1007/s11240-016-1071-9)
23. Ruppas A, Rasche J, Rummeler V, Linke B, Zoglauer K. Identification of putative homologs of *Larix decidua* to Baby Boom (BBM) LeafyCotyledon1 (LEG1), Wuschel-related Homeobox2 (WOX2) and Somatic Embryogenesis Receptor-like Kinase (SERK) during somatic embryogenesis. *Planta*. 2016;243(2):473-478. doi: [10.1007/s00425-015-2409-y](https://doi.org/10.1007/s00425-015-2409-y)
24. Gupta PK, Durzan DJ. Shoot multiplication from mature trees of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugar pine (*Pinus lambertiana*). *Plant Cell Reports*. 1985;4(4):177-179. doi: [10.1007/BF00269282](https://doi.org/10.1007/BF00269282)
25. Litvay JD, Verma DC, Johnson MA. Influence of loblolly pine (*Pinus taeda*) culture medium and its components on growth and somatic embryogenesis of the wild carrot (*Daucus carota*). *Plant Cell Reports*. 1985;4:325-328. doi: [10.1007/BF00269890](https://doi.org/10.1007/BF00269890)
26. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*. 1962;15(4):473-497.
27. Tretyakova IN. Sposob mikroklonal'nogo razmnozheniya listvennitsy sibirskoy v kul'ture *in vitro* cherez somaticheskij embriogenez na srede AI dlya plantatsionnogo lesovyrashchivaniya [Method of microclonal propagation of Siberian larch in *in vitro* culture via somatic embryogenesis for plantation growing]. *Patent RU 2 456 344 C2*. Published 20.07.2012. *Bulletin*. 2012. No. 20. 7 p. In Russian. Available at: https://new.fips.ru/register-doc-view/fips_servlet?DB=RUPAT&DocNumber=2456344&TypeFile=html (accessed: 23.06.2021)
28. Ramarosandratana AV, Van Staden J. Effects of auxins and 2, 3, 5-triiodobenzoic acid on somatic embryo initiation from Norway spruce zygotic embryos (*Picea abies*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2004;79(1):105-107. doi: [10.1023/B:TICU.0000049446.77837.d7](https://doi.org/10.1023/B:TICU.0000049446.77837.d7)
29. Krogstrup P. Embryolike structures from cotyledons and ripe embryos of Norway spruce (*Picea abies*). *Canadian Journal of Forest Research*. 1986;16(3):664-668. doi: [10.1139/x86-116](https://doi.org/10.1139/x86-116)
30. Lelu M-A, Bornman CH. Induction of somatic embryogenesis in excised cotyledons of *Picea abies* and *Picea mariana*. *Plant Physiol. Biochem*. 1990;28:785-791.
31. Webb DT, Webster F, Flinn BS, Roberts DR, Ellis DD. Factors influencing the induction of embryogenic and caulogenic callus from embryos of *Picea glauca* and *P. engelmannii*. *Canadian Journal of Forest Research*. 1989;19(10):1303-1308. doi: [10.1139/x89-200](https://doi.org/10.1139/x89-200)
32. Liao YK, Liao CK, Ho YL. Maturation of somatic embryos in two embryogenic cultures of *Picea morrissonicola* Hayata as affected by alternation of endogenous IAA content. *Plant cell, tissue and organ culture*. 2008;93:257-268. doi: [10.1007/s11240-008-9371-3](https://doi.org/10.1007/s11240-008-9371-3)
33. Arnold SV, Eriksson T. *In vitro* studies of adventitious shoot formation in *Pinus contorta*. *Canadian Journal of Botany*. 1981;59(5):870-874. doi: [10.1139/b81-121](https://doi.org/10.1139/b81-121)

34. Jain SM, Newton RJ, Soltes EJ. Enhancement of somatic embryogenesis in Norway spruce (*Picea abies* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 1988;76(4):501-506. doi: [10.1007/BF00260899](https://doi.org/10.1007/BF00260899)
35. Klimaszewska K, Lachance D, Pelletier G, Lelu MA, Séguin A. Regeneration of transgenic *Picea glauca*, *P. mariana*, and *P. abies* after cocultivation of embryogenic tissue with *Agrobacterium tumefaciens*. *In Vitro Cellular and Developmental Biology*. 2001;37(6):748-755. doi: [10.1007%252Fs11627-001-0124-9](https://doi.org/10.1007%252Fs11627-001-0124-9)
36. Vágner M, Vondráková Z, Strnadová Z, Eder J, Macháčková I. Endogenous levels of plant growth hormones during early stages of somatic embryogenesis of *Picea abies*. *Advances in Horticultural Science*. 1998;11-18. doi: <https://www.jstor.org/stable/42881908>
37. Von Arnold S, Egertsdotter U, Ekberg I, Gupta PK, Mo H. Somatic embryogenesis in Norway spruce (*Picea abies*). In: *Somatic Embryogenesis in Woody Plants*. Vol. 44-46. Jain SM, Gupta PK and Newton RJ, editors. Dordrecht: Springer Publ.; 1995. pp. 17-36. doi: [10.1007/978-94-011-0960-4_2](https://doi.org/10.1007/978-94-011-0960-4_2)
38. Filonova LH, Bozhkov PV, von Arnold S. Developmental pathway of somatic embryogenesis in *Picea abies* as revealed by time-lapse tracking. *Journal of Experimental Botany*. 2000;51:249-264. doi: [10.1093/jexbot/51.343.249](https://doi.org/10.1093/jexbot/51.343.249)
39. Tretyakova IN, Barsukova AV. Somatic embryogenesis in *in vitro* culture of three larch species. *Russ J Developmental Biology*. 2012;43(6):353-361. doi: [10.1134/S1062360412060082](https://doi.org/10.1134/S1062360412060082)
40. MacKay J, Becwar M, Park Y, Perfetti C, Cordero J, Pullman G, Lockhart L. Genetics of somatic embryogenesis in loblolly pine. In: *Proceedings (publ no 48) 26th Southern Forest Tree Improvement Conference*. Deab JF, eitor. USA, Athens: University of Georgia Altehens Puibl.; 2001. pp. 40-47.
41. MacKay J, Becwar M, Park V-S, Cordero JP, Pullman GS. Genetic control of somatic embryogenesis initiation in loblolly pine and implication for breeding. *Tree Genetics & Genomes*. 2006;2(1):1-9. doi: [10.1007/s11295-005-0020-2](https://doi.org/10.1007/s11295-005-0020-2)

Received 10 February 2021; Revised 15 May 2021;

Accepted 27 May 2021; Published 29 June 2021.

Author info:

Tretyakova Iraida N, Professor, Dr. Sci. (Biol.), Laboratory of Forest Genetics and Breeding, VN Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 50/28 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2029-5163>

E-mail: culture@ksc.krasn.ru

Park Maria E, Researcher, Laboratory of Forest Genetics and Breeding, VN Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 50/28 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6048-0769>

E-mail: mtavi@bk.ru

Pakhomova Angelica P, Post-Graduate Student, Laboratory of Forest Genetics and Breeding, VN Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 50/28 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation.

E-mail: culture@ksc.krasn.ru

Sheveleva Irina S, Post-Graduate Student, Department of Aquatic and Terrestrial Ecosystems, Siberian Federal University, 79 Svobodny Ave., Krasnoyarsk 660041, Russian Federation.

E-mail: culture@ksc.krasn.ru

Muratova Elena N, Professor, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Forest Genetics and Breeding, VN Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 50/28 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-5951-4968>

E-mail: culture@ksc.krasn.ru

БОТАНИКА

УДК 581.524.2: 502.4 (470.23-25+470.23)

doi: 10.17223/19988591/54/2

И.Б. Кучеров

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, г. Санкт-Петербург, Россия

Об инвазиях орнитохорных кустарников на особо охраняемых природных территориях Санкт-Петербурга и Ленинградской области

Работа выполнена в рамках государственного задания БИН РАН по теме 121032500047-1 «Растительность Европейской России и Северной Азии: разнообразие, динамика, принципы организации».

*Рассмотрены факты недавних инвазий орнитохорных кустарников на особо охраняемых природных территориях Санкт-Петербурга и Ленинградской области – *Lonicera nigra* в пределах памятника природы «Комаровский берег» и *Amelanchier spicata* в заказнике «Лисинский», а также распределение этих видов по типам лесных сообществ, в которые они внедрились. Используются данные геоботанических описаний, на основе которых рассчитана активность аборигенных и адвентивных видов растений. *Lonicera nigra*, не отмеченная ранее в качестве инвазионного вида, предположительно распространяется орнитохорно – зарянками, дроздами и славками, а также с помощью барохории и вторичной гидрохории, что подтверждается тяготением наиболее старых кустов к приручейным ельникам и соснякам литориновой террасы Финского залива. Активное вторичное расселение вида птицами наблюдается в ельниках кисличных вдали от ручьев, где сформировался не свойственный этим типам леса ярус низкого подлеска. *Amelanchier spicata*, входящая в число наиболее опасных инвазионных видов в России, распространяется дроздами в первую очередь вдоль дорог и внедряется в ельники кисличные и хвощовые сфагновые на южнотаежных водоразделах, часто в качестве заполнителя «окон». По данным корреляционного анализа, ни один из обсуждаемых инвазионных видов пока не оказывает значимого влияния на проективное покрытие какого-либо из аборигенных видов растений на обследованных территориях.*

Ключевые слова: *Lonicera nigra*; *Amelanchier spicata*; инвазионные виды; орнитохория; природные заказники; памятники природы; заказник «Лисинский»; Карельский перешеек

Для цитирования: Кучеров И.Б. Об инвазиях орнитохорных кустарников на особо охраняемых природных территориях Санкт-Петербурга и Ленинградской области // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 54. С. 21–44. doi: 10.17223/19988591/54/2

Введение

В Европейской России внедрение инвазионных видов растений в природные сообщества становится все более заметным не только в средней полосе или в южных широтах, но и на таежном Севере, чему немало способствуют набирающие силу изменения климата. Особенно наглядными эти процессы становятся при проведении исследований на особо охраняемых природных территориях (ООПТ). В настоящей статье обсуждается недавнее внедрение двух видов орнитохорных кустарников – *Lonicera nigra* L. и *Amelanchier spicata* (Lam.) С.Koch – в лесные сообщества ряда ООПТ на территории г. Санкт-Петербурга и Ленинградской области. Первый из названных видов, *Lonicera nigra*, видимо, никогда не приводился ранее в качестве инвазионного, тогда как второй входит в первую сотню самых опасных инвазионных видов России [1].

Материалы и методики исследования

Данные о встречаемости и ценологических позициях аборигенных и адвентивных, в том числе инвазионных орнитохорных древесно-кустарниковых видов сосудистых растений, получены в ходе геоботанических обследований ООПТ. На юго-западе Карельского перешейка в Курортном р-не Санкт-Петербурга обследованы памятник природы «Комаровский берег», заказники «Озеро Щучье» и «Гладышевский» [2], а также прилегающий к последнему участок берега Финского залива близ п. Серово. В сопредельном Выборгском р-не Ленинградской области обследован заказник «Линдуловская роща» [3], а в Тосненском р-не в центральной части области – заказник «Лисинский» [3] (рис. 1).

Памятник природы «Комаровский берег» расположен вдоль северо-восточного берега Финского залива на склоне литоринового уступа и ниже последнего; на его территории преобладают леса южнотаежного облика с участием неморальных видов деревьев и трав. Заказник «Гладышевский» охватывает участки как литориновой, так и вышележащих береговых террас. Оставшиеся два заказника на Карельском перешейке расположены на песчаной террасированной равнине с водно-ледниковыми формами рельефа. С точки зрения набора доминирующих растительных сообществ и их видового состава, это не южная, а средняя тайга. Однако в пределах заказника «Линдуловская роща» в долине р. Рощинки выражен анклав южной тайги, развитой на тяжелых почвах, способствующих продвижению южнотаежных сообществ к северу. Расположенный южнее заказник «Лисинский» имеет типичные южнотаежные сообщества с преобладанием ельников кисличной группы ассоциаций на водораздельных покровных суглинках поверх ленточных глин.

Геоботанические описания выполнены в естественных границах участков растительных сообществ с описанием растительности по ярусам в процентной шкале проективных покрытий [4].

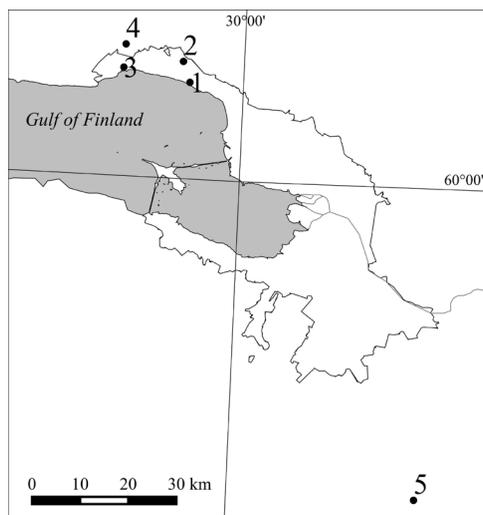


Рис. 1. Местоположение обследованных особо охраняемых природных территорий Санкт-Петербурга (1–3) и Ленинградской обл. (4, 5): 1 – памятник природы «Комаровский берег»; заказники: 2 – «Озеро Щучье»; 3 – «Гладышевский»; 4 – «Линдуловская роща»; 5 – «Лисинский»

[Fig. 1. Location of specially protected natural reservations studied in Saint-Petersburg (1–3) and Leningrad Region (4, 5): 1 - Komarovskiy Bereg [Komarovo Coast] Nature Sanctuary (60°10'50"N 29°46'00"E); Partial Nature Reserves: 2 Ozero Shchuchye [Pike Lake] (60°12'40"N 29°47'00"E), 3 - Gladyshevskiy (60°11'41"N 29°32'27"E), 4 - Lindulovskaya Roshcha [Lindulovka Larch Grove] (60°14'12"N 29°32'12"E), 5 - Lisinskiy [Lisino]

При разграничении ярусов для древесно-кустарниковых видов приняты следующие градации: a_1 и a_2 – господствующий и подчиненный (ниже a_1 , но выше 10 м) ярусы древостоя, b_1 , b_2 , b_3 – высокий (3–10 м), средневысотный (1–3 м) и низкий (< 1 м) подрост и подлесок, с – ювенильные особи в травяно-кустарничковом ярусе. Синтаксоны лесной растительности, первоначально выделенные доминантно-детерминантным методом [4], укрупнены до типов леса (групп ассоциаций) в понимании В.Н. Сукачева [5] с последующими уточнениями [4]. Единая нумерация типов лесных сообществ и ее расшифровка даны в примечаниях к таблицам.

Для каждой из ООПТ на основе данных о встречаемости и покрытии видов сосудистых растений рассчитана средняя активность последних по типам сообществ и в целом по ООПТ:

$$A = 10 \times \frac{\sqrt{F \times C_{\Sigma}}}{N} \%,$$

где A – расчетная активность вида; F – число описаний, в которых он отмечен; C_{Σ} – сумма проективных покрытий вида (%) во всех учтенных описаниях общим числом N [6, 7]. Расчеты активности проведены в информационной ботанической системе IBIS 7.2 [8].

Для оценки влияния инвазионных видов на проективное покрытие всех прочих видов в сообществах использован коэффициент корреляции Пирсона r [9]; расчеты проведены с помощью программного пакета StatSoft STATISTICA 7.0.

Выводы о видовом составе и численности тех или иных видов птиц ООПТ сделаны с учетом примерной частоты регистраций их голосов («Комаровский берег») либо визуальных встреч во время выполнения описаний, а также по данным литературы [10–12].

Для удобства восприятия текста авторы таксонов по возможности указаны в таблицах; там же даны пояснения по вопросам объема видов, понимаемых в широком смысле.

Результаты исследования и обсуждение

Результаты инвентаризации флоры по данным геоботанических описаний выявляют существенную роль орнитохорных древесно-кустарниковых видов при формировании растительного покрова каждой из ООПТ (табл. 1). Если среди аборигенных орнитохорных видов наиболее значимы позиции *Sorbus aucuparia*, *Padus avium* и *Frangula alnus*, то среди адвентивных это *Lonicera nigra* в пределах памятника природы «Комаровский берег», *Amelanchier spicata* в заказнике «Лисинский» и *Rosa rugosa* вдоль побережья Финского залива в заказнике «Гладышевский». Последний вид, однако, произрастает лишь узкой полосой по верхней границе песчаного пляжа, измеряемой несколькими метрами в ширину. Инвазия этого вида на Балтике предположительно датируется послевоенным временем [2, 3], однако оценить масштабы его влияния на аборигенные виды растений приморской полосы сложно без специальных исследований их популяций.

Таблица 1 [Table 1]

Ценоотические параметры орнитохорных древесно-кустарниковых видов во флоре ООПТ Санкт-Петербурга и Ленинградской области (по данным геоботанических описаний)

[Coenotic parameters of bird-dispersed trees and shrubs in the flora of specially protected natural reservations studied in Saint-Petersburg and Leningrad Region (data based upon relevé sets)]

Названия растений [Species names]	Заказники и памятники природы [Partial nature reserves and nature sanctuaries]				
	1	2	3	4	5
Аборигенные виды [Aboriginal species]					
<i>Daphne mezereum</i> L.				2 ¹	47 ⁺
<i>Frangula alnus</i> Mill.	66 ⁴	43 ²	34 ²	38 ¹	126 ¹
<i>Juniperus communis</i> L.	7 ¹	24 ¹	13 ¹	2 ¹	
<i>Lonicera xylosteum</i> L.			5 ¹	4 ¹	60 ²
<i>Padus avium</i> Mill.	53 ¹⁹	1 ⁺	47 ¹⁹	26 ⁵	91 ¹²
<i>Ribes alpinum</i> L.	8 ¹		12 ³		28 ¹
<i>R. nigrum</i> L.	6 ¹		5 ⁸	2 ³	31 ³
<i>R. spicatum</i> Robson	10 ¹		12 ²		2 ¹

Окончание табл. 1 [Table 1 (end)]

Названия растений [Species names]	Заказники и памятники природы [Partial nature reserves and nature sanctuaries]				
	1	2	3	4	5
<i>Rosa acicularis</i> Lindl.					15 ⁺
<i>R. majalis</i> Herrm.			6 ⁺		11 ⁺
<i>Rubus nessensis</i> W.Hall	3 ²		3 ⁺		
<i>Sorbus aucuparia</i> L. s.l. (incl. <i>S. gorodkovii</i> Pojark. на Карельском перешейке)	84 ⁶	72 ³	66 ¹⁰	76 ⁵	201 ⁹
<i>Viburnum opulus</i> L.	12 ¹	1 ⁺	8 ¹	10 ¹	34 ¹
Адвентивные виды [Adventive species]					
<i>Amelanchier spicata</i> (Lam.) C. Koch	17 ¹		12 ²	1 ¹	86 ¹
<i>Aronia mitschurinii</i> A. Skvorts. et Maitull.		1 ⁺		3 ⁺	
<i>Cotoneaster lucidus</i> Schlecht.			1 ³		
<i>Euonymus europaea</i> L.	1 ⁺				
<i>Lonicera involucrata</i> (Richardson) Banks	1 ⁺				
<i>L. nigra</i> L.	63 ⁵	1 ⁺			
<i>Malus domestica</i> Borkh.	3 ¹	2 ⁺	3 ⁺	2 ¹	9 ¹
<i>Padellus mahaleb</i> (L.) Vass.		1 ⁺			
<i>Padus virginiana</i> (L.) Mill.	2 ⁺				
<i>Rosa rugosa</i> Thunb.			17 ¹³		
<i>Sambucus racemosa</i> L.	18 ¹		4 ⁺		2 ⁺
<i>Swida alba</i> (L.) Opiz					9 ²
<i>S. sericea</i> (L.) Holub	7 ⁴		2 ⁵		
<i>Symphoricarpus rivularis</i> Suksdorf		1 ⁺			
Общее число описаний [Total number of relevés]	91	106	155	96	342
Год обследования [Year of study]	2016	2015	2016	2017–2018	2017
Площадь ООПТ, км ² [Reserve area, km ²]	1,80	11,57	7,65	10,03	282,60
Широта [Latitude], °N	60,2	60,2	60,2	60,2	59,4
Долгота [Longitude], °E	29,8	29,8	29,5	29,5	30,7

Примечание. Нумерация заказников и памятников природы: см. рис. 1. Для видов приводятся число регистраций в геоботанических описаниях и (в надстрочном регистре) среднее ненулевое [8] проективное покрытие (%). Покрытие менее 0,5% отмечено знаком «+». В выборку описаний из заказника «Гладышевский» не попали *Daphne mezereum* и *Mahonia aquifolium* (Pursh) Nutt., отмеченные для его территории в литературе [2].

[Notes. For enumeration of partial nature reserves and sanctuaries: see Fig. 1. Numbers of relevés where species are encountered and the corresponding average non-zero [8] cover values (% in superscripts) are given for species. Cover values less than 0.5% are given as “+”. *Daphne mezereum* and *Mahonia aquifolium*, found in the Gladyshevskiy Partial Reserve according to published sources [2], are not shown in the Table.]

Lonicera nigra

Жимолость черная – умеренно теплолюбивый субокеанический аэроксильный кустарник, теневыносливый мезотрофный мезофит с широкой амплитудой по градиенту кислотности почвы [13] с аборигенным центральноевропейским (преимущественно альпийско-карпатским) бореономорально-монтанным ареалом [14], изредка использующийся в озеленении

г. Санкт-Петербурга [15]. Первое упоминание о натурализации *L. nigra* на юге Карельского перешейка в литературе сделано Н.Н. Цвелевым [16]. Однако Г.Ю. Конечная [личн. сообщ.] указывает, что обильные заросли этого вида на территории памятника природы «Комаровский берег» демонстрировали студентам биолого-почвенного факультета Ленинградского (Санкт-Петербургского) университета во время летней практики на протяжении последних 50 лет. В первую декаду XXI в. *L. nigra* приводят как достопримечательность этой ООПТ с указанием на массовость вида под пологом ельников кисличных [2, 10].

Источником проникновения вида в пределы ООПТ предположительно считается «Вилла Рено» – одна из пригородных дач, в конце XIX – начале XX в. располагавшихся по верхней кромке литоринового уступа вдоль северо-восточной границы нынешней ООПТ. Возле дачи в те годы существовал садовый питомник [10]. Распространение диаспор *L. nigra* на нижележащий участок литориновой террасы могло произойти благодаря как птицам, так и барохории, очень вероятной с учетом выраженного уклона местности в сторону залива.

Натурализация вида в финский период истории Карельского перешейка менее вероятна. Развалины двух финских фундаментов находятся в западной части ООПТ [10], тогда как наибольшая концентрация вида отмечена в восточной ее части, непосредственно ниже по склону от «Виллы Рено». Здесь найден и ряд других адвентивных видов кустарников, в том числе *Swida sericea*, активно расселяющаяся вегетативным путем в осушенных черноольшаниках, и *Euonymus europaea* (см. табл. 1).

Аналогично многим другим инвазионным видам, начавшим расселяться в конце прошлого – начале нынешнего века [17], *Lonicera nigra* могла получить импульс к расселению в 70–80-е гг. XX в. одновременно с началом изменений климата. В пользу этого свидетельствует тот факт, что вид активно внедряется в леса южнотаежных типов на литориновой террасе и в нижней части склона уступа, но почти не распространяется вглубь перешейка, т.е. в среднетаежных условиях, лежащих за пределами амплитуды его климатической толерантности. На территории заказника «Озеро Щучье» в 4 км к северо-западу от «Комаровского берега» отмечен лишь один старый куст *L. nigra*, растущий у дороги в ельнике (см. табл. 1); самосева вокруг него не отмечено, несмотря на регулярно вызревающие плоды.

На территории «Комаровского берега» выделяются минимум три яруса *L. nigra*, различных по высоте и (хотя бы отчасти) возрасту. О последнем можно визуально судить по плодоношению и по лентовидному отслоению коры на стволиках старых кустов [18]. Наиболее высокие проективные покрытия *L. nigra* отмечены в ельниках кислично-крупнопапоротниковых (с доминированием *Oxalis acetosella*, *Dryopteris expansa* s.l. и *Athyrium filix-femina*) вдоль ручьев и мелиоративных канав и при основании склона литоринового уступа. В них покрытие вида (суммарно во всех подъярусах подлеска) достигает в

среднем 10%, а на отдельных участках при основании уступа – до 30–50%. Постоянство вида при этом составляет 60–70%. В ельниках данного синтаксона также чаще всего выражен средневисотный подлесок из плодоносящей *Lonicera nigra*, в составе которого отдельные кусты могут достигать 1,5–1,6 м. Как правило, вместе с *L. nigra* произрастают и другие орнитохорные виды деревьев и кустарников, в том числе *Ribes* spp., *Sorbus aucuparia*, *Padus avium* и *Frangula alnus*, а также *Rubus idaeus* (табл. 2).

Таблица 2 [Table 2]

Распределение орнитохорных видов деревьев и кустарников по типам лесных сообществ памятника природы «Комаровский берег»
 [Distribution of bird-dispersed trees and shrubs along different forest community types in Komarovo Coast Nature Sanctuary]

Виды [Species]	Ярус [Layer]	Основные типы лесных сообществ [Main forest community types]										В целом [Total]
		1.1	1.2	1.4	1.5	2.1	2.2	2.3	2.4	6.1	6.2	
<i>Amelanchier spicata</i>	a ₂										15 ¹	1 ¹
	b ₁	10 ²	7 ¹		20 ¹			13 ¹		10 ¹		7 ¹
	b ₂	10 ¹	7 ⁺		10 ¹		34 ⁺					7 ¹
	b ₃	10 ⁺	7 ⁺				34 ¹		1 ⁺	10 ⁺		9 ¹
<i>Frangula alnus</i>	c	10 ⁺										1 ⁺
	b ₁		13 ¹	20 ¹	10 ³			25 ²	4 ⁸	10 ²		12 ⁴
	b ₂	50 ²	38 ²	80 ¹	70 ²	40 ⁴	56 ²	38 ⁴	4 ⁷	10 ¹	57 ³	45 ³
	b ₃	40 ¹	50 ¹	80 ¹	70 ¹	60 ¹	45 ²	88 ³	4 ⁴	20 ¹	72 ³	53 ²
<i>Lonicera nigra</i>	c	30 ⁺	38 ¹	20 ⁺	40 ⁺	40 ¹	34 ⁺	50 ¹	4 ¹	20 ¹	57 ¹	37 ¹
	b ₂	30 ³	63 ⁸	80 ²	10 ²		34 ¹⁷	13 ²		30 ³	15 ¹	30 ⁶
	b ₃	90 ³	70 ²	60 ³	60 ⁺	40 ¹	67 ²	50 ⁵	1 ¹	60 ⁴	43 ¹	57 ²
	c	40 ⁺	19 ⁺			20 ⁺	11 ⁺				15 ⁺	11 ⁺
<i>Padus avium</i>	a ₂		19 ⁴				11 ⁵	50 ²⁰		40 ⁸	29 ⁴	15 ¹⁰
	b ₁		50 ⁹		10 ²		22 ¹⁷	50 ¹⁶		90 ¹⁶	72 ¹¹	32 ¹³
	b ₂	10 ³	75 ⁶		10 ³		56 ³	75 ⁸		80 ¹⁶	86 ¹⁵	44 ⁹
	b ₃	20 ⁴	69 ³	20 ⁺		20 ⁺	45 ²	88 ¹	1 ¹	80 ¹⁰	100 ⁴	47 ⁴
<i>Ribes alpinum</i>	c	10 ⁺	38 ²				11 ⁺	13 ¹	1 ⁺	70 ²	29 ¹	21 ²
	b ₂		7 ³									1 ³
	b ₃	20 ¹	7 ⁺				22 ¹	13 ¹				7 ¹
	c	10 ⁺										1 ⁺
<i>R. nigrum</i>	b ₂									20 ⁺	15 ¹	1 ¹
	b ₃		7 ⁺								15 ¹	6 ¹
<i>R. spicatum</i>	b ₃	10 ⁺	25 ¹				22 ⁺	13 ⁺		10 ¹	15 ⁺	11 ¹
<i>Sambucus racemosa</i>	b ₂	10 ⁺	19 ⁺		10 ¹		11 ⁺					9 ¹
	b ₃	40 ¹	13 ¹		10 ⁺		22 ⁺	13 ⁺		10 ⁺		12 ¹
	c	10 ⁺	7 ⁺					25 ⁺				4 ⁺
	a ₂	50 ³	44 ³		20 ¹	20 ²	44 ⁸	88 ¹¹		80 ³	29 ¹⁹	40 ⁶
<i>Sorbus aucuparia</i>	b ₁	10 ³	38 ⁴	60 ¹	20 ¹	40 ¹	67 ⁹	50 ⁴	3 ⁷	60 ¹	72 ⁴	42 ⁴
	b ₂	30 ²	50 ¹	60 ³	40 ²	60 ¹	45 ²		1 ³	30 ²	72 ²	37 ²
	b ₃	90 ²	63 ¹	60 ¹	100 ²	80 ¹	67 ¹			50 ¹	29 ²	6 ¹
	c	90 ¹	44 ¹	80 ⁺	90 ¹	60 ⁺	45 ⁺	25 ⁺	3 ⁺	40 ⁺	72 ¹	42 ¹
<i>Swida sericea</i>	b ₂		7 ¹⁰						1 ³	30 ³	15 ¹	7 ⁴
	b ₃		7 ²						1 ¹	20 ¹		4 ¹

Окончание табл. 2 [Table 2 (end)]

Виды [Species]	Ярус [Layer]	Основные типы лесных сообществ [Main forest community types]										В целом [Total]
		1.1	1.2	1.4	1.5	2.1	2.2	2.3	2.4	6.1	6.2	
<i>Viburnum opulus</i>	b ₃ с		13 ¹				22 ⁺ 11 ⁺	25 ¹ 13 ⁺		40 ¹	29 ⁺	13 ¹ 2 ⁺
Число описаний [Number of relevés]		10	16	5	10	5	9	8	4	10	7	91

Примечание. Ярусы: a₂ – подчиненный ярус древостоя, b₁, b₂, b₃ – высокий, средневысотный и низкий подрост и подлесок, с – ювенильные особи в травяно-кустарничковом ярусе. Типы сообществ: 1 – ельники: 1.1 – кислично-черничные, ландышевые и орляковые, 1.2 – крупнопоротниковые приручейные, 1.4 – хвощовые сфагновые, 1.5 – черничные сфагновые и сфагново-зеленомошные; 2 – сосняки: 2.1 – брусничные и черничные зеленомошные, 2.2 – кислично-черничные, ландышевые и орляковые, 2.3 – черноольховые крупнопоротниковые приручейные, 2.4 – хвощовые сфагновые; 6 – черноольшаники: 6.1 – кисличные осушенные, 6.2 – таволговые приручейные. Типы 2.4 и 6.2 рассмотрены совместно с однотипными березняками (из *Betula pubescens*) с целью укрупнения выборки. При расчетах для столбца «В целом» учтены и иные типы сообществ помимо перечисленных. Для видов приводятся постоянство (%) и (в надстрочном регистре) среднее ненулевое проективное покрытие (%). Для типов сообществ с числом описаний менее 5 постоянство выражено как абсолютное число регистраций. Постоянство либо покрытие менее 0,5% отмечены знаком «+».

[Notes. Layers: a₂ - Subordinate tree layer, b₁, b₂, b₃ - High (3–10 m), intermediate, and low (< 1 m) regrowth and shrubs, respectively, c - Juvenile specimens in the field layer. Community types: 1 - Norway spruce forests: 1.1 - Sorrel-bilberry, May lily, and bracken, 1.2 - Tall-fern riverine, 1.4 - Horsetail-peatmoss, 1.5 - Bilberry-peatmoss and peatmoss-feathermoss; 2 - Scots pine forests: 2.1 - Foxberry- and bilberry-feathermoss, 2.2 - Sorrel-bilberry, May lily, and bracken, 2.3 - Tall-fern riverine with black alder, 2.4 - Horsetail-peatmoss; 6 - Black alder forest swamps: 6.1 - Sorrel drained, 6.2 - Honeysweet riverine. Types 2.4 and 6.2 are treated together with the respective types of mountain birch forests with the aim of poll enlargement. Other community types found in the area, besides mentioned, are taken into account when calculating the “total” values in the last column. Constancy (%) and (in superscripts) the corresponding average non-zero cover (%) are given for species. Species occurrence is given as a number of relevés where the species is encountered for community types with relevé numbers less than 5. Constancy or cover values less than 0.5% are given as “+”].

Наибольшая (до 90%) встречаемость низких (<1 м) молодых кустов жимолости отмечена в ельниках кисличной группы ассоциаций (кислично-черничных, ландышевых и орляковых) вдали от водотоков (рис. 2); здесь же наиболее часто встречаются и ювенильные особи вида. Судя по видовому составу приземных ярусов, кисличники вдали от водотоков достаточно близки к приручейным кисличникам по условиям увлажнения и богатства почв, отличаясь по влажности приземного слоя воздуха. В сосняках кислично-черничных и приручейных крупнопоротниковых, а также в осушенных черноольшаниках кисличных встречаемость *Lonicera nigra* несколько ниже, чем в аналогичных ельниках. Еще сильнее снижены встречаемость и покрытие вида в мезотрофных ельниках хвощовых и особенно черничных сфагновых (со *Sphagnum girgensohnii* Russ.); здесь почти всегда представлены только низкие, нередко угнетенные кусты. В то же время в приручейных черноольшаниках и березняках (из *Betula pubescens*) снижено покрытие жимолости, но не ее встречаемость близка к таковой в приручейных сосняках. Наконец, в сосняках черничных зеленомошных вид встречается редко и в малом обилии, а в сосняках и березняках хвощовых сфагновых практически отсутствует (см. табл. 2).



Рис. 2. Инвазия *Lonicera nigra* в ельнике кисличном при основании литоринового уступа берега Финского залива, памятник природы «Комаровский берег» (фото И.Б. Кучерова)
[Fig. 2. Invasion of *Lonicera nigra* in a sorrel spruce forest at the bottom of the Littorine bench of the Gulf of Finland shore, Komarovo Coast Nature Sanctuary (Photo by Ilya Kucherov)]

Таблица 3 [Table 3]

Средняя расчетная активность (%) доминирующих видов сосудистых растений в лесных сообществах памятника природы «Комаровский берег»
[Average activeness (%) of dominant vascular plants in different forest communities of Komarovo Coast Nature Sanctuary]

Виды [Species]	Основные типы сообществ [Main forest community types]										В це- лом [Total]
	1.1	1.2	1.4	1.5	2.1	2.2	2.3	3.3	6.1	6.2	
<i>Picea abies</i> (L.) Karst.	87	78	93	85	44	62	54	51	40	37	64
<i>Oxalis acetosella</i> L.	49	65	47	21	11	33	63	15	56	44	45
<i>Pinus sylvestris</i> L.	31	23	17	19	77	69	55	45	8	20	34
<i>Vaccinium myrtillus</i> L.	40	19	33	48	48	30	33	43	6	19	28
<i>Padus avium</i> Mill.	5	33	1	3	1	21	46	2	62	50	26
<i>Dryopteris expansa</i> (C. Presl) Fr.-Jenk. et Jermy	13	48	48	6		7	16	6	37	19	25
<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn.	1	23	19	2	2	6	28	3	64	61	24
<i>Sorbus aucuparia</i> L.	20	20	18	17	13	35	33	24	19	30	22
<i>Betula pubescens</i> Ehrh.	7	14	18	10	12	5	26	62	24	48	20
<i>Anemonoides nemorosa</i> (L.) Holub	3	29	10			3	39	8	32	33	18
<i>Lonicera nigra</i> L.	18	25	17	5	3	23	10	2	15	4	15
<i>Frangula alnus</i> Mill.	10	12	13	13	11	11	20	43	5	19	14
<i>Maianthemum bifolium</i> F.W. Schmidt	15	18	10	22	14	13	14	12	13	8	14
<i>Dryopteris carthusiana</i> (Vill.) H.P. Fuchs	13	18	4	9	3	8	16	12	13	16	12

Окончание табл. 3 [Table 3 (end)]

Виды [Species]	Основные типы сообществ [Main forest community types]										В це- лом [Total]
	1.1	1.2	1.4	1.5	2.1	2.2	2.3	3.3	6.1	6.2	
<i>Betula pendula</i> Roth	17	13		5	18	22	8	10	7	7	11
<i>Athyrium filix-femina</i> (L.) Roth	4	14	2	2		5	11	11	17	22	11
<i>Rubus idaeus</i> L.	5	10		1		9	12	1	27	23	11
<i>Equisetum sylvaticum</i> L.	4	7	10	2		3	8	44	11	15	10
<i>Trientalis europaea</i> L.	8	9	9	9	13	11	8	8	8	9	9
<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.	7	3	7	11	29	12	5	16	1	4	8
<i>Amelanchier spicata</i> (Lam.) C. Koch (ранг [rank] 53)	3	1		3		5	2	1	1	1	2
<i>Swida sericea</i> (L.) Holub (ранг [rank] 56)		2						5	7	1	2

Примечание. Виды ранжированы по средней расчетной активности и перечисляются в порядке убывания рангов для флоры в целом. Прочие обозначения, как в табл. 2.

[Note. Species are ranked according to their average activeness and listed in the descending order of their ranks in the total sanctuary flora. For other notes, see Table 2].

К наиболее эффективным распространителям семян *Lonicera*, как и многих других эндоорнитохорных таксонов деревьев и кустарников, относятся певчие птицы из семейств Turdidae и Sylviidae, заглатывающие сочные плоды целиком и переваривающие лишь их мякоть, но не сами семена [19–21]. Из числа видов птиц, обычных на территории «Комаровского берега» [10], питание плодами жимолостей документировано в литературе [12, 19, 22, 23] для зарянки (*Erithacus rubecula* (L.)), белобровика (*Turdus iliacus* L.), черного (*T. merula* L.) и певчего (*T. philomelos* Brehm) дроздов, славки-черноголовки (*Sylvia atricapilla* (L.)) и садовой славки (*S. borin* (Bodd.)). Тяготение *Lonicera nigra* к приручейным ельникам можно объяснить особенностями экологии как ее самой, произрастающей в аналогичных сообществах и в пределах аборигенного ареала [24], так и птиц, как минимум *Sylvia atricapilla*, *S. borin* и (отчасти) *Erithacus rubecula*. Эти птицы используют долины ручьев и просеки вдоль мелиоративных канав как миграционные «коридоры» в сомкнутом лесном массиве [12, 25]. Немалую роль играет и регулярная сеть самих канав, способствующая переносу опавших плодов дождевыми (а также перезимовавших семян – тальми) водами в направлении от уступа к заливу. Вместе с этим сквозь ельники крупнопоротниковые при основании склона уступа, изобилующие не только жимолостью, но также черемухой и высокой рябиной, наверняка проходят маршруты августовских и сентябрьских кочевков дроздов. Распространение *Lonicera nigra* в ельниках и сосняках кислично-черничных вдали от ручьев должно иметь преимущественно вторичный характер, что подтверждается и меньшей высотой кустов, т.е. их меньшим возрастом, поскольку экологические условия в кисличниках вдоль ручьев и вдали от них в целом достаточно близки. Известно, что основная масса семян эндоорнитохорных растений эффективно разносится на расстояния 50–300 м

от источника, и лишь единичные семена распространяются в радиусе до нескольких километров [19, 20, 21, 25]. Н.Н. Панасенко [26, 27] приводит для дроздов близкие цифры – 150–500 м.

Если в ельниках крупнопороотниковых, особенно приручейных, вхождение жимолости в состав подлеска не изменяет их привычного облика и структуры, то в ельниках кислично-черничных она формирует не типичный для них ярус подлеска.

При сопоставлении расчетной активности *L. nigra* с таковой иных видов флоры «Комаровского берега» (табл. 3) жимолость выходит на 11-е место из 184 возможных в общем ранжированном списке, уступая *Picea abies* и другим основным лесообразователям, а также *Padus avium*, *Sorbus aucuparia*, *Oxalis acetosella* и *Vaccinium myrtillus*, но опережая столь активные виды, как *Frangula alnus*, *Rubus idaeus*, *Dryopteris carthusiana* и *Athyrium filix-femina*. При этом в ценофлорах ельников и сосняков кислично-черничных, а также ельников крупнопороотниковых ранг активности *Lonicera nigra* достигает 6, т.е. это один из самых активных видов в составе соответствующих ценофлор в границах ООПТ.

При этом, однако, выраженного влияния *L. nigra* на какие-либо иные виды растений проследить не удалось – ни визуально, ни при анализе корреляций между проективными покрытиями видов в выборке из 83 описаний (всех синтаксонов, хотя бы в одном из описаний которых отмечена *L. nigra*). Лишь для одного вида (*Frangula alnus*) зафиксирована статистически значимая (при доверительной вероятности $p=0,95$), но пренебрежимо слабая (с силой влияния фактора $r^2<0,05$) и скорее случайная негативная зависимость его покрытия от такового *L. nigra*. Еще для 9 видов отмечены столь же слабые ($r^2<0,11$) позитивные статистически значимая зависимости. Их можно либо объяснить сходством требований этих видов к влажности и богатству почвы (*Oxalis acetosella*, *Convallaria majalis*, *Carex digitata* L., *Solidago virgaurea* L., *Sciuro-hypnum curtum* (Lindb.) Ignatov et Huttunen, *S. reflexum* (Starke) Ignatov et Huttunen – мезотрофные мезофиты, как и *L. nigra*), либо считать косвенно отражающими маршруты перемещения птиц сквозь лесной полог (орнитохорные *Ribes alpinum* и *Swida sericea*). Корреляция между покрытием *Lonicera nigra* и подроста *Acer platanoides* L. (вдоль побережья залива чаще адвентивного, чем аборигенного, при этом анемо-, а не орнитохорного), возможно, обусловлена сходным влиянием потепления климата на эти виды. Стоит повториться, что все упомянутые связи очень слабы и по общепринятым меркам [9] вообще не заслуживают упоминания.

Несмотря на сказанное выше, следует обратить внимание на отсутствие аборигенной *Lonicera xylosteum* в характерных для нее сообществах в пределах «Комаровского берега», хоть и редко, но регулярно встречающейся в лесах двух других обследованных южнотаежных ООПТ Карельского перешейка (см. табл. 1). *L. xylosteum* – намного более экологически требовательный вид, нежели *L. nigra*, с не столь широкими амплитудами по градиентам богатства

и кислотности почвы, но в то же время и с большей потребностью в летнем тепле [13]. Нельзя исключить, что в недавнем прошлом *L. nigra* вытеснила *L. xylosteum*. Однако для подтверждения этого нужны как минимум наблюдения в экспериментальных смешанных посадках. Необходим также мониторинг на территории памятника природы возможного влияния *L. nigra* на другие аборигенные виды растений.

За пределами «Комаровского берега» и заказника «Озеро Щучье» *L. nigra* отмечена в сопредельном Выборгском районе Ленинградской обл. Известен локальный очаг натурализации вида в сосняке орляковом по краю верхового болота около бывшего пионерлагеря в заказнике «Болото Озерное» (средняя тайга) [Г.Ю. Конечная, личн. сообщ.]. Также сделаны единичные находки в районе оз. Нахимовское и близ п. Приветнинское [сборы в фондах LE]. Н.Н. Цвелев [16] приводит вид и для Центрального ботанико-географического района области (Приневская равнина, бассейны рек Тосны, Мги и Тигоды, болотно-лесная равнина между южным побережьем Финского залива и уступом глинта), однако подтверждающих это сборов в фондах LE не найдено. Далее на юг и юго-запад находки вида отсутствуют вплоть до северо-восточной границы первичного ареала на Украине.

Amelanchier spicata

Первичный ареал этого вида окончательно не выявлен. Он либо завезен в XVIII в. в Европу с востока Северной Америки, где он широко распространен [28, 29], либо возник в XIX в. уже на территории Европы в результате гибридизации завезенных туда североамериканских видов, предположительно *A. alnifolia* (Nutt.) Nutt. и *A. humilis* Wiegand. Последнюю гипотезу подтверждают данные молекулярно-генетических исследований [30]. На территории Восточной Европы *A. spicata* проявляет себя как полизональный, широко распространившийся из орнаментальной и плодовой культуры вид, тепло- и светолюбивый олигомезотрофный мезофит с очень широкой амплитудой по градиенту кислотности почвы, способный успешно произрастать также на переувлажненных почвах [31].

Amelanchier spicata внесена в «Черные книги» Средней России [32] и ряда ее областей [33, 34], а также Сибири [35]. В Европейской России она активно расселяется начиная от подзоны южной тайги [1, 36] на юг до степного Причерноморья [27, 37]. Этот геоксильный кустарник нередко трансформирует населенные им сосняки, формируя не свойственный им густой монодоминантный подлесок. Последнее отмечено как минимум в Тверской [33, 36], Брянской [27] и Воронежской [1] областях. В ряде случаев доминирование ирги приводит к флористическому обеднению сообществ: подтверждены случаи элиминации *Vaccinium myrtillus* [38], *Linnaea borealis*, *Goodyera repens* и других бореальных видов [1, 27] и даже формирование мертвопокровных сосняков [1, 39]. В Брянской области вид активно внедряется как в сосновые, так и в широколиственные леса и производные от

последних осинники [27]. В средней тайге *Amelanchier spicata* теряет свою агрессивность, в Карелии не натурализуясь севернее г. Петрозаводска [1], что подтверждается, в частности, в заповеднике «Кивач», где по состоянию на 2000 г. из дендрария на усадьбе заповедника единично дичала *A. alnifolia*, но не *A. spicata* [40].

На юге Сибири вид активно внедряется в нарушенные сообщества в ряде районов Омской и на юге Томской области. Однако здесь он пока еще не представляет такой угрозы, как в центральном и южном районах Европейской России. Отдельные случаи натурализации в пригородных лесах отмечены на восток вплоть до юго-западной части Иркутской области [35].

Активная инвазия *A. spicata* в южной тайге заказника «Лисинский» предположительно началась не ранее 1990-х гг., видимо, опять-таки в связи с изменениями климата. Будучи студентом Лесотехнической академии, автор проходил полевые практики в Лисинском лесхозе в 1985–1987 гг. За все три года в ходе неоднократного посещения тех же кварталов, что и позднее в 2017 г., *A. spicata* не отмечена ни разу. Не помнят ее и преподаватели, проводившие практику в те годы.

Источником инвазии могли послужить плодоносящие кусты ирги на территории п. Лисино-Корпус. При обследовании 2017 г. наиболее выраженное внедрение ирги в леса (прежде всего, еловые) отмечено на протяжении 3–4 км к северу от поселка вдоль дороги на Зверинец (бывшие охотничьи угодья Александра II). Однако отдельные растения отмечались и вдоль дорог, ведущих в другие стороны от поселка в радиусе до 8–10 км, а также в глубине лесных массивов.

Наблюдаемое распределение *Amelanchier spicata* по типам лесных сообществ несколько различается в разных ярусах подлеска. Высокие, плодоносящие кусты ирги (высотой до 5–7 м, с покрытием иногда до 3–5%) чаще всего отмечались в ельниках кисличных, а также хвощовых сфагновых вдоль дороги на Зверинец, столь же часто, но в меньшем обилии – в сосняках кисличных и кислично-черничных. Намного реже высокая ирга встречалась в сосняках хвощовых сфагновых и в осинниках кисличных и ландышевых, очень редко, зато (в силу близости к поселку) сравнительно обильно, – в пойменных сероольшаниках. В ельниках приручейных и болотно-травяных высокая ирга не отмечена, равно как и в березняках, несмотря на обилие в этих сообществах многих аборигенных видов орнитохорных кустарников (табл. 4).

Наиболее обычной *A. spicata* оказалась в составе средневысотного подлеска, особенно в сосняках кисличных и вейниковых вдоль дороги в д. Машино к юго-востоку от п. Лисино-Корпус и объездной дороги вокруг последнего. Здесь отмечены наибольшие значения проективного покрытия вида в составе яруса (до 2–3%). Столь же часто, но всегда с меньшим покрытием «средневысотная» ирга отмечена в ельниках кисличных, осинниках, ельниках и сосняках хвощовых сфагновых. В ельниках приручейных и болотно-травяных вид в составе яруса оказался намного более редким, а в березняках и сероольшаниках он не отмечен ни разу. Плодоношение для «средневысотной» ирги на обследованной территории не характерно.

Таблица 4 [Table 4]

**Распределение орнитохорных видов деревьев и кустарников
по типам лесных сообществ заказника «Лисинский»
[Distribution of bird-dispersed trees and shrubs along different forest
community types in Lisino Partial Nature Reserve]**

Виды [Species]	Ярус [Layer]	Основные типы лесных сообществ [Main forest community types]									В целом [Total]	
		1.1	1.2	1.3	1.4	2.2	2.4	3.1	3.2	4		5
<i>Amelanchier spicata</i>	b ₁	27 ²			27 ²	30 ¹	18 ¹			14 ²	7 ⁵	9 ²
	b ₂	27 ¹	10 ¹	18 ⁺	27 ¹	30 ³	28 ¹			28 ¹		12 ¹
	b ₃	35 ¹		9 ¹	16 ¹	30 ⁺	18 ¹	38 ⁺	20 ⁺	32 ¹	14 ⁺	14 ¹
<i>Daphne mezereum</i>	c	14 ⁺		9 ⁺	8 ⁻	30 ⁺				18 ⁺		6 ⁺
	b ₂	39 ⁺	40 ⁺	9 ⁺				63 ¹	20 ⁺	50 ⁺		13 ⁺
<i>Frangula alnus</i>	c	8 ⁺								5 ⁺		2 ⁺
	b ₁		10 ¹		16 ¹		9 ¹					2 ²
	b ₂	23 ¹	30 ¹	46 ²	69 ²	10 ¹	46 ²	25 ¹	40 ¹	23 ⁺	7 ⁺	21 ¹
	b ₃	35 ¹	20 ¹	64 ¹	50 ¹	60 ⁺	46 ¹	25 ⁺	40 ¹	46 ¹		25 ¹
<i>Lonicera xylosteum</i>	c	19 ⁺		28 ⁺	43 ⁺	20 ⁺	37 ⁺	13 ⁺		23 ⁺		13 ⁺
	b ₂	2 ³	10 ³									
	b ₃	33 ¹	50 ¹	9 ¹	4 ¹	10 ⁺		50 ¹		55 ²	20 ²	15 ¹
<i>Padus avium</i>	c	19 ⁺	20 ⁺							18 ⁺	7 ⁺	6 ¹
	a ₁										40 ³⁸	2 ³³
	b ₁	6 ⁹	40 ¹⁵	9 ¹		10 ⁵		13 ⁵	60 ²⁶	5 ²	80 ³⁰	9 ¹⁸
	b ₂	12 ⁴	50 ⁶	9 ¹		10 ⁵		38 ²	40 ⁷	41 ²	60 ⁷	14 ⁴
	b ₃	19 ²	60 ²	37 ¹	12 ⁺	30 ¹		88 ²	60 ¹	59 ¹	60 ⁴	21 ²
<i>Ribes alpinum</i>	c	8 ⁺	20 ⁺		4 ⁺	10 ²		38 ⁺	20 ¹	37 ⁺	27 ²	8 ¹
	b ₂	23 ¹	20 ¹					13 ¹		9 ¹	7 ³	8 ¹
<i>R. nigrum</i>	c	6 ⁺								5 ⁺		2 ⁺
	b ₂	10 ¹	80 ²	18 ¹				25 ¹	60 ¹⁵	14 ⁺	7 ²	9 ³
<i>R. spicatum</i>	c	2 ⁺										+ ⁺
<i>Sambucus racemosa</i>	b ₂	2 ⁺		9 ¹								1 ¹
	b ₂					10 ⁺					7 ⁺	+ ⁺
<i>Sorbus aucuparia</i>	a ₂	35 ⁴	10 ¹⁵	18 ¹	19 ²	30 ²	9 ⁹	38 ⁹	40 ²	5 ²	14 ¹	14 ⁸
	b ₁	79 ⁷	80 ⁹	73 ⁴	77 ⁶	80 ⁸	55 ³	50 ⁴	60 ¹	59 ⁶	47 ⁴	39 ⁶
	b ₂	91 ⁴	80 ²	73 ²	85 ⁵	100 ²	55 ²	75 ⁵	60 ¹	91 ⁴	14 ¹	46 ⁴
	b ₃	85 ³	50 ²	73 ²	62 ¹	70 ¹	46 ²	88 ²	40 ¹	91 ²	27 ¹	42 ²
<i>Swida alba</i>	c	93 ¹	90 ¹	64 ¹	66 ¹	90 ¹	55 ⁺	88 ¹	60 ¹	91 ¹	20 ⁺	43 ¹
	b ₁	2 ⁴										+ ⁴
	b ₂	2 ²			8 ¹	20 ²			20 ¹			2 ¹
	b ₃	2 ⁺			8 ¹	10 ¹	9 ¹					1 ¹
<i>Viburnum opulus</i>	c						9 ⁺					+ ⁺
	b ₂	4 ⁺	30 ¹	37 ¹	8 ⁺					28 ¹	14 ⁺	6 ¹
	c	14 ¹	10 ³	28 ⁺	4 ¹	10 ⁺				23 ¹	7 ²	6 ¹
Число описаний [Number of relevés]		52	10	11	26	10	11	8	5	22	15	342

Примечание. Типы сообществ: 1 – ельники: 1.1 – кислично-черничные, кисличные и вейниковые, 1.2 – крупнопоротниковые и таволговые приручейные, 1.3 – болотно-травяные (мезоэвтрофные), 1.4 – хвощовые сфагновые (мезотрофные); 2 – сосняки: 2.2 – кислично-черничные, кисличные и вейниковые, 2.4 – хвощовые сфагновые; 3 – березняки: 3.1 – кисличные и вейниковые (из *Betula pendula*), 3.2 – крупнопоротниковые и таволговые приручейные (из *B. pendula*, *B. pubescens*); 4 – осинники кисличные и ландышевые; 5 – сероольшаники и черемушники приручейные. Прочие обозначения, как в табл. 2.

[Note. Community types: 1 - Norway spruce forests: 1.1 - Sorrel-bilberry, sorrel, and reedgrass, 1.2 - Tall-fern and honeysweet riverine, 1.3 - Swamp-herb (mesoeutrophic), 1.4 - Horsetail-peatmoss (mesotrophic); 2 - Scots pine forests: 2.2 - Sorrel-bilberry, sorrel, and reedgrass, 2.4 - Horsetail-peatmoss; 3 - Birch forests: 3.1 - Sorrel and reedgrass (of *Betula pendula*), 3.2 - Tall-fern and honeysweet riverine (of *B. pendula* and/or *B. pubescens*); 4 - Sorrel and May lily aspen forests; 5 - Grey alder and bird cherry riverine woodlands. For other notes and abbreviations, see Table 2].

В составе низкого подлеска *A. spicata* встречалась преимущественно в лесах кисличной группы ассоциаций, во всех формациях от сосняков до осинников. Существенно меньшее число регистраций сделано в сосняках и ельниках хвощовых сфагновых. В ельниках болотно-травяных «низкая» ирга очень редка на приствольных повышениях и выворотнях, а в приручейных вообще отсутствует, возможно, из-за угнетающего влияния высокотравья. Ювенильные особи ирги в травяно-кустарничковом ярусе встречены в основном в сосняках кислично-черничных и кисличных и в осинниках, реже в ельниках кисличных, очень редко в болотно-травяных и хвощовых сфагновых, в приручейных лесах не отмечены ни разу (см. табл. 4).

В сосняках и ельниках черничных зеленомошных, приуроченных к изолированным флювиогляциальным песчаным грядам, и в сосняках кустарничковых сфагновых по болоту (не включены в табл. 4 как отдельные столбцы) ирга не отмечена.

Таким образом, во всех ярусах подлеска *A. spicata* оказалась характерной для ельников и сосняков кисличных, ельников хвощовых сфагновых и осинников. Из сказанного также видно, что на территории ООПТ вид в целом не характерен для приручейных лесов, чаще встречаясь в лесах на ровных участках водоразделов, равно незаболоченных и заболоченных, особенно вдоль дорог.

Наиболее успешными распространителями семян *Amelanchier spicata* выступают дрозды, прежде всего рябинник (*Turdus pilaris* L.), также *T. merula* и *T. philomelos* [12, 19, 23, 26, 27]. При прохождении через пищеварительный тракт дроздов семена ирги не только не повреждаются, но, более того, стратифицируются, что ведет к повышению их всхожести. Как уже сказано выше, эффективный разнос семян дроздами происходит на расстояния 150–500 м, иногда до нескольких километров от источника [26, 27]. Рябинники, как правило, не используют долины рек и ручьев в качестве излюбленных миграционных коридоров [12], но охотно мигрируют вдоль дорог [11]. Во время работы вдоль дороги на Зверинец неоднократно приходилось видеть стайки *T. pilaris* и пары *T. merula*, перелетавшие вдоль дороги и привычно садившиеся на высокие кусты ирги и рябины. Отмечены и отдельные особи *T. iliacus*, а из других птиц, употребляющих в пищу плоды ирги, – рябчики (*Tetrastes bonasia* (L.)) [12, 23] и снегири (*Pyrrhula pyrrhula* (L.)). Последние, однако, семеноядны, как и большинство видов Fringillidae [12, 19–21, 23], и могут способствовать расселению *Amelanchier spicata* лишь случайно.

Трансформирующее влияние *A. spicata* на структуру сообществ выражено вдоль дорог, где вырастают самые высокие кусты, а также в ельниках хвощовых сфагновых, где ирга может заполнять ветровальные «окна» небольшого диаметра, обычно занятые *Sorbus aucuparia* или *Salix caprea* либо вообще пустующие [41]. При этом, однако, речь может идти лишь о непривычном облике сообществ; нельзя сказать, что *A. spicata* вытесняет какой-либо из аборигенных видов, в частности, *Sorbus aucuparia* или *Vaccinium*

myrtilus. Последние существенно превосходят иргу по активности как во флоре ООПТ в целом, так и в отдельных ценофлорах. Максимальная активность ирги отмечена в сосняках кисличных (9%), где она близка к активности такого аборигенного неморального вида, как *Galeobdolon luteum*. Несколько ниже активность *A. spicata* в ельниках кисличных и хвощовых сфагновых (6–7%; табл. 5).

Таблица 5 [Table 5]

**Средняя расчетная активность (%) доминирующих видов
сосудистых растений в лесных сообществах заказника «Лисинский»**
[Average activeness (%) of dominant vascular plants
in different forest communities in Lisino Partial Reserve]

Виды [Species]	Основные типы лесных сообществ [Main forest community types]										В целом [Total]
	1.1	1.2	1.3	1.4	2.2	2.4	3.1	3.2	4	5	
<i>Picea abies</i> (L.) Karst.	85	81	86	83	65	68	64	38	70	14	46
<i>Oxalis acetosella</i> L.	50	40	34	25	46	14	42	19	38	11	21
<i>Pinus sylvestris</i> L.	19	7	6	23	79	72	12	5	5	1	20
<i>Sorbus aucuparia</i> L.	36	34	24	32	32	18	34	15	31	13	18
<i>Betula pendula</i> Roth	26	14	31	8	13	12	74	48	17	2	16
<i>Vaccinium myrtilus</i> L.	22	11	21	28	32	46	13		24		16
<i>Populus tremula</i> L.	15	11	13	12	5	2	10		77	0,1	14
<i>Equisetum sylvaticum</i> L.	13	25	38	39	11	32	14	23	8	5	13
<i>Calamagrostis arundinacea</i> (L.) Roth	30	9	20	16	22	7	42	7	24	0,1	12
<i>Betula pubescens</i> Ehrh.	6	17	16	24	9	28	8	21	7	1	11
<i>Padus avium</i> Mill.	6	27	3	1	7		16	39	9	63	10
<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.	16	8	20	24	14	20	9	4	12		10
<i>Dryopteris expansa</i> (C.Presl) Fr.-Jenk. et Jermy	17	27	18	23	14	6	11	27	5	3	9
<i>Rubus saxatilis</i> L.	20	20	17	11	14	3	25	9	22	0,1	9
<i>Alnus incana</i> (L.) Moench	4	14	6	4	4	1	2	29	1	67	8
<i>Dryopteris carthusiana</i> (Vill.) H.P.Fuchs	15	16	15	14	13	7	14	13	12	9	8
<i>Convallaria majalis</i> L.	16	7	8	3	23	4	25	2	29	2	8
<i>Galeobdolon luteum</i> Huds.	9	15	1	1	6	1	15	28	11	16	6
<i>Athyrium filix-femina</i> (L.) Roth	7	25	26	11	4	2	1	11	6	8	6
<i>Amelanchier spicata</i> (Lam.) C.Koch (ранг [rank] 57)	7	1	2	6	9	4	1	1	5	3	3
<i>Lonicera xylosteum</i> L. (ранг [rank] 60)	4	7	1	1	1		6	11	9	6	3

Примечание. Обозначения, как в табл. 4, порядок и объем видов, как в табл. 3.

[Note. For abbreviations, see Table 4. For species order and volume, see Table 3].

При анализе корреляций между проективными покрытиями видов в выборке 222 видов из 199 описаний отмечены статистически значимые, но, как и в случае *Lonicera nigra* (см. выше), лишь пренебрежимо слабые ($r^2 < 0,1$; $p = 0,95$) позитивные связи между покрытиями *Amelanchier spicata* и других орнитофорных видов (*Frangula alnus* и *Swida alba*). Столь же слабы позитивные связи между покрытиями *Amelanchier spicata* и ряда аборигенных мезотрофных мезофитов, включая *Trientalis europaea*, *Solidago virgaurea*,

Maianthemum bifolium, *Oxalis acetosella*, *Fragaria vesca* L., ювенильные особи *Picea abies* и *Sorbus aucuparia*. Негативные зависимости между покрытиями ирги и какого-либо из видов в составе приземных ярусов вообще не выявлены, что подтверждается и данными визуальных наблюдений. Таким образом, на данный момент пока еще нет оснований считать, что *Amelanchier spicata* оказывает какое-либо значимое трансформирующее влияние на лесные сообщества заказника «Лисинский». Впрочем, скорее всего, мы наблюдаем лишь начальный этап инвазионного процесса.

На Карельском перешейке на территории «Комаровского берега» и заказника «Гладышевский» ирга встречается редко и всегда в малом обилии (см. табл. 1), чаще всего в ельниках черничных сфагновых и сфагново-зеленомошных (где отчетливее всего заметна ее чужеродность) и в сосняках кислично-черничных и ландышевых (см. табл. 2). Здесь *Amelanchier spicata* все еще нельзя отнести к активным видам (см. табл. 3), однако есть указания на массовую натурализацию ирги в районе между Сестрорецком и Зеленогорском [15], куда попадает и «Комаровский берег». В заказнике «Линдуловская роща» *A. spicata* отмечена в единственном местонахождении на границе п. Роцино и не расселяется ни вдоль дорог, ни вглубь леса (см. табл. 1). На юге и юго-востоке области одичавшая ирга известна с послевоенных лет [41], однако никаких данных о ценотической приуроченности вида не приводится.

Заключение

Вышеприведенные примеры свидетельствуют в первую очередь о непредсказуемости процессов биологических инвазий. В условиях меняющегося климата любая из них может начаться неожиданно. Внедриться в аборигенные сообщества может не только недавний вселенец, но и давно присутствующий на данной территории адвентивный или культивируемый вид, локальная инвазия которого до последнего времени не рассматривалась как угроза (пример *Lonicera nigra*). В то же время активность видов, широко известных своим негативным влиянием на природные сообщества, может быть не столь высока вблизи от климатически обусловленных границ их потенциальных ареалов (пример *Amelanchier spicata* на Карельском перешейке сравнительно с заказником «Лисинский»). Обращает на себя внимание и факт внедрения инвазионных видов в сообщества заболоченных, в том числе сфагновых еловых лесов, ценофлоры которых на Европейском Севере и Северо-Западе до недавнего времени служили эталоном устойчивости, особенно в пределах ООПТ.

По всей видимости, при расселении низких орнитохорных кустарников, подобных *Lonicera nigra*, важную роль играют изначальный разнос их диаспор мелкими певчими птицами вдоль водотоков, а также вторичная гидрохория и барохория. При расселении высоких кустарников типа *Amelanchier spicata* основную роль играют дрозды, активно кочующие вдоль дорог и просек в конце лета и начале осени.

Рассмотренные примеры инвазий свидетельствуют также о необходимости регулярного мониторинга состояния популяций как адвентивных, так и аборигенных видов растений в пределах каждой ООПТ (по возможности). Обычно такой мониторинг проводится на постоянных пробных площадках. Однако для раннего выявления инвазионных видов более продуктивным может оказаться маршрутный метод. Репрезентативную сеть таких маршрутов следует спланировать заранее.

Литература

1. Морозова О.В., Виноградова Ю.К. *Amelanchier spicata* – Ирга колосистая // Самые опасные инвазионные виды России (ТОП–100). М. : Товарищество научных изданий КМК, 2018. 688 с.
2. Атлас особо охраняемых природных территорий Санкт-Петербурга / отв. ред. В.Н. Храмцов, Т.В. Ковалева, Н.Ю. Нацваладзе. СПб. : Марафон, 2013. 176 с.
3. Особо охраняемые природные территории Ленинградской области. 2-е изд. СПб. : ИП Рогожин И.В., 2018. 312 с.
4. Кучеров И.Б. Ценоотическое и экологическое разнообразие светлохвойных лесов средней и северной тайги Европейской России. СПб. : Марафон, 2019. 568 с.
5. Сукачев В.Н. Руководство к исследованию типов лесов. 3-е изд. М. : Сельхозгиз, 1931. 328 с.
6. Юрцев Б.А. Флора Сунтар-Хаята: Проблемы истории высокогорных ландшафтов Северо-Востока Сибири. Л. : Наука, 1968. 236 с.
7. Куприянов А.Н., Казьмина С.С., Зверев А.А. Изменение флористического состава растительных сообществ Караканского хребта вблизи угольных разрезов // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2018. № 43. С. 66–88. doi: [10.17223/19988591/43/4](https://doi.org/10.17223/19988591/43/4)
8. Зверев А.А. Информационные технологии в исследованиях растительного покрова. Томск : Изд-во Томского государственного университета, 2007. 304 с.
9. Шмидт В.М. Математические методы в ботанике. Л. : Изд-во Ленинградского государственного университета, 1984. 288 с.
10. Комаровский берег – комплексный памятник природы / ред. Е.А. Волкова, Г.А. Исаченко, В.Н. Храмцов. 2-е изд., испр. и доп. СПб. : БИН РАН – ЗИН РАН – СПбГУ, 2004. 92 с.
11. Мальчевский А.С., Пукинский Ю.Б. Птицы Ленинградской области и сопредельных территорий: История, биология, охрана. Т. 2: Певчие птицы. Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1983. 504 с.
12. Птицы Советского Союза. Т. 4: Отряд Куриные. Отряд Гусеобразные. М. : Сов. наука, 1952. 641 с.; Т. 5: Отряд Воробьиные. М. : Сов. наука, 1954. 803 с.; Т. 6: Отряд Воробьиные (окончание). М. : Сов. наука, 1954. 792 с.
13. Ellenberg H., Weber H.E., Düll R., Wirth W., Werner W., Paulißen D. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. 2 Aufl. // Scripta Geobotanica. 1992. Bd 18. S. 1–258.
14. Meusel H., Jäger E.J., Bräutigam S., Knapp H.-D., Rauschert S., Weinert R., Seidel D., Stölzer J. Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora. Jena; Stuttgart; N.Y. : Gustav Fischer, 1992. Bd 3. 333 S.
15. Иллюстрированный определитель растений Ленинградской области / ред. А.Л. Буданцев, Г.П. Яковлев. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2006. 799 с.
16. Цвелев Н.Н. Определитель сосудистых растений Северо-Западной России (Ленинградская, Псковская и Новгородская области). СПб. : Изд-во СПХФА, 2000. 781 с.
17. Морозова О.В., Стародубцева Е.А., Царевская Н.Г. Адвентивная флора Европейской России: итоги инвентаризации // Известия Российской академии наук. Серия географическая. 2008. № 5. С. 85–94.

18. Погиба С.П. Жимолость. М. : Агропромиздат, 1987. 48 с.
19. Левина Р.Е. Способы распространения плодов и семян. М. : Изд-во Московского государственного университета, 1957. 358 с.
20. Whelan C.J., Marquis R.J., Wenny D. Ecosystem services provided by birds // *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008. Vol. 1134. P. 25–60.
21. Девятов А.Г. Репродуктивная экология семенных растений. М. : МАКС Пресс, 2014. 104 с.
22. Müller-Schneider P. Verbreitungsbiologie der Blütenpflanzen Graubündens // *Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der Eidg. Techn. Hochschule, Stiftung Rübél, in Zürich*. 1986. Hf. 85. S. 1–263.
23. Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa. Vol. 2: Hawks to bustards. Oxford; N.Y. : Oxford University Press, 1980. 695 p.; Vol. 5: Tyrant flycatchers to thrushes. Oxford; N.Y. : Oxford University Press, 1988. 1063 p.; Vol. 6: Warblers. Oxford; N.Y. : Oxford University Press, 1992. 728 p.
24. Пояркова А.И. Род *Lonicera* L. – Жимолость // *Флора европейской части СССР* / под ред. Ан.А. Федорова. Л. : Наука, 1978. Т. 3. С. 16–20.
25. Кучерова И.Б. Географическая изменчивость ценотической приуроченности растений и ее причины (на примере лесов Европейского Севера) // *Журнал общей биологии*. 2003. Т. 64, № 6. С. 479–500.
26. Панасенко Н.Н., Шумик А.Н. Инвазия *Amelanchier spicata* в лесные сообщества Брянской области: консортивные связи и фитоценотические отношения // *Актуальные проблемы естественных наук: сборник статей памяти И.С. Михальченко*. Брянск : РИО Брянского государственного университета, 2009. С. 155–160.
27. Булохов А.Д., Ивенкова И.М., Панасенко Н.Н. Антропогенная растительность Брянской области. Брянск : РИСО Брянского государственного университета, 2020. 312 с.
28. Binggeli P. Plants of the Pacific Northwest in Western Europe // *Botanical electronic news*. 1998. № 195. URL: <https://www.ou.edu/cas/botany-micro/ben/ben195.html> (accessed: 10.12.2020).
29. Kartesz J.T. The biota of North America program (BONAP) // *North American Plant Atlas*. Chapel Hill : University of North Carolina, 2015. URL: <http://bonap.net/napa> (дата обращения: 12.12.2020).
30. Куклина А.Г., Кузнецова О.И., Шанцер И.А. Молекулярно-генетическое исследование инвазионных видов ирги (*Amelanchier* Medik.) во вторичном ареале // *Российский журнал биологических инвазий*. 2018. № 1. С. 51–61.
31. Цыганов Д.Н. Фитоиндикация экологических режимов в подзоне хвойно-широколиственных лесов. М. : Наука, 1983. 198 с.
32. Виноградова Ю.К., Майоров С.Р., Хорун Л.В. Черная книга флоры Средней России (чужеродные виды растений в экосистемах Средней России). М. : ГЕОС, 2009. 502 с.
33. Виноградова Ю.К., Майоров С.Р., Нотов А.А. Черная книга флоры Тверской области: чужеродные виды растений в экосистемах Тверского региона. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2011. 292 с.
34. Решетникова Н.М., Майоров С.Р., Крылов А.В. Черная книга Калужской области. Сосудистые растения. Калуга : Ваш Дом, 2019. 342 с.
35. Черная книга флоры Сибири / науч. ред. Ю.К. Виноградова ; отв. ред. А.Н. Куприянов. Новосибирск : Гео, 2016. 440 с.
36. Нотов А.А. Адвентивный компонент флоры Тверской области: динамика состава и структуры. Тверь : Тверской государственный университет, 2009. 473 с.
37. Opalko A.I., Andrienko I.D., Opalko O.A. The representatives of *Amelanchier* Medik. genus in Ukraine // *Вестник Волгоградского государственного университета*. Серия 11: Естественные науки. 2015. № 1 (11). С. 15–33.

38. Weber E. Invasive plant species of the world: A reference guide to environmental weeds. Wallingford : CABI Publ., 2003. 548 p.
39. Куклина А.Г. Натурализация североамериканских видов ирги (*Amelanchier* Medik.) во вторичном ареале // Российский журнал биологических инвазий. 2011. № 1. С. 52–59.
40. Кучеров И.Б., Милевская С.Н., Тихомиров А.А. Сосудистые растения заповедника «Кивач» (Аннотированный список видов) // Флора и фауна заповедников. М. : ИПЭЭ РАН, 2000. Вып. 64. 108 с.
41. Сергиевская Е.В. Сем. Rosaceae – Розоцветные // Флора Ленинградской области / ред. Б.К. Шишкин. Л. : Изд-во Ленинградского государственного университета, 1961. Т. 3. С. 20–69.

Поступила в редакцию 17.01.2021 г.; повторно 22.04.2021 г.;
принята 27.05.2021 г.; опубликована 29.06.2021 г.

Авторский коллектив:

Кучеров Илья Борисович, д-р биол. наук, с.н.с. лаборатории общей геоботаники, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН (Россия, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 2).
ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-4827-4575>
E-mail: atragene@mail.ru, IKuchеров@binran.ru

For citation: Kucherov IB. Invasions of bird-dispersed shrub species in specially protected natural reservations of Saint-Petersburg and Leningrad Region. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;54:21-44. doi: 10.17223/19988591/54/2 In Russian, English Summary

Илья В. Кучеров

V.L. Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation

Invasions of bird-dispersed shrub species in specially protected natural reservations of Saint-Petersburg and Leningrad Region

The research deals with recent invasions of bird-dispersed shrubs in specially protected natural reservations of St.Petersburg and Leningrad Region. The results of bird-dispersed woody species inventory in 5 partial nature reserves and nature sanctuaries of the area (See Fig. 1), based upon the extensive phytocoenological research data of 2014–2018, are given (See Table 1). Out of the adventive shrub species listed, the two most aggressive invaders were chosen according to their constancy and abundance in natural forest communities. These are *Lonicera nigra* in Komarovskiy Bereg [Komarovo Coast] Nature Sanctuary and *Amelanchier spicata* in Lisinskiy [Lisino] Partial Nature Reserve.

For this purpose, distributions of these species are traced along with different forest types they invade, paying attention to species constancy and projective cover in different layers of forest communities (See Tables 2 and 4). Values of intralandscape species activeness, based upon the proper relevé sets, were also calculated for both aboriginal and adventitious plant species from different community types in each study area (See Tables 3 and 5).

Lonicera nigra has never been detected as an invader before. It is presumably dispersed by robins, thrushes, and warblers, also by means of barochory and secondary hydrochory. The latter is proved by the occurrence of the oldest shrubs in riverine Norway spruce and Scots pine forests on the Littorine terrace of the Gulf of Finland within Komarovo Coast Nature Sanctuary. The results of secondary bird dispersal of this species are observed in sorrel spruce forests where the untypical low shrub layer is

being formed (See Fig. 2). These plants are remote from brooks or drainage channels (See Table 2). *L. nigra* acts as one of the most active species in the sanctuary forest coenofloras studied (See Table 3). Nevertheless, floristic composition of these forest communities remains yet unchanged in its main features. The invasion of *L. nigra* in the sanctuary area was first mentioned in literature by NN Tzvelev in 2000 but it took place much earlier, as the ancestral plant specimens were likely to grow in a transplant nursery near the present-day sanctuary north-eastern border in the early XX-th century. According to Komarov Botanical Institute Herbarium (LE) data, the secondary area of *L. nigra* in Russia is restricted to several findings in the Karelian Isthmus.

Amelanchier spicata, the June berry, listed among the most aggressive plant invaders in European Russia, is dispersed by thrushes along roads in forests and then invades sorrel and horsetail-peatmoss spruce and pine forests on southern-boreal watersheds in Lisino Reserve, often as a gap-filling species. It is less common and abundant in secondary birch and aspen forests. In contrast to *Lonicera nigra*, it is infrequent and never abundant in riverine forests (See Table 4), the fact probably explained by difference in prevailing bird distributor species. *A. spicata* is never found in feathermoss pine forests on fluvial-glacial sand as well as in dwarfshrub-peatmoss pine bog forests. The invasion of this species in the reserve area probably took place after 1984-1987 when the species was not registered in forest communities of the area according to the author's personal observations. In 2017, the activeness of *A. spicata* is low in all the forest types it inhabits, being compared to that of the dominant aboriginal species (See Table 5).

As follows from the correlation analysis results, no one of the discussed invaders affects the projective cover of any of the native plant species in both protected areas significantly. Speaking of *Amelanchier spicata*, it is in fact far less aggressive than in the more southern areas of Central and Southern Russia where the species transforms forest communities actively and affects aboriginal field- and ground-layer plants negatively, even as far as to the extinction of some of the latter, as it is well-known from the literature on the subject. We are just at the beginning of the invasion process in the forests of the Russian North-West yet.

The invasion of both species studied is likely to be connected with the climate change processes. The research reveals that a neglected adventive species, persisting long within a given area, may also suddenly become an aggressive invader (the case of *Lonicera nigra*). The invasion of adventive shrubs into the paludified forest communities, including those of the boreal peatmoss spruce forests which served as etalons of floristic stability quite recently, is also alarming.

The paper contains 2 Figures, 5 Tables and 41 References.

Key words: *Lonicera nigra*; *Amelanchier spicata*; invasive plant species; ornithochory; partial nature reserves; nature sanctuaries; Lisino Partial Nature Reserve; Karelian Isthmus.

Funding: This work was carried out in accordance with the current official planning task of Komarov Botanical Institute (Inst.) of the Russian Academy of Sciences (RAS), Project "Plant communities of European Russia and Northern Asia: Diversity, dynamics, and principles of organization", Government Registration No. 121032500047-1.

Acknowledgements: The author is grateful to Dr. Marina Lyublinskaya (Institute for Linguistic Studies, RAS, Moscow) and to Andrei Petrov, Dr. Sergey Kholod, and Sergey Bolshakov (Komarov Botanical Institute, RAS, St. Petersburg) for their participation in the field research; to Dr. Elena Volkova, Dr. Vladimir Khrantsov (Komarov Botanical Institute, RAS, St. Petersburg), and Dr. Evgeny Kuznetsov (Saint Petersburg State Forest Technical University under name of SM Kirov, St. Petersburg) for their help in organizing the research; to Dr. Nikolay Panasenko (Bryansk State

University), Dr. Natalya Reshetnikova (Tsitsin Main Botanical Garden RAS, Moscow), Dr. Olga Morozova (Institute of Geography, RAS, Moscow), Dr. Galina Konechnaya, Dr. Petr Efimov (Komarov Botanical Institute, RAS, St. Petersburg), and Dr. Andrei Zverev (Tomsk State University, Tomsk) for their most valuable comments, and to Dr. Stanislav Kutenkov (Institute of Biology, Karelian Research Centre RAS, Petrozavodsk) for his technical assistance in the preparation of the map.

The Author declares no conflict of interest.

References

1. Morozova OV, Vinogradova YuK. *Amelanchier spicata* - Irga kolosistaya [*Amelanchier spicata* - June berry]. *Samye opasnye invazionnye vidy Rossii (TOP-100)* [Most hazardous invasive species in Russia (TOP-100)]. Moscow: KMK Scientific Press; 2018. 688 p. In Russian
2. *Atlas osobo okhranyayemykh prirodnykh territoriy Sankt-Peterburga* [Atlas of specially protected natural reservation of Saint-Petersburg]. Khrantsov VN, Kovalyova TV and Natsvaladze NYu, editors. St.Petersburg: Marathon Publ.; 2013. 176 p. In Russian
3. *Osobo okhranyaemye prirodnye territorii Leningradskoi oblasti* [Specially protected natural reservation of Leningrad Region]. 2nd ed. St. Petersburg: Rogozhin I.V. Publ.; 2018. 312 p. In Russian
4. Kucherov IB. Tsenoticheskoye i ekologicheskoye raznoobrazie svetlokhvoynykh lesov srednei i severnoi taigi Evropeiskoi Rossii [Phytocoenotical and ecological diversity of light-coniferous forests in the middle- and northern-boreal subzones of European Russia]. St. Petersburg: Marathon Publ.; 2019. 568 p. In Russian, English Summary
5. Sukachev VN. Rukovodstvo k issledovaniyu tipov lesa [Guide to forest type studies]. 3rd ed. Moscow: Selkhozgiz Publ.; 1931. 328 p. In Russian
6. Yurtsev BA. Flora Suntar-Khayata: Problemy istorii vysokogornyykh landshaftov Severo-Vostoka Sibiri [Flora of Suntar-Khayata Ridge: Problems of history of alpine landscapes of North-Eastern Siberia]. Leningrad: Nauka Publ.; 1968. 236 p. In Russian
7. Kupriyanov AN, Kazmina SS, Zverev AA. Izmeneniye floristicheskogo sostava rastitel'nykh soobshchestv Karakanskogo khrebtva vblizi ugol'nykh razrezov [Change in the vegetation of the Karakanskiy Ridge near surface coal mines]. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2018;43:66-88. doi: [10.17223/19988591/43/4](https://doi.org/10.17223/19988591/43/4) In Russian, English Summary
8. Zverev AA. Informatsionnye tekhnologii v issledovaniyakh rastitel'nogo pokrova: Uchebnoe posobie [Information technologies in studies of vegetation: Textbook]. Tomsk: TML-Press Publ.; 2007. 304 p. In Russian
9. Schmidt VM. Matematicheskiye metody v botanike [Mathematical methods in botany]. Leningrad: Leningrad State University Publ.; 1984. 288 p. In Russian
10. *Komarovskii bereg - kompleksnyy pamyatnik prirody* [Komarovo Coast, a complex nature sanctuary]. Volkova YeA, Isachenko GA and Khrantsov VN, editors. 2nd ed., suppl. and corr. St. Petersburg: Botanical Inst. RAS - Zoological Inst. RAS - St. Petersburg State University; 2004. 92+7 p. In Russian
11. Malchevskiy AS, Pukinskiy YuB. Ptitsy Leningradskoi oblasti i sopredel'nykh territoriy: Istoriya, biologiya, okhrana. T. 2: *Pevchiye ptitsy* [Birds of Leningrad Region and adjacent areas: History, biology, and conservation. Vol. 2. Songbirds]. Leningrad: Leningrad State University Publ.; 1983. 504 p. In Russian
12. *Ptitsy Sovetskogo Soyuz*a [Birds of the Soviet Union]. T. 4: Otryad Kurinye. Otryad Guseobraznye [Vol. 4. Ordo Galliformes. Ordo Anseriformes]. Moscow: Sovetskaya Nauka Publ.; 1952. 641 p. - T. 5: Otryad Vorobyinye [Vol. 5. Ordo Passeriformes]. Moscow: Sovetskaya Nauka Publ.; 1954. 803 p. - T. 6: Otryad Vorobyinye (okonchaniye) [Vol. 6. Ordo Passeriformes (conclusion)]. Moscow: Sovetskaya Nauka Publ.; 1954. 792 p. In Russian

13. Ellenberg H, Weber HE, Düll R, Wirth W, Werner W, Paulißen D. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. 2 Aufl. *Scripta Geobotanica*. 1992;18:1-258. In German, English Summary
14. Meusel H, Jäger EJ, Bräutigam S, Knapp H-D, Rauschert S, Weinert R, Seidel D, Stölzer J. Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora. Jena; Stuttgart; N.Y.: Gustav Fischer; 1992. Bd 3. 333 S. In German
15. *Illyustrirovannyi opredelitel' rasteniy Leningradskoi oblasti* [Illustrated key to plants of Leningrad Region]. Budantsev AL and Yakovlev GP, editors. Moscow: KMK Scientific Press; 2006. 799 p. In Russian
16. Tzvelev NN. *Opredelitel' sosudistyykh rasteniy severo-zapadnoi Rossii (Leningradskaya, Pskovskaya i Novgorodskaya oblasti)* [Key to vascular plants of North-Western Russia (Leningrad, Pskov, and Novgorod Regions)]. St. Petersburg: St.Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy Publ.; 2000. 781 p. In Russian
17. Morozova OV, Starodubtseva EA, Tsarevskaya NG. Adventivnaya flora Evropeyskoy Rossii: itogi inventarizatsii [Adventive flora of European Russia: inventory results]. *Izvestiya Rossiyskoy akademii nauk. Seriya geograficheskaya = Proceedings of Russian Academy of Sciences. Series Geography*. 2008;5:85-94. In Russian
18. Pogiba SP. Zhimolost' [The Honeysuckle]. Moscow: Agropromizdat Publ.; 1987. 48 p. In Russian
19. Levina RYe. *Sposoby rasprostraneniya plodov i semyan* [Modes of fruit and seed dispersal]. Moscow: Moscow State University Publ.; 1957. 358 p. In Russian
20. Whelan CJ, Marquis RJ, Wenny D. Ecosystem services provided by birds. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008;1134:25-60.
21. Devyatov AG. *Reproduktivnaya ekologiya semennykh rasteniy* [Reproductive ecology of seed plants]. Moscow: MAKS Press; 2014. 104 p. In Russian
22. Müller-Schneider P. Verbreitungsbiologie der Blütenpflanzen Graubündens. *Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der Eidg. Techn. Hochschule, Stiftung Rübel, in Zürich*. 1986;85:1-263. In German
23. *Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa*. Vol. 2: Hawks to bustards. Oxford; N.Y.: Oxford University Press, 1980. 695 p. - Vol. 5: Tyrant flycatchers to thrushes. Oxford; N.Y.: Oxford University Press, 1988. 1063 p. - Vol. 6: Warblers. Oxford; N.Y.: Oxford University Press, 1992. 728 p.
24. Poyarkova AI. Rod *Lonicera* L. – Zhimolost' [Genus *Lonicera* L. – Honeysuckle]. *Flora evropeiskoi chasti SSSR* [Flora partis europaeae URSS]. Fedorov AnA, editor. Leningrad: Nauka Publ.; 1978. Vol. 3. pp. 16-20. In Russian
25. Kuchero IB. Geograficheskaya izmenchivost' tsenoticheskoy priurochennosti rasteniy i eyo prichiny (na primere lesov Evropeiskogo Severa) [Chorological pattern in plant affinity to vegetation of different types and its causes (by the example of North-European forests)]. *Zhurnal obshchey biologii = J General Biology*. 2003;64(6):479-500. In Russian, English Summary
26. Panasenko NN, Shumik AN. Invaziya *Amelanchier spicata* v lesnye soobshchestva Bryanskoi oblasti: konsortivnye svyazi i fitotsenoticheskiye otnosheniya [Invasion of *Amelanchier spicata* in Bryansk Region forest communities: consortive chains and phytocoenotical interactions]. In: *Aktual'nye problemy yestestvennykh nauk: sbornik statey pamyati I.S. Mikhhalchenko* [Actual problems of natural sciences: Studies in honour of I.S. Mikhhalchenko]. Bryansk: Bryansk State University Publ.; 2009. pp. 155-160. In Russian
27. Bulokhov AD, Ivenkova IM, Panasenko NN. Antropogennaya rastitel'nost' Bryanskoi oblasti [Anthropogenic vegetation of Bryansk Region]. Bryansk: Bryansk State University Publ.; 2020. 312 p. In Russian
28. Binggeli P. Plants of the Pacific Northwest in Western Europe. *Botanical electronic news*. 1998;195. Available at: <https://www.ou.edu/cas/botany-micro/ben/ben195.html> (accessed: 10.12.2020).

29. Kartesz JT. The biota of North America program (BONAP). *North American Plant Atlas*. Chapel Hill: University of North Carolina, 2015. Available at: <http://bonap.net/napa> (accessed: 12.12.2020).
30. Kuklina AG, Kuznetsova OI, Shantser IA. Molekulyarno-geneticheskoye issledovaniye invazionnykh vidov irgi (*Amelanchier* Medik.) vo vtorichnom areale [Molecular and genetic research of invasive species of *Amelanchier* Medik.]. *Rossiyskiy zhurnal biologicheskikh invaziy* = *Russian J Biological Invasions*. 2018;1:51-61. In Russian, English Summary
31. Tsyganov DN. Fitoindikatsiya ekologicheskikh rezhimov v podzone khvoynoshirokolistvennykh lesov [Phytoindication of ecological conditions in the hemiboreal forest subzone]. Moscow: Nauka Publ.; 1983. 198 p. In Russian
32. Vinogradova YuK, Mayorov SR, Khorun LV. Chyornaya kniga flory Sredney Rossii (chuzherodnye vidy rasteniy v ekosistemakh Sredney Rossii) [Black Data Book of flora of Midland Russia (alien plant species in ecosystems of Midland Russia)]. Moscow: GEOS Publ.; 2009. 502 p. In Russian
33. Vinogradova YuK, Mayorov SR, Notov AA. Chyornaya kniga flory Tverskoi oblasti: chuzherodnye vidy rasteniy v ekosistemakh Tverskogo regiona [Black Data Book of flora of Tver Region: Alien plant species in ecosystems of Tver Region]. Moscow: KMK Scientific Press; 2011. 292 p. In Russian
34. Reshetnikova NM, Mayorov SR, Krylov AV. Chyornaya kniga Kaluzhskoi oblasti. Sosudistye rasteniya [Black Data Book of Kaluga Region. Vascular Plants]. Kaluga: Vash Dom' Publ.; 2019. 342 p. In Russian
35. *Chyornaya kniga flory Sibiri* [Black Data Book of flora of Siberia]. Vinogradova YuK, editor, Kupriyanov AN, editor-in-chief. Novosibirsk: "Geo" Academic Publishing House; 2016. 440 p. In Russian
36. Notov AA. Adventivnyy komponent flory Tverskoi oblasti: dinamika sostava i struktury [Adventive element of flora of Tver Region: Dynamics of composition and structure]. Tver: Tver State University Publ.; 2009. 473 p. In Russian
37. Opalko AI, Andrienko ID, Opalko OA. The representatives of *Amelanchier* Medik. genus in Ukraine. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 11: Estestvennyye nauki* = *Proc. Volgograd State University. Series 11: Natural Sciences*. 2015;1(11):15-33.
38. Weber E. Invasive plant species of the world: A reference guide to environmental weeds. Wallingford, UK: CABI Publ.; 2003. 548 p.
39. Kuklina AG. Naturalizatsiya severoamerikanskikh vidov igri (*Amelanchier* Medik.) vo vtorichnom areale [Naturalization of *Amelanchier* species from North America in the secondary distribution range]. *Rossiyskiy zhurnal biologicheskikh invaziy* = *Russian J Biological Invasions*. 2011;1:52-59. In Russian, English Summary
40. Kucherov IB, Milevskaya SN, Tikhomirov AA. Sosudistye rasteniya zapovednika "Kivach" (Annotirovannyi spisok vidov) [Vascular plants of Kivach Nature Reserve: An annotated checklist]. In: *Flora i fauna zapovednikov* [Flora and Fauna of Nature Reserves]. Moscow: Inst. Ecology and Evolution; 2000. Vol. 64. 108 p. In Russian
41. Sergievskaya EV. Sem. Rosaceae - Rozotsvetnye [Rosaceae]. In: *Flora Leningradskoy oblasti* [Flora of Leningrad Region]. Shishkin BK, editor. Leningrad: Leningrad State University Publ.; 1961. Vol. 3. pp. 20-69. In Russian

Received 17 January 2021; Revised 22 April 2021;

Accepted 27 May 2021; Published 29 June 2021.

Author info:

Kucherov Ilya B, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher, General Geobotany Department, VL Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Sciences, 2 Prof. Popov Str., St. Petersburg 197376, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-4827-4575>

E-mail: atragene@mail.ru, IKucherov@binran.ru

УДК 581.526.426.2+502.7(571.52)
doi: 10.17223/19988591/54/3

Н.Н. Лащинский, О.Ю. Писаренко

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

Еловые леса долины р. Копту (Республика Тыва) – реликт растительности позднего плейстоцена

Работа выполнена в рамках государственного задания
№ АААА - А21-АААА-А21-121011290026-9
при частичной поддержке гранта РФФИ № 18-04-00822.

Обследованы темнохвойные долинные леса в нижнем и среднем течении р. Копту (южный макросклон хр. Академика Обручева). Приведена сводная таблица флористического состава 11 пробных площадей. Выявлено, что при физиономическом сходстве леса, произрастающие в долине реки в ее нижнем течении в пределах лесостепного пояса (700–900 м над ур. м.), существенно отличаются от аналогичных сообществ лесного пояса (1400–1500 м над ур. м.). В сложении древостоя везде высока доля лиственницы, но в лесном поясе в долинных сообществах доминирует сосна сибирская, а в лесостепном поясе – ель. Кроме того, различия включают четыре группы видов: три группы отражают разницу в высотной приуроченности и экологических условиях произрастания, а также влияние зонального окружения; для четвертой группы присутствие в составе сообществ обусловлено историческими причинами. Проведенный анализ позволяет заключить, что массив долинных еловых лесов в нижнем течении р. Копту представляет собой реликтовое сообщество, сформировавшееся в условиях позднелеистоценового перигляциального климата на мерзлотных почвах. Массив характеризуется высоким видовым разнообразием, является местом обитания редких видов, четыре из которых включены в Красную книгу Республики Тыва. Массив долинных лесов нижнего течения р. Копту может быть отнесен к категории лесов высокой природоохранной ценности и рекомендован к включению в список ключевых ботанических территорий Алтае-Саянского экорегиона. Сообщество испытывает сильный антропогенный пресс и находится в состоянии неустойчивого равновесия.

Ключевые слова: ценофлора; биоразнообразие; ключевые ботанические территории; редкие виды; экстраординарная растительность

Для цитирования: Лащинский Н.Н., Писаренко О.Ю. Еловые леса долины р. Копту (Республика Тыва) – реликт растительности позднего плейстоцена // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 54. С. 45–63. doi: 10.17223/19988591/54/3

Введение

Ель сибирская (*Picea obovata* Ledeb.) входит в число основных лесобразующих пород Сибири [1, 2]. Ареал вида огромен и простирается – без

учета дизъюнктивных островков в Европе – от Урала на западе до побережья Японского и Охотского морей на востоке, на юг до северной Монголии и Китая [3, 4]. При этом в Сибири крупные массивы еловых лесов практически не встречаются [5]; ель «на большей части территории растет в виде незначительной примеси в лесах», выступает как «эдификатор или субэдификатор темнохвойных лесов лишь по ключам, руслам рек и речек» [2. С. 57]. В Тыве еловые леса приурочены к долинам рек лесного пояса, преимущественно в пределах 900–2100 м над ур. м. и занимают лишь около 2% от площади облесенных территорий или около 1% от общей площади республики [6, 7]. При незначительных площадях еловые леса отличаются высоким флористическим богатством – в них отмечено около 37% от общего числа зарегистрированных в лесах республики видов сосудистых растений [8]. Таким образом, еловые леса Тывы представляют интерес для выделения лесов высокой природоохранной ценности в концепции, предложенной Лесным попечительским советом WWF [9, 10].

В литературных источниках еловые леса Тывы описаны недостаточно. Исследования лесной растительности республики до настоящего времени были, в основном, сосредоточены на ландшафтообразующих сообществах, занимающих большие территории и определяющих облик различных районов, и высотных поясов республики – лиственничных, кедровых, мелколиственных лесах [6, 8, 11–18]. Редкие типы лесных сообществ оставались вне поля зрения исследователей.

Среди еловых лесов Тывы особый интерес представляют анклавы за пределами лесного пояса, когда лесные массивы находятся в неблагоприятной природно-климатической обстановке для произрастания. Данная ситуация имеет место для заболоченных еловых лесов, растущих в виде полос по долинам малых рек в лесостепном или даже в степном окружении. По физиономическим признакам (сомкнутый древесный ярус, доминирование бореальных хвойных деревьев, хорошо развитый напочвенный моховой покров) эти леса сходны с типичными бореальными сообществами, образующими лесной пояс на более высоких гипсометрических отметках. В этом отношении долинные еловые леса могли бы рассматриваться как экстразональная растительность, выходящая за пределы лесного пояса по местообитаниям с благоприятным мезоклиматом, но сохраняющая все основные характеристики зональных лесов. Аналогичное явление наблюдается в широтной зональности на границе лесной и лесостепной зон на равнинах Западной Сибири по долинам рек [19, 20]. С другой стороны, внедрение видов лесостепного окружения может определять своеобразие и отличительные особенности этих массивов по сравнению с таковыми в лесном поясе.

Цель работы – провести сравнительное исследование долинных еловых лесов в нижнем течении р. Копту с темнохвойными лесами лесного пояса, расположенными выше по течению той же реки, для оценки их своеобразия.

Материалы и методики исследования

Исследования выполнены в западной части южного макросклона хр. Академика Обручева, в долине р. Копту, правого притока р. Каа-Хем (рис. 1). Высота над уровнем моря в устье р. Копту составляет 690 м. Климат территории резко континентальный. Ближайшая к району исследований метеостанция расположена в 14 км к юго-востоку – в п. Сарыг-Сеп (706 м над ур. м.), расположенном на террасе р. Каа-Хем. По данным метеостанции [21] среднегодовая температура составляет $-4,5^{\circ}\text{C}$; среднемесячная температура самого теплого месяца июля $17,6^{\circ}\text{C}$, самого холодного месяца января $-32,2^{\circ}\text{C}$; годовое количество осадков 356 мм, из них 75% выпадает в виде дождя.

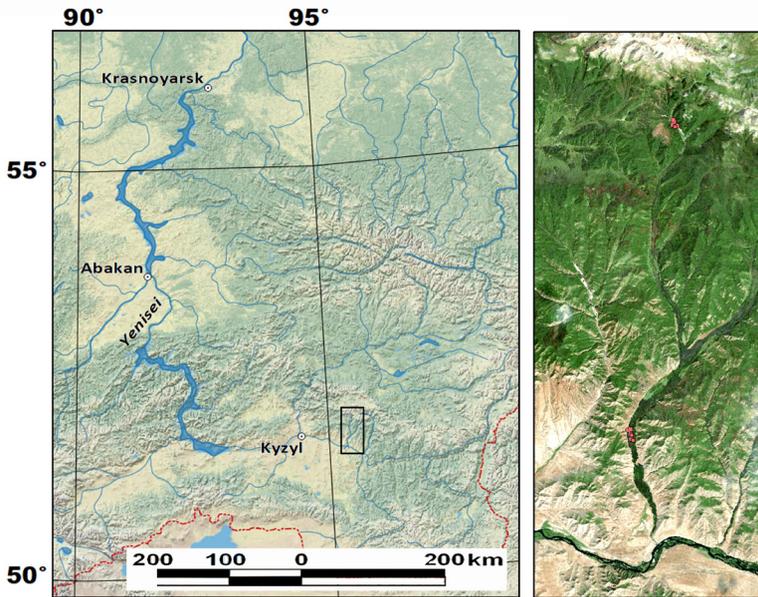


Рис. 1. Район исследований: расположение (слева) и фрагмент космического снимка Quick Bird (справа). На картосхеме прямоугольником указан район работ; красная линия – граница России. На снимке долинные темнохвойные леса выделяются темно-зеленым цветом.

Красными точками нанесены локалитеты геоботанических описаний
[Fig. 1. Study area: location on the map (left) and a fragment of a Quick Bird space image (right).
 On the map, a rectangle borders the area of work; the red line is the border of Russia.
 On the space image, spruce forests along the river and its tributaries are well-distinguished by dark-green color. Relevé locations are marked with red dots]

Высотно-поясная колонка территории представляет восточно-тувинский тип высотной поясности, относящийся к семигумидной континентальной группе типов [14, 17]: подножие хребта занято степной растительностью, на высотах 800–1000 м господствуют лесостепные ландшафты; выше располо-

жен лесной пояс, подразделяющийся на подтаежный и таежный подпояса; верхняя граница леса проходит на высоте около 1900 м над ур. м. (рис. 2). В подтаежном подпоясе (1000–1300 м) господствуют лиственничные и березово-лиственничные разнотравно-вейниковые леса. Таежный подпояс (1300–1900 м) образован кедрово-лиственничными кустарничково-зеленомошными лесами.



Рис. 2. Долинные лиственнично-еловые леса в нижнем течении р. Копту в лесостепном поясе (фото О.Ю. Писаренко)
[Fig. 2. Larch-spruce forests in the lower part of the Koptu River valley; forest-steppe belt. Photo by Olga Pisarenko]

Массив долинных еловых лесов в нижнем течении р. Копту расположен между 51,55 и 51,70 градусами с.ш. и 95,34 и 95,45 градусами в.д. на высотах от 720 до 900 м над ур. м. в степном и лесостепном окружении. Общая протяженность массива вдоль русла реки составляет 19 км при ширине в среднем 0,5 км до 1,5 км в наиболее широкой части. Нами были заложены шесть пробных площадей квадратной формы по 400 м² в долинных лесах пояса лесостепи. На каждой пробной площади выполнены полные геоботанические описания с геопривязкой с использованием 12-канального GPS в системе координат WGS-84. Для сравнения взяты пять пробных площадей аналогичной формы и размера в лиственнично-кедровых с елью лесах по долине реки в средней части лесного пояса, в интервале высот 1400–1500 м над ур. м. Работы проведены в августе 2020 г.

Все геоботанические описания выполнены по стандартной методике и внесены в базу данных в среде IBIS 7.3 [22]. Проективное покрытие видов в таблице приведено по шкале Браун-Бланке [23]: + – менее 1%; 1 – 1–5%; 2 – 5–25%; 3 – 25–50%; 4 – 50–75%; 5 – 75–100%. Номенклатура сосудистых

растений дана по сводке С.К. Черепанова [24], мхов – чек-листу М.С. Игнатова с соавт. [25].

Результаты исследования

В среднем течении, совпадающем по высотному интервалу с лесным поясом, река Копту имеет характер горной реки с глубоко врезанной долиной, немеандрирующим руслом и быстрым течением. Описания выполнены на плоских прирусловых участках, испытывающих кратковременное затопление в отдельные годы. Основными лесообразующими деревьями выступают *Larix sibirica* и *Pinus sibirica*, как правило, при доминировании последнего вида. *Picea obovata* присутствует с высоким постоянством, но с единичным участием в составе древостоев. По внешнему облику и видовому составу это типичные горные бореальные леса с сомкнутым древесным ярусом, образованным бореальными видами хвойных деревьев, с доминированием ерикоидных кустарничков в травяно-кустарничковом ярусе и сплошным хорошо развитым напочвенным мохово-лишайниковым покровом, образованным типичными бореальными видами. В видовом составе травяно-кустарничкового яруса богато представлена группа диагностических видов класса *Vaccinio-Piceetea* Br.-Bl. in Br.-Bl. et al. 1939, объединяющего в рамках эколого-флористической классификации сообщества бореальных хвойных лесов Голарктики (таблица).

Видовой состав и фитоценотическая характеристика долинных темнохвойных лесов лесного (оп 1–5) и лесостепного (оп 6–11) поясов
 [Species composition of the valley dark coniferous communities of forest (№№ 1-5) and forest-steppe (№№ 6-11) belts]

№ описания табличный [Relevé table No.]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Средняя высота древесного яруса, м [Average height of the tree layer, m]	26	24	18	26	20	26	30	18	20	14	26
Сомкнутость крон древесного яруса [Crown density of the tree layer]	0.7	0.6	0.6	0.6	0.7	0.6	0.7	0.6	0.6	0.6	0.7
Кустарниковый ярус, ОПП [Cover of the shrub layer], %	20	20	30	20	5	20	–	25	20	–	–
Травяно-кустарничковый ярус, ОПП [Cover of the herb layer], %	45	45	40	60	40	70	40	6	30	50	25
Мохово-лишайниковый ярус, ОПП [Cover of the moss-lichen layer], %	50	90	95	60	100	60	1	100	100	30	95
Число видов сосудистых растений [Number of vascular plant species]	23	26	32	29	33	29	20	42	39	27	55
Номер описания полевой [Relevé field No.]	L20-120	L20-124	L20-123	L20-125	x20-7d	L20-166	x20-10r	x20-6c	x20-6d	x20-10s	L20-119
Деревья и кустарники [Tree and shrub species]											
<i>Pinus sibirica</i>	a1	3	4	4	2	4

Окончание таблицы [Table (end)]

№ описания табличный [Relevé table No.]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Linnaea borealis</i>	c	+	+	+	+	2	.	.	+	+	+
<i>Goodyera repens</i>	c	.	+	+	+	+	.	.	+	+	+
<i>Equisetum arvense</i>	c	.	.	+	.	1	+	.	1	+	2
<i>Cardamine macrophylla</i>	c	+	.	+	.	.	+	.	+	.	+
<i>Poa sibirica</i>	c	+	.	+	+	+	+
<i>Maianthemum bifolium</i>	c	.	.	.	+	.	.	.	+	+	.
Мхи [Moss species]											
<i>Polytrichum commune</i>	d	1	3	+	+	1
<i>Ptilium crista-castrensis</i>	d	.	+	1	+	2
<i>Helodium blandowii</i>	d	+	.	2
<i>Rhytidium rugosum</i>	d	3	3	2
<i>Rhytidiadelphus triquetrus</i>	d	1	.	+	.	1
<i>Hylocomium splendens</i>	d	3	3	4	3	5	+	+	4	3	4
<i>Pleurozium schreberi</i>	d	1	2	3	2	2	2	.	2	+	.
<i>Ptilidium ciliare</i>	d	+	.	.	1	2	.
<i>Dicranum polysetum</i>	d	1	.	+	.	2	.

Примечание [Note]. Виды, встреченные в 1–2 раза [Species recorded 1-2 times only]: *Achillea asiatica* [c] (8 +), *Aconitum baicalense* [c] (5 +), *A. septentrionale* [c] (1 +), *A. volubile* [c] (3 +, 5 +), *Adonis sibirica* [c] (7 +), *Artemisia laciniata* [c] (9 +), *A. tanacetifolia* [c] (11 +), *Aulacomnium palustre* [d] (5 +, 10 2), *Bergenia crassifolia* [c] (4 +), *Betula microphylla* [a1] (8 +, 10 +), *B. pubescens* [a1] (8 1, 9 1), *B. pubescens* [a3] (11 +), *Calamagrostis epigeios* [c] (11 +), *C. lapponica* [c] (2 +, 3 +), *Calliergonella cuspidata* [d] (8 +, 10 +), *Caltha palustris* [c] (11 +), *Carex cespitosa* [c] (8 +, 10 3), *C. macroura* [c] (6 +, 7 +), *C. sedakowii* [c] (6 +), *Cetraria islandica* [d] (11 +), *Chrysosplenium alternifolium* [c] (1 +), *Cladonia mitis* [d] (3 +, 11 +), *Cl. rangiferina* [d] (3 +, 11 +), *Corallorrhiza trifida* [c] (8 +, 11 +), *Cypripedium calceolus* [c] (8 +, 11 +), *C. guttatum* [c] (11 +), *Deschampsia cespitosa* [c] (11 +), *Duschekia fruticosa* [b] (1 +), *Elymus caninus* [c] (9 +, 11 +), *Entodon concinnus* [d] (8 +), *Epipogium aphyllum* [c] (8 +, 11 +), *Festuca rubra* [c] (11 +), *Filipendula ulmaria* [c] (11 +), *Geranium pseudosibiricum* [c] (7 +), *Hedysarum neglectum* [c] (5 +, 8 +), *Heracleum dissectum* [c] (7 +), *Iris ruthenica* [c] (11 +), *Lamium album* [c] (6 +, 9 +), *Lathyrus palustris* [c] (11 +), *Ligularia sibirica* [c] (10 +, 11 +), *Lonicera pallasii* [b] (2 2, 11 +), *Lupinaster pentaphyllus* [c] (11 +), *Malaxis monophyllos* [c] (8 +, 11 +), *Melilotoides platycarpus* [c] (11 +), *Neottianthe cucullata* [c] (9 +, 11 +), *Orthilia secunda* [c] (8 +, 9 +), *Paeonia anomala* [c] (9 +), *Parnassia palustris* [c] (11 +), *Pedicularis sceptrum-carolinum* [c] (8 +), *Peltigera aphthosa* [d] (11 +), *Peltigera malacea* [d] (11 +), *Pentaphylloides fruticosa* [b] (3 +), *Plagiomnium confertidens* [d] (5 +), *P. ellipticum* [d] (10 +), *Polemonium caeruleum* [c] (10 +), *Polypodium sibiricum* [c] (9 +), *Ptarmica impatiens* [c] (10 +), *Pyrola chlorantha* [c] (6 +), *Ranunculus grandifolius* [c] (5 +, 8 +), *Ribes procumbens* [b] (10 +, 11 +), *Rubus idaeus* [b] (9 +), *R. matsumuranus* [b] (1 +), *Salix bebbiana* [b] (8 +), *S. caprea* [b] (5 +), *S. cinerea* [b] (11 +), *S. pentandra* [b] (10 +), *S. pyrolifolia* [b] (11 +), *Sanguisorba officinalis* [c] (10 +, 11 +), *Saussurea alpina* [c] (6 +, 10 +), *Saxifraga aestivalis* [c] (1 +, 2 +), *Schizachne callosa* [c] (6 +, 7 +), *Spiraea chamaedryfolia* [b] (5 +), *Taraxacum officinale* [c] (7 +), *Thalictrum minus* [c] (7 +, 9 +), *Thyselium palustre* [c] (5 +, 8 +), *Timmia megapolitana* [d] (10 +), *Tomentypnum nitens* [d] (8 +, 10 2), *Urtica dioica* [c] (9 +), *Valeriana transjensisensis* [c] (6 +, 9 +), *Veronica longifolia* [c] (10 +), *Viola arenaria* [c] (7 +, 11 +).

Ярус: а – древесный (a1, a2, a3 – подъярус), b – кустарниковый, c – травяно-кустарничковый, d – мохово-лишайниковый. Точкой в ячейках таблицы обозначено отсутствие вида. [Layers: a - Tree layer with sub-layers a1, a2, a3; b - Shrub layer; c - Herb layer; d - Moss-lichen layer. A dot in the table cells means the absence of the species. For the cover, the Braun-Blanquet scale was used: + (< 1%); 1 (1-5%); 2 (5-25%); 3 (25-50%); 4 (50-75%); 5 (75-100%).]

Локализация описаний (координаты указаны в десятичных градусах) [Relevé locations by the table numbers - Geographic point, date and coordinates in decimal degrees by GPS]. Республика Тыва. Каа-Хемский кожуун. Окр. п. Бояровка [The Republic of Tuva. Kaa-Khem kozhuun. Boyarovka Settlement vicinity]. 06.VIII.2020: 7 – 51,63761°N, 95,34865°E; 10 – 51,64206°N, 95,34777°E; 11 – 51,64590°N, 95,34554°E; 10.VIII.2020: 8 – 51,64625°N, 95,34506°E; 9 – 51,64686°N, 95,34836°E. 11.09.2020: 6 – 51,63814°N, 95,34791°E. Долина р. Копту около устья ручья Кедровый [The valley of the Koptu River near the Kedrovii creek mouth]. 06.VIII.2020: 1 – 51,90426°N, 95,45641°E; 07.VIII.2020: 2 – 51,90707°N, 95,45913°E; 3 – 51,90682°N, 95,45824°E; 4 – 51,90821°N, 95,45756°E; 08.VIII.2020: 5 – 51,90313°N, 95,46247°E. Авторы описаний [The Authors of the relevés are]: 1–4, 6, 11 – Н.Н. Лащинский [Nikolay Lashchinsky]; 5, 7–10 – О.Ю. Писаренко [Olga Pisarenko].

В нижнем течении, в лесостепном поясе, характер реки меняется. Долина становится более открытой, течение реки замедляется. Русло многорукавное с многочисленными меандрами и старицами. Лес сосредоточен исключительно в пойме реки, резко сменяясь на открытые луговые и степные сообщества по бортам долины. Несмотря на то, что по общему облику лесной массив напоминает типичные бореальные леса, аналогичные описанным выше, сравнение флористического состава показало значительные различия во всех ярусах сообществ (см. таблицу). В древостое полностью исчезает *Pinus sibirica*. При сохранении заметной доли участия *Larix sibirica* доминирование чаще переходит к *Picea obovata*.

Из состава подлеска выпадают *Betula rotundifolia*, *Sorbus sibirica* и *Spiraea alpina*. Появляются ксеромезофильные кустарники *Caragana arborescens* и *Cotoneaster melanocarpus*, причем первый часто создает до 20–25% покрытия. Снижаются встречаемость и проективное покрытие *Lonicera altaica*.

В напочвенном моховом покрове исчезают типичные бореальные виды *Polytrichum commune* и *Ptilium crista-castrensis*, но появляются *Helodium blandowii*, *Rhytidiadelphus triquetrus* и *Rhytidium rugosum*, из которых последний часто выступает доминантом соответствующего яруса.

Наибольшие различия отмечаются в видовом составе травяно-кустарничкового яруса. Полностью выпадают ерикоидные кустарнички. Доминирование переходит к хвощам (*Equisetum scirpoides*) и осокам (*Carex alba*). Из 38 видов травяно-кустарничкового яруса, встреченных более чем в двух описаниях из всей сравниваемой совокупности, 14 видов встречаются исключительно или преимущественно в лесах лесного пояса и 17 – в лесостепном поясе (см. таблицу). Различия подчеркиваются также разнообразием единично встреченных видов. Из 60 видов, встреченных в 1–2 описаниях, 50 отмечены только в лесостепном поясе и лишь 8 – только в лесном.

Проведенное сравнение со всей очевидностью показывает, что несмотря на физиономическое сходство, долинныи темныхвойные леса лесного и лесостепного поясов даже в долине одной и той же реки не могут рассматриваться как единое явление, а представляют собой обособленные совокупности, резко различные по флористическому составу.

Обсуждение результатов исследования

Анализ эколого-ценотической приуроченности видов, дифференцирующих долинные темнохвойные леса таежного и лесостепного поясов, показывает, что выявленная разница видового состава этих сообществ обусловлена комплексом факторов.

В долинных сообществах лесного пояса присутствуют типично лесной мезофильный вид *Sorbus sibirica*, а также характерные для горнолесных сообществ и высокогорных тундр кустарники *Betula rotundifolia* и *Spiraea alpina*. Виды, встречающиеся только в подлеске долинных лесов лесостепного пояса (*Caragana arborescens* и *Cotoneaster melanocarpus*), относятся к ксеромезофитам, широко распространенным в кустарниковых сообществах и в степях равнин и низкогорий. В данном случае флористические различия можно трактовать как отражение различной высотной приуроченности (700–900 м над ур. м. в лесостепи и 1400–1500 м над ур. м. в лесном поясе), а также как давление зонального лесостепного окружения из горных луговых степей. Таким же образом можно трактовать присутствие в травяно-кустарничковом ярусе долинных темнохвойных лесов лесостепного пояса таких луговых и лугово-опушечных видов, как *Galium boreale*, *Lathyrus pratensis*, *Rubus saxatilis* и *Vicia cracca*. Из состава единично встреченных видов в лесах лесостепного пояса к этой группе можно отнести *Achillea asiatica*, *Adonis sibirica*, *Artemisia laciniata*, *A. tanacetifolia*, *Carex macroura*, *Iris ruthenica* и др. Проникновение в леса травянистых видов зональных луговых и лугово-степных сообществ облегчается практикуемым здесь умеренным выпасом скота.

Другая группа видов, характерных только для долинных темнохвойных лесов лесостепного пояса, может быть связана с более выраженным процессом заболачивания, обусловленным изменением характера течения реки на этом отрезке. К этой группе относятся *Carex dioica*, *Equisetum scirpoides*, *Delphinium crassifolium*, *Galium uliginosum* и *Angelica tenuifolia*. Также прогрессивным заболачиванием можно объяснить присутствие в этих лесах *Caltha palustris*, *Carex cespitosa*, *Deschampsia cespitosa*, *Lathyrus palustris*, *Parnassia palustris*, *Ribes procumbens* и др., встреченных в 1–2 описаниях. Развитие болотообразовательного процесса индицирует и целая группа мхов – *Calliergonella cuspidata*, *Helodium blandowii*, *Timmia megapolitana*, *Tomentypnum nitens*.

Неожиданным оказалось отсутствие в долинных ельниках лесостепного пояса многих травянистых растений, типичных для таежных лесов и встречающихся в сообществах лесного пояса с высоким постоянством: *Aegopodium alpestre*, *Carex iljinii*, *Cerastium pauciflorum*, *Vaccinium vitis-idaea*, *V. uliginosum*; аналогично из мхов – *Polytrichum commune*, *Ptilium crista-castrensis*.

Особо следует отметить разнообразие представителей семейства Орхидные. С учетом гербарных сборов, не вошедших в описания видов, в долинных лесах лесостепного пояса встречается 10 представителей семейства

Orchidaceae – *Corallorrhiza trifida*, *Cypripedium calceolus*, *C. guttatum*, *Dactylorhiza incarnata*, *D. sibirica*, *Epipogium aphyllum*, *Goodyera repens*, *Lysiella oligantha*, *Malaxis monophyllos*, *Neottianthe cucullata*. Из них в сообществах таежного подпояса отмечен только один – *Goodyera repens*.

Присутствие ряда видов в лесостепном поясе невозможно объяснить современными эколого-ценотическими условиями. К ним относятся *Carex alba* – вид с обширным дизъюнктивным ареалом, встречающийся преимущественно в составе травяных сообществ на сухих освещенных склонах с выходами известняков [26], но также в Сибири изредка доминирующий в травяном ярусе заболоченных еловых лесов на кислых почвах [20]; *Bistorta vivipara* – гипарктомонтанный вид, преимущественно распространенный в полярно-арктических и высокогорных областях Голарктики, изредка встречающийся в лесной области; *Carex sedakowii* – таежно-болотный восточно-азиатский вид, чаще встречающийся в горных районах; *Orthilia obtusata* – американо-азиатский, преимущественно горно-таежный вид, заходящий в тундровую зону и в высокогорья, на мерзлотных почвах полностью замещающий близкий вид *O. secunda*; *Pedicularis sceptrum-carolinum* – тундрово-болотный евразийский вид, рассеянно встречающийся в лесной зоне; *Saussurea alpina* – евразийский аркто-альпийский вид; *Schizachne callosa* – евразийский таежный злак, распространенный в южной части таежной зоны. В мохово-лишайниковом ярусе аналогичным феноменом является обилие *Rhytidium rugosum* – основного доминанта псевдотаежных лесов [27].

Наличие перечисленных видов в составе еловых долинных лесов лесостепного пояса, очевидно, обусловлено историческими причинами, а именно – обстановкой формирования ландшафтов в предшествовавшие геологические эпохи. Мы считаем, что появление этих видов в составе долинных еловых лесов связано с условиями позднелайстоценового похолодания, когда вершины горных хребтов были покрыты ледниками, а в межгорных котловинах установились криоаридные условия перигляциальной зоны с широким развитием мерзлотных процессов [28, 29]. В такой климатической обстановке верхняя граница лесного пояса снижалась, а сам пояс редуцировался до полного выпадения, как это наблюдается в современную эпоху в наиболее аридных районах Тывы и Монголии [14, 30, 31]. Леса могли существовать только в виде обособленных массивов по речным долинам, где сохранялась минимально необходимая влажность для выживания древесных растений. Присутствие ели в горах юга Сибири во время позднелайстоценового оледенения подтверждается находками ископаемых макроостатков и пыльцы [32].

В современном растительном покрове сходные условия имеют место в ультраконтинентальном климате северной Монголии на почвах с неглубоким залеганием многолетнемерзлых пород. Такие листовенничные ритидиевые леса были описаны И.А. Коротковым [27] под названием псевдотаежных. Затем Ю.М. Маскаев [8], характеризуя еловые леса Тывы, выделил псевдотаежные еловые долинные леса по признакам участия в травостое *Equisetum*

scirpoides, *Festuca rubra*, *Bistorta vivipara*, *Carex cespitosa*, *Delphinium crassifolium*, *Artemisia tanacetifolia* и др. при доминировании в напочвенном моховом покрове *Hylocomium splendens*, *Pleurozium schreberi* и *Rhytidium rugosum*. Согласно Ю.М. Маскаеву [8], такие леса «встречаются в Убсунурской котловине у южного подножия хребтов Западного и Восточного Танну-Ола и очень редко небольшими участками в Тувинской котловине, в нижней части гор» [8. С. 84]. Позднее Н.Б. Ермаковым [33] псевдотаежные лиственные леса были отнесены к гемибореальным лесам и выделены в составе отдельного порядка *Festuco ovinae – Laricetalia sibiricae* I. Korotkov et Ermakov ex Ermakov et al. 2000 класса *Rhytidio rugosi – Laricetea sibiricae* К. Korotkov et Ermakov 1999 в рамках эколого-флористической классификации.

В долинных еловых лесах обследованного нами участка нижнего течения р. Копту встречаются характерные виды класса *Rhytidio – Laricetea* (*Rhytidium rugosum*) и порядка *Festuco – Laricetalia* (*Bistorta vivipara*, *Geranium pseudosibiricum*). Однако обсуждаемые леса отличаются хорошо развитым напочвенным моховым покровом с участием бореальных таежных зеленых мхов, доминированием бореальных хвойных и присутствием с высоким постоянством ряда видов, характерных для класса *Vaccinio-Piceetea* (*Goodyera repens*, *Linnaea borealis*, *Maianthemum bifolium* и *Pyrola incarnata*). Перечисленные особенности не позволяют отнести эти леса к гемибореальным. Описанный нами массив долинных еловых лесов в нижнем течении р. Копту мы рассматриваем как реликтовое сообщество, сформировавшееся в условиях позднплейстоценового перигляциального климата на мерзлотных почвах. В его флористическом составе сочетаются признаки типичных горнотаежных и псевдотаежных лесов. Кроме того, заметный вклад в видовое разнообразие вносят болотные и лугово-степные виды. Смешение различных флористических элементов определяет высокое видовое богатство этих сообществ. Здесь присутствуют многие редкие виды растений, в том числе виды, включенные в Красную книгу Республики Тыва [34]: *Cypripedium calceolus*, *Dactylorhiza sibirica* (включен как *D. baltica*), *Epipogium aphyllum* и *Neottianthe cucullata*. Таким образом, долинные еловые леса нижнего течения р. Копту представляют высокую ценность в природоохранном аспекте.

В современных климатических условиях эти леса находятся в состоянии неустойчивого равновесия и поддерживаются за счет охлаждающего воздействия реки и стока холодного воздуха с гор по речной долине. Обследование массива показало, что он подвержен сильному и разнообразному негативно-антропогенному воздействию. Наибольший урон наносят пожары, уничтожающие как древесный, так и мохово-лишайниковый ярус сообществ. Часто видны следы стихийно-выборочных рубок и пастбы крупного рогатого скота по лесу. Вблизи устья реки есть старая система ирригационных каналов, в настоящее время полуразрушенная, которая за счет изменения гидрологического режима реки способна существенно трансформировать среду обитания долинных еловых лесов.

В результате интенсивного антропогенного пресса (рубки, пожары, выпас, ирригация) площадь лесного массива сокращается. Необходима разработка комплекса мероприятий по сохранению этих уникальных лесов в Тувинской котловине. Одним из современных подходов к сохранению уникальных ботанических объектов является практика выделения ключевых ботанических территорий (КБТ). Первоначальный список КБТ в Республике Тыва [36] впоследствии был существенно расширен [37]. В числе прочих предложена дополнительная ключевая территория в устье р. Копту в районе п. Бояровка [37]; основанием для ее выделения явился состав ценофлоры степей данного участка). Считаем, что ключевые ботанические территории в устье р. Копту необходимо расширить за счет включения полосы долинных еловых лесов на протяжении 20 км вверх по течению реки. Такая ключевая ботаническая территория обладает гораздо большим разнообразием как видов растений, так и растительных сообществ и является хорошей основой для организации здесь охраняемой природной территории.

Заключение

Исследованный массив долинных еловых лесов в нижнем течении р. Копту не является прямым продолжением лесного пояса в нижележащие пояса по речной долине. Это своеобразный ценогический реликт позднеплейстоценовой эпохи, сформировавшийся в условиях сурового климата последнего ледникового периода и сохранившийся в основных чертах до наших дней. В видовом составе долинных еловых лесов представлены элементы горнотаежных и псевдотаежных лесов, лесных болот и лесостепного окружения. Уникальная среда, формирующаяся под пологом этих сообществ, способствует сохранению здесь ряда редких и уязвимых видов растений, в том числе находящихся под охраной. Еловые леса долины р. Копту в нижнем течении близ п. Бояровка представляют высокую ценность как с точки зрения биоразнообразия, так и в историческом аспекте. Для их сохранения необходимо расширить границы предложенной ранее ключевой ботанической, включив в нее долину р. Копто.

Литература

1. Бобров Е.Г. Лесообразующие хвойные СССР. Л. : Наука, 1978. 187 с.
2. Коропачинский И.Ю., Встовская Т.Н. Древесные растения Азиатской России. Новосибирск : Изд-во СО РАН, филиал «Гео», 2002. 707 с.
3. Бобров Е.Г. История и систематика рода *Picea* A. Dietr. // Новости систематики высших растений. 1970. № 7. С. 5–40.
4. Правдин Л.Ф. Ель европейская и ель сибирская в СССР. М. : Наука, 1975. 176 с.
5. Национальный атлас России. Т. 1: Общая характеристика территории / под ред. Г.В. Поздняк, Н.Н. Полункиной, Н.В. Смуровой. М. : Астрель, 2008. 496 с.
6. Коропачинский И.Ю., Федоровский В.Д. Леса Тувинской АССР // Леса СССР. М. : Наука, 1969. Т. 4. С. 321–349.

7. Природные ресурсы Республики Тыва. Т. 1 / А.Д. Самбуу, И.М. Красноборов, В.В. Севастьянов и др.; под ред. И.В. Котельникова. Новосибирск : Гарамонд, 2018. 488 с.
8. Маскаев Ю.М. Леса // Растительный покров и естественные кормовые угодья Тувинской АССР. Новосибирск : Наука, 1985. С. 68–106.
9. Леса высокой природоохранной ценности: Проект руководства / С. Дженнингс, Р. Нуссбаум, Н. Джадд, Т. Эванс ; пер. с англ. Т. Поповой ; под ред. Т. Яницкой. М. : WWF; 2005. 184 с.
10. Яницкая Т.О. Практическое руководство по выделению лесов высокой природоохранной ценности в России. М. : WWF, 2008. 136 с.
11. Соболевская К.А. Растительность Тувы. Новосибирск : Наука, 1950. 140 с.
12. Верховцев Е.П. Леса Тувинской автономной области и их народнохозяйственное значение // Леса Тувинской автономной области : Труды Сибирского технологического института. Сб. 22. Красноярск, 1959. С. 1–31.
13. Чередникова Ю.С., Ильинская С., Новосельцева И.Ф. Восточнотувинско-Южнобайкальская горная лесорастительная область // Типы лесов гор Южной Сибири. Новосибирск : Наука, 1980. С. 149–235.
14. Куминова А.В. Основные черты и закономерности растительного покрова // Растительный покров и естественные кормовые угодья Тувинской АССР. Новосибирск : Наука, 1985. С. 16–48.
15. Makunina N.I. Altitudinal zonation of the southern flank of Western and Eastern Tannu-Ola ranges: principal types of plant communities // Contemporary Problems of Ecology. 2011. № 18. PP. 357–377.
16. Макунина Н.И. Леса Тувы: классификация и ботанико-географический обзор // Растительный мир Азиатской России. 2020. № 1(37). С. 40–78. doi: [10.21782/RMAR1995-2449-2020-1\(40-78\)](https://doi.org/10.21782/RMAR1995-2449-2020-1(40-78))
17. Макунина Н.И., Мальцева Т.В., Зибзеев Е.Г. Высотная поясность южного макросклона хребта Академика Обручева (Западный Саян) // География и природные ресурсы. 2007. № 2. С. 86–97.
18. Makunina N.I., Egorova A.V., Pisarenko O.Y. Drawing of potential areas of plant communities for geobotanical zoning purposes (on example of Tuva forests) // Contemporary Problems of Ecology. 2020. № 13. PP. 412–417. doi: [10.1134/S1995425520040095](https://doi.org/10.1134/S1995425520040095)
19. Ильина И.С., Лапшина Е.И., Лавренко Н.Н., Мельцер Л.И., Романова Е.А., Богоявленский Б.А., Махно В.Д. Растительный покров Западно-Сибирской равнины. Новосибирск : Наука, 1985. 250 с.
20. Лашинский Н.Н., Писаренко О.Ю. Темнохвойные леса Западно-Сибирской равнины на южном пределе распространения // Растительность России. 2016. № 28. С. 89–107. doi: [10.31111/vegrus/2016.28.89](https://doi.org/10.31111/vegrus/2016.28.89)
21. Научно-прикладной справочник по климату СССР. Серия 3. Многолетние данные. Вып. 21: Красноярский край, Тувинская АССР, ч. 1–6, кн. 1 / под ред. Н.С. Смирновой. Л. : Гидрометеиздат, 1990. 623 с.
22. Зверев А.А. Информационные технологии в исследованиях растительного покрова. Томск : ТМЛ-Пресс, 2007. 304 с.
23. Becking R. The Zürich-Montpellier school of phytosociology // The Botanical Review. 1957. Vol. 23, № 7. P. 411–488.
24. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств. СПб. : Мир и семья-95, 1995. 991 с.
25. Ignatov M.S., Afonina O.M., Ignatova E.A., Abolina A.A., Akatova T.V., Baisheva E.Z., Bardunov L.V., Baryakina E.A., Belkina O.A., Bezgodov A.G., Boychuk M.A., Cherdantseva V.Ya., Czernyadjeva I.V., Doroshina G.Ya., Dyachenko A.P., Fedosov V.E., Goldberg I.L., Ivanova E.I., Jukoniene I., Kannukene L., Kazanovsky S.G.,

- Kharzinov Z.Ch., Kurbatova L.E., Maksimov A.I., Mamatkulov U.K., Manakyan V.A., Maslovsky O.M., Napreenko M.G., Otnyukova T.N., Partyka L.Ya, Pisarenko O.Yu., Popova N.N., Rykovsky G.F., Tubanova D.Ya, Zheleznova G.V., Zolotov V.I. Check-list of mosses of East Europe and North Asia // *Arctoa*. 2006. Vol. 15. PP. 1–130. doi: [10.15298/arctoa.15.01](https://doi.org/10.15298/arctoa.15.01)
26. Егорова Т.В. Осоки (*Carex* L.) России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР) / под ред. А.Л. Тахтаджяна. Санкт-Петербург : Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия ; Сент-Луис : Миссурийский ботанический сад, 1999. 772 с.
 27. Коротков И.А. Типы леса Монгольской Народной Республики // Леса Монгольской Народной Республики (география и типология). М. : Наука, 1978. С. 47–121.
 28. Зяткова Л.К. Тува // История развития рельефа Сибири и Дальнего Востока. Алтае-Саянская горная область. М. : Наука, 1969. С. 333–362.
 29. Рельеф Алтае-Саянской горной области / Г.А. Чернов, В.В. Вдовин, П.А. Окишев и др. Новосибирск : Наука, 1988. 207 с.
 30. Юнатов Л.Л. Основные черты растительного покрова Монгольской Народной Республики. М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1950. 223 с.
 31. Карамышева З.В. Широкие и долготные изменения растительности гор Монголии // Растительный мир высокогорных экосистем СССР. Владивосток : Изд-во ДВО АН СССР, 1988. С. 262–273.
 32. Tollefsrud M.M., Latałowa M., van der Knaap W.O., Brochmann Ch., Sperisen Ch. Late Quaternary history of North Eurasian Norway spruce (*Picea abies*) and Siberian spruce (*Picea obovata*) inferred from macrofossils, pollen and cytoplasmic DNA variation // *Journal of Biogeography*. 2015. № 42. PP. 1431–1442. doi: [10.1111/jbi.12484](https://doi.org/10.1111/jbi.12484)
 33. Ермаков Н.Б. Разнообразие бореальной растительности Северной Азии. Гемибореальные леса. Классификация и ординация. Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2003. 232 с.
 34. Красная книга Республики Тыва: животные, растения и грибы / под ред. С.О. Ондар, Д.Н. Шауло. Воронеж : МИР, 2019. 560 с.
 35. Андерсон Ш. Идентификация ключевых ботанических территорий: Руководство по выбору КБТ в Европе и основы развития этих правил для других регионов мира. М. : Изд-во Представительства Всемирного союза охраны природы (IUSN) для России и стран СНГ, 2003. 39 с.
 36. Ключевые ботанические территории Алтае-Саянского экорегиона: опыт выделения / И.А. Артемов, А.Ю. Королюк, Н.Н. Лащинский и др. ; под ред. И.Э. Смелянского, Г.А. Пронькиной. Новосибирск : Гео, 2009. 260 с.
 37. Артемов И. А. Ключевые ботанические территории в Республике Тыва // Растительный мир Азиатской России. 2012. № 1(9). С. 60–71.

Поступила в редакцию 01.04.2021 г.; повторно 12.05.2021 г.;
принята 27.05.2021 г.; опубликована 29.06.2021 г.

Авторский коллектив:

Лащинский Николай Николаевич, д-р биол. наук, г.н.с. лаборатории географии и экологии биоразнообразия, Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-4196-7619>

E-mail: nnl630090@gmail.com

Писаренко Ольга Юрьевна, д-р биол. наук, в.н.с. лаборатории географии и экологии биоразнообразия, Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101).

E-mail: o_pisarenko@mail.ru

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-4108-4821>

For citation: Lashchinskiy NN, Pisarenko OYu. Spruce forests of the Koptu River valley (the Republic of Tuva) as a relict of Late Pleistocene vegetation. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;54:45-63. doi: 10.17223/19988591/54/3 In Russian, English Summary

Nikolay N. Lashchinskiy, Olga Yu. Pisarenko

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

Spruce forests of the Koptu River valley (the Republic of Tuva) as a relict of Late Pleistocene vegetation

Spruce forests of the Tuva Republic are not sufficiently described in literature. Spruce forests occupy small areas, but they are characterized by high species diversity. Enclaves of forest communities outside the forest belt are particularly interesting. The actual problem concerns species composition which forms plant communities existing under environmental and climate conditions that are not favorable for it. The aim of the research is to describe the communities of the valley dark coniferous forests in the model river valley in Central Tuva, to assess their diversity, to analyze species composition and to identify the main factors determining it.

In the course of the fieldwork in 2020, we examined coniferous forests along the Koptu river, on the southern slope of the Academic Obruchev range (*See Figures*). In this part of the range, the foothills are occupied by steppe vegetation; forest-steppe landscapes prevail at altitudes of 800-1000 m; above there is the taiga belt, the upper border of the forest is about 1900 m above sea level. Two key areas were investigated; one of them is located in the middle course of the river within the taiga belt (51.90-51.92°N; 95.45-95.48°E, 1400-1500 m above sea level), the other is in the lower course of the river in the forest-steppe belt (51.55-51.70°N; 95.34-95.45°E, 700-900 m above sea level). In total, 11 relevés were made on plots of 20×20 m by the standard method.

We established that the forests are rich in species: 98 taxa were registered (*See Table*). It could be expected that coniferous forests in the river valley within the forest-steppe belt are a continuation of the above located communities, a continuation of communities from the taiga belt. However, our materials have demonstrated that it is not so. We revealed that, despite the physiognomic similarity, the dark coniferous communities growing in the river valley in its lower course differ significantly from those growing within the taiga belt (*See Table*). *Larix sibirica* is abundant everywhere; but in the taiga belt *Pinus sibirica* dominates in the valley communities, and *Picea obovata* prevails in the river valley in the forest-steppe belt. Apart from it, the communities of these two key sites differ significantly in their species composition. Analysis of the ecology of differentiating species shows that the difference is due to a complex of factors. Four groups of species can be distinguished in the investigated forests:

I. Taiga species which are only encountered in forests of the upper part and are absent below (*Aegopodium alpestre*, *Carex iljinii*, *Cerastium pauciflorum*, *Vaccinium vitis-idaea*, *V. uliginosum*).

II. Meadow species, symmetrically, only occur in the forests of the lower part and are absent in the taiga belt (*Galium boreale*, *Lathyrus pratensis*, *Rubus saxatilis* and *Vicia cracca*, *Achillea asiatica*, *Adonis sibirica*, *Artemisia laciniata*, *Iris ruthenica*).

The two groups mentioned above reflect the difference in altitude as well as the influence of the zonal environment.

III. A series of species in the downstream valley forests reflect a waterlogging process, which takes place there due to the altitudinal gradient declining and surface

flattening (*Angelica tenuifolia*, *Caltha palustris*, *Carex cespitosa*, *C. dioica*, *Equisetum scirpoides*, *Delphinium crassifolium*, *Galium uliginosum*, *Lathyrus palustris*, *Parnassia palustris*, *Ribes procumbens*; among mosses – *Calliergonella cuspidata*, *Helodium blandowii*, *Timmia megapolitana*, *Tomentypnum nitens*).

IV. A number of species with mainly taiga or Arctic-Alpine distribution were recorded only in larch-spruce forests in the river valley in the forest-steppe belt and they are absent in the forests of the upper key area (*Carex alba*, *Bistorta vivipara*, *Carex sedakowii*, *Orthilia obtusata*, *Pedicularis sceptrum-carolinum*, *Saussurea alpina*, *Schizachne callosa*). For these species, it is impossible to explain their presence in the forest-steppe belt by modern ecological conditions. Their presence in the valley spruce forests has historical reasons and could be caused by the conditions of the Late Pleistocene cooling. So, we can draw a conclusion that the massif of valley spruce forests in the lower part of the Koptu river is a relict community formed in the Late Pleistocene periglacial environment on permafrost soils. In present conditions, it is in unstable equilibrium.

The massif is the habitat of a number of rare species. In particular, the Orchidaceae taxa were found here, four of which are included in the Red Book of the Republic of Tuva (*Cypripedium calceolus*, *Dactylorhiza sibirica*, *Epipogium aphyllum*, *Neottianthe cucullata*). The valley forest of the lower part of the Koptu river can be nominated as a high conservation value forest and recommended to be included in the list of the Important Plant Areas of the Altai-Sayan region. The massif is under the strong anthropogenic pressure; in order to avoid extinction, it needs to be protected.

The paper contains 2 Figures, 1 Table and 37 References.

Key words: coenoflora; biodiversity; Important Plant Areas; rare species; extrazonal vegetation.

Funding: This work was partially supported by the Russian Foundation for Basic Research (Project No. 18-04-00822).

The Authors declare no conflict of interest.

References

1. Bobrov EG. Lesoobrazuyushchie khvoynnye SSSR [Forest-forming coniferous trees of the USSR]. Leningrad: Nauka Publ.; 1978. 187 p. In Russian
2. Koropachinskiy IYu, Vslovskaya TN. Drevesnye rasteniya Aziatskoy Rossii [Woody plants of the Asian part of Russia]. Novosibirsk: Publishing House of SB RAS, Branch "Geo"; 2002. 707 p. In Russian
3. Bobrov EG. Generis Picea historia et systematica. *Novosti sistematiki vysshikh rasteniy = Novitates systematicae plantarum vascularium*. 1970;7:5-40.
4. Pravdin LF. El' evropeyskaya i el' sibirskaya v SSSR [European spruce and Siberian spruce in the USSR]. Moscow: Nauka Publ.; 1975. 176 p. In Russian
5. *Natsional'nyy atlas Rossii*. Tom 1. Obshchaya kharakteristika territorii [National Atlas of Russia. Vol. 1. General characteristics of the territory]. Pozdnyak GV, Polunkina NN and Smurova NV, editors. Moscow: Astrel' Publ.; 2008. 496 p. In Russian
6. Koropachinskiy IYu., Fedorovskiy VD. Lesa Tuvinskoy ASSR [Forests of the Tuva]. In: *Lesa SSSR*. T. 4 Lesa Urala, Sibiri i Dal'nego Vostoka [Forests of the USSR. Vol. 4. Forests of the Urals, Siberia and Far East]. Moscow: Nauka Publ.; 1969. pp. 321-349. In Russian
7. *Prirodnye resursy Respubliki Tyva* [Natural resources of the Tyva Republic]. Vol. 1. Kotelnikov VV, editor. Novosibirsk: Garamond Publ.; 2018. 488 p. In Russian
8. Maskaev YuM. Lesa [Forests]. In: *Rastitel'nyy pokrov i estestvennye kormovyye ugod'ya Tuvinskoy ASSR* [Vegetation cover and natural forage lands of the Tuva ASSR]. Koropachinskiy IYu, editor. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1985. pp. 68-106. In Russian

9. Jennings S, Nussbaum R, Judd N, Evans T, Iacobelli T, Jarvie J, Chunquan Z. The high conservation value forest toolkit. Edition I, ProForest, Oxford OX. 2003;12:1-62. Translated from English by Popova T. Yanitskaya T, editor. Moscow: World Wildlife Fund (WWF) Publ.; 2005. 184 p. In Russian
10. Yanitskaya TO. Prakticheskoe rukovodstvo po vydeleniyu lesov vysokoy prirodookhrannoy tsennosti v Rossii [Practical guide to the allocation of forests of high environmental value in Russia]. Moscow: World Wildlife Fund (WWF) Publ.; 2008. 136 p. In Russian
11. Sobolevskaya KA. Rastitel'nost' Tuvy [Vegetation of Tuva]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1950. 140 p. In Russian
12. Verkhovtsev EP. Lesa Tuvinskoy avtonomnoy oblasti i ikh narodnokhozyaystvennoe znachenie [Forests of the Tuva Autonomous Region and their national economic significance]. In: *Lesy Tuvinskoy avtonomnoy oblasti. Trudy Sibirskogo tekhnologicheskogo instituta. XXII* [Forests of the Tuva Autonomous Region. Proceedings of the Siberian Institute of Technology. XXII]. Larionov AI, editor. Krasnoyarsk: Ministerstvo vysshego obrazovaniya SSSR Publ.; 1959. pp. 1-31. In Russian
13. Cherednikova YuS, Il'inskaya S, Novosel'tseva IF. Vostochnotuvinsko-Yuzhnozabaykal'skaya gornaya lesorastitel'naya oblast' [East-Tuva-South-Baikal mountain forest area]. In: *Tipy lesov gor Yuzhnoy Sibiri* [Types of forests in the mountains of Southern Siberia]. Smagin VN, editor. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1980. pp. 149-235.
14. Kuminova AV. Osnovnye cherty i zakonomernosti rastitel'nogo pokrova [The main features and patterns of vegetation cover]. In: *Rastitel'nyy pokrov i estestvennye kormovye ugod'ya Tuvinskoy ASSR* [Vegetation cover and natural forage lands of the Tuva ASSR]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1985. pp. 16-48.
15. Makunina NI. Altitudinal zonation of the southern flank of Western and Eastern Tannu-Ola ranges: principal types of plant communities. *Contemporary Problems of Ecology*. 2011;18:357-377. In Russian
16. Makunina NI. The forests of Tuva: classification and geobotanical review. *Rastitel'nyy Mir Aziatskoj Rossii*. 2020;1(37):40-78. doi: [10.21782/RMAR1995-2449-2020-1\(40-78\)](https://doi.org/10.21782/RMAR1995-2449-2020-1(40-78)) In Russian
17. Makunina NI, Mal'tseva TV, Zibzeev EG. Vysotnaya poyasnost' yuzhnogo makrosklona khrebtu akademika Obrucheva (Zapadnyy Sayan) [Altitudinal zonality of the southern macroslope of the Akademika Obruchev ridge (Western Sayan)]. *Geography and Natural Resources*. 2007;2:86-97. In Russian
18. Makunina NI, Egorova AV, Pisarenko OYu. Drawing of potential areas of plant communities for geobotanical zoning purposes (on example of Tuva Forests). *Contemporary Problems of Ecology*. 2020;13:412-417. doi: [10.1134/S1995425520040095](https://doi.org/10.1134/S1995425520040095) In Russian
19. Il'ina IS, Lapshina EI, Lavrenko NN, Mel'tser LI, Romanova EA, Bogoyavlenskiy BA, Makhno VD. Rastitel'nyy pokrov Zapadno-Sibirskoy ravniny [Vegetation cover of the West Siberian Plain]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1985. 250 p. In Russian
20. Lashchinsky NN, Pisarenko OYu. Dark coniferous forests of West Siberian Plain on their Southern limit. *Rastitel'nost Rossii = Vegetation of Russia*. 2016;28:89-107. doi: [10.31111/vegrus/2016.28.89](https://doi.org/10.31111/vegrus/2016.28.89) In Russian
21. Nauchno-prikladnyy spravochnik po klimatu SSSR. Seriya 3. Mnogoletnie dannye. Vypusk 21, Krasnoyarskiy kray, Tuvinskaya ASSR [Scientific and applied reference book on the climate of the USSR. Series 3. Long-term data. Iss. 21, Krasnoyarsk Territory, Tuva ASSR]. Smirnova NS, editor. Leningrad: Gidrometeoizdat Publ.; 1990. 623 p.
22. Zverev AA. Informatsionnye tekhnologii v issledovaniyakh rastitel'nogo pokrova: Uchebnoe posobie [Information technologies in studies of vegetation: Textbook]. Tomsk: TML-Press Publ.; 2007. 304 p. In Russian
23. Becking R. The Zürich-Montpellier school of phytosociology. *The Botanical Review*. 1957;23(7):411-488.

24. 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
25. Ignatov MS, Afonina OM, Ignatova EA, Abolina AA, Akatova TV, Baisheva EZ, Bardunov LV, Baryakina EA, Belkina OA, Bezgodov AG, Boychuk MA, Cherdantseva VYa, Czernyadjeva IV, Doroshina GY, Dyachenko AP, Fedosov VE, Goldberg IL, Ivanova EI, Jukoniene I, Kannukene L, Kazanovsky SG, Kharzinov ZK, Kurbatova LE, Maksimov AI, Mamatkulov UK, Manakyan VA, Maslovsky OM, Napreenko MG, Otnyukova TN, Partyka LY, Pisarenko OYu, Popova NN, Rykovsky GF, Tubanova DY, Zheleznova GV, Zolotov VI. Check-list of mosses of East Europe and North Asia. *Arctoa*. 2006;15:1-130. doi: [10.15298/arctoa.15.01](https://doi.org/10.15298/arctoa.15.01)
26. Egorova TV. The sedges (*Carex* L.) of Russia and adjacent states (within the limits of the former URSS). Takhtajan AL, editor. St.-Petersburg: St. Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy; Saint-Louis: Missouri Botanical Garden Press; 1999. 772 p.
27. Korotkov IA. Tipy lesa Mongol'skoy Narodnoy Respubliki [Types of forests of the Mongolian People's Republic]. In: *Lesa Mongol'skoy Narodnoy Respubliki (geografiya i tipologiya)* [Forests of the Mongolian People's Republic (geography and typology)]. Lavrenko EM, editor. Moscow: Nauka Publ.; 1978. pp. 47-121. In Russian
28. Zyat'kova LK. Tuva [Tuva]. In: *Istoriya razvitiya rel'efa Sibiri i Dal'nego Vostoka. Altae-Sayanskaya gornaya oblast'* [History of the development of the relief of Siberia and the Far East. Altai-Sayan Mountain region]. Strelkov SA and Vdovin VV, editors. Moscow: Nauka Publ.; 1969. pp. 333-362. In Russian
29. Chernov GA, Vdovin VV, Okishev PA, Petkevich MV, Mistryukov AA, Zyat'kova LK, Milyaeva LS. Rel'ef Altae-Sayanskoy gornoy oblasti [The relief of the Altai-Sayan mountain region]. Nikolaev VA and Chernov GA editors. Nauka, Siberian Branch Publ.; 1988. 207 p. In Russian
30. Yunatov LL. Osnovnye cherty rastitel'nogo pokrova Mongol'skoy Narodnoy Respubliki [The main features of the vegetation cover of the Mongolian People's Republic]. Moscow-Leningrad: Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR Publ.; 1950. 223 p. In Russian
31. Karamysheva ZV. Shirotnye i dolgotnye izmeneniya rastitel'nosti gor Mongolii [Latitudinal and longitude changes in the vegetation of the mountains of Mongolia]. In: *Rastitel'nyy mir vysokogornnykh ekosistem SSSR* [Plant world of high-mountain ecosystems of the USSR]. Kapustina OG, editor. Vladivostok: Izdatel'stvo Dal'nevostochnogo Otdeleniya Akademii Nauk SSSR; 1988. pp. 262-273. In Russian
32. Tollefsrud MM, Latalowa M, van der Knaap WO, Brochmann Ch, Sperisen Ch. Late Quaternary history of North Eurasian Norway spruce (*Picea abies*) and Siberian spruce (*Picea obovata*) inferred from macrofossils, pollen and cytoplasmic DNA variation. *J Biogeography*. 2015;42:1431-1442. doi: [10.1111/jbi.12484](https://doi.org/10.1111/jbi.12484)
33. Ermakov NB. Raznoobrazie boreal'noy rastitel'nosti Severnoy Azii. Gemiboreal'nye lesa. Klassifikatsiya i ordinatsiya [Diversity of boreal vegetation in Northern Asia. Hemiboreal forestp. Classification and ordination]. Novosibirsk: Izdatel'stvo Sibirskogo Otdeleniya RAS; 2003. 232 p. In Russian
34. *Krasnaya kniga Respubliki Tyva (zhivotnyye, rasteniya i griby)* [Red Data Book of the Republic of Tuva: animals, plants and mushrooms]. Odar SO, editor. Kyzyl: MIR Publ.; 2018. 563 p. In Russian
35. Anderson S. Identifying important plant areas - a site selection manual for Europe, and a basis for developing guidelines for other regions of the world. Translated from English Krasnova E and Pron'kina G. Shcherbakov A, editor. Moscow: IUCN-CIS; 2003. 39 p. In Russian
36. *Important plant areas of Altai-Sayan Ecoregion: attempt of identification*. Smelansky IE and Pronkina GA, editors. Novosibirsk: Academic Publishing House "GEO"; 2009. 260 p. In Russian

37. Artemov IA. Impotent plant areas in the Tuva Republic. *Rastitel'nyi Mir Aziatskoj Rossii*. 2012;1(9):60-71. In Russian

*Received 01 April 2021; Revised 12 May 2021;
Accepted 27 May 2021; Published 29 June 2021.*

Author info:

Lashchinsky Nikolay N, Dr. Sci. (Biol.), Main Researcher, Laboratory of Geography and Ecology of Biodiversity, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskaia Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-4196-7619>

E-mail: nnl630090@gmail.com

Pisarenko Olga Yu, Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Geography and Ecology of Biodiversity, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskaia Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-4108-4821>

E-mail: o_pisarenko@mail.ru

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 577.16

doi: 10.17223/19988591/54/4

Ю.С. Сидорова, Н.А. Петров, О.А. Вржесинская, В.М. Коденцова,
Н.А. Бекетова, О.В. Кошелева, С.Н. Леоненко, С.Н. Зорин, П.С. Громовых

*Федеральный исследовательский центр питания,
биотехнологии и безопасности пищи, г. Москва, Россия*

Влияние сочетанного дефицита витаминов, кальция, магния и йода на когнитивные функции растущих крыс

Работа выполнена в рамках госзадания № 0529-2019-0062, тема «Клинико-экспериментальное обоснование оптимальной схемы коррекции алиментарной сочетанной недостаточности витаминов и минеральных веществ».

Исследовано влияние полигиповитаминоза в сочетании с недостаточностью кальция, магния и йода у растущих самцов крыс-отъёмшей стока Wistar с исходной массой тела $51,4 \pm 0,5$ г на проявление безусловного рефлекса и способность к обучению в ответ на воздействие электрическим током. Крысы контрольной группы (I) потребляли полноценный полусинтетический рацион, крысы II группы (- Ca, Mg, I) – тот же рацион, но с уменьшенным на 50% в минеральной смеси количеством кальция, магния и йода, крысы III группы (- Vit) получали рацион, содержащий 100% минеральных веществ с уменьшенным до 20% количеством витаминной смеси при полном исключении из нее витамина E. Животных IV группы (- Vit, Ca, Mg, I) содержали на дефицитном по витаминам и минеральным веществам рационе. На 7-е сутки развития микронутриентной недостаточности у крыс ухудшено воспроизведение безусловного рефлекса (фотофобии). Выявлено статистически значимое ($p < 0,05$) снижение долгосрочной памяти у животных, содержавшихся на рационе с дефицитом витаминов (- Vit) и одновременно сниженным уровнем витаминов, кальция, магния и йода (- Vit, Ca, Mg, I). На основании величин латентного времени входа в темный отсек в тесте «Условный рефлекс пассивного избегания» через 1 сутки и через 14 суток установлено, что ухудшение памяти обусловлено снижением в рационе содержания витаминов, тогда как дефицит минеральных веществ не влиял на эти параметры.

Ключевые слова: мультимикронутриентная недостаточность; условный рефлекс пассивного избегания; витамины; минеральные вещества; долговременная память

Сокращения [Abbreviations]: LT – латентный период [Latent time].

Для цитирования: Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Бекетова Н.А., Кошелева О.В., Леоненко С.Н., Зорин С.Н., Громовых П.С. Влияние сочетанного дефицита витаминов, кальция, магния и йода на когнитивные функции растущих крыс // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 54. С. 64–82. doi: 10.17223/19988591/54/4

Введение

Эпидемиологические обследования и мониторинг питания населения Российской Федерации свидетельствуют о недостаточном содержании в рационе витаминов D, группы B, кальция, магния, йода [1, 2]. В результате для населения нашей страны характерно сочетание одновременной недостаточности сразу нескольких эссенциальных микронутриентов.

Адекватная обеспеченность организма микронутриентами является необходимым условием для осуществления мыслительной функции. Предполагается, что повышенная концентрация некоторых витаминов, в частности витамина C и фолата, в мозге человека по сравнению с плазмой крови необходима для предотвращения окислительного повреждения ДНК и оптимизации ее восстановления [3]. Большинство исследований посвящено изучению влияния на когнитивные функции недостаточности одного витамина или минерального вещества. Показано, что даже умеренно сниженный статус витамина D или фолата сопровождался ухудшением когнитивной функции у пожилых людей по нескольким параметрам [4, 5]. При дефиците витамина D у крыс в 1,6 раза увеличивалось число неудачных попыток прохождения водного лабиринта Морриса [6]. Недостаточность витамина A препятствовала обучению и сохранению памяти у молодых крыс [7]. Сниженный уровень в плазме крови витаминов A, C, D, B₁₂, E, фолатов ассоциируется со снижением когнитивных функций [3]. В тесте «Условный рефлекс пассивного избегания» у взрослых крыс-самок, получавших в течение 8 недель безмагниевую диету, при обучении увеличивался латентный период захода в темную камеру; при воспроизведении навыка латентный период захода в темную «опасную» камеру увеличивался на 11,4% ($p < 0,05$) [8].

Дефицит йода даже в легкой и умеренной степени связан с ухудшением показателя IQ, чтения и правописания у детей [9]. Во многих эндемичных йододефицитных районах Китая от 5 до 15% детей страдают легкой умственной отсталостью (коэффициент IQ 50–69) [10]. При обследовании 337 лиц в возрасте 49 лет установлена статистически значимая связь между более высоким уровнем в плазме крови кальция и магния с когнитивными показателями [11].

Имеются лишь отдельные работы по исследованию влияния сочетанного недостатка всех витаминов (полигиповитаминоза) на обучаемость крыс. Сочетанный дефицит витаминов группы B (B₁₂, B₆ и фолата) в течение 10 недель сопровождался гомоцистеинемией и значительно ухудшал обучаемость и память мышей [12]. Пребывание крыс на полигиповитаминозном рационе в течение 12 суток приводило к ухудшению воспроизведения безусловного рефлекса (фотофобии), статистически значимому увеличению в 3,2 раза латентного периода перехода в темный отсек лабиринта по сравнению с животными, получавшими полноценный рацион, но не отразилось на их способности к обучению [13].

В связи с широкой распространенностью у взрослого и детского населения нашей страны недостаточного потребления с пищей витаминов, кальция, магния и йода, представлялось целесообразной попытка охарактеризовать влияние дефицита этих микронутриентов у растущих животных как отражение степени воздействия пищевых дефицитов на обучаемость детей. Организм детей наиболее чувствителен к алиментарным дефицитам, в связи с этим в качестве модели были использованы крысы-отъемыши, аппроксимация возраста которых по таблицам пересчета на возраст человека соответствует примерно 4–5 годам жизни ребенка [14]. Содержание крыс в течение 23 суток на дефицитном рационе по продолжительности соответствовало примерно 4 годам жизни ребенка [15].

Цель работы – изучить влияние сочетанной недостаточности витаминов, кальция, магния и йода на проявление безусловного рефлекса и способность к обучению растущих крыс в ответ на воздействие электрическим током.

Материалы и методики исследования

Эксперимент проведен на 46 самцах крыс-отъемышей стока Wistar с исходной массой тела $51,4 \pm 0,5$ г, полученных из питомника лабораторных животных филиала «Столбовая» Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (Московская обл., Чеховский р-н, г.п. Столбовая). Исследования на животных выполнены в соответствии с требованиями ГОСТ 33216–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». Протокол исследования одобрен комитетом по этике ФИЦ питания и биотехнологии.

Животных содержали по 2 крысы в клетке в контролируемых условиях окружающей среды (температура 20–26 °С, относительная влажность 30–60%, 12-часовой цикл освещения). Животные получали корм *ad libitum* и имели постоянный доступ к дистиллированной воде, содержание в которой Са составило 77 мкг/мл, Mg – 33 мкг/мл.

В исследовании применен предварительный отборочный подход, заключающийся в изначальном разделении крыс в зависимости от показателей их поведения в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», основанном на естественном стремлении животного оставаться в закрытых (темных) местах и природном страхе к открытым пространствам и высотам. В тесте изучено поведение животных в условиях переменной стрессогенности, т.е. при свободном выборе комфортных условий, что позволяет оценить степень выраженности эмоциональной реакции страха и тревоги, двигательную активность, скорость ориентировочных реакций. Время пребывания крысы в лабиринте составляло 5 мин. При тестировании регистрировали число заходов и время пребывания в закрытых и открытых рукавах, общую иссле-

довательскую активность. Тестирование проводили до начала кормления животных экспериментальными рационами и на 21-е сутки. Перемещение крыс по лабиринту регистрировали с помощью системы видеонаблюдения «Smart 3.0.04» («Panlab Harvard Apparatus», Испания).

Модель. В течение первых 5 суток всех животных содержали на полноценном полусинтетическом рационе, содержащем 20% казеина пищевого кислотного по ГОСТ 31689–2012 (содержание белка не менее 90,0%), 64% кукурузного крахмала, 9% жира (смесь подсолнечного масла и лярда 1:1), 3,5% стандартной солевой смеси (AIN93), 2% микрокристаллической целлюлозы, 1% сухой витаминной смеси, 0,30% L-цистеина, 0,25% холина битартрата. По результатам теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» и массе тела животных рандомизированно распределяли на 4 группы по 10–12 крыс в каждой группе.

В последующие 23 дня животные получали экспериментальные рационы. Животные I группы (контроль, $n = 12$) получали полноценный по содержанию белка, жиров и углеводов рацион с полноценной витаминно-минеральной смесью. Крысы II группы (- Ca, Mg, I, $n = 12$) – тот же рацион, но содержащий 100% витаминов и дефицитный по кальцию, магнию и йоду за счет уменьшения их количества в минеральной смеси на 50% по сравнению с таковым в рационе контрольной группы. Крысы III группы (- Vit, $n = 10$) получали рацион, содержащий 100% минеральных веществ и дефицитный по всем витаминам за счет уменьшения количества витаминной смеси до 20% от уровня в рационе контрольной группы при полном исключении из неё витамина E [16]. Животных IV группы (- Vit, Ca, Mg, I, $n = 12$) содержали на дефицитном по витаминам и минеральным веществам рационе за счет уменьшения содержания витаминной смеси в 5 раз и уменьшения количества кальция, магния и йода в минеральной смеси в 2 раза. Среднесуточное количество поедаемого корма в расчете на одну крысу составило $14,5 \pm 0,4$ г во всех группах животных. Еженедельно проводили контроль массы тела животных на весах с точностью до 0,1 г.

Тест «Условный рефлекс пассивного избегания». Оценка поведения и памяти животных проведена в традиционно принятом тесте «Условный рефлекс пассивного избегания» [17, 18]. При обучении крысу однократно помещали в светлый отсек камеры спиной к темному отсеку. Регистрировали латентный период (ЛП) пребывания в светлом отсеке камеры. Как только крыса переходила в темный отсек камеры, она получала электрокожное раздражение на лапы (ток 0,4 мА не более 8 с), затем крысу сразу же переводили в жилую клетку. Через 24 ч после обучения у животных проверяли сохранность памятного следа. Для этого животных подвергали тестированию в той же камере, но без подачи тока. ЛП пребывания в светлом отсеке камеры при тестировании рассматривали в качестве показателя, характеризующего степень запоминания крысой отрицательного опыта – удара током. Если животное не переходило в темный отсек камеры в течение 180 с, то считали, что памятный след полностью сохранен.

Для оценки влияния недостаточности витаминов и/или минеральных веществ на процессы забывания тестирование сохранения памятного следа проводили спустя отдаленный интервал времени – 2 недели. Обучение проводили на 7-е сутки эксперимента, проверку обучения (памятного следа) – на 8-е сутки, оценку долгосрочной памяти – на 21-е сутки эксперимента. О сохранности навыка судили по изменению латентного времени захода крысы в темный отсек.

На 23-е сутки предварительно анестезированных эфиром крыс выводили из эксперимента путем декапитации.

Определение витаминов. Для подтверждения развития дефицита витаминов у крыс, способных к синтезу витамина С, в качестве показателей витаминного статуса определяли жирорастворимый витамин-антиоксидант Е и 2 водорастворимых витамина группы В (V_1 и V_2). Содержание в целом лиофильно высушенном головном мозге витамина Е (α -токоферол) определяли с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии, используя хроматографическую систему («Jasco», Япония), включающую спектрофлуориметрический детектор «Jasco 821-FP» ($\lambda_{\text{возб}}=292$ нм, $\lambda_{\text{эм}}=330$ нм); насос «Jasco 880-PU», обеспечивающий подачу элюента (смесь ацетонитрила, метанола, дихлорметана в объемном соотношении 50:45:5) в изократическом режиме со скоростью 0,7 мл/мин; стальную колонку Nucleosil 100–5 C18 длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм [19]. После проведения кислотно-ферментативного гидролиза образцов целого лиофильно высушенного головного мозга витамин V_1 определяли флуориметрически тиохромным методом, витамин V_2 – флуориметрически титрованием апорифлавиновсвязывающим белком с использованием спектрофлуориметра F-2000 («Hitachi», Япония) [16, 20].

Статистический анализ. Выборка включала 46 самцов крыс-отъемышей стока Wistar, 4 группы по 10–12 крыс в каждой группе. Концентрация витаминов определена в трех повторностях. Физиологические тесты проведены однократно. На рисунках и в таблицах приведены средние значения и стандартная ошибка среднего ($M \pm m_M$). Статистическая обработка данных проведена в программе IBM SPSS Statistics 23.0 (IBM, США). Для попарного сравнения выборочных совокупностей использованы критерии: непараметрический U-критерий Манна–Уитни и непараметрический критерий Краскелла–Уоллеса для независимых переменных. Статистическую значимость различий результатов считали при достижении порога вероятности 5% ($p < 0,05$).

Результаты исследования

Влияние недостаточности витаминов и/или кальция, магния и йода исследовано на трех группах растущих крыс, получавших дефицитные по соответствующим микронутриентам рационы, в сравнении с животными того же возраста, получавших полноценный полусинтетический рацион.

Общее состояние всех животных по внешнему виду, качеству шерстного покрова и поведению при осмотре во время тестирований оценено как удовлетворительное.

Развитие дефицита микронутриентов. Различий в массе тела животных в течение всего эксперимента не выявлено (табл. 1). О развитии недостаточности витаминов у животных свидетельствовало статистически значимое ($p < 0,001$) снижение в целом головном мозге содержания измеренных в конце эксперимента витамина В₁ на 28,7% и витамина Е на – 18,0% (табл. 1, группа III). Снижение в рационе содержания минеральных веществ не влияло на уровень витаминов в целом мозге.

Таблица 1 [Table 1]

Масса тела и содержание витаминов в целом головном мозге (мкг/г) крыс стока Wistar, получавших дефицитные по содержанию витаминов и/или минеральных веществ рационы, в конце эксперимента
[The body mass and vitamin content in the whole brain ($\mu\text{g/g}$) of Wistar rats receiving diets deficient in vitamins and / or mineral substances at the end of the experiment] ($M \pm m_n$)

Показатель [Indicator]	Группа животных [Group of animals]				<i>p</i>
	I Контроль [Control]	II (- Ca, Mg, I)	III (- Vit)	IV (- Vit, Ca, Mg, I)	
Масса тела, г [Body mass, g]	190,0 ± 11,8	193,0 ± 12,4	182,9 ± 17,3	187,3 ± 12,6	–
Витамин В ₁ [Vitamin B ₁]	4,53 ± 0,13	4,29 ± 0,18	3,23 ± 0,09	3,12 ± 0,11	$p_{\text{I-III}} < 0,001$ $p_{\text{I-IV}} < 0,001$ $p_{\text{II-III}} < 0,001$ $p_{\text{II-IV}} < 0,001$
Витамин В ₂ [Vitamin B ₂]	2,74 ± 0,10	2,71 ± 0,12	2,67 ± 0,16	2,90 ± 0,09	–
Витамин Е (α -токоферол) [Vitamin E (α -tocopherol)]	15,0 ± 0,3	14,4 ± 0,5	12,3 ± 0,3	13,2 ± 0,3	$p_{\text{I-III}} < 0,001$ $p_{\text{I-IV}} < 0,001$ $p_{\text{II-IV}} = 0,089$

Тревожность и двигательная активность. В табл. 2 представлены результаты оценки тревожности и двигательной активности перед началом эксперимента (первое тестирование) и после 21 суток кормления животных дефицитными по микронутриентам рационами (второе тестирование) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».

При первом тестировании временные интервалы, проведенные животными в открытых и закрытых рукавах лабиринта, а также двигательная активность не различались. При вторичном тестировании поведение животных всех групп существенно не изменилось, что свидетельствует об отсутствии влияния развивающихся в течение 21 суток дефицитов микронутриентов на степень тревожности растущих крыс. В то же время во втором тестировании животные контрольной группы и животные, получавшие дефицитный по содержанию кальция, магния и йода рацион, меньше перемещались по

лабиринту, что подтверждается статистически значимо ($p < 0,05$) меньшей длиной пройденной дистанции, чем при первом тестировании.

Таблица 2 [Table 2]

Характеристика поведения крыс стока Wistar, получавших дефицитные по содержанию витаминов и/или минеральных веществ рационы, в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»
[Behavior characteristics of Wistar rats receiving rations deficient in vitamins and/or mineral substances in the test “Elevated plus maze”] ($M \pm m$)

Показатель [Indicator]	Тест 1 (перед началом эксперимента) [Test 1 (before starting the experiment)]				Тест 2 (тестирование на 21-е сутки эксперимента) [Test 2 (testing on the 21 st day of the experiment)]			
	I Кон- троль [Control]	II (- Ca, Mg, I)	III (- Vit)	IV (- Vit, Ca, Mg, I)	I Кон- троль [Control]	II (- Ca, Mg, I)	III (- Vit)	IV (- Vit, Ca, Mg, I)
Время пребывания в открытых рукавах, с [Stay time in open arms, sec.]	60 ± 8	66 ± 13	57 ± 10	61 ± 10	42 ± 8	53 ± 15	59 ± 9	47 ± 9
Время пребывания в закрытых рукавах, с [Stay time in closed arms, sec.]	209 ± 9	201 ± 16	215 ± 13	208 ± 13	209 ± 9	201 ± 16	216 ± 13	208 ± 14
Общее число переходов [Total number of transitions]	24 ± 3	24 ± 4	23 ± 3	24 ± 3	19 ± 2	18 ± 4	25 ± 3	21 ± 3
Пройденная дистанция, см [Total distance, cm]	1400 ± 52	1389 ± 106	1381 ± 125	1391 ± 112	1072 ± 94*	1016 ± 123*	1153 ± 128	1221 ± 117

Примечание. * – статистически значимые различия по сравнению с тестом 1 ($p < 0,05$).

[Notes. * The differences are significant relative to Test 1 ($p < 0.05$)].

У крыс из дефицитных по содержанию витаминов групп сохранена высокая двигательная активность. Таким образом, у крыс контрольной группы и с дефицитом минеральных веществ (- Ca, Mg, I) двигательная активность снизилась, а у крыс как с дефицитом только витаминов (- Vit), так и с сочетанным дефицитом витаминов и минеральных веществ (- Vit, Ca, Mg, I) не изменилась.

Когнитивные функции кратковременной и длительной памяти. Результаты оценки когнитивных функций кратковременной и длительной памяти представлены на рис. 1 и 2.

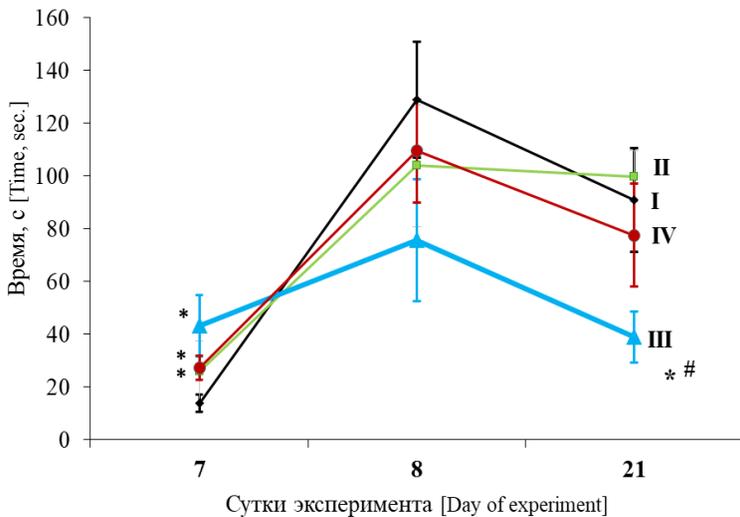


Рис. 1. Латентное время в тесте «Условный рефлекс пассивного избегания» в динамике у крыс стока Wistar, получавших разные по содержанию витаминов и/или минеральных веществ рационы ($M \pm m_M$):

I – контроль; II – (- Ca, Mg, I); III – (- Vit); IV – (- Vit, Ca, Mg, I).

Примечания: * – статистически значимые различия ($p < 0,05$) относительно контрольной группы (I); # – статистически значимые различия ($p < 0,05$) относительно группы (- Ca, Mg, I) согласно U-критерию Манна–Уитни [Fig. 1. The latent time (in the dynamics) of the passive avoidance reaction in Wistar rats feeding on rations with different content of vitamins and / or mineral substances ($M \pm m_M$):

I - Control; II - (- Ca, Mg, I); III - (- Vit); IV - (- Vit, Ca, Mg, I).

Notes: * the differences are significant ($p < 0.05$) relative to the control group (I);

the differences are significant ($p < 0.05$) relative to the group (- Ca, Mg, I) according to the Mann-Whitney U-test]

Во время первого тестирования (выработка условного рефлекса пассивного избегания) животные всех групп входили в темный отсек камеры (100% выработка рефлекса). Однако если под влиянием исследовательского поведения и врожденного предпочтения темных участков пространства (фотофобии) крысы, получавшие полноценный рацион, достаточно быстро заходили в темный отсек, то уже через 7 суток кормления экспериментальными рационами животные всех дефицитных по витаминам, минеральным веществам или с одновременным дефицитом эссенциальных микронутриентов групп входили в темный отсек статистически значимо ($p < 0,05$) позже (см. рис. 1). Относительно контроля время пребывания в светлом отсеке камеры у крыс с дефицитом витаминов (- Vit) увеличилось в 3 раза, а у крыс с дефицитом минеральных веществ (- Ca, Mg, I) и сочетанным недостатком микронутриентов (- Vit, Ca, Mg, I) – соответственно в 1,85 и 1,95 раза.

Через 24 ч при тестировании краткосрочной памяти различия между группами не выявлялись. Через 2 недели при оценке долгосрочной памяти

животные с дефицитом витаминов (- Vit) статистически значимо ($p < 0,05$) быстрее перемещались в темную камеру по сравнению как с животными, получавшими полноценный рацион (контрольная группа), так и с животными (- Ca, Mg, I), в рационе которых имелся недостаток минеральных веществ (рис. 1).

Способность крыс к запоминанию. Способность крыс к запоминанию нанесенного электрошокового раздражения оценена по разнице латентного времени до (1-е тестирование после 7 суток кормления животных рационами с различным содержанием микронутриентов) и после обучения через последующие 1 сутки и 14 суток (см. рис. 2).

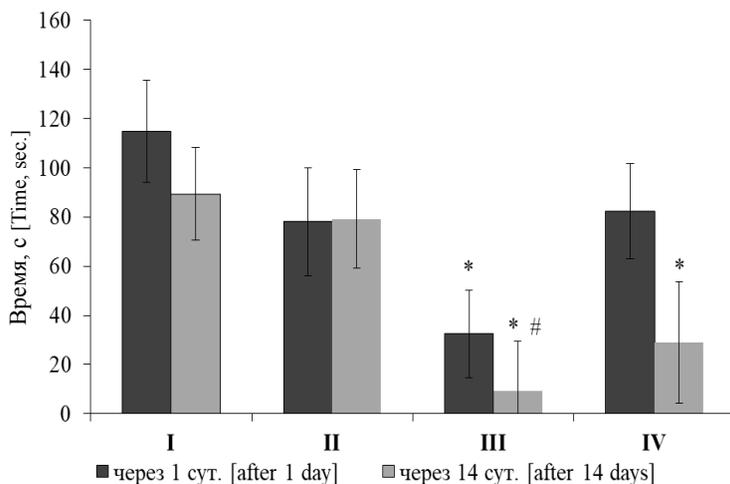


Рис. 2. Разница латентного времени входа в темный отсек крыс стока Wistar, получавших дефицитные по содержанию витаминов и/или минеральных веществ рационы ($M \pm m_M$): I – контроль; II – (- Ca, Mg, I); III – (- Vit); IV – (- Vit, Ca, Mg, I).

Примечания: * – статистически значимые различия ($p < 0,05$) относительно контрольной группы (I); # – статистически значимые различия ($p < 0,05$) относительно группы (- Ca, Mg, I) согласно U-критерию Манна–Уитни [Fig. 2. The difference in the latent time of entry into the dark compartment of Wistar rats fed on rations deficient in vitamins and / or mineral substances ($M \pm m_M$): I - Control; II - (- Ca, Mg, I); III - (- Vit); IV - (- Vit, Ca, Mg, I).

Notes: * the differences are significant ($p < 0.05$) relative to the control group (I);

the differences are significant ($p < 0.05$) relative to the group (- Ca, Mg, I) according to the Mann-Whitney U-test]

Из данных, представленных на рис. 2, видно, что у животных с дефицитом витаминов (- Vit) уже через 24 ч после первого тестирования латентный период нахождения крыс в светлом отсеке до их перехода в темный отсек статистически значимо ($p < 0,05$) меньше по сравнению с показателем животных из контрольной группы, получавших полноценный рацион. Через

14 суток этот показатель статистически значимо ($p < 0,05$) снижен и по сравнению с группой II (- Ca, Mg, I). Полученный результат свидетельствует об ухудшении памяти и когнитивных функций у животных, получавших дефицитный по витаминам рацион (- Vit). Статистически значимое ($p < 0,05$) снижение показателя долгосрочной памяти выявлено также у животных, сохранившихся на рационе с одновременно сниженным уровнем витаминов, кальция, магния и йода (- Vit, Ca, Mg, I). На основании полученных результатов можно заключить, что ухудшение памяти и когнитивных функций обусловлено именно снижением в рационе содержания витаминов. Неожиданным оказался тот факт, что при сочетанном недостатке в рационе витаминов и минеральных веществ (- Vit, Ca, Mg, I) относительное латентное время через 24 ч не отличалось от параметра у животных, получавших полноценный рацион (контрольная группа).

Обсуждение результатов исследования

Ранее нами было показано, что у крыс на 12-е сутки кормления их витаминдефицитным рационом ухудшилось воспроизведение безусловного рефлекса фотофобии [13]. В данной работе оказалось, что изменения проявляются значительно раньше – уже на 7-е сутки. Одним из механизмов может быть снижение концентрации витамина D в головном мозге, поскольку физиологические концентрации витамина D в мозге оказывают нейропротекторное действие [21]. Дополнительный вклад в снижение концентрации гормональной формы этого витамина мог вносить дефицит магния, являющегося кофактором в реакциях метаболизма витамина D [22]. Влияние микронутриентной недостаточности на высшую нервную деятельность исследовано на модели однократного обучения в тесте «Условный рефлекс пассивного избегания» с двумя камерами, в ходе которого обнаружено статистически значимое ($p < 0,05$) ухудшение долгосрочной памяти, что согласуется с данными литературы о нарушении обучаемости животных при изолированном дефиците каждого из витаминов D, A или B₁, при нарушении эндогенного синтеза аскорбиновой кислоты [6, 23–27], а также при сочетанной недостаточности витаминов группы B (B₁, B₂, B₃, B₆, B₉, B₁₂), которые необходимы для осуществления когнитивных функций [12, 29, 30]. Большинство работ в этой области посвящено исследованию алиментарного дефицита какого-либо одного пищевого компонента рациона, зачастую исследования проведены на половозрелых интактных крысах, лишенных одного эссенциального вещества (чаще всего магния), в течение длительного времени, как правило, 8 недель, или влияние биологически активных веществ растительного или животного происхождения (например, карнозина) изучено на фоне адекватной обеспеченности эссенциальными веществами [28]. Так, у потомства беременных крыс, потреблявших рационы с дефицитом витаминов B₂, B₁₂ и B₉, и у взрослых крыс, получавших такую же витаминдефицитную диету

в период жизни от 2 до 8 месяцев, нарушились координация движений и способность к обучению, причем морфологически подтвержденные нарушения более выражены у молодых животных [31]. Принципиальным отличием данного исследования явилось изучение обучаемости растущих крыс в условиях разившейся в течение 23 дней сочетанной множественной недостаточности эссенциальных микронутриентов (всех витаминов и трех минеральных элементов), что характерно для питания большинства категорий населения нашей страны [1, 2]. В данном исследовании для оценки выработки условного рефлекса пассивного избегания использована двухкамерная установка, тогда как, по мнению некоторых авторов, использование трехкамерной установки с «неопасной» темной камерой могло бы дать больше информации [28, 32].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важности адекватной обеспеченности организма всеми витаминами и минеральными веществами. Не вызывает сомнения, что для поддержания когнитивных функций и памяти на оптимальном уровне необходимо корректировать алиментарный недостаток витаминов путем дополнительного их включения в рацион [3].

Заключение

Таким образом, развитие микронутриентной недостаточности (одновременный дефицит всех витаминов, кальция, магния и йода) у растущих крыс-отъемышей стока Wistar уже через 7 суток кормления экспериментальными рационами привело к ухудшению воспроизведения безусловного рефлекса (фотофобии), а в дальнейшем к снижению долгосрочной памяти. При этом основной вклад в нарушение обучаемости и долговременной памяти внес дефицит витаминов. Другими словами, полигиповитаминоз у крыс оказал амнестическое действие. Для понимания конкретных механизмов нарушения требуются дальнейшие исследования, предполагающие изучение влияния дефицита функционально связанных витаминов группы В, изолированного дефицита витамина D, а также дефицита витамина Е. Не меньший интерес могут представлять собой исследования возможности восстановления нарушенных когнитивных функций путем восполнения недостатка в рационе исследованных микронутриентов. Полученные данные свидетельствуют о необходимости коррекции полигиповитаминозных и полимикрoэлементозных состояний для оптимизации микронутриентной обеспеченности детского и взрослого населения.

Литература

1. Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Рисник Д.В., Никитюк Д.Б., Тутельян В.А. Обеспеченность населения России микронутриентами и возможности ее коррекции. Состояние проблемы // Вопросы питания. 2017. Т. 86, № 4. С. 113–124. doi: [10.24411/0042-8833-2017-00067](https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00067)

2. Коденцова В.М., Бекетова Н.А., Никитюк Д.Б., Тутельян В.А. Характеристика обеспеченности витаминами взрослого населения Российской Федерации // Профилактическая медицина. 2018. Т. 21, № 4. С. 32–37. doi: [10.17116/profmed201821432](https://doi.org/10.17116/profmed201821432)
3. Fenech M. Vitamins associated with brain aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer disease: biomarkers, epidemiological and experimental evidence, plausible mechanisms, and knowledge gaps // *Advances in Nutrition*. 2017. Vol. 8, № 6. PP. 958–970. doi: [10.3945/an.117.015610](https://doi.org/10.3945/an.117.015610)
4. Basheer M.P., Kumar K.P., Sreekumaran E., Ramakrishna T. A study of serum magnesium, calcium and phosphorus level, and cognition in the elderly population of South India // *Alexandria journal of medicine*. 2016. Vol. 52, № 4. PP. 303–308. doi: [10.1016/j.ajme.2015.11.001](https://doi.org/10.1016/j.ajme.2015.11.001)
5. Laughlin G.A., Kritiz-Silverstein D., Bergstrom J., Reas E.T., Jassal S.K., Barrett-Connor E., McEvoy L.K. Vitamin D insufficiency and cognitive function trajectories in older adults: the Rancho Bernardo Study // *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017. Vol. 58, № 3. PP. 871–883. doi: [10.3233/JAD-161295](https://doi.org/10.3233/JAD-161295)
6. Taghizadeh M., Talaei S.A., Salami M. Vitamin D deficiency impairs spatial learning in adult rats // *Iranian Biomedical Journal*. 2013. Vol. 17, № 1. PP. 42–48.
7. Mao C.-T., Li T.-Y., Liu Y.-X., Qu P. Effects of marginal vitamin A deficiency and intervention on learning and memory in young rats // *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2005. Vol. 43, № 7. PP. 526–530.
8. Спасов А.А., Бугаева Л.И., Лебедева С.А., Бундикова Т.М. Изучение поведения, мнестических реакций и болевой чувствительности у крыс самок при экспериментальном дефиците магния // *Фармация и фармакология*. 2015. № 3 (Приложение 1). С. 104–105.
9. Bath S.C., Combet E., Scully P., Zimmermann M.B., Hampshire-Jones K.H., Rayman M.P. A multi-centre pilot study of iodine status in UK schoolchildren, aged 8–10 years // *European journal of nutrition*. 2016. Vol. 55, № 6. PP. 2001–2009. doi: [10.1007/s00394-015-1014-y](https://doi.org/10.1007/s00394-015-1014-y)
10. Sun D., Codling K., Chang S., Zhang S., Shen H., Su X., Chen Z., Scherpbier R.W., Yan J. Eliminating iodine deficiency in China: achievements, challenges and global implications // *Nutrients*. 2017. Vol. 9, № 4. e361. doi: [10.3390/nu9040361](https://doi.org/10.3390/nu9040361)
11. Basheer M.P., Pradeep Kumar K.P., Sreekumaran E., Ramakrishna T. A study of serum magnesium, calcium and phosphorus level, and cognition in the elderly population of South India // *Alexandria journal of medicine*. 2016. Vol. 52, № 4. PP. 303–308. doi: [10.1016/j.ajme.2015.11.001](https://doi.org/10.1016/j.ajme.2015.11.001)
12. Troen A.M., Shea-Budgell M., Shukitt-Hale B., Smith D.E., Selhub J., Rosenberg I.H. B-Vitamin deficiency causes hyperhomocysteinemia and vascular cognitive impairment in mice // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008. Vol. 105, № 34. PP. 12474–12479. doi: [10.1073/pnas.0805350105](https://doi.org/10.1073/pnas.0805350105)
13. Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Бекетова Н.А., Переверзева О.Г., Кошелева О.В., Сидорова Ю.С., Зорин С.Н., Мазо В.К. Влияние полигиповитаминоза на проявление безусловного рефлекса и обучаемость у растущих крыс // *Вопросы питания*. 2015. Т. 84, № 1. С. 31–37. doi: [10.24411/0042-8833-2015-00003](https://doi.org/10.24411/0042-8833-2015-00003)
14. Andreollo N.A., Santos E.F.D., Araújo M.R., Lopes L.R. Rat's age versus human's age: what is the relationship? // *ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2012. Vol. 25, № 1. PP. 49–51. doi: [10.1590/S0102-67202012000100011](https://doi.org/10.1590/S0102-67202012000100011)
15. Поворознюк В.В., Гопкалова И.В., Григорьева, Н.В. Особенности изменений минеральной плотности костной ткани у белых крыс линии Вистар в зависимости от возраста и пола // *Проблемы старения и долголетия*. 2011. Т. 20, № 4. С. 393–401.
16. Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Бекетова Н.А., Переверзева О.Г., Кошелева О.В. Экспериментальная модель алиментарного полигиповитаминоза разной степени глубины у крыс // *Вопросы питания*. 2012. Т. 81, № 2. С. 51–56.

17. Cheng W.H., Martens K.M., Bashir A., Cheung H., Stukas S., Gibbs E., Namjoshi D.R., Button E.B., Wilkinson A., Barron C.J., Cashman N.R., Crompton P.A., Wellington C.L. CHIMERA repetitive mild traumatic brain injury induces chronic behavioural and neuropathological phenotypes in wild-type and APP/PS1 mice // *Alzheimers Res Ther.* 2019. Vol. 11, № 1. e6. doi: [10.1186/s13195-018-0461-0](https://doi.org/10.1186/s13195-018-0461-0)
18. Ingram D.K. 24 - Rodent models of age-related memory impairment. In: *Functional neurobiology of aging* / ed by P.R. Hof, C.V. Mobbs. Academic Press, 2001. PP. 373–386. doi: [10.1016/B978-012351830-9/50026-3](https://doi.org/10.1016/B978-012351830-9/50026-3)
19. Якушина Л.М., Бекетова Н.А., Бендер Е.Д., Харитончик Л.А. Использование методов ВЭЖХ для определения витаминов в биологических жидкостях и пищевых продуктах // *Вопросы питания.* 1993. № 1. С. 43–48.
20. Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Спиричев В.Б., Алексеева И.А., Сокольников А.А. Оценка рибофлавинового статуса организма с помощью различных биохимических методов // *Вопросы питания.* 1994. Т. 63, № 6. С. 9–12.
21. Калувев А.В., Еремин К.О., Туохима П. Механизмы нейропротекторного действия витамина D3 // *Биохимия.* 2004. Т. 69, № 7. С. 907–911.
22. Reddy P., Edwards L.R. Magnesium supplementation in vitamin D deficiency // *American journal of therapeutics.* 2019. Vol. 26, № 1. PP. e124–e132. doi: [10.1097/MJT.0000000000000538](https://doi.org/10.1097/MJT.0000000000000538)
23. Cocco S., Diaz G., Stancampiano R., Diana A., Carta M., Curreli R., Sarais L., Fadda F. Vitamin A deficiency produces spatial learning and memory impairment in rats // *Neuroscience.* 2002. Vol. 115, № 2. PP. 475–482. doi: [10.1016/S0306-4522\(02\)00423-2](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00423-2)
24. Etchamendy N., Enderlin V., Marighetto A., Pallet V., Higuieret P., Jaffard R. Vitamin A deficiency and relational memory deficit in adult mice: relationships with changes in brain retinoid signalling // *Behavioural brain research.* 2003. Vol. 145, № 1–2. PP. 37–49. doi: [10.1016/S0166-4328\(03\)00099-8](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(03)00099-8)
25. Bonnet E., Touyarot K., Alfos S., Pallet V., Higuieret P., Abrous D.N. Retinoic acid restores adult hippocampal neurogenesis and reverses spatial memory deficit in vitamin A deprived rats // *PLoS ONE.* 2008. Vol. 3, № 10. PP. e3487. doi: [10.1371/journal.pone.0003487](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003487)
26. Takatsu H., Owada K., Abe K., Nakano M., Urano S. Effect of vitamin E on learning and memory deficit in aged rats // *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2009. Vol. 55, № 5. PP. 389–393. doi: [10.3177/jnsv.55.389](https://doi.org/10.3177/jnsv.55.389)
27. de Freitas-Silva D.M., Resende L.de S., Pereira S.R., Franco G.C., Ribeiro A.M. Maternal thiamine restriction during lactation induces cognitive impairments and changes in glutamate and GABA concentrations in brain of rat offspring // *Behavioural brain research.* 2010. Vol. 211, № 1. PP. 33–40. doi: [10.1016/j.bbr.2010.03.002](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.03.002)
28. Inozemtsev A.N., Berezhnoy D.S., Fedorova T.N., Stvolinsky S.L. The effect of the natural dipeptide carnosine on learning of rats under the conditions of negative reinforcement // *Doklady Biological Sciences.* 2014. Vol. 454, № 1. PP. 16–18. doi: [10.1134/S0012496614010177](https://doi.org/10.1134/S0012496614010177)
29. Kennedy D.O. B vitamins and the brain: mechanisms, dose and efficacy – a review // *Nutrients.* 2016. Vol. 8, № 2. e68. doi: [10.3390/nu8020068](https://doi.org/10.3390/nu8020068)
30. Qin B., Xun P., Jacobs D.R. Jr., Zhu N., Daviglius M.L., Reis J.P., Reis J.P., Steffen L.M., Van Horn L., Sidney S., He K. Intake of niacin, folate, vitamin B-6, and vitamin B-12 through young adulthood and cognitive function in midlife: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study // *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2017. Vol. 106, № 4. PP. 1032–1040. [10.3945/ajcn.117.157834](https://doi.org/10.3945/ajcn.117.157834)
31. Hassan Z., Coelho D., Kokten T., Alberto J.M., Umoret R., Daval J.L., Guéant J.L., Bossenmeyer-Pouricé C., Pouricé G. Brain susceptibility to methyl donor deficiency: from fetal programming to aging outcome in rats // *International Journal of Molecular Sciences.* 2019. Vol. 20, № 22. e5692. doi: [10.3390/ijms20225692](https://doi.org/10.3390/ijms20225692)

32. Бережной Д.С., Бокиева С.Б., Стволинский С.Л., Фёдорова Т.Н., Иноземцев А.Н. Влияние карнозина на условную реакцию пассивного избегания в норме и в условиях гипоксии // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. 2015. № 3. С. 3–7.

Поступила в редакцию 25.09.2019 г.; повторно 02.02.2021 г.; принята 27.05.2021 г.; опубликована 29.06.2021 г.

Авторский коллектив:

Сидорова Юлия Сергеевна, канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2168-2659>

E-mail: sidorovaulia28@mail.ru

Петров Никита Александрович, аспирант, м.н.с. лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9755-6002>

E-mail: petrov-nikita-y@mail.ru

Вржесинская Оксана Александровна, канд. биол. наук, в.н.с. лаборатории витаминов и минеральных веществ, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-8973-8153>

E-mail: vr.oksana@yandex.ru

Коденцова Вера Митрофановна, д-р биол. наук, проф., г.н.с. лаборатории витаминов и минеральных веществ, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6052-3263>

E-mail: kodentsova@ion.ru

Бекетова Нина Алексеевна, канд. хим. наук, с.н.с. лаборатории витаминов и минеральных веществ, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-2810-2351>

E-mail: beketova@ion.ru

Кошелева Ольга Васильевна, н.с. лаборатории витаминов и минеральных веществ, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-2391-9880>

E-mail: kosheleva@ion.ru

Леоненко Светлана Николаевна, аспирант лаборатории витаминов и минеральных веществ, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-0048-4220>

E-mail: svetlanaleonenko6@gmail.com

Зорин Сергей Николаевич, канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2689-6098>

E-mail: zorin@ion.ru

Громовых Петр Сергеевич, канд. хим. наук, н.с. лаборатории витаминов и минеральных веществ, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3774-1868>

E-mail: gromovykh@ion.ru

For citation: Sidorova YuS, Petrov NA, Vrzhesinskaya OA, Kodentsova VM, Beketova NA, Kosheleva OV, Leonenko SN, Zorin SN, Gromovyh PS. Influence of multiple deficiency of vitamins, calcium, magnesium and iodine on cognitive function in growing rats. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;54:64-82. doi: 10.17223/19988591/54/4 In Russian, English Summary

**Yuliia S. Sidorova, Nikita A. Petrov, Oksana A. Vrzhesinskaya,
Vera M. Kodentsova, Nina A. Beketova, Olga V. Kosheleva,
Svetlana N. Leonenko, Sergey N. Zorin, Petr S. Gromovyh**

Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russian Federation

Influence of multiple deficiency of vitamins, calcium, magnesium and iodine on cognitive function in growing rats

Due to the prevalence of multiple deficiency of vitamins and some minerals among the population, as well as the role of micronutrients in maintaining cognitive functions, the aim of the research was to study the effect of combined deficit of vitamins and/or calcium, magnesium and iodine in the diet of growing Wistar male weaning rats on the manifestation of an unconditioned reflex and ability to learn in response to an electric shock.

Mice for the experiment were obtained from Stolbovaya nursery, Federal State Budgetary Scientific Institution Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical-Biological Agency (Moscow region, Russia). After a 5-day feeding on a complete semi-synthetic diet, rats with an initial body weight of 51.4 ± 0.5 g were randomly (according to body weight and the results of the “Elevated Plus Maze” test) divided into four groups (10-12 animals in each group). Subsequently, within 23 days, the animals of the control group (I) received a complete semi-synthetic diet, the rats of Group II (- Ca, Mg, I) were fed on the same diet, but with a 50% reduction in the amount of calcium, magnesium and iodine in the mineral mixture, the rats of Group III (- Vit) received a diet containing 100% of minerals with a reduced amount of vitamin mixture up to 20% with the complete elimination of vitamin E from it. The animals of Group IV (- Vit, Ca, Mg, I) were kept on a diet simultaneously deficient in vitamins and mineral substances. The manifestation of the unconditioned reflex was studied in the “Elevated plus maze” test before feeding the animals on experimental diets and on the 21st day of feeding. The behavior and memory of animals were evaluated in the test “Conditioned reflex of passive avoidance” on the 7th day of feeding on experimental diets in response to electrocutaneous irritation of paws (current 0.4 mA, not more than 8 sec.) when entering the dark compartment (development of a conditioned reflex), on the 8th day - a test of training (a memorable trace), and on the 21st day - an assessment of long-term memory. Pre-anesthetized with ether, the rats were taken out of the experiment by decapitation, and the content of vitamin E (α -tocopherol) was determined by HPLC, vitamins B₁ and B₂ were measured fluorimetrically in the whole lyophilized brain.

In this research, we revealed, that throughout the experiment, the general condition of all animals (appearance and fur) and the body weight did not differ. Reducing the content of vitamins in the diet led to a significant decrease ($p < 0.001$) in the brain content of selectively measured vitamins B₁ and E at the end of the experiment (See Table 1), that indicated the development of micronutrient deficiency in them. Micronutrient deficiencies for 21 days did not affect the degree of anxiety of the growing rats, assessed in the “Elevated Plus Maze” test. However, the rats from the groups deficient in vitamins (group - Vit and group - Vit, Ca, Mg and I) had a higher motor activity than the animals of the control group and the animals fed on a diet deficient in calcium, magnesium and iodine (group - Ca, Mg and I), which significantly less moved

through the maze (See Table 2). In this research, we found out that on the 7th day of the development of micronutrient deficiency in rats the reproduction of the unconditioned reflex (photophobia) worsened (See Fig. 1). In the rats with vitamin deficiency (group - Vit), the time spent in the open compartments increased 3.0 times compared to the control, whereas in the rats with mineral deficiency (group - Ca, Mg and I) and combined deficiency (group - Vit, Ca, Mg and I) it increased 1.85 and 1.95 times, correspondingly ($p < 0.05$), while no differences were detected when playing a conditioned reflex 24 hours after training (See Fig. 1). In this research, a significant ($p < 0.05$) decrease in long-term memory have been discovered in the animals fed on a vitamin-deficient diet (group - Vit) and in the rats fed on a diet with simultaneously reduced levels of vitamins, calcium, magnesium and iodine (group - Vit, Ca, Mg and I). On the basis of the latent time of entry into the dark compartment after 24 hours and 2 weeks, we established that the memory deterioration was due to a decrease in the vitamin content in the diet, whereas the deficit of mineral substances did not affect these parameters (See Fig. 2). In this research, we revealed that multivitamin deficiency in rats exerted an amnesic effect and made a major contribution to impaired learning and long-term memory. This findings suggest the importance of adequate provision of the organism with all vitamins and mineral substances to maintain cognitive functions and memory.

The paper contains 2 Figures, 2 Tables and 32 References.

Key words: Multiple micronutrient deficiency; conditioned reflex of passive avoidance reflex; vitamins, minerals; long-term memory.

The Authors declare no conflict of interest.

References

1. Kodentsova VM, Vrzhesinskaya OA, Risnik DV, Nikityuk DB, Tutelyan VA. Micronutrient status of population of the Russian Federation and possibility of its correction. State of the problem. *Voprosy pitaniia = Problems of Nutrition*. 2017;86(4):113-124. doi: [10.24411/0042-8833-2017-00067](https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00067) In Russian, English Summary
2. Kodentsova VM, Beketova NA, Nikitjuk DB, Tutelyan VA. Characteristics of vitamin provision in the adult population of the Russian Federation. *Profilakticheskaya meditsina = The Russian Journal of Preventive Medicine*. 2018;21(4):32-37. doi: [10.17116/profmed201821432](https://doi.org/10.17116/profmed201821432) In Russian, English Summary
3. Fenech M. Vitamins associated with brain aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer disease: biomarkers, epidemiological and experimental evidence, plausible mechanisms, and knowledge gaps. *Advances in Nutrition*. 2017;8(6):958-970. doi: doi.org/10.3945/an.117.015610
4. Basheer MP, Kumar KP, Sreekumaran E, Ramakrishna T. A study of serum magnesium, calcium and phosphorus level, and cognition in the elderly population of South India. *Alexandria Journal of Medicine*. 2016;52(4):303-308. doi: [10.1016/j.ajme.2015.11.001](https://doi.org/10.1016/j.ajme.2015.11.001)
5. Laughlin GA, Kritiz-Silverstein D, Bergstrom J, Reas ET, Jassal SK, Barrett-Connor E, McEvoy LK. Vitamin D insufficiency and cognitive function trajectories in older adults: the Rancho Bernardo Study. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017;58(3):871-883. doi: [10.3233/JAD-161295](https://doi.org/10.3233/JAD-161295)
6. Taghizadeh M, Talaei SA, Salami M. Vitamin D deficiency impairs spatial learning in adult rats. *Iranian Biomedical Journal*. 2013;17(1):42-48.
7. Mao CT, Li TY, Liu YX, Qu P. Effects of marginal vitamin A deficiency and intervention on learning and memory in young rats. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2005;43(7):526-530.
8. Spasov AA, Bugayeva LI, Lebedeva SA, Bundikova TM. Study for the behavior, mnestic reactions, and pain sensitivity of female rats in the setting of an experimental magnesium deficit. *Pharmacy and Pharmacology*. 2015;(3, Supplement 1):104-105. In Russian
9. Bath SC, Combet E, Scully P, Zimmermann MB, Hampshire-Jones KH, Rayman MP.

- A multi-centre pilot study of iodine status in UK schoolchildren, aged 8-10 years. *European Journal of Nutrition*. 2016;55(6):2001-2009. doi: [10.1007/s00394-015-1014-y](https://doi.org/10.1007/s00394-015-1014-y)
10. Sun D, Codling K, Chang S, Zhang S, Shen H, Su X, Chen Z, Scherpbier RW, Yan J. Eliminating iodine deficiency in China: achievements, challenges and global implications. *Nutrients*. 2017;9(4):361. doi: [10.3390/nu9040361](https://doi.org/10.3390/nu9040361)
 11. Basheer MP, Pradeep Kumar KP, Sreekumaran E, Ramakrishna T. A study of serum magnesium, calcium and phosphorus level, and cognition in the elderly population of South India. *Alexandria Journal of Medicine*. 2016;52(4):303-308. doi: [10.1016/j.ajme.2015.11.001](https://doi.org/10.1016/j.ajme.2015.11.001)
 12. Troen AM, Shea-Budgell M, Shukitt-Hale B, Smith DE, Selhub J, Rosenberg IH. B-Vitamin deficiency causes hyperhomocysteinemia and vascular cognitive impairment in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(34):12474-12479. doi: [10.1073/pnas.0805350105](https://doi.org/10.1073/pnas.0805350105)
 13. Vrzhesinskaya OA, Kodentsova VM, Beketova NA, Pereverzeva OG, Kosheleva OV, Sidorova YuS, Zorin SN, Mazo VK. Influence of combined vitamin deficiency on unconditioned reflexes and learning in growing rats. *Voprosy pitaniia = Problems of Nutrition*. 2015;84(1):31-37. doi: [10.24411/0042-8833-2015-00003](https://doi.org/10.24411/0042-8833-2015-00003) In Russian, English Summary
 14. Andreollo NA, Santos EFD, Araújo MR, Lopes LR. Rat's age versus human's age: what is the relationship? ABCD. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2012;25(1):49-51. doi: [10.1590/S0102-67202012000100011](https://doi.org/10.1590/S0102-67202012000100011)
 15. Povoroznyuk VV, Gopkalova IV, Grygorieva NV. Peculiarities of changes in the mineral density of the osseous tissue of albino Wistar rats depending on age and gender. *Problemy starenija i dolgoletija = Problems of Aging and Longevity*. 2011;20(4):393-401. In Russian
 16. Vrzhesinskaya OA, Kodentsova VM, Beketova NA, Pereverzeva OG, Kosheleva OV. The experimental model of alimentary polyhypovitaminosis of different degree in rats. *Voprosy pitaniia = Problems of Nutrition*. 2012;81(2):51-56. In Russian, English Summary
 17. Cheng WH, Martens KM, Bashir A, Cheung H, Stukas S, Gibbs E, Namjoshi DR, Button EB, Wilkinson A, Barron CJ, Cashman NR, Crompton PA, Wellington CL. CHIMERA repetitive mild traumatic brain injury induces chronic behavioural and neuropathological phenotypes in wild-type and APP/PS1 mice. *Alzheimers Res Ther*. 2019;11(1):6. doi: [10.1186/s13195-018-0461-0](https://doi.org/10.1186/s13195-018-0461-0)
 18. Ingram DK. 24-Rodent models of age-related memory impairment. In: *Functional Neurobiology of Aging*. Hof PR and Mobbs CV, editors. Academic Press; 2001. pp. 373-386. doi: [10.1016/B978-012351830-9/50026-3](https://doi.org/10.1016/B978-012351830-9/50026-3)
 19. Yakushina LM, Beketova NA, Bender ED, Kharitonchik LA. Methods of high-performance liquid chromatography for determining vitamin levels in biologic fluids and food products. *Voprosy pitaniia = Problems of Nutrition*. 1993;(1):43-48. In Russian
 20. Vrzhesinskaia OA, Kodentsova VM, Spirichev VB, Alekseeva IA, Sokolnikov AA. Comparative biochemical evaluation of riboflavin body status. *Voprosy pitaniia = Problems of Nutrition*. 1994;63(6):9-12. In Russian
 21. Kalueff AV, Eremin KO, Tuohimaa P. Mechanisms of neuroprotective action of vitamin D3. *Biochemistry (Moscow)*. 2004;69(7):738-741. In Russian, English Summary
 22. Reddy P, Edwards LR. Magnesium supplementation in vitamin d deficiency. *American Journal of Therapeutics*. 2019;26(1):124-132. doi: [10.1097/MJT.0000000000000538](https://doi.org/10.1097/MJT.0000000000000538)
 23. Cocco S, Diaz G, Stancampiano R, Diana A, Carta M, Curreli R, Sarais L, Fadda F. Vitamin A deficiency produces spatial learning and memory impairment in rats. *Neuroscience*. 2002;115(2):475-482. doi: [10.1016/S0306-4522\(02\)00423-2](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00423-2)
 24. Etchamendy N, Enderlin V, Marighetto A, Pallet V, Higuieret P, Jaffard R. Vitamin A deficiency and relational memory deficit in adult mice: relationships with changes in brain retinoid signalling. *Behavioural Brain Research*. 2003;145(1-2):37-49. doi: [10.1016/S0166-4328\(03\)00099-8](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(03)00099-8)
 25. Bonnet E, Touyarot K, Alfoss S, Pallet V, Higuieret P, Abrous DN. Retinoic Acid Restores

- Adult Hippocampal Neurogenesis and Reverses Spatial Memory Deficit in Vitamin A Deprived Rats. *PLoS ONE*. 2008;3(10):3487. doi: [10.1371/journal.pone.0003487](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003487)
26. Takatsu H, Owada K, Abe K, Nakano M, Urano S. Effect of vitamin E on learning and memory deficit in aged rats. *The Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo)*. 2009;55(5):389-393. doi: [10.3177/jnsv.55.389](https://doi.org/10.3177/jnsv.55.389)
 27. de Freitas-Silva DM, Resende Lde S, Pereira SR, Franco GC, Ribeiro AM. Maternal thiamine restriction during lactation induces cognitive impairments and changes in glutamate and GABA concentrations in brain of rat offspring. *Behavioural Brain Research*. 2010;211(1):33-40. doi: [10.1016/j.bbr.2010.03.002](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.03.002)
 28. Inozemtsev AN, Berezhnoy DS, Fedorova TN, Stvolinsky SL. The effect of the natural dipeptide carnosine on learning of rats under the conditions of negative reinforcement. *Doklady Biological Sciences*. 2014;454(1):16-18. doi: [10.1134/S0012496614010177](https://doi.org/10.1134/S0012496614010177)
 29. Kennedy DO. B vitamins and the brain: mechanisms, dose and efficacy - a review. *Nutrients*. 2016;8(2):e68. doi: [10.3390/nu8020068](https://doi.org/10.3390/nu8020068)
 30. Qin B, Xun P, Jacobs DR Jr, Zhu N, Daviglius ML, Reis JP, Reis JP, Steffen LM, Van Horn L, Sidney S, He K. Intake of niacin, folate, vitamin B-6, and vitamin B-12 through young adulthood and cognitive function in midlife: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2017;106(4):1032-1040. doi: [10.3945/ajcn.117.157834](https://doi.org/10.3945/ajcn.117.157834)
 31. Hassan Z, Coelho D, Kokten T, Alberto JM, Umoret R, Daval JL, Guéant JL, Bossenmeyer-Pourié C, Pourié G. Brain susceptibility to methyl donor deficiency: from fetal programming to aging outcome in rats. *International J Molecular Sciences*. 2019;20(22):5692. doi: [10.3390/ijms20225692](https://doi.org/10.3390/ijms20225692)
 32. Berezhnoy DS, Inozemtsev AN, Bokieva SB, Stvolinskii SL, Fedorova TN. Effect of carnosine on conditioned passive avoidance response in the norm and under hypoxia conditions. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. 2015;70(3):105-109. doi: [10.3103/S0096392515030037](https://doi.org/10.3103/S0096392515030037)

Received 25 September 2019; Revised 02 February 2021;

Accepted 27 May 2021; Published 29 June 2021.

Author info:

Sidorova Yuliia S, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Food Biotechnology and Specialized Products, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2168-2659>

E-mail: sidorovaulia28@mail.ru

Petrov Nikita A, Graduate Student, Junior Researcher, Laboratory of Food Biotechnology and Specialized Products, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9755-6002>

E-mail: petrov-nikita-y@mail.ru

Vrzhesinskaya Oksana A, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Vitamins and Minerals, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-8973-8153>

E-mail: vr.oksana@yandex.ru

Kodentsova Vera M, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Vitamins and Minerals, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6052-3263>

E-mail: kodentsova@ion.ru

Beketova Nina A, Cand. Sci. (Chem.), Senior Researcher, Laboratory of Vitamins and Minerals, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240,

Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-2810-2351>

E-mail: beketova@ion.ru

Kosheleva Olga V, Researcher, Laboratory of Vitamins and Minerals, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-2391-9880>

E-mail: kosheleva@ion.ru

Leonenko Svetlana N, Graduate Student, Laboratory of Vitamins and Minerals, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-0048-4220>

E-mail: svetlanaleonenko6@gmail.com

Zorin Sergey N, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Food Biotechnology and Specialized Products, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2689-6098>

E-mail: zorin@ion.ru

Gromovyh Petr S, Cand. Sci. (Chem.), Senior Researcher, Laboratory of Vitamins and Minerals, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3774-1868>

E-mail: gromovykh@ion.ru

УДК 575.164:577.169:612.392:613.24:616.092.9

doi: 10.17223/19988591/54/5

**Н.В. Трусов¹, С.А. Апрятин², А.Н. Тимонин¹,
В.А. Шипелин^{1,3}, И.В. Гмошинский¹, Д.Б. Никитюк^{1,4}**

¹Федеральный исследовательский центр питания,
биотехнологии и безопасности пищи, г. Москва, Россия

²Институт экспериментальной медицины, г. Санкт-Петербург, Россия

³Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова, г. Москва, Россия

⁴Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской
Федерации (Сеченовский Университет), г. Москва, Россия

Сравнительная оценка влияния ресвератрола и карнитина на полнотранскриптомный профиль ткани печени мышей с различной предрасположенностью к развитию алиментарного ожирения

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 17-16-01043
«Поиск эффекторных звеньев метаболизма, регулируемых алиментарными факторами
при ожирении, для разработки инновационных специализированных пищевых продуктов».

Проведено полнотранскриптомное профилирование ткани печени линейных и тетрагибридных мышей при потреблении биологически активных веществ ресвератрола и карнитина на фоне высокоуглеводного высокожирового рациона. Составлен список дифференциально экспрессирующихся генов, а также метаболических путей, затронутых при применённых диетических воздействиях. Обнаружены значительные различия в профиле дифференциальной экспрессии у мышей линии DBA/2J и тетрагибридов DBCB. Сделан вывод о необходимости учитывать генотип при доклинических исследованиях биологически активных веществ, применяемых при лечении ожирения и сопутствующих заболеваний.

Ключевые слова: транскриптом; экспрессия генов; биологически активные вещества; мыши; ожирение

Сокращения [Abbreviations]: БАД – биологически активная добавка [BAFS - Biologically active food supplement]; БАВ – биологически активное вещество [BAS - Biologically active substance]; 1-Кар – 1-карнитин [1-Car - l-carnitine]; Рес – ресвератрол [Res - Resveratrol]; DBA/2J – мыши линии DBA/2J [Line of mice DBA/2J]; DBCB – мыши-тетрагибриды [Tetrahybrid mice]; ВУВЖР – высокоуглеводный, высокожировой рацион [HFCD - High-carbohydrate and high-fat diet]; ДЭ – дифференциальная экспрессия [DE - Differential expression].

Для цитирования: Трусов Н.В., Апрятин С.А., Тимонин А.Н., Шипелин В.А., Гмошинский И.В., Никитюк Д.Б. Сравнительная оценка влияния ресвератрола и карнитина на полнотранскриптомный профиль ткани печени мышей с различной предрасположенностью к развитию алиментарного ожирения // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 54. С. 83–115. doi: 10.17223/19988591/54/5

Введение

В лечении ожирения и родственных алиментарно-зависимых заболеваний (атеросклероза, сахарного диабета 2-го типа, метаболического синдрома, артериальной гипертензии и др.) наряду с использованием традиционных диет, основанных на редукции общей калорийности, ограничении простых углеводов, животных жиров и холестерина в качестве полезного дополнения рассматриваются специализированные продукты и биологически активные добавки (БАД) к пище, обогащенные минорными биологически активными веществами (БАВ). Имеющаяся у них способность при поступлении в организм в дозах, близких к их содержанию в естественном пищевом рационе, нормализовать нарушенные процессы липидного и углеводно-энергетического обмена, корректировать пищевое поведение, стимулировать физическую активность больных, регулировать состав кишечного микробиоценоза позволяет, по современным данным, значительно повысить эффективность диетотерапии и закрепить ее результаты [1–3]. В качестве основных групп БАВ, потенциальных модуляторов жирового и углеводно-энергетического обмена, рассматриваются полифенольные соединения (флавоноиды, ресвератрол и др.) [4, 5], фитостерины, аминокислоты [6], витаминopodobные вещества (l-карнитин, коэнзим Q10, липоевая кислота и др.) [7–9].

Персонализированное назначение продуктов, обогащенных перечисленными БАВ, требует учета природы и механизмов их воздействия на обменные процессы с учетом генотипа больного, тяжести, стадии патологического процесса. Механистические представления о потенцирующем либо ингибирующем влиянии БАВ на отдельные звенья метаболизма и ферментные системы в настоящее время сменяются концепцией комплексного воздействия на одновременную экспрессию большого числа генов. Понимание этих процессов позволяет не только более адресно назначать диетотерапию больным, но и понимать причины неоднозначности результатов клинического применения ряда БАВ в диетическом и специализированном питании [10, 11], что вызывает сомнения в целесообразности их использования с позиций современной доказательной медицины.

Одним из мощных методов изучения экспрессии генов является полнотранскриптомный анализ на микрочипе, впервые использованный для оценки влияния различных диетических факторов в 2000 г. [12]. Данный подход позволяет, с привлечением методов биоинформатики, не только одновременно получить данные о транскрипционной активности практически полного комплекса генов, представленных в ткани или клетке, но и сделать содержательные выводы об изменениях в метаболических путях, находящихся отражение на фенотипическом уровне.

Целью настоящего исследования явился анализ нутригеномных механизмов воздействия биологически активных веществ – l-карнитина (l-Кар) и ресвератрола (Рес) на организм мышей линии DBA/2J и тетрагибридов DBСВ, отличающихся по генотипу и чувствительности к развитию индуци-

рованного рационом ожирения, с использованием метода полнотранскриптомного профилирования ткани печени.

Материалы и методики исследования

Эксперимент проведен на самцах мышей (возрастом 8–10 недель) линии DBA/2J и гибридов 2-го поколения DBCB, полученных посредством скрещивания четырех линий мышей (DBA/2J, BALB/c, CBA/lac и C57Black/6J), поступивших из питомника «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» (Московская обл., Россия). Для получения F1 самки DBA/2J скрещены с самцами BALB/c (1-й гибрид F1), а самки CBA/lac с самцами C57Black/6J (2-й гибрид F1). Для получения тетрагибридов мыши из обоих гибридов первого поколения скрещены между собой. Работа с животными выполнена в соответствии с международными рекомендациями (Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes adopted on September 22, 2010; Guide for the care and use of laboratory animals. Eighth Edition / Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. Washington: The National Academies Press. 2011). Дизайн эксперимента одобрен Комитетом по этике ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (протокол № 4 от 20.04.2017 г.).

Мыши (как линейные, так и тетрагибриды) в эксперименте разделены на 4 группы равной численностью по 8 особей. Средняя масса тела в сформированных группах изначально статистически значимо не различалась у животных каждого генотипа ($p > 0,1$; ANOVA). В течение 65 суток животные 1-х (контрольных) групп получали сбалансированный полусинтетический рацион по AIN93M с некоторыми модификациями [13] и очищенную обратным осмосом питьевую воду, животные 2-х групп – высокоуглеводный, высокожировой рацион с повышенным содержанием жира (30% по массе сухих веществ рациона) и с заменой питьевой воды на 20% раствор фруктозы (БУВЖР), животные 3-х групп – такой же рацион с добавлением Пес (DSM, Голландия, торговая марка resVida®, 98% чистоты по данным высокоэффективной жидкостной хроматографии) в расчётной дозе 25 мг/кг массы тела (м.т.), 4-х групп – такой же рацион с добавлением 1-Кар (WIRUD, Германия, 98% чистоты по данным высокоэффективной жидкостной хроматографии) в расчётной дозе 300 мг/кг массы тела (м.т.). Мышей содержали по 4 особи в клетке при температуре 21 ± 1 °C и режиме освещения 12/12 ч. Количество съеденного корма и выпитой жидкости определяли ежедневно, массу тела – 1 раз в 3 суток с точностью $\pm 0,1$ г путем взвешивания на электронных весах, наблюдали за внешним видом, активностью, состоянием шерстяного покрова, особенностями поведения.

Выведение животных из эксперимента осуществляли на 66-е сутки путем обескровливания из нижней полой вены под эфирной анестезией. Массу органов, брюшинной и бурой подлопаточной жировой ткани определяли на лабораторных весах с точностью $\pm 0,01$ г. Кровь собирали в пробирки с антикоагулянтом 1,0% раствором гепарина в 0,15 М NaCl (1:10 по объему), плазму отделяли центрифугированием в течение 30 минут при 3 000 об/мин и проводили исследование биохимических показателей (содержание глюкозы, триглицеридов, холестерина и др.) на биохимическом анализаторе Konelab 20i (Thermo Clinical LabSystems Oy, Финляндия) по стандартным методикам. Печень отбирали в асептических условиях стерильными хирургическими инструментами, немедленно охлаждали до 0 °С и делили на две порции. Первый образец фиксировали в 10% нейтральном формалине для морфологического исследования, а второй охлаждали до -80 °С и хранили до проведения полнотранскриптомного анализа. Морфологическое исследование ткани печени проводили с использованием световой микроскопии после окрашивания парафиновых срезов тканей гематоксилин-эозином по ранее описанной методике [14].

Полнотранскриптомный анализ выполнен с помощью набора Gene Expression Hybridization Kit (Agilent Technologies, США). Методика выделения тотальной РНК и полнотранскриптомного профилирования ткани печени детально изложена в работе [15]. В работе использованы микрочипы SurePrint G3 Mouse GE 8x60K Microarray Kit (Agilent Technologies, США, каталожный номер G4852A). На 4 микрочипах 32 независимых образца РНК печени из всех 8 групп мышей (по 4 образца из группы). Сканирование проведено с помощью Sure Scan Microarray Scanner (Agilent Technologies, США).

Дифференциальная экспрессия (ДЭ) генов выражена в виде логарифма по основанию 2 возрастания или убывания флуоресценции ($\log_2 FC$) по сравнению с группами, рассматриваемыми в качестве контроля, по отдельности для мышей DBA/2J и DBCB в следующих сравнениях: 1) между животными, получавшими ВУВЖР, и животными контрольной группы; 2) между мышами, получавшими оба типа добавок (Рес и l-Кар), и мышами, получавшими ВУВЖР. После этого выявленные для всех этих сравнений профили ДЭ сравнены между мышами DBA/2J и DBCB с помощью теоретико-множественного анализа (метод диаграмм Венна).

Данные сканирования чипов и расчета величин ДЭ в виде электронных таблиц экспортированы в среду «R» и проведён биоинформатический анализ с квантильной нормализацией и дальнейшим анализом ДЭ в пакете limma. Для выявления метаболических путей среди представленных в международной базе данных генов, метаболических путей и функций биологических систем Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) (<https://www.genome.jp/kegg/>) и их визуализации применены пакеты AnnotationDbi, org.Rn.db, pathview, gage, gageData. Визуализация результатов на всех этапах с помощью стандартной графики «R» и дополнительные пакеты ggplot2,

ggrepel и gplots. Статистическая значимость изменения экспрессии оценена путём анализа логарифмов интенсивности флуоресценции, нормализованных по внутреннему контролю (Spike-In) с использованием Т-теста с множественной коррекцией Benjamini–Hochberg [16]. Корреляционный анализ ДЭ генов выполнен с использованием z-трансформации Фишера полученных корреляций Пирсона, а также оценки линейизованности кривой связи между анализируемыми генами при проверке нуль гипотезы $r=0$ для оценки ненулевой корреляции и $r=1$ для оценки хорошо линейизованной кривой связи при уровне значимости 0,05. Поиск информации о биологических функциях генов осуществлен с использованием ресурса GeneMANIA (<http://genemania.org/>), интегрированного с Национальным центром биотехнологической информации США NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Результаты исследования и обсуждение

Интегральные, биохимические и морфологические показатели животных. Данные об изменениях в интегральных и биохимических показателях мышей под действием потребления ВУВЖР представлены в предыдущей работе [17]: для мышей DBCB, получавших ВУВЖР, характерно появление фенотипических признаков ожирения, проявившихся в увеличении запасов абдоминального белого жира, снижении отношения массы подлопаточного бурого жира к массе белого забрюшинного жира. У мышей DBA/2J, по данным изучения интегральных показателей, фенотип ожирения при потреблении ВУВЖР не развился. В отличие от мышей DBA/2J, мыши DBCB характеризовались гипергликемией, повышенным уровнем общего холестерина и холестерина ЛПВП, являющегося его основной транспортной формой у грызунов. При морфологическом исследовании печени обнаружено, что у мышей DBA/2J, получавших контрольный рацион, отмечена нормальная структура ткани печени (рис. 1, *a*), а у получавших ВУВЖР отмечалось слабо выраженное диффузное накопление жира в гепатоцитах без изменения общего строения ткани.

Добавки I-Кар и Рес не оказали видимого влияния на распределение жира в печени у этих животных. У мышей DBCB уже при потреблении контрольного рациона отмечалось выраженное накопление жира в клетках (рис. 1, *b*), а при потреблении ВУВЖР наблюдалась жировая дистрофия ткани с образованием большого числа крупных липидных вакуолей (рис. 1, *c*). Этот результат качественно совпал с ранее полученными данными для этих тетрагибридных мышей, получавших высокосахарозный рацион [18]. Добавка I-Кар к ВУВЖР у мышей DBCB способствовала уменьшению размера и числа жировых вакуолей и их концентрированию в периваскулярной области (рис. 1, *d*), а применение добавки Рес сопровождалось их практически полным исчезновением с сохранением диффузного накопления жира в гепатоцитах, сходного с контролем (рис. 1, *e*).

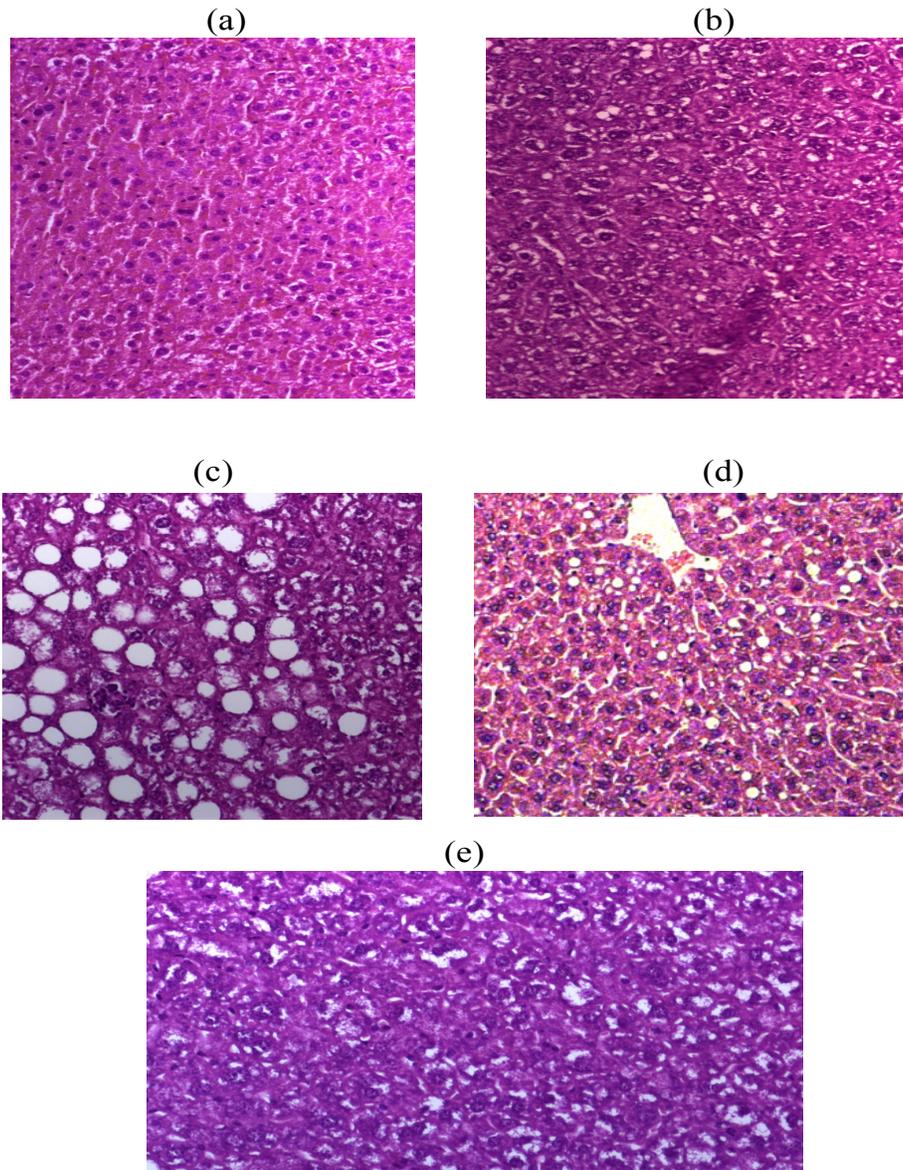


Рис. 1. Светооптические микрофотографии срезов печени мышей. Окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 200$: *a* – мыши DBA/2J, контрольная группа; *b* – мыши DBCB, контрольная группа; *c* – мыши DBCB, ВУВЖР; *d* – мыши DBCB, ВУВЖР с добавкой l-Кар; *e* – DBCB, ВУВЖР с добавкой Res

[Fig. 1. Light-optical micrographs of the sections of the liver of mice. Hematoxylin-eosin staining, $\times 200$ magnification: *a* - DBA/2J mice, control group; *b* - DBCB mice, control group; *c* - DBCB mice, HFCD; *d* - DBCB mice, HFCD with the addition of l-Car; *e* - DBCB mice, HFCD with the addition of Res]

Потребление добавки L-Кар вместе с ВУВЖР привело у мышей DBCB к статистически значимому снижению уровней триглицеридов плазмы крови, снижению активности в плазме аланиновой (АЛТ) и аспарагиновой (АСТ) трансаминаз без изменения их соотношения. Сходное действие на биохимические показатели у этих животных оказала и добавка Рес. Эффектов обеих добавок к ВУВЖР в отношении биохимических показателей у мышей DBA/2J не выявлено [18].

Полнотранскриптомное исследование генов печени. Представленные на ДНК-микрочипе нуклеотидные последовательности покрывают 39430 генов, в числе которых кодирующие последовательности генов, а также длинные межгенные некодирующие РНК (long intergenic noncoding RNAs, lincRNAs) генома *Mus domesticus* согласно [19]. ДЭ как минимум для одного из межгрупповых сравнений в размере $|\log_2FC| \geq 0,5$ (в сторону как усиления, так и ослабления) и при уровне значимости $p\text{-value} \leq 0,05$ выявлена для 415 транскриптов (1,1% от общего числа представленных на чипе). Из них для 100 генов (0,25%) ДЭ выявлена при двух, для 28 (0,07%) – при трех, для 3 (0,01%) – при 4 межгрупповых сравнениях. С использованием аннотированной международной базы данных GeneMANIA представлены сведения о 311 транскриптах, отождествляемых с белками или РНК с известной функцией.

Перечни кратких международных наименований генов, ответивших на примененные диетические воздействия у мышей двух генотипов, и аннотируемых в используемой базе данных, приведены в табл. 1–3.

Таблица 1 [Table 1]

Список кратких международных обозначений генов¹ с ДЭ в печени в ответ на потребление ВУВЖР (в сравнении с животными контрольной группы)

[List of short international designations of genes with DE in the liver in response to the consumption of HFCD (in comparison with the animals of the control group)]

Интервал ДЭ [DE interval] (\log_2FC)		Только у мышей DBA/2J [DBA mice only]	Только у мышей DBCB [DBCB mice only]	У мышей обоих генотипов ² [Both mice genotypes]
Положительная ДЭ [Positive DE]	>1,0	<i>Chac1</i>	<i>Vps16, Ifi202b, Vnn1, Pcp41l, Cox6b2, Lgals1</i>	<i>Mt1, Aatk</i>
	0,5–1,0	<i>Fam25c, Pim3, Mvd, Maff, S100a9, Upp2, Mafb, Tef, Hsd17b7, Etfbkmt, Slc5a6, Plekhf1, Ccne1, Cyp2d40, Herpud1, Klhl21, Csrnp1, Golph3l, Klf9, Hist1h2ao, Saa4</i>	<i>Sult2a7, Fam213b, Rs5-8s1, Acat2, Gypc, Nat8, Gck, Itpa, Sipal12, Gpc1, Samd9l, Haus8, Dop1b, Bmp7, N4bp2, Ifit3, Lrg1, Wnt5b, Slc22a7, Retsat, Acaa1b, Aspa, Qpct, Crot, Tmem98, Smim101l, Paqr7, Rtn4r1l</i>	<i>Msmo1, Raet1e, Nr1d1³, Pparg, Idi1, Mvk</i>

Окончание табл. 1 [Table 1 (end)]

Интервал ДЭ [DE interval] (log ₂ FC)		Только у мышей DBA/2J [DBA mice only]	Только у мышей DBCB [DBCB mice only]	У мышей обоих генотипов ² [Both mice genotypes]
Отрицательная ДЭ [Negative DE]	(-1,0)–(-0,5)	<i>Tubb5, Tmie, Gstm2, Dhx58, Oasl2, Prg4, Irf7, Cyp2c68, Tuba1c, Lrfrn3, Sdf211, Chka, Didol, Oas1f</i>	<i>Gstm4, Ang, Cd52, Gsta2, F2r, Mgat2, Pltp, Neurl2, Apom, Rbm3, Ang3, Acly, Ccl5, Tjfg, Nkd2, Ang4, Jun, G6pdx, Dntt, Sucnr1, Ang2, Cd74, Lrtm1, Klfl10, Cdh1, Psen2, H2-Eb1, Pop4</i>	<i>Slc35g1, Dusp6, Cyp2c70, Isg15³</i>
	<1,0	<i>Celsr1, Igfbp1, Tubb2a, G6pc</i>	<i>Crybb3, As3mt, Cyp2c23, Fabp5, Cib3, Hamp2, Moxdl</i>	<i>Cyp4a3f³, Scd1, Tff3</i>

Примечание. ¹ По данным <https://genemania.org>, представлены только гены с известной функцией; ² распределение по строкам таблицы согласно ДЭ у мышей DBA/2J; ³ противоположный знак ДЭ у линейных мышей и тетрагибрида; ⁴ полужирным шрифтом здесь и в табл. 2, 3 выделены гены со статистически значимой ДЭ, *adj.p-value* < 0,1 согласно [12]. [Note. ¹Only genes with a defined function are presented according to <https://genemania.org>; ²Distribution by rows of the Table according to DE in DBA/2J mice; ³Opposite DE sign in linear mice and the tetrahybrid; ⁴Genes with significant DE are in bold here and in Tables 2 and 3, *adj.p-value* < 0.1 according to [12]].

Таблица 2 [Table 2]

Список кратких международных обозначений генов¹ с ДЭ в печени в ответ на потребление ресвератрола (в сравнении с животными, получавшими ВУВЖР)
[List of short international designations of genes with DE in the liver in response to resveratrol consumption (in comparison with the animals of the HFCD group)]

Интервал ДЭ [DE interval] (log ₂ FC)		Только у мышей DBA/2J [DBA mice only]	Только у мышей DBCB [DBCB mice only]	У мышей обоих генотипов ² [Both mice genotypes]
Положительная ДЭ [Positive DE]	>1,0	<i>G6pc³</i>	<i>Marco, Psen2³, Igfbp1</i>	–
	0,5–1,0	<i>Empp1, Tkfc⁴, Pklr⁴, Ppan, Dido1³, Ddit4, Inhbe, Celsr1³</i>	<i>Cyp2c23³, Nr1d1³, Ddc, Lrtm1³, Dusp23, Dnajb11, Hs3st6, Trib3, Eno3, Cdh1³, Fastk, Cox7a1, Adam11, Abhd14b, Dusp6³, Slc15a4, Ocell1, Cygb, Rnf39, Fgfr11, Brap, Stab2, Col6a1, Sparcl1, Gm13021, Cnp, Fcna, Rbm3³, Slc2a5, Slc5a6, Btd9, Susd4, Ang3³</i>	–
Отрицательная ДЭ [Negative DE]	(-1,0) – (-0,5)	<i>Golt1a, Csrnp1³, Ccl6, Klfl0, Maff³</i>	<i>Bpifc, Tmem33, Gls2, Camk2n1, Hspa5, Hikeshi, Phf11d, Cript, Odcl, Tuba1c, Chchd4, Slc39a4, Smim101³, Ppp1r3b, Manf, Chordc1, Dcaf1211, Zfp672, Stip1, Ifi47, Cacybp, Steap4, Sdf211, Irgm1, Timd2, Psme3, Them7, Rs5-8s1³, Rdh16f2, Guk1, Klhl25, Hist1h2ab, Zfp133-ps, Samd9³, Fryl, Rtp4, Gsta4, Ces2b, Hbb-b1, Crof³, Tmem14a, Etfbkm1, Pinx1, Slc1a4, Lgals1³,</i>	<i>Arhgef15, Zbp1</i>

Окончание табл. 2 [Table 2 (end)]

Интервал ДЭ [DE interval] (log ₂ FC)	Только у мышей DBA/2J [DBA mice only]	Только у мышей DBCB [DBCB mice only]	У мышей обоих генотипов ² [Both mice genotypes]
		<i>Isg15³, Tuft1, Scn8a, Mal2, Cys1, Haus8³, Slc10a2, Gm9706, Pnma2, Ly6c1, Gstm2, Hist1h2ba, Gpc1³, Trpm1, Raet1e³, Fam25c, Gck³, Aars2, Hsph1</i>	
<1,0	<i>Upp2³</i>	<i>Creld2, Acnat2³, Kegl1, Hspb1, Hbb-b2, Apcs, Cfhr1, Crym, Ifi202b³</i>	-

Примечание. ¹ См. табл.1; ² см. табл. 1; ³ ответили также на ВУВЖР у мышей данного генотипа; ⁴ ответили также на l-Кар у мышей данного генотипа.

[Note. ¹See Table 1; ²See Table 1; ³Genes which responded also to HFCD in mice of this genotype; ⁴Genes which responded also to l-Car in mice of this genotype].

Таблица 3 [Table 3]

Список кратких международных обозначений генов¹ с ДЭ в печени в ответ на потребление l-карнитина (в сравнении с животными, получавшими ВУВЖР)
[List of short international designations of genes with DE in the liver in response to l-carnitine consumption (in comparison with the animals of the HFCD group)]

Интервал ДЭ [DE interval] (log ₂ FC)	Только у мышей DBA/2J [DBA mice only]	Только у мышей DBCB [DBCB mice only]	У мышей обоих генотипов ² [Both mice genotypes]
Положительная ДЭ [Positive DE]	>1,0	-	-
	0,5–1,0	<i>Pomk, Clec4g</i>	<i>Pklr⁴, Hbb-b1⁵, Hbb-bt, Hba-a1, Tkfc⁴</i>
Отрицательная ДЭ [Negative DE]	(-1,0)–(-0,5)	<i>Slc13a3, Prg4³, Mvk³, Luc7l3, Eif3j2</i>	-

Окончание табл. 3 [Table 3 (end)]

Интервал ДЭ [DE interval] (log ₂ FC)		Только у мышей DBA/2J [DBA mice only]	Только у мышей DBCB [DBCB mice only]	У мышей обоих генотипов ² [Both mice genotypes]
			<i>Hemgn, Fitm1, Ung, Mcam, Ephb3, Eya1, Steap4⁵, Zbp1⁵, Hist1h2ba⁵, Guk1⁵, Etfbkmf⁵, Ralgps1, Gsta2³, Mtfr2, Ifi202b^{3,5}, Serpinb8, Gck^{3,5}, Ldlrad3, Isg15^{3,5}, Synj2, Sdf21l⁵, Tmem239, Vnn1³</i>	
	<1,0	<i>Gdf15</i>	<i>Btn1a1, Hspb1⁵, Lgals1^{3,5}, Synpo2l, Hsph1⁵, Bpifc⁵, Ppp1r3b⁵, Serpina3c, Mfsd2a, Cyp4a31³, Zfp791, Psme3⁵, Arhgef15⁵, Fryl, Creld2, Zfp133-ps, Scn8a, Slc1a4, Cox6b2³, Acnat2^{3,5}</i>	–

Примечание. ¹ См. табл. 1; ² см. табл. 1; ³ см. табл. 2; ⁴ ответили также на Рес у DBA/2J; ⁵ ответили также на Рес у DBCB.

[Note. ¹See Table 1; ²See Table 1; ³see Table 2; ⁴Genes which responded also to Res in DBA/2J mice; ⁵Genes which responded also to Res in DBCB mice].

На рис. 2 представлены результаты теоретико-множественного анализа генов, ответивших ДЭ при межгрупповых сравнениях.

Как следует из рис. 2, *a*, потребление ВУВЖР отразилось в ДЭ 62 генов у мышей DBA/2J и 97 – у DBCB, причем 16 генов ответили у мышей как DBA/2J, так и DBCB. Рисунок 2, *b* показывает, что у мышей DBA/2J, получавших ВУВЖР, добавки к рациону Рес и I-Кар вызвали ДЭ 26 генов каждая. При этом в числе генов, ответивших на I-Кар, присутствовали также 2 гена, ответивших и на прием ВУВЖР (*Mvk, Prg4*), а среди генов, ответивших на Рес, – 9 таких генов (*Upp2, Maff, Csrnp1, Dido1, Celsr1, Gbpc* и 3 неидентифицированных в базе данных). Одновременно на Рес и I-Кар у мышей этой линии ответили только 2 гена (*Pklr, Tkfc*). Как показано на рис. 2, *c*, у мышей тетрагибридов DBCB потребление Рес соответствовало ДЭ 147 генов при сравнении с группой, получавшей ВУВЖР, а потребление I-Кар – 221 гена. Из числа генов, ответивших на Рес, 13 (*Raet1e, Rs5-8s1, Gpc1, Samd9l, Haus8, Crot, Smim101l, Rbm3, Ang3, Lrtm1, Dusp6, Nr1d* и 1 неидентифицированный транскрипт) ответили также и на ВУВЖР, а среди генов, ответивших на I-Кар, таковых 16 (*Vnn1, Cyp4a31, Pcp41l, Cox6b2, Sult2a7, Fam213b, Sipal12, Bmp7, Retsat, Gsta2, Pop4, Crybb3, Cib3, Tff3, Gm9706* и 1 неидентифицированный транскрипт). 61 ген мышей DBCB ответил на потребление обеих добавок (см. табл. 3 по сноске 5), а число генов, являющихся одновременно мишенями воздействия ВУВЖР, Рес и I-Кар, у мышей тетрагибридов составило 10 (*Ifi202b, Lgals1, Acnat2, Gck, Isg15, Cdh1, Psen2, Cyp2c23* и 2 неидентифицированных транскрипта). Таким образом, как следует из полученных данных, ответ генной экспрессии на потребление всех экспериментальных рационов у мышей тетрагибридов DBCB являлся значительно более разнообразным, чем у линейных животных.

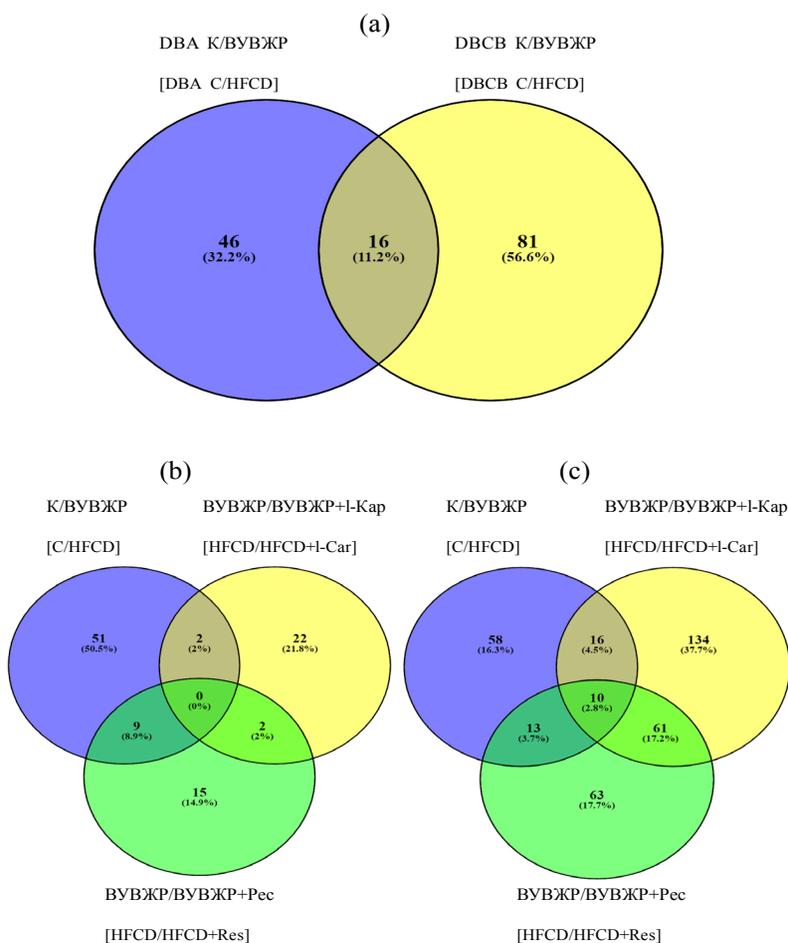


Рис. 2. Диаграммы Венна, демонстрирующие количество уникальных и совпадающих генов с ДЭ по сравниваемым группам животных: *a* – мыши DBA/2J и DBCB, группа ВУВЖР против контроля (К); *b* – мыши DBA/2J, группа ВУВЖР против контроля (К) и группы, получавшие Рес и I-Кар против группы ВУВЖР; *c* – мыши DBCB, группа ВУВЖР против контроля (К) и группы, получавшие Рес и I-Кар, против группы ВУВЖР [Fig. 2. Venn diagrams showing the number of unique and matching genes with DE for the compared groups of animals: *a* - DBA/2J mice and DBCB mice, group HFCD versus control (C); *b* - DBA/2J mice, HFCD group versus control (C) and groups treated with Res and I-Car versus HFCD group; *c* - DBCB mice, HFCD group versus control (C) and groups treated with Res and I-Car versus HFCD group]

На рис. 3 представлена «тепловая» карта, характеризующая транскриптомные профили ткани печени всех опытных групп мышей по отношению к внутренним контролям (Spike-In).

Как видно из рис. 3, профили экспрессии генов у DBA/2J и DBCB мышей составляют два отдельных кластера, различия в пределах которых, определяемые составами экспериментальных рационов, оказываются намного менее существенными, чем межлинейные различия.

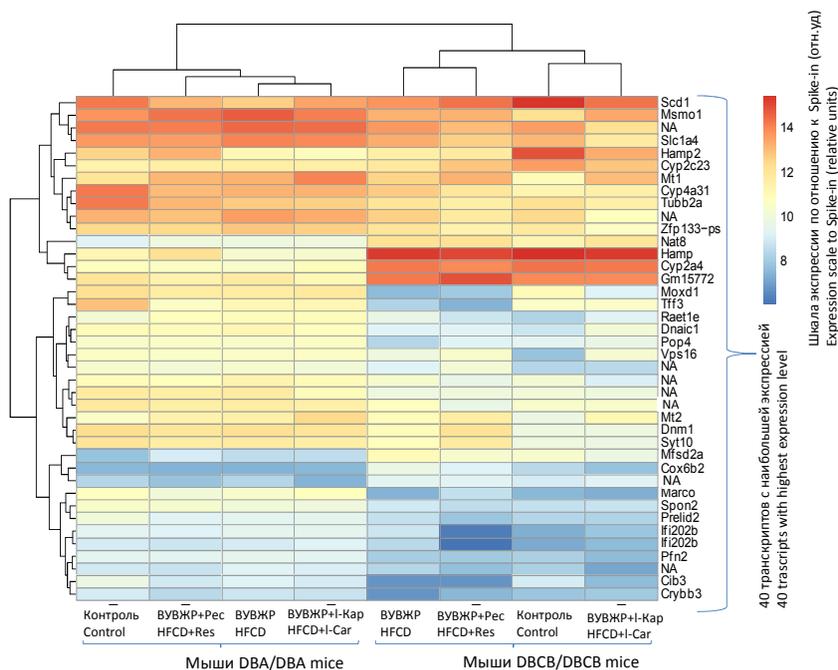


Рис. 3. «Тепловая» карта экспрессии генов в печени мышей по группам по отношению к внутренним контролям Spike-In

[Fig. 3. "Heat" map of gene expression in the liver of mice by groups, in relation to the internal controls Spike-In]

Регрессионные зависимости между ДЭ генов, одновременно ответивших на различные диетические воздействия у линейных мышей и тетрагибридов, представлены на рис. 4.

Величины ДЭ генов, одновременно ответивших на потребление ВУВЖР как у линейных мышей, так и у тетрагибридов (рис. 4, *a*), статистически значимо положительно коррелировали ($r = 0,645$; $p = 0,007$); регрессия статистически значимо линейаризована ($p = 0,104$). Это означает, что наблюдается определенная согласованность в ответе генов мышей DBA/2J и DBCB на ВУВЖР (за исключением четырех транскриптов, указанных на рис. 4, *a* стрелками, из которых три идентифицированы как *Cyp4a31*, *Isg15* и *NR1D1*). У мышей DBA/2J наблюдалась статистически значимая отрицательная корреляция между ДЭ генов, ответивших одновременно на ВУВЖР и Рес ($r = -0,954$; $p < 0,001$), которая статистически значимо линейаризована ($p = 0,695$) (рис. 4, *b*). У мышей DBCB величины ДЭ генов, ответивших одновременно на ВУВЖР и I-Кар (рис. 4, *c*), на ВУВЖР и Рес (рис. 4, *d*) статистически значимо отрицательно коррелировали ($r = -0,929$; $p < 0,001$ и $r = -0,730$; $p < 0,001$ соответственно), обе эти регрессии статистически значимо линейаризованы ($r = -0,929$; $p = 0,379$, и $r = -0,730$; $p = 0,079$ соответственно).

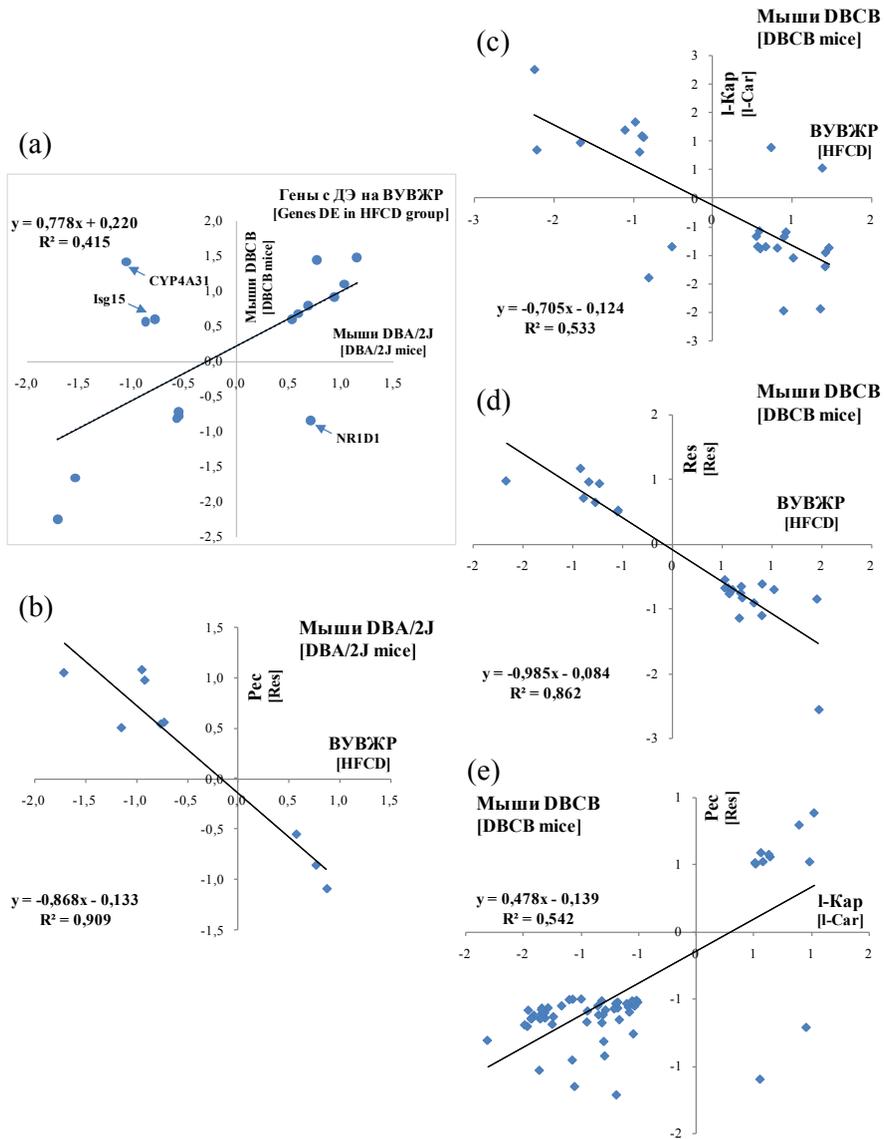


Рис. 4. Регрессии величин ДЭ генов: *a* – гены с ДЭ на ВУВЖР у мышей DBA/2J (ось абсцисс) и DBCB (ось ординат); *b* – гены мышей DBA/2J с ДЭ на ВУВЖР (ось абсцисс) и Res (ось ординат); *c* – гены мышей DBCB с ДЭ на ВУВЖР (ось абсцисс) и l-Кар (ось ординат); *d* – гены мышей DBCB с ДЭ на ВУВЖР (ось абсцисс) и Res (ось ординат); *e* – гены мышей DBCB с ДЭ на l-Кар (ось абсцисс) и Res (ось ординат) [Fig. 4. Regressions of DE values of genes: *a* - genes with DE on HFCD in DBA/2J (X-axis) and DBCB (Y-axis) mice; *b* - genes of DBA/2J mice with DE on HFCD (X-axis) and Res (Y-axis); *c* - genes of DBCB mice with DE on HFCD (X-axis) and l-Car (Y-axis); *d* - genes of DBCB mice with DE on HFCD (X-axis) and Res (Y-axis); *e* - genes of DBCB mice with DE on l-Car (X-axis) and Res (Y-axis)]

Во всех указанных случаях данные регрессионного анализа указывают на наличие линейной функциональной связи между коррелирующими генами. У мышей DBA/2J анализ связи между ответом ДЭ генов на ВУВЖР и I-Кар, Рес и I-Кар не проведен из-за недостаточного числа совместно ответивших генов (см. табл. 3). Корреляция между ДЭ генов, ответивших одновременно на Рес и I-Кар у мышей DBCB (рис. 4, e), статистически значимо положительная ($r = 0,737; p < 0,001$), однако регрессия статистически значимо не линеаризована ($p = 0,004$). Это означает, что у мышей тетрагибридов имеет место определенный параллелизм в действии I-Кар и Рес на транскриптом печени, однако связь между совместно экспрессируемыми генами является нелинейной, что может указывать на разные механизмы такого воздействия. Примечательно, что направленность изменений, вызываемых в транскриптом потреблением ВУВЖР (по сравнению с контролем), с одной стороны, и обеих добавок (по сравнению с группой ВУВЖР) – с другой, у мышей тетрагибридов оказывается выражено противоположной. Это указывает на способность как Рес, так и I-Кар возвращать к норме изменения в транскриптом, вызываемые потреблением ВУВЖР, хотя механизмы такого воздействия у обеих добавок и у линейных животных и тетрагибридов, по-видимому, не совпадают.

Результаты биоинформатического анализа транскриптома печени. В табл. 4 представлены результаты биоинформатической оценки влияния применяемых диетических воздействий на метаболические пути (KEGGs) у мышей.

Таблица 4 [Table 4]

Перечень метаболических путей (KEGGs), статистически значимо ответивших ($p < 0,05$) у линейных мышей и тетрагибридов на применяемые диетические воздействия [List of metabolic pathways (KEGGs) that significantly responded ($p < 0,05$) in the mice of pure line and the tetrahybrid in response to the diets used]

Действующие факторы [Factors]	KEGGs ³	p-value	
		У мышей DBA/2J [DBA/2J mice]	У мышей DBCB [DBCB mice]
ВУВЖР ¹ [HFCD]	mmu00830 Retinol metabolism	0,025	0,005
	mmu03320 PPAR signaling pathway	0,030	0,011
	mmu00982 Drug metabolism - cytochrome P450	0,043	0,023
	mmu00980 Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	0,049	0,027
	mmu00071 Fatty acid metabolism	–	0,013
	mmu04612 Antigen processing and presentation	–	0,021
	mmu00590 Arachidonic acid metabolism	–	0,029
	mmu00250 Alanine, aspartate and glutamate metabolism	–	0,034
Рес ² [Res]	mmu00280 Valine, leucine and isoleucine degradation	–	0,039
I-Кар ² [I-Car]	mmu04512 ECM-receptor interaction	–	0,030
	mmu00830 Retinol metabolism	–	0,049

Примечание. ¹ По сравнению с контрольной группой; ² на фоне потребления ВУВЖР. [Note. ¹Compared to the control group; ²Against the background of HFCD consumption].

Видно, что потребление ВУВЖР мышами DBA/2J привело к статистически значимым изменениям в 4 метаболических путях, а мышами DBCB, помимо этого, ещё в 5 метаболических путях. Потребление Рес не вызвало статистически значимых изменений KEGGS у мышей DBA/2J, а у мышей тетрагибридов повлияло на mmu04512 ECM-receptor interaction. Добавка l-Кар вызвала статистически значимые изменения в mmu00830 Retinol metabolism только у мышей DBCB.

На рис. 5 сопоставлены изменения, вызванные в mmu00830 Retinol metabolism действием ВУВЖР и влиянием l-Кар.

Видно, что потребление ВУВЖР вызывает сходные изменения в рассматриваемом метаболическом пути у линейных мышей и тетрагибридов, за исключением противоположной направленности в ДЭ *Cyp4a11* (эпоксигеназы жирных кислот), подавляемой у DBA/2J и активируемой у DBCB. Статистически значимого ответа данного метаболического пути на потребление Рес у животных обоих генотипов и на l-Кар у DBA/2J не выявлено. У мышей тетрагибридов DBCB в результате добавления l-Кар к ВУВЖР наблюдается перемена знака ДЭ гена фермента КФ (код фермента) 1.3.99.23 (метаболический блок образования all-trans-13,14-dihydroretinol), гена фермента КФ 1.2.1.36 (ретинальдегидрогеназа), *Cyp4a11*, а также положительная ДЭ *Ugt2b7* (УДФ-глюкуронозилтрансфераза). Следствием наблюдаемых изменений является, по-видимому, подавление под действием l-Кар образования в печени all-trans-retinoate (ретиноевой кислоты) и ускорение её глюкуроноирования, что может привести к снижению концентрации этого метаболита в печени.

Другой мишенью воздействия ВУВЖР является метаболический путь mmu03320 PPAR signaling pathway (рис. 6).

В этом метаболическом пути у мышей DBA/2J и DBCB отмечается положительная ДЭ гена *PPAR* и отрицательная – *Scd1*. При этом только мышам DBCB в данном метаболическом пути свойственны активация экспрессии гена *RXR* и подавление *FABP*, а направленность в изменении *Cyp4a1* у линейных мышей и тетрагибридов является противоположной. Изменения в метаболическом пути mmu00590 Arachidonic acid metabolism, характеризующиеся появлением дисбаланса в экспрессии изоформ цитохрома P450 *Cyp4a* и *Cyp2*, отвечающих за синтез различных гидроксидных и эпоксипроизводных арахидоновой кислоты, характерны только для мышей DBCB (рис. 7).

Отмечено также влияние ВУВЖР на метаболические пути *Cyp450*-зависимых путей метаболизма ксенобиотиков и лекарственных препаратов, а у мышей DBCB также и обмена ряда аминокислот, включая аланин, аспарат, глутамат и аминокислоты с разветвленной цепью (лейцин, изолейцин и валин). Статистически значимого влияния как Рес, так и l-Кар на эти метаболические пути не выявлено. В метаболическом пути mmu04512 ECM-receptor interaction у мышей DBCB, получавших добавку Рес к ВУВЖР, отмечалось усиление взаимодействия (на уровне мРНК) коллагена межклеточного матрикса с мембранными рецепторными белками α - и β -интегринами.

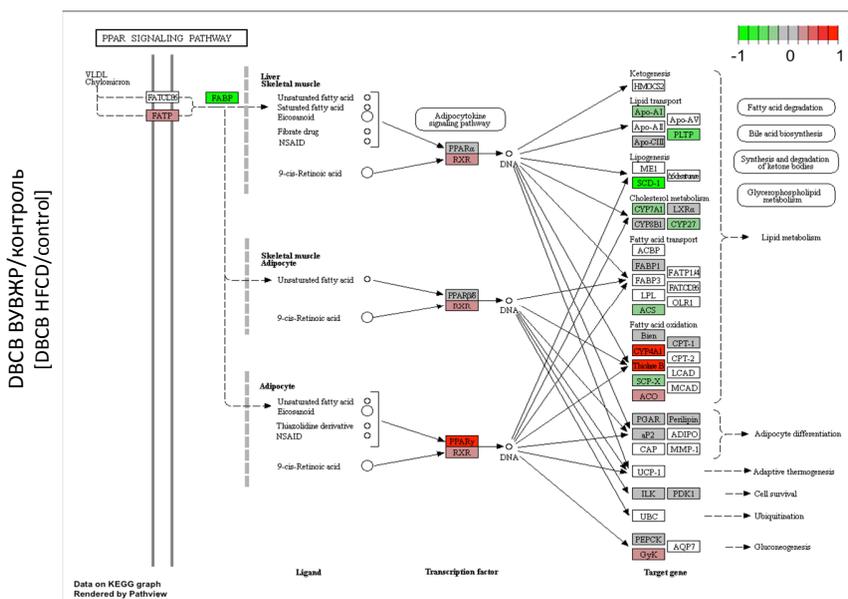
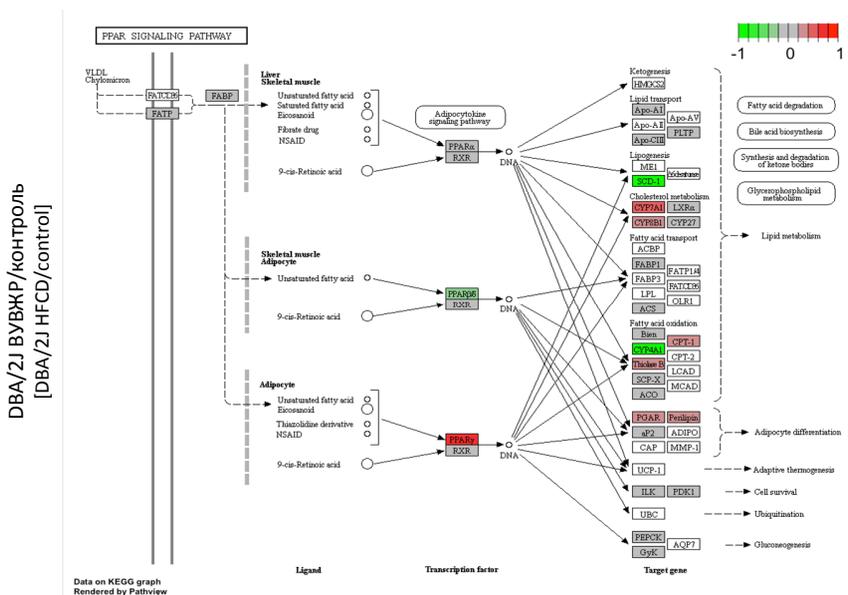


Рис. 6. Изменения в метаболическом пути mmu03320 PPAR signaling pathway при потреблении ВУВЖР у мышей DBA/2J и DBCV [Fig. 6. Changes in the metabolic pathway mmu03320 PPAR signaling pathway in the condition of HFCD consumption in DBA/2J and DBCV mice]

Проведенные исследования показали наличие как сходных черт, так и различий в реакции транскриптома печени на потребление ВУВЖР и добавки к нему БАВ Рес и l-Кар у линейных мышей DBA/2J и отличающихся

ния ионов тяжелых металлов и антиоксидантной активностью рассматривается как фактор, препятствующий развитию ожирения и жирового гепатоза [21]. Эффект компенсаторного повышения экспрессии *Mt1* известен из данных клинических наблюдений [22]. В числе других согласованно отвечающих генов у линейных мышей и тетрагибридов находится *Aatkl* (Apoptosis-associated tyrosine kinase 1), маркирующий усиление процессов апоптоза в ткани [23], а также гены, участвующие в процессах липогенеза – *Msmo1* (Methylsterol Monoxygenase 1) [24], *Scd1* (stearoyl-CoA desaturase) [25] и *Pparg* (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma) [26].

Несмотря на наличие в целом положительной корреляции между величинами ДЭ у тетрагибридов DBCB и линейных мышей DBA/2J, четыре гена ответили на потребление экспериментального рациона у них по-разному. В их числе *Nr1d1* (известный также как *Rev-erba*) является ключевым регулятором циркадного ритма и обладает плеiotропной функцией в метаболизме липидов. По данным [27], сниженная экспрессия этого гена (что специфически наблюдалось у DBCB) связана у мышей с развитием метаболического синдрома, повышенного отложения жира и атрофии скелетных мышц. Продукт гена *Isg15* представляет собой убиквитин-подобный белок, индуцируемый интерфероном- γ , для которого характерна повышенная экспрессия в печени при воспалении, обусловленном различными вирусными и паразитарными инфекциями [28]. Положительная ДЭ этого гена у DBCB-мышей, по-видимому, маркирует у них процесс воспаления, связанного с избыточным отложением жира в ткани печени. *Cyp4a31* кодирует одну из изоформ фермента семейства цитохрома P450 4a, являющегося по своей функции эпоксигеназой полиненасыщенных жирных кислот [29]. Избыточная экспрессия этого белка у DBCB может приводить к гиперпродукции окси- и эпоксипроизводных арахидоновой кислоты, обладающих провоспалительным действием.

Уникальна для мышей DBCB с фенотипом ожирения при потреблении ВУВЖР ДЭ целого ряда функционально-значимых генов. В их числе статистически значимой (p -value < 0,01; $adj.p$ -value < 0,1) положительной ДЭ характеризовались *Sult2a7* (сульфотрансфераза), ген фермента 2-й стадии системы детоксикации ксенобиотиков [30]; липогенные гены: *Wnt5b* (стимулятор адипогенеза, ко-активатор PPAR γ) [31], *Acaa1b* (ацетил-КоА ацилтрансфераза), ключевой фермент β -окисления жирных кислот, контролируемый PPAR α [32]. Отрицательная ДЭ выявлена для *Mgat2* (monoacylglycerol acyltransferase-2), отвечающего за синтез диглицеридов и связанного с избыточным накоплением жира и инсулиновой резистентностью [33]; *G6pdx* (Glucose-6-phosphate dehydrogenase) – лимитирующий фермент пентозофосфатного пути, играющий важную роль в регуляции окислительно-восстановительного равновесия в клетке [34]; *Sucnr1* (рецептор 1 сукцината), отвечающий за формирование противовоспалительного фенотипа печеночных макрофагов [35]; *Cdh1* и *Psen2* (значение которых будет рассмотрено ниже);

As3mt (Arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase), участвующая в детоксикации и выведении соединений мышьяка [36]; *Cyp2c23* (эпоксигеназа арахидоновой кислоты) [37]; *Fabp5* – ген эктопически экспрессированного транспортера жирных кислот клеток эпидермиса, облегчающего перенос жирных кислот в клетку и участвующего в развитии стеатоза, окислительного стресса и воспаления [38].

У мышей DBA/2J, не развивших видимых признаков ожирения при потреблении ВУВЖР, наблюдался другой профиль ДЭ генов, участвующих в процессах углеводно-энергетического обмена, липогенеза и воспаления. А именно, у животных этой линии показана положительная ДЭ на уровне тенденции (p -value < 0,01; adj - p -value > 0,1) гена *Maff* (кофактор Nrf2-опосредуемой активации антиоксидант-чувствительных элементов генома) [39], *S100a9*, известного также как *MRP14* – миелоид-родственный белок, играющий роль в реакциях врожденного иммунитета [40], и *Klf9* – фактора дифференцировки адипоцитов, регулируемого PPAR γ [41].

Отрицательная ДЭ отмечена для гена *Prg4* (протеогликан 4), возможно, отвечающего за накопление избытка жира, дислипидемию и инсулиновую резистентность [42], *Didol* (транскрипционный фактор, участвующий в процессах апоптоза) и *Igfbp1* (белок, связывающий инсулиноподобный фактор роста 1), участвует в развитии гипергликемии на высокоуглеводных рационах и является биомаркером метаболического синдрома [43]. Следует отметить, что в нашем предыдущем исследовании [44] *Igfbp1* ответил противоположной по направленности ДЭ в ответ на потребление флавоноида кверцетина у генетически тучных мышей db/db и мышей линии C57Bl/6J, получавших ВУВЖР.

Переходя к обсуждению эффектов влияния Рес и I-Кар на полнотранскриптомный профиль ткани печени, следует в первую очередь остановиться на генах, ответивших противоположной по знаку статистически значимой ДЭ на ВУВЖР, с одной стороны, и на оба типа добавок – с другой. У мышей тетрагибридов DBCB показана ДЭ для генов *Psen2*, *Lgals1* и *Cdh1*.

Для *Psen2* (presenilin 2), подавляемого на ВУВЖР и активируемого при потреблении обеих добавок, показано наличие выраженного противовоспалительного действия [45]. Данный белок представляет собой одну из субъединиц мембранной связанной протеазы (γ -секретаза), отвечающей за элиминацию дефектных клеточных белков. В ЦНС он, по-видимому, играет важную роль в защите от развития болезни Альцгеймера; значение его экспрессии в периферических органах, включая печень, мало изучено.

Такой же направленностью ДЭ характеризовался *Cdh1*. Он кодирует cadherin-1, известный также как LСAM, принадлежащий к семейству кальций-зависимых трансмембранных белков клеточной адгезии, играющих важную роль в пролиферации и дифференцировке клеток, эпителиально-мезенхимальных взаимодействиях, сосудистом росте и препятствующий процессам опухолеобразования [46]. Нарушенная под действием ВУВЖР экспрессия

этого функционально значимого белка у мышей DBCB восстанавливается под действием обоих изученных биологически активных веществ.

В противоположность двум предыдущим генам *Lgals* (синоним Galectin-1) характеризовался положительной ДЭ на ВУВЖР, обрабатываемой под действием l-Кар и Рес. Это лектиноподобный белок, иммунорегулятор и маркер клеточной дифференцировки, функционально связанный с клеточными маркерами CD2, CD3ε, CD4 и CD7 [47]. Снижение экспрессии этого гена под действием Рес и l-Кар может способствовать профилактике воспаления и фиброза в печени [48].

У мышей DBA/2J потребление Рес привело к обращению направленно-сти ДЭ гена *G6pc* (глюкозо-6-фосфатаза), отвечающей за выведение свободной глюкозы из клетки [49] и ряда других генов с известной функцией (см. табл. 2), однако данные эффекты проявлялись только на уровне тенденции ($p\text{-value} < 0,05$; $\text{adj.}p\text{-value} > 0,1$). l-Кар обладал у мышей этой линии способностью возвращать к контрольному уровню положительную на ВУВЖР ДЭ экспрессию *Mvk* (mevalonate kinase), гена фермента, участвующего в биосинтезе холестерина, но данный эффект статистически не значим.

Как известно, изменения в уровнях метаболитов ретинола, при посредстве RXR-рецепторов, действующих в ансамбле с PPARγ, играют важную роль в регуляции процессов липидного обмена [50]. В этой связи большой интерес представляют изменения, наблюдаемые в метаболическом пути mmu00830 Retinol metabolism у линейных мышей и тетрагибридов, и способность l-Кар обращать часть наблюдаемых при этом эффектов у мышей DBCB, что фенотипически согласуется с его гипополипидемическим действием у мышей-тетрагибридов. В наших предыдущих исследованиях выявлены дифференцированные эффекты влияния на этот метаболический путь кверцетина у наследственно тучных мышей db/db и мышей C57Bl/6J, получавших высокожировую рацион [44], и у тучных крыс линии Zucker ZF [51]. Эти данные, возможно, указывают на универсальную роль метаболизма ретиноидов как эффекторного звена различных диетических воздействий. В частности, это, по-видимому, относится и к гипополипидемическому действию l-Кар, не сводящемуся к простому механистическому объяснению его роли как «сжигателя жира».

Изменения в метаболическом пути mmu00590 Arachidonic acid metabolism, выявленные у мышей-тетрагибридов DBCB, включают нарушение баланса выработки эйкозаноидов, что вносит важный вклад в развитие хронического системного воспаления при ожирении, диабете 2-го типа, гипертензии, коронарной болезни сердца, аутоиммунных и других алиментарно-зависимых заболеваниях [52]. В этой связи характерно отсутствие влияния ВУВЖР на этот метаболический путь у мышей DBA/2J, резистентных к развитию индуцированного рационом ожирения.

Таким образом, результаты проведенных полнотранскриптомных исследований указывают на значительные различия в профиле ДЭ генов в пече-

ни в ответ на применяемые диетические воздействия (потребление ВУВЖР, l-Кар и Рес в составе ВУВЖР) у мышей линии DBA/2J и тетрагибридов DBCB, различающихся по своей склонности к развитию фенотипа индуцированного рационом ожирения. В основе выявленных изменений, как можно предположить, более высокое аллельное разнообразие генов у тетрагибридных мышей DBCB по сравнению с линейными животными, что нашло отражение у первых в гораздо более широком спектре эффектов ДЭ в ответ на потребление как ВУВЖР, так и обоих биологически активных веществ.

Заключение

Результаты настоящей работы показывают, что полнотранскриптомный анализ позволяет получить ценную дополнительную информацию для оценки диетических влияний на доклинических *in vivo* моделях, воспроизводящих различную генетически детерминированную восприимчивость организма к развитию алиментарного ожирения. В качестве таких моделей в нашем исследовании использованы линейные мыши DBA/2J и мыши-тетрагибриды DBCB. При этом ключевые механизмы изменений, вызываемых в транскриптоме животных и сопряженных с изменениями в фенотипе, состоят, по-видимому, во вмешательстве изученных диетических факторов в ключевые метаболические пути, такие как PPAR-сигнальный путь, обмен ретиноидов и эйкозаноидов, причем направленность этих изменений в значительной мере зависит от исходного генотипа животного. Полученные данные могут иметь значение для доклинической проверки и последующих клинических испытаний различных БАВ, предлагаемых для диетотерапии вышеуказанных заболеваний, с учетом индивидуальных генетических особенностей больных, что часто бывает необходимо в клинической практике.

Литература

1. Тутельян В.А., Киселёва Т.Л., Кочеткова А.А., Смирнова Е.А., Киселёва М.А., Саркисян В.А. Перспективные источники фитонутриентов для специализированных пищевых продуктов с модифицированным углеводным профилем: опыт традиционной медицины // Вопросы питания. 2016. Т. 84, № 4. С. 46–60.
2. Тутельян В.А., Кочеткова А.А., Саркисян В.А. Специализированные пищевые продукты в современной парадигме алиментарной коррекции нарушений метаболизма // FOODLIFE 2018. Генетические ресурсы растений и здоровое питание: потенциал зерновых культур : материалы конференции. 2018. С. 22.
3. Wojanowska E., Ciosek J. Can we selectively reduce appetite for energy-dense foods? An overview of pharmacological strategies for modification of food preference behavior // Current Neuropharmacology. 2016. Vol. 14, № 22. PP. 118–142. <https://doi.org/10.2174/1570159x14666151109103147>
4. Rauf A., Imran M., Suleria H.A.R., Ahmad B., Peters D.G., Mubarak M.S. A comprehensive review of the health perspectives of resveratrol // Food and Function. 2017. Vol. 8, № 12. PP. 4284–4305. <https://doi.org/10.1039/c7fo01300k>

5. Repositi G., Das U., Eynard A.R. Molecular basis of the beneficial actions of resveratrol // *Archives of Medical Research*. 2020. Vol. 51, № 2. PP. 105–114. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.01.010>
6. Alam Md.A., Kauter K., Withers K., Sernia C., Brown L. Chronic l-arginine treatment improves metabolic, cardiovascular and liver complications in diet-induced obesity in rats // *Food and Function*. 2013. Vol. 4, № 1. PP. 83–91. <https://doi.org/10.1039/c2fo30096f>
7. Раджабкადиев Р.М., Коростелева М.М., Евстратова В.С., Никитюк Д.Б., Ханферьян Р.А. L-карнитин: свойства и перспективы применения в спортивной практике // *Вопросы питания*. 2015. Т. 84, № 3. С. 4–12.
8. Brass E.P. Carnitine and sports medicine: use or abuse? // *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2004. Vol. 1033, № 1. PP. 67–78. <https://doi.org/10.1196/annals.1320.006>
9. Поварова О.В., Городецкая Е.А., Каленикова Е.И., Медведев О.С. Метаболические маркеры и окислительный стресс в патогенезе ожирения у детей // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2020. Т. 65, № 1. С. 22–29.
10. Christenson J., Whitby S.J., Mellor D., Thomas J., McKune A., Roach P.D., Naumovski N. The effects of resveratrol supplementation in overweight and obese humans: a systematic review of randomized trials // *Metabolic syndrome and related disorders*. 2016. Vol. 14, № 7. PP. 323–33. <https://doi.org/10.1089/met.2016.0035>
11. Pooyandjoo M., Nouhi M., Shab-Bidar S., Djafarian K., Olyaeemanesh A. The effect of L-carnitine on weight loss in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials // *Obesity Reviews*. 2016. Vol. 17, № 10. PP. 970–976. <https://doi.org/10.1111/obr.12436>
12. Nadler S.T., Stoehr J.P., Schueler K.L., Tanimoto G., Yandell B.S., Attie A.D. The expression of adipogenic genes is decreased in obesity and diabetes mellitus // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000. Vol. 97, № 21. PP. 11371–11376. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.21.11371>
13. Apryatin S.A., Shipelin V.A., Trusov N.V., Mzhelskaya K.V., Evstratova V.S., Kirbaeva N.V., Soto J.S., Fesenko Z.S., Gainetdinov R.R., Gmshinski I.V. Comparative analysis of the influence of a high-fat/high-carbohydrate diet on the level of anxiety and neuromotor and cognitive functions in Wistar and DAT-KO rats // *Physiological Reports*. 2019. Vol. 7, № 4. e13987. <https://doi.org/10.14814/phy2.13987>
14. Apryatin S.A., Trusov N.V., Gorbachev A.Yu., Naumov V.A., Balakina A.S., Mzhel'skaya K.V., Gmshinski I.V. Comparative whole transcriptome profiling of liver tissue from Wistar rats fed with diets containing different amounts of fat, fructose, and cholesterol // *Biochemistry (Moscow)*. 2019. Vol. 84. PP. 1093–1106. <https://doi.org/10.1134/S0006297919090128>
15. Apryatin S.A., Trusov N.V., Gorbachev A.J., Naumov V.A., Mzhel'skaya K.V., Balakina A.S., Gmshinski I.V. Full transcriptome profiling of the liver of fat-, fructose and cholesterol-fed C57Black/6J Mice // *Russian Journal of Genetics*. 2019. Vol. 55, № 4. PP. 399–410. <https://doi.org/10.1134/S1022795419040021>
16. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing // *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*. 1995. Vol. 57, № 1. PP. 289–300. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>
17. Трусов Н.В., Мжельская К.В., Шипелин В.А., Шумакова А.А., Тимонин А.Н., Ригер Н.А., Апрытин С.А., Гмошинский И.В., Никитюк Д.Б. Влияние L-карнитина на иммунологические, интегральные и биохимические показатели мышей, получающих рацион с избытком жира и фруктозы // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2019. Т. 105, № 5. С. 619–633. <https://doi.org/10.1134/S0869813919050121>
18. Апрытин С.А., Мжельская К.В., Трусов Н.В., Балакина А.С., Сото Х.С., Бекетова Н.А., Кошелева О.В., Гмошинский И.В., Никитюк Д.Б. Биохимические и

- морфологические показатели инбредных/аутбредных линий и тетрагибрида DBCB мышей в высокосахарозной *in vivo* модели метаболического синдрома // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018. Т. 166, № 7. С. 107–113.
19. Информация фирмы Agilent. URL: https://www.agilent.com/en/product/gene-expression-microarray-platform/gene-expression-exon-microarrays/model-organism-microarrays/sureprint-g3-mouse-gene-expression-microarrays-228472#zoomELIBRARY_669002, (дата обращения: 05.09.2020).
 20. Gao M., Ma Y., Liu D. High-fat diet-induced adiposity, adipose inflammation, hepatic steatosis and hyperinsulinemia in outbred CD-1 mice // PLoS ONE. 2015. Vol. 10, № 3. e0119784. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119784>
 21. Sato M., Kawakami T., Kondoh M., Takiguchi M., Kadota Y., Himeno S., Suzuki S. Development of high-fat-diet-induced obesity in female metallothionein-null mice // FASEB Journal. 2010. Vol. 24, № 7. PP. 2375–2384. <https://doi.org/10.1096/fj.09-145466>
 22. Dos Santos Rocha P.B., de Castro Amorim A., de Sousa A.F., do Monte S.J., da Mata Sousa L.C., do Nascimento Nogueira N., Neto J.M., do Nascimento Marreiro D. Expression of the zinc transporters genes and metallothionein in obese women // Biological Trace Element Research. 2011. Vol. 143, № 2. PP. 603–611. <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8887-7>
 23. Ma S., Rubin B.P. Apoptosis-associated tyrosine kinase 1 inhibits growth and migration and promotes apoptosis in melanoma // Laboratory Investigation. 2014. Vol. 94, № 4. PP. 430–438. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2014.13>
 24. Xin Y., Li C., Guo Y., Xiao R., Zhang H., Zhou G. RNA-Seq analysis reveals a negative role of MSMO1 with a synergized NSDHL expression during adipogenesis of 3T3-L1 // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2019. Vol. 83, № 4. PP. 641–652. <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1559719>
 25. Burhans M.S., Flowers M.T., Harrington K.R., Bond L.M., Guo C.A., Anderson R.M., Ntambi J.M. Hepatic oleate regulates adipose tissue lipogenesis and fatty acid oxidation // Journal of Lipid Research. 2015. Vol. 56, № 2. PP. 304–318. <https://doi.org/10.1194/jlr.M054429>
 26. Hall J.M., Powell H.R., Rajic L., Korach K.S. The role of dietary phytoestrogens and the nuclear receptor PPAR γ in adipogenesis: an *in vitro* study // Environmental Health Perspectives. 2019. Vol. 127, № 3. e37007. <https://doi.org/10.1289/EHP3444>
 27. Welch R.D., Billon C., Kameric A., Burris T.P., Flaveny C.A. Rev-erb α heterozygosity produces a dose-dependent phenotypic advantage in mice // PLoS One. 2020. Vol. 15, № 5. e0227720. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227720>
 28. Napolitano A., van der Veen A.G., Bunyan M., Borg A., Frith D., Howell S., Kjaer S., Beling A., Snijders A.P., Knobeloch K.P., Frickel E.M. Cysteine-reactive free ISG15 generates IL-1 β -producing CD8 α + dendritic cells at the site of infection // Journal of Immunology. 2018. Vol. 201, № 2. PP. 604–614. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1701322>
 29. Xu Y., Knipp G.T., Cook T.J. Expression of CYP4A isoforms in developing rat placental tissue and rat trophoblastic cell models // Placenta. 2005. Vol. 266, № 2–3. PP. 218–225. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2004.05.006>
 30. Kocarek T.A., Duanmu Z., Fang H.L., Runge-Morris M. Age- and sex-dependent expression of multiple murine hepatic hydroxysteroid sulfotransferase (SULT2A) genes // Biochemical Pharmacology. 2008. Vol. 76, № 8. PP. 1036–1046. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.07.032>
 31. van Tienen F.H.J., Laeremans H., van der Kallen C.J.H., Smeets H.J.M. Wnt5b stimulates adipogenesis by activating PPAR γ , and inhibiting the beta-catenin dependent Wnt signaling pathway together with Wnt5a // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2009. Vol. 387, № 1. PP. 207–211. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.07.004>

32. Fidaleo M., Arnauld S., Clémencet M.C., Chevillard G., Royer M.C., De Bruycker M., Wanders R.J.A., Athias A., Gresti J., Clouet P., Degrace P., Kersten S., Espeel M., Latruffe N., Nicolas-Francès V., Mandard S. A role for the peroxisomal 3-ketoacyl-CoA thiolase B enzyme in the control of PPAR α -mediated upregulation of SREBP-2 target genes in the liver // *Biochimie*. 2011. Vol. 93, № 5. PP. 876–891. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2011.02.001>
33. Tsuchida T., Fukuda S., Aoyama H., Taniuchi N., Ishihara T., Ohashi N., Sato H., Wakimoto K., Shiotani M., Oku A. MGAT2 deficiency ameliorates high-fat diet-induced obesity and insulin resistance by inhibiting intestinal fat absorption in mice // *Lipids in Health and Disease*. 2012. Vol. 11. e75. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-75>
34. Ham M., Sik S.C., Shin K.C., Choi G., Kim J.W., Noh J.R., Kim Y.H., Ryu J.W., Yoon K.H., Lee C.H., Kim J.B. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency improves insulin resistance with reduced adipose tissue inflammation in obesity // *Diabetes*. 2016. Vol. 65, № 9. PP. 2624–2638. <https://doi.org/10.2337/db16-0060>
35. Keiran N., Ceperuelo-Mallafré V., Calvo E., Hernández-Alvarez M.I., Ejarque M., Núñez-Roa C., Horrillo D., Maymó-Masip E., Rodríguez M.M., Fradera R., de la Rosa J.V., Jorba R., Megia A., Zorzano A., Medina-Gómez G., Serena C., Castrillo A., Vendrell J., Fernández-Veledo S. SUCNR1 controls an anti-inflammatory program in macrophages to regulate the metabolic response to obesity // *Nature Immunology*. 2019. Vol. 20, № 5. PP. 581–592. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0372-7>
36. Hughes M.F., Edwards B.C., Herbin-Davis K.M., Saunders J., Styblo M., Thomas D.J. Arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase genotype affects steady-state distribution and clearance of arsenic in arsenate-treated mice // *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2010. Vol. 249, № 3. PP. 217–223. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.09.017>
37. Imaoka S., Wedlund P.J., Ogawa H., Kimura S., Gonzalez F.J., Kim H.Y. Identification of CYP2C23 expressed in rat kidney as an arachidonic acid epoxygenase // *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1993. Vol. 267, № 2. PP. 1012–1016.
38. Peng Y., Rideout D., Rakita S., Lee J., Murr M. Diet-induced obesity associated with steatosis, oxidative stress, and inflammation in liver // *Surgery for Obesity and Related Diseases*. 2012. Vol. 8, № 1. PP. 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2011.07.019>
39. Katsuoka F., Motohashi H., Ishii T., Aburatani H., Engel J.D., Masayuki Y. Genetic evidence that small maf proteins are essential for the activation of antioxidant response element-dependent genes // *Molecular and Cellular Biology*. 2005. Vol. 25, № 18. PP. 8044–8051. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.18.8044-8051.2005>
40. Xia C., Razavi M., Rao X., Braunstein Z., Mao H., Toomey A.C., Wang Y., Simon D.I., Zhao S., Rajagopalan S., Zhong J. MRP14 enhances the ability of macrophage to recruit T cells and promotes obesity-induced insulin resistance // *International Journal of Obesity*. 2019. Vol. 43, № 12. PP. 2434–2447. <https://doi.org/10.1038/s41366-019-0366-4>
41. Pei H., Yao Y., Yang Y., Liao K., Wu J.R. Krüppel-like factor KLF9 regulates PPAR γ retransactivation at the middle stage of adipogenesis // *Cell Death and Differentiation*. 2011. Vol. 18, № 2. PP. 315–327. <https://doi.org/10.1038/cdd.2010.100>
42. Nahon J.E., Hoekstra M., van Harmelen V., Rensen P.C.N., van Dijk W.K., Kooijman S., Van Eck M. Proteoglycan 4 deficiency protects against glucose intolerance and fatty liver disease in diet-induced obese mice // *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease*. 2019. Vol. 1865, № 2. PP. 494–501. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.11.009>
43. Degenhardt T., Matilainen M., Herzig K.H., Dunlop T.W., Carlberg C. The insulin-like growth factor-binding protein 1 gene is a primary target of peroxisome proliferator-activated receptors // *The Journal of Biological Chemistry*. 2006. Vol. 281, № 51. PP. 39607–39619. <https://doi.org/10.1074/jbc.M605623200>
44. Трусов Н.В., Апрятин С.А., Шипелин В.А., Гмошинский И.В. Полнотранскриптомный анализ генов печени мышей в сравнительном исследовании эффективности

- кверцетина на двух моделях ожирения // Проблемы эндокринологии. 2020. Т. 66, № 5. С. 31–47. <https://doi.org/10.14341/probl12561>
45. Jiang X., Zhang D., Shi J., Chen Y., Zhang P., Mei B. Increased inflammatory response both in brain and in periphery in presenilin 1 and presenilin 2 conditional double knock-out mice // Journal of Alzheimers Disease. 2009. Vol. 18, № 3. PP. 515–523. <https://doi.org/10.3233/JAD-2009-1164>
46. Schneider M.R., Kolligs F.T. E-cadherin's role in development, tissue homeostasis and disease: insights from mouse models: tissue-specific inactivation of the adhesion protein E-cadherin in mice reveals its functions in health and disease // Bioessays. 2015. Vol. 37, № 3. PP. 294–304. <https://doi.org/10.1002/bies.201400141>
47. Potikha T., Ella E., Cerliani J.P., Mizrahi L., Pappo O., Rabinovich G.A., Galun E., Goldenberg D.S. Galectin-1 is essential for efficient liver regeneration following hepatectomy // Oncotarget. 2016. Vol. 7, № 22. PP. 31738–31754. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9194>
48. Jiang Z.J., Shen Q.H., Chen H.Y., Yang Z., Shuai M.Q., Zheng S.S. Galectin-1 gene silencing inhibits the activation and proliferation but induces the apoptosis of hepatic stellate cells from mice with liver fibrosis // International Journal of Molecular Medicine. 2019. Vol. 43, № 1. PP. 103–116. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3950>
49. Kim G.Y., Lee Y.M., Cho J.H., Pan C.J., Jun H.S., Springer D.A., Mansfield B.C., Chou J.Y. Mice expressing reduced levels of hepatic glucose-6-phosphatase- α activity do not develop age-related insulin resistance or obesity // Human Molecular Genetocs. 2015. Vol. 24, № 18. PP. 5115–5125. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv230>
50. Plutzky J., Kelly D.P. The PPAR-RXR transcriptional complex in the vasculature: energy in the balance // Circulation Research. 2011. Vol. 108, № 8. PP. 1002–1016. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.226860>
51. Трусов Н.В., Апятин С.А., Горбачев А.Ю., Наумов В.А., Мжельская К.В., Гмошинский И.В. Влияние гиперкалорийного рациона и кверцетина на полнотранскриптомный профиль ткани печени крыс линии Zucker-LEPR^{fa} // Проблемы эндокринологии. 2018. Т. 64, № 6. С. 371–382. <https://doi.org/10.14341/probl9936>
52. Das U.N. Bioactive lipids in age-related disorders. In: Guest P. (eds) Reviews on new drug targets in age-related disorders // Advances in Experimental Medicine and Biology. Vol. 1260. Springer, Cham. 2020. PP. 33–83. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42667-5_3

*Поступила в редакцию 29.03.2021 г.; повторно 25.05.2021 г.;
принята 27.05.2021 г.; опубликована 29.06.2021 г.*

Авторский коллектив:

Трусов Никита Вячеславович, н.с. лаборатории энзимологии питания, ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-1919-9297>

E-mail: nikkitosu@yandex.ru

Апятин Сергей Алексеевич, канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории нейробиологии интегративных функций мозга Физиологического отдела им И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» (Россия, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6543-7495>

E-mail: apryatin@mail.ru

Тимонин Андрей Николаевич, канд. биол. наук, м.н.с. лаборатории иммунологии, ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-6087-6918>

E-mail: andrey8407@mail.ru

Шипелин Владимир Александрович, канд. мед. наук, с.н.с. лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий, ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-0015-8735>

E-mail: v.shipelin@yandex.ru

Гмошинский Иван Всеволодович, д-р биол. наук, в.н.с. лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий, ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-3671-6508>

E-mail: gmosh@ion.ru

Никитюк Дмитрий Борисович, д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, директор ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-4968-4517>

E-mail: nikitjuk@ion.ru

For citation: Trusov NV, Apryatin SA, Timonin AN, Shipelin VA, Gmoshinski IV, Nikityuk DB. Comparative evaluation of the effect of resveratrol and carnitine on the full transcriptomic profile of liver tissue in mice with different sensitivity to the development of alimentary obesity. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;54:83-115. doi: 10.17223/19988591/54/5 In Russian, English Summary

**Nikita V. Trusov¹, Sergey A. Apryatin², Andrej N. Timonin¹,
Vladimir A. Shipelin^{1,3}, Ivan V. Gmoshinski¹, Dmitriy B. Nikityuk^{1,4}**

¹ Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russian Federation

² Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

³ Plekhanov Russian University of Economics, Moscow, Russian Federation

⁴ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Comparative evaluation of the effect of resveratrol and carnitine on the full transcriptomic profile of liver tissue in mice with different sensitivity to the development of alimentary obesity

Specialized food products and biologically active food supplements enriched with minor biologically active substances are considered as a useful supplement in the treatment of obesity and other nutrition-dependent diseases. Biologically active substances of food can have a complex effect on the expression of a large number of genes, which can affect the results of a therapy. The aim of the study was to analyze the nutrigenomic mechanisms of the effect of biologically active substances - l-carnitine and resveratrol on the expression of liver genes of DBA/2J mice and DBCB tetrahybrid, differing in genotype and sensitivity to the development of diet-induced obesity, using the method of full transcriptomic profiling of liver tissue.

We carried out the experiment on male DBA/2J mice and the hybrid of the 2nd generation DBCB, obtained by crossing 4 lines of mice (DBA/2J, BALB/c, CBA/lac and C57Black/6J). Mice for the experiment were obtained from Stolbovaya nursery, Federal State Budgetary Scientific Institution Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical-Biological Agency (Moscow region, Russia). We worked with animals in accordance with international recommendations (Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes adopted on September 22, 2010; Guide for the care and use of laboratory animals. Eighth Edition / Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the National Academies. Washington: The National Academies Press. 2011). The mice were divided into four groups with an equal number of 8 individuals. During 65 days, animals of the 1st (control) groups received a balanced semi-synthetic diet and purified drinking water, the 2nd groups received a high-

carbohydrate and high-fat diet with a high fat content (30% by of dry matter of the diet) and replacing drinking water by 20% fructose solution, 3rd groups - high-carbohydrate and high-fat diet with the addition of resveratrol at a dose of 25 mg/kg body weight, 4th groups - high-carbohydrate and high-fat diet with the addition of l-carnitine at a dose of 300 mg/kg body weight. Full transcriptome analysis was performed using the Gene Expression Hybridization Kit (Agilent Technologies, USA) on SurePrint G3 Mouse GE 8×60K Microarray Kit microarrays. Differential gene expression was expressed as base 2 logarithm of increasing or decreasing fluorescence (\log_2FC) compared to control groups, separately for DBA/2J and DBCB mice. Chip scan data and calculation of differential expression values were exported to the “R” IDE and bioinformatics analysis was performed with quantile normalization and further analysis in the limma package. The packages AnnotationDbi, org.Rn.eg.db, pathview, gage, gageData were used to identify metabolic pathways among the genes, metabolic pathways and functions of biological systems presented in the international database Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes and to visualize them. To visualize the results at all stages, the standard “R” graphics and additional packages ggplot2, ggrepel, and gplots were used. Liver morphology was studied by light microscopy after staining with hematoxyline-eosine (See Fig. 1).

We revealed differential expression for at least one of the intergroup comparisons in the amount of $|\log_2FC| \geq 0.5$ (towards both enhancement and attenuation) and at a p -value ≤ 0.05 for 415 transcripts, of which 311 were identified with proteins or RNA with a known function (See Tables 1-3). Consumption of a high-carbohydrate and high-fat diet was reflected in differential expression of 62 genes in DBA/2J mice and 97 in DBCB mice. In DBA/2J mice fed on a high-carbohydrate and high-fat diet, supplementation with resveratrol and l-carnitine caused a differential expression of 26 genes each. At the same time, only 2 genes (*Pklr*, *Tkfc*) responded to resveratrol and l-carnitine in mice of this strain. In DBCB tetrahybrid mice, resveratrol consumption corresponded to differential expression of 147 genes, and l-carnitine consumption corresponded to 221 genes. 61 genes from DBCB mice responded to both supplements, and the number of genes simultaneously targeted by high-carbohydrate and high-fat diets, resveratrol and l-carnitine was 10 (See Fig. 2). The gene expression profiles in DBA/2J and DBCB mice formed two separate clusters, the differences within which, determined by the composition of the diets, were less significant than the interstrain differences (See Fig. 3). Differential expression values in DBCB and DBA mice responding to HFCD and both supplements correlated negatively (See Fig. 4). The consumption of a high-carbohydrate and high-fat diet in DBA/2J mice resulted in significant changes in 4 metabolic pathways, and in DBCB mice, in addition, in 5 more metabolic pathways. Resveratrol consumption did not cause significant changes in DBA/2J mice, and in tetrahybrid mice it affected mmu04512 ECM-receptor interaction. L-carnitine supplementation caused significant changes in mmu00830 Retinol metabolism only in DBCB mice (See Table 4). Consumption of a high-carbohydrate and high-fat diet produced similar changes in the mmu00830 Retinol metabolism pathway in both mice (See Fig. 5). In metabolic pathway mmu03320 PPAR signaling pathway DBA/2J and DBCB mice showed positive differential expression of the *PPAR γ* gene and negative *Scd1*. At the same time, only DBCB mice in this metabolic pathway are characterized by activation of the *RXR* gene expression and suppression of *FABP*, and the direction in changing *Cyp4a1* in both mice is opposite (See Fig. 6). Changes in the metabolic pathway mmu00590 Arachidonic acid metabolism characterized by the imbalance in the expression of *Cyp4a* and *Cyp2* isoforms, which are responsible for the synthesis of various hydroxy and epoxy derivatives of arachidonic acid, is characteristic only of DBCB mice (See Fig. 7). Thus, the experiments performed revealed both a certain similarity and differences in the response of the transcriptome of DBA/2J and

DBCB mice to the consumption of a high-carbohydrate and high-fat diet, resveratrol and L-carnitine. The mechanisms that determine the direction of changes induced in the transcriptome of mice (and in coupled phenotypic changes) are, apparently, in the intervention of the studied dietary factors in key metabolic pathways, such as the PPAR signaling pathway, the metabolism of retinoids and eicosanoids. The data obtained indicate the importance of an adequate choice of a *in vivo* model of obesity and metabolic syndrome in preclinical studies of biologically active substances, in diet therapy and the enrichment of specialized food products with them.

The paper contains 7 Figures, 4 Tables and 52 References.

Key words: transcriptome; gene expression; biologically active substances; mice; obesity.

Funding: This research was funded by the Russian Science Foundation (Grant No. 17-16-01043 “Search for effector units of metabolism regulated by alimentary factors in obesity for the development of innovative specialized food”).

The Authors declare no conflict of interest.

References

1. Tutelyan VA, Kiseleva TL, Kochetkova AA, Smirnova EA, Kiseleva MA, Sarkisyan VA. Promising source of micronutrients for specialized foods with modified carbohydrate profile: traditional medicine experience. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2016;84(4):46-60. In Russian
2. Tutelyan VA, Kochetkova AA, Sarkisyan VA. Foods for special dietary uses in the modern paradigm of the alimentary correction of the metabolome disorders. In: *FOODLIFE 2018. Plant genetic resources and healthy nutrition: the potential of grain crops. Conference Proceedings* (Saint Petersburg, Russia, 18-20 April, 2018). Loskutov IG and Krasil'nikov VN, editors. Saint Petersburg: Topprint Publ.; 2018. pp. 22. In Russian
3. Bojanowska E, Ciosek J. Can we selectively reduce appetite for energy-dense foods? An overview of pharmacological strategies for modification of food preference behavior. *Curr Neuropsychopharmacol*. 2016;14(22):118-142. doi: [10.2174/1570159x14666151109103147](https://doi.org/10.2174/1570159x14666151109103147)
4. Rauf A, Imran M, Suleria HAR, Ahmad B, Peters DG, Mubarak MS. A comprehensive review of the health perspectives of resveratrol. *Food Funct*. 2017;8(12):4284-4305. doi: [10.1039/c7fo01300k](https://doi.org/10.1039/c7fo01300k)
5. Repossi G, Das U, Eynard AR. Molecular basis of the beneficial actions of resveratrol. *Archives of Medical Research*. 2020;51(2):105-114. doi: [10.1016/j.arcmed.2020.01.010](https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.01.010)
6. Alam MdA, Kauter K, Withers K, Sernia C, Brown L. Chronic L-arginine treatment improves metabolic, cardiovascular and liver complications in diet-induced obesity in rats. *Food Funct*. 2013;4(1):83-91. doi: [10.1039/c2fo30096f](https://doi.org/10.1039/c2fo30096f)
7. Radzhabkadiev RM, Korosteleva MM, Evstratova VS, Nikityuk DB, Khanferyan RA. L-carnitine: properties and perspectives for use in sports practice. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2015;84(3):4-12. In Russian
8. Brass EP. Carnitine and sports medicine: use or abuse? *Ann NY Acad Sci*. 2004;1033(1):67-78. doi: [10.1196/annals.1320.006](https://doi.org/10.1196/annals.1320.006)
9. Povarova OV, Gorodetskaya EA, Kalenikova EI, Medvedev OS. Metabolic markers and oxidative stress in children's obesity pathogenesis. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2020;65(1):22-29. doi: [10.21508/1027-4065-2020-65-1-22-29](https://doi.org/10.21508/1027-4065-2020-65-1-22-29) In Russian
10. Christenson J, Whitby SJ, Mellor D, Thomas J, McKune A, Roach PD, Naumovski N. The effects of resveratrol supplementation in overweight and obese humans: a systematic review of randomized trials. *Metab Syndr Relat Disord*. 2016;14(7):323-333. doi: [10.1089/met.2016.0035](https://doi.org/10.1089/met.2016.0035)

11. Pooyandjoo M, Nouhi M, Shab-Bidar S, Djafarian K, Olyaeemanesh A. The effect of L-carnitine on weight loss in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Obes Rev*. 2016;17(10):970-976. doi: [10.1111/obr.12436](https://doi.org/10.1111/obr.12436)
12. Nadler ST, Stoehr JP, Schueler KL, Tanimoto G, Yandell BS, Attie AD. The expression of adipogenic genes is decreased in obesity and diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97(21):11371-11376. doi: [10.1073/pnas.97.21.11371](https://doi.org/10.1073/pnas.97.21.11371)
13. Apryatin SA, Shipelin VA, Trusov NV, Mzhelskaya KV, Evstratova VS, Kirbaeva NV, Soto JS, Fesenko ZS, Gainetdinov RR, Gmoshinski IV. Comparative analysis of the influence of a high-fat/high-carbohydrate diet on the level of anxiety and neuromotor and cognitive functions in Wistar and DAT-KO rats. *Physiol Rep*. 2019;7(4):e13987. doi: [10.14814/phy2.13987](https://doi.org/10.14814/phy2.13987)
14. Apryatin SA, Trusov NV, Gorbachev AYu, Naumov VA, Balakina AS, Mzhel'skaya KV, Gmoshinski IV. Comparative whole transcriptome profiling of liver tissue from Wistar rats fed with diets containing different amounts of fat, fructose, and cholesterol. *Biochemistry (Moscow)*. 2019;84:1093-1106. doi: [10.1134/S0006297919090128](https://doi.org/10.1134/S0006297919090128)
15. Apryatin SA, Trusov NV, Gorbachev AJ, Naumov VA, Mzhel'skaya KV, Balakina AS, Gmoshinski IV. Full transcriptome profiling of the liver of fat-, fructose and cholesterol-fed C57Black/6J Mice. *Russian J Genetics*. 2019;55(4):399-410. doi: [10.1134/S1022795419040021](https://doi.org/10.1134/S1022795419040021)
16. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Statist Soc B*. 1995;57:289-300. doi: [10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x](https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x)
17. Trusov NV, Mzhelskaya KV, Shipelin VA, Shumakova AA, Timonin AN, Riger NA, Aprjatin SA, Gmoshinski IV, Nikityuk DB. The Influence of L-Carnitine on the Immunological, Integral and Biochemical Parameters of Mice Receiving a Diet With Excess of Fat and Fructose. *Russian Journal of Physiology*. 2019;105(5):619-633. doi: [10.1134/S0869813919050121](https://doi.org/10.1134/S0869813919050121) In Russian, English Summary
18. Apryatin SA, Mzhel'skaya KV, Trusov NV, Balakina AS, Soto KhS, Beketova NA, Kosheleva OV, Gmoshinskiy IV, Nikityuk DB. Biochemical and morphological parameters of inbred/outbred lines and DBCB tetrahybrid mouse in high-sugar *In Vivo* model of metabolic syndrome]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018;166(7):107-113. doi: [10.1007/s10517-018-4296-2](https://doi.org/10.1007/s10517-018-4296-2)
19. *Informatsiya firmy Agilent* [Information from Agilent supplier]. Available at: https://www.agilent.com/en/product/gene-expression-microarray-platform/gene-expression-exon-microarrays/model-organism-microarrays/sureprint-g3-mouse-gene-expression-microarrays-228472#zoomELIBRARY_669002 (accessed: 05.09.2020).
20. Gao M, Ma Y, Liu D. High-fat diet-induced adiposity, adipose inflammation, hepatic steatosis and hyperinsulinemia in outbred CD-1 mice. *PLoS ONE*. 2015;10(3):e0119784. doi: [10.1371/journal.pone.0119784](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119784)
21. Sato M, Kawakami T, Kondoh M, Takiguchi M, Kadota Y, Himeno S, Suzuki S. Development of high-fat-diet-induced obesity in female metallothionein-null mice. *FASEB J*. 2010;24(7):2375-2384. doi: [10.1096/fj.09-145466](https://doi.org/10.1096/fj.09-145466)
22. Dos Santos Rocha PB, de Castro Amorim A, de Sousa AF, do Monte SJ, da Mata Sousa LC, do Nascimento Nogueira N, Neto JM, do Nascimento Marreiro D. Expression of the zinc transporters genes and metallothionein in obese women. *Biol Trace Elem Res*. 2011;143(2):603-611. doi: [10.1007/s12011-010-8887-7](https://doi.org/10.1007/s12011-010-8887-7)
23. Ma S, Rubin BP. Apoptosis-associated tyrosine kinase 1 inhibits growth and migration and promotes apoptosis in melanoma. *Lab Invest*. 2014;94(4):430-438. doi: [10.1038/labinvest.2014.13](https://doi.org/10.1038/labinvest.2014.13)
24. Xin Y, Li C, Guo Y, Xiao R, Zhang H, Zhou G. RNA-Seq analysis reveals a negative role of MSMO1 with a synergized NSDHL expression during adipogenesis of 3T3-L1. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2019;83(4):641-652. doi: [10.1080/09168451.2018.1559719](https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1559719)

25. Burhans MS, Flowers MT, Harrington KR, Bond LM, Guo CA, Anderson RM, Ntambi JM. Hepatic oleate regulates adipose tissue lipogenesis and fatty acid oxidation. *J Lipid Res.* 2015;56(2):304-318. doi: [10.1194/jlr.M054429](https://doi.org/10.1194/jlr.M054429)
26. Hall JM, Powell HR, Rajic L, Korach KS. The role of dietary phytoestrogens and the nuclear receptor PPAR γ in adipogenesis: an in vitro study. *Environ Health Perspect.* 2019;127(3):37007. doi: [10.1289/EHP3444](https://doi.org/10.1289/EHP3444)
27. Welch RD, Billon C, Kameric A, Burris TP, Flaveny CA. Rev-erba heterozygosity produces a dose-dependent phenotypic advantage in mice. *PLoS One.* 2020;15(5):e0227720. doi: [10.1371/journal.pone.0227720](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227720)
28. Napolitano A, van der Veen AG, Bunyan M, Borg A, Frith D, Howell S, Kjaer S, Beling A, Snijders AP, Knobloch KP, Frickel EM. Cysteine-reactive free ISG15 generates IL-1 β -producing CD8 α + dendritic cells at the site of infection. *J Immunol.* 2018;201(2):604-614. doi: [10.4049/jimmunol.1701322](https://doi.org/10.4049/jimmunol.1701322)
29. Xu Y, Knipp GT, Cook TJ. Expression of CYP4A isoforms in developing rat placental tissue and rat trophoblastic cell models. *Placenta.* 2005;26(2-3):218-225. doi: [10.1016/j.placenta.2004.05.006](https://doi.org/10.1016/j.placenta.2004.05.006)
30. Kocarek TA, Duanmu Z, Fang HL, Runge-Morris M. Age- and sex-dependent expression of multiple murine hepatic hydroxysteroid sulfotransferase (SULT2A) genes. *Biochem Pharmacol.* 2008;76(8):1036-1046. doi: [10.1016/j.bcp.2008.07.032](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.07.032)
31. van Tienen FHJ, Laeremans H, van der Kallen CJH, Smeets HJM. Wnt5b stimulates adipogenesis by activating PPAR γ , and inhibiting the beta-catenin dependent Wnt signaling pathway together with Wnt5a. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;387(1):207-211. doi: [10.1016/j.bbrc.2009.07.004](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.07.004)
32. Fidaleo M, Arnauld S, Clémencet MC, Chevillard G, Royer MC, De Bruycker M, Wanders RJA, Athias A, Gresti J, Clouet P, Degrace P, Kersten S, Espeel M, Latruffe N, Nicolas-Francès V, Mandard S. A role for the peroxisomal 3-ketoacyl-CoA thiolase B enzyme in the control of PPAR α -mediated upregulation of SREBP-2 target genes in the liver. *Biochimie.* 2011;93(5):876-891. doi: [10.1016/j.biochi.2011.02.001](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2011.02.001)
33. Tsuchida T, Fukuda S, Aoyama H, Taniuchi N, Ishihara T, Ohashi N, Sato H, Wakimoto K, Shiotani M, Oku A. MGAT2 deficiency ameliorates high-fat diet-induced obesity and insulin resistance by inhibiting intestinal fat absorption in mice. *Lipids Health Dis.* 2012;11:75. doi: [10.1186/1476-511X-11-75](https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-75)
34. Ham M, Sik SC, Shin KC, Choi G, Kim JW, Noh JR, Kim YH, Ryu JW, Yoon KH, Lee CH, Kim JB. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency improves insulin resistance with reduced adipose tissue inflammation in obesity. *Diabetes.* 2016;65(9):2624-2638. doi: [10.2337/db16-0060](https://doi.org/10.2337/db16-0060)
35. Keiran N, Ceperuelo-Mallafre V, Calvo E, Hernández-Alvarez MI, Ejarque M, Núñez-Roa C, Horrillo D, Maymó-Masip E, Rodríguez MM, Fradera R, de la Rosa JV, Jorba R, Megia A, Zorzano A, Medina-Gómez G, SerenaC, Castrillo A, Vendrell J, Fernández-Veledo S. SUCNR1 controls an anti-inflammatory program in macrophages to regulate the metabolic response to obesity. *Nat Immunol.* 2019;20(5):581-592. doi: [10.1038/s41590-019-0372-7](https://doi.org/10.1038/s41590-019-0372-7)
36. Hughes MF, Edwards BC, Herbin-Davis KM, Saunders J, Styblo M, Thomas DJ. Arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase genotype affects steady-state distribution and clearance of arsenic in arsenate-treated mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2010;249(3):217-223. doi: [10.1016/j.taap.2010.09.017](https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.09.017)
37. Imaoka S, Wedlund PJ, Ogawa H, Kimura S, Gonzalez FJ, Kim HY. Identification of CYP2C23 expressed in rat kidney as an arachidonic acid epoxygenase. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993;267(2):1012-1016.
38. Peng Y, Rideout D, Rakita S, Lee J, Murr M. Diet-induced obesity associated with steatosis, oxidative stress, and inflammation in liver. *Surg Obes Relat Dis.* 2012;8(1):73-81. doi: [10.1016/j.soard.2011.07.019](https://doi.org/10.1016/j.soard.2011.07.019)

39. Katsuoka F, Motohashi H, Ishii T, Aburatani H, Engel JD, Masayuki Y. Genetic evidence that small maf proteins are essential for the activation of antioxidant response element-dependent genes. *Mol Cell Biol.* 2005;25(18):8044-8051. doi: [10.1128/MCB.25.18.8044-8051.2005](https://doi.org/10.1128/MCB.25.18.8044-8051.2005)
40. Xia Chang, Razavi M, Rao X, Braunstein Z, Mao H, Toomey AC, Wang Y, Simon DI, Zhao S, Rajagopalan S, Zhong J. MRP14 enhances the ability of macrophage to recruit T cells and promotes obesity-induced insulin resistance. *Int J Obes(Lond).* 2019;43(12):2434-2447. doi: [10.1038/s41366-019-0366-4](https://doi.org/10.1038/s41366-019-0366-4)
41. Pei H, Yao Y, Yang Y, Liao K, Wu JR. Krüppel-like factor KLF9 regulates PPAR γ transactivation at the middle stage of adipogenesis. *Cell Death Differ.* 2011;18(2):315-327. doi: [10.1038/cdd.2010.100](https://doi.org/10.1038/cdd.2010.100)
42. Nahon JE, Hoekstra M, van Harmelen V, Rensen PCN, van Dijk WK, Kooijman S, Van Eck M. Proteoglycan 4 deficiency protects against glucose intolerance and fatty liver disease in diet-induced obese mice. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2019;1865(2):494-501. doi: [10.1016/j.bbadis.2018.11.009](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.11.009)
43. Degenhardt T, Matilainen M, Herzig KH, Dunlop TW, Carlberg C. The insulin-like growth factor-binding protein 1 gene is a primary target of peroxisome proliferator-activated receptors. *J Biol Chem.* 2006;281(51):39607-39619. doi: [10.1074/jbc.M605623200](https://doi.org/10.1074/jbc.M605623200)
44. Trusov NV, Apryatin SA, Shipelin VA, Gmshinskiy IV. Full transcriptome analysis of gene expression in liver of mice in a comparative study of quercetin efficiency on two obesity models. *Problems of Endocrinology.* 2020;66(5):31-47. doi: [10.14341/probl12561](https://doi.org/10.14341/probl12561)
In Russian
45. Jiang X, Zhang D, Shi J, Chen Y, Zhang P, Mei B. Increased inflammatory response both in brain and in periphery in presenilin 1 and presenilin 2 conditional double knock-out mice. *J Alzheimers Dis.* 2009;18(3):515-523. doi: [10.3233/JAD-2009-1164](https://doi.org/10.3233/JAD-2009-1164)
46. Schneider MR, Kolligs FT. E-cadherin's role in development, tissue homeostasis and disease: insights from mouse models: tissue-specific inactivation of the adhesion protein E-cadherin in mice reveals its functions in health and disease. *Bioessays.* 2015;37(3):294-304. doi: [10.1002/bies.201400141](https://doi.org/10.1002/bies.201400141)
47. Potikha T, Ella E, Cerliani JP, Mizrahi L, Pappo O, Rabinovich GA, Galun E, Goldenberg DS. Galectin-1 is essential for efficient liver regeneration following hepatectomy. *Oncotarget.* 2016;7(22):31738-31754. doi: [10.18632/oncotarget.9194](https://doi.org/10.18632/oncotarget.9194)
48. Jiang ZJ, Shen QH, Chen HY, Yang Z, Shuai MQ, Zheng SS. Galectin-1 gene silencing inhibits the activation and proliferation but induces the apoptosis of hepatic stellate cells from mice with liver fibrosis. *Int J Mol Med.* 2019;43(1):103-116. doi: [10.3892/ijmm.2018.3950](https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3950)
49. Kim GY, Lee YM, Cho JH, Pan CJ, Jun HS, Springer DA, Mansfield BC, Chou JY. Mice expressing reduced levels of hepatic glucose-6-phosphatase- α activity do not develop age-related insulin resistance or obesity. *Hum Mol Genet.* 2015;24(18):5115-5125. doi: [10.1093/hmg/ddv230](https://doi.org/10.1093/hmg/ddv230)
50. Plutzky J, Kelly DP. The PPAR-RXR transcriptional complex in the vasculature: energy in the balance. *Circ Res.* 2011;108(8):1002-1016. doi: [10.1161/CIRCRESAHA.110.226860](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.226860)
51. Trusov NV, Apryatin SA, Gorbachev AYu, Naumov VA, Mzhel'skaya KV, Gmshinskiy IV. The effect of hypercaloric diet and Quercetin on the full-transcriptome liver tissue profile of Zucker-LEPR^{fa} rats. *Problems of Endocrinology.* 2018;64(6):371-382. doi: [10.14341/probl9936](https://doi.org/10.14341/probl9936)
In Russian, English Summary
52. Das UN. Bioactive lipids in age-related disorders. In: *Reviews on New Drug Targets in Age-Related Disorders. Advances in Experimental Medicine and Biology.* Guest P, editor. Cham: Springer; 2020. Vol. 1260. 340 p. doi: [10.1007/978-3-030-42667-5_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-42667-5_3)

Author info:

Trusov Nikita V, Researcher, Laboratory of Enzymology of Nutrition, Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-1919-9297>

E-mail: nikkitosu@yandex.ru

Apryatin Sergey A, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Neurobiology of Integrative Brain Functions, Physiological Department, Institute of Experimental Medicine, 12 Acad. Pavlov Str., St. Petersburg 197376, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6543-7495>

E-mail: apryatin@mail.ru

Timonin Andrej N, Cand. Sci. (Biol.), Junior Researcher, Laboratory of Immunology, Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-6087-6918>

E-mail: andrey8407@mail.ru

Shipelin Vladimir A, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Nutritional Toxicology and Assessment of Safety of Nanotechnology, Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-0015-8735>

E-mail: v.shipelin@yandex.ru

Gmoshinski Ivan V, Dr. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Nutritional Toxicology and Assessment of Safety of Nanotechnology, Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-3671-6508>

E-mail: gmosh@ion.ru

Nikityuk Dmitriy B, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-4968-4517>

E-mail: nikitjuk@ion.ru

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.1

doi: 10.17223/19988591/54/6

А.И. Кокорев¹, Ю.Е. Колупаев^{1,2}, М.А. Шкляревский¹, А.А. Луговая¹

¹ Харьковский национальный аграрный университет
им. В.В. Докучаева, г. Харьков, Украина

² Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, г. Харьков, Украина

Влияние кадаверина на редокс-гомеостаз корней проростков пшеницы и их устойчивость к повреждающему нагреву

Исследовано влияние диамина кадаверина в концентрациях 0,05–2,5 мМ на теплоустойчивость проростков пшеницы. Установлено, что предварительная обработка кадаверином повышала выживание проростков после повреждающего нагрева (45 °С, 10 мин). Наиболее заметное защитное действие кадаверина наблюдалось в концентрации 1 мМ. Под влиянием обработки кадаверином происходило транзитное увеличение содержания пероксида водорода в корнях с максимальным эффектом через 2 ч после ее начала. Обработка проростков антиоксидантом диметилтиомочевиной (DMTU) и ингибитором диаминооксидазы аминоксантином устраняла вызываемые кадаверином эффекты увеличения содержания пероксида водорода в корнях и повышения теплоустойчивости. В то же время под влиянием ингибитора НАДФН-оксидазы имидазола вызываемое кадаверином повышение содержания пероксида водорода в корнях не устранялось. Через 4–24 ч после начала воздействия кадаверина наблюдалось повышение активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (SOD), каталазы и гваяколпероксидазы. Антиоксидант DMTU снимал эффект повышения активности каталазы и гваяколпероксидазы в корнях, вызываемый экзогенным кадаверином. В то же время увеличение активности SOD не устранялось действием DMTU и ингибиторов ферментов, генерирующих активные формы кислорода (ROS). Сделано заключение, что повышение теплоустойчивости проростков пшеницы экзогенным кадаверином, по крайней мере отчасти, связано с образованием ROS при его окислении. Предполагается, что модификация ферментативной антиоксидантной системы под действием кадаверина происходит за счет механизмов как зависимых, так и не зависимых от образования ROS.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*; кадаверин; пероксид водорода; диаминооксидаза; антиоксидантная система; теплоустойчивость

Сокращения [Abbreviations]: DMTU – диметилтиомочевина [Dimethylthiourea]; ROS – активные формы кислорода [Reactive oxygen species]; SOD – супероксиддисмутаза [Superoxide dismutase]; LPO – перекисное окисление липидов [Lipid peroxidation].

Для цитирования: Кокорев А.И., Колупаев Ю.Е., Шкляревский М.А., Луговая А.А. Влияние кадаверина на редокс-гомеостаз корней проростков пшеницы и их устойчивость к повреждающему нагреву // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. №. 54. С. 116–137. doi: 10.17223/19988591/54/6

Введение

Полиамины – метаболиты растений, задействованные во многих процессах в физиологически нормальных и особенно стрессовых условиях [1, 2]. Предполагается, что при действии на растения неблагоприятных факторов они могут способствовать поддержанию структуры биомакромолекул и мембран, а также участвовать в клеточном сигналинге [2, 3]. Имеются данные о повышении устойчивости растений к абиотическим стресс-факторам различной природы под влиянием экзогенных полиаминов [4–6].

Диамин кадаверин – малоизученный растительный полиамин [7]. Он образуется из лизина путем пиридоксальфосфат-зависимого декарбоксилирования, катализируемого лизиндекарбоксилазой [8]. Кадаверин обнаружен в различных органах растений разных таксономических групп [7]. Однако его абсолютное содержание у растений обычно ниже по сравнению с количеством других полиаминов [9]. Показано повышение содержания кадаверина в листьях растений фасоли [10] и корнях хрустальной травки (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) [11] при действии высоких температур. В органах хрустальной травки также зарегистрировано накопление кадаверина при продолжительном действии солевого стресса [12].

Данные о влиянии экзогенного кадаверина на устойчивость растений к стрессорам и функционирование их протекторных систем очень малочисленны. Обнаружено усиление прорастания семян редиса при 38 °С в присутствии 10 мкМ кадаверина [13]. Показано, что в присутствии NaCl и соли свинца под влиянием 1 мМ кадаверина усиливался рост проростков рапса, увеличивалось содержание в них каротиноидов и повышалась активность нитратредуктазы [14].

Связь физиологических эффектов кадаверина с образованием сигнальных посредников, в частности активных форм кислорода (ROS), остается малоизученной. Обнаружено, что экспозиция корневой системы хрустальной травки в среде с добавлением кадаверина индуцировала интенсивную экспрессию гена, кодирующего цитоплазматическую изоформу супероксиддисмутазы (Cu/Zn-SOD). Этот эффект не устранялся действием ингибитора диаминооксидазы аминоксидина, что дало основание авторам предполагать возможность прямого (без участия сигнальных посредников) влияния кадаверина на экспрессию отдельных генов SOD [15]. Однако специальных исследований роли ROS в проявлении влияния кадаверина на стрессоустойчивость растений до сих пор не проводилось.

Цель работы – изучение возможного протекторного влияния кадаверина на проростки пшеницы при тепловом стрессе и его связи с образованием и обезвреживанием ROS.

Материалы и методики исследования

В работе использованы этиолированные проростки мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Досконала. Семена репродукции 2019 г. любезно предоставлены сотрудниками Института растениеводства им. В.Я. Юрьева НААН Украины (г. Харьков, Украина). Зерновки, поверхностно обеззараженные в 6%-ном растворе пероксида водорода, проращивали при температуре 20–22 °С на водопроводной воде, очищенной с использованием системы водоподготовки, включающей в себя фильтр механической очистки, угольный фильтр и полупроницаемую обратноосмотическую мембрану с размером ячеек 1 нм. На третьи сутки проращивания в среду добавляли кадаверин в диапазоне концентраций от 0,05 до 2,5 мМ и выдерживали проростки на его растворе в течение одних суток, проростки контрольного варианта продолжали инкубировать на очищенной водопроводной воде.

В отдельных вариантах опыта проростки в течение 26 ч обрабатывали скавенджером пероксида водорода диметилтиомочевиной (DMTU) – 150 мкМ [16], ингибитором диаминоксидазы аминоксидином (1 мМ) [17] или ингибитором НАДФН-оксидазы имидазолом (10 мкМ) [18]. В вариантах по изучению комбинированного действия кадаверина, DMTU и ингибиторов диаминоксидазы и НАДФН-оксидазы последние вносили в среду инкубации проростков за 2 ч до начала 24-часового воздействия кадаверина. Таким образом, общее время инкубации проростков в присутствии DMTU, аминоксидина и имидазола в этих вариантах составляло также 26 ч. Концентрации указанных соединений, существенно модифицирующие эффекты экзогенного кадаверина, но не вызывающие визуально видимых токсических эффектов, выбирали в предварительных опытах.

Для биохимических анализов использовали корни проростков, поскольку они более чувствительны к воздействиям экзогенных соединений и гипертермии [19].

Содержание пероксида водорода определяли с помощью ферротрионального метода, экстрагируя пероксид водорода из растительного материала на леду 5% трихлоруксусной кислотой (ТХУ) [20]. Содержание H_2O_2 выражали в нмоль/г сырой массы.

Для анализа количества продуктов перекисного окисления липидов (LPO), реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой, корни гомогенизировали в реакционной среде, содержащей 0,25%-ную 2-тиобарбитуровую кислоту в 10%-ной ТХУ, гомогенат помещали в кипящую баню на 30 мин. Затем пробы охлаждали и центрифугировали 15 мин при 10000 g на центрифуге MPW 350R («MPW MedInstruments», Польша). Оптическую плотность надосадочной жидкости определяли на спектрофотометре СФ-46 («ЛМО», Россия) при 532 нм (максимум светопоглощения малонового диальдегида) и 600 нм (для поправки на неспецифическое светопоглощение) [21].

При определении активности антиоксидантных ферментов – SOD, каталазы и гваяколпероксидазы – навески корней гомогенизировали на холоде в 0,15 М К, Na-фосфатном буфере (рН 7,6), содержащем ЭДТА (0,1 мМ) и дитиотрейтол (1 мМ) [22]. Гомогенат сразу использовали для анализа. Активность ферментов определяли в супернатанте после центрифугирования гомогената при 8000 g в течение 10 мин при 4 °С. Содержание воды в корнях проростков разных вариантов в период отбора проб для биохимических анализов существенно не изменялось, в связи с этим изучаемые показатели рассчитывали на грамм сырой массы.

Активность SOD (КФ 1.15.1.1) определяли при рН 7,6 [23], используя метод, основанный на способности фермента конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные анионы, образующиеся вследствие аэробного взаимодействия НАДН и феназинметосульфата; оптическую плотность определяли при 540 нм. Активность SOD выражали в усл. ед./г сырой массы × мин).

Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) анализировали при рН 7,0 [23] по количеству пероксида водорода, разложившегося за единицу времени, и выражали в ммоль H_2O_2 /г сырой массы × мин).

Активность гваяколпероксидазы (КФ 1.11.1.7) определяли с использованием гваякола в качестве донора водорода и пероксида водорода в качестве субстрата. Предварительно рН реакционной смеси доводили до 6,2 с помощью К,Na-фосфатного буфера [23]. Оптическую плотность тетрагваякола определяли при 470 нм. Активность фермента выражали в ммоль тетрагваякола/г сырой массы × мин).

Для определения теплоустойчивости проростков их подвергали повреждающему нагреву в водяном ультратермостате при температуре $45,0 \pm 0,1$ °С в течение 10 мин. После этого проростки всех вариантов переносили на очищенную водопроводную воду. Через 3 суток (после четкой визуализации повреждений) оценивали относительное количество выживших проростков. К живым относили проростки, не имевшие существенных некрозов и сохранившие способность к росту [19].

Эксперименты проведены в 5-кратной биологической повторности. На рисунках приведены средние величины и их стандартные ошибки ($M \pm m_M$). Статистическую значимость различий определяли с использованием *t*-критерия Стьюдента. Кроме специально оговоренных случаев, обсуждаются эффекты, значимые при $p < 0,05$.

Результаты исследования

В первой серии экспериментов изучена концентрационная зависимость влияния кадаверина на теплоустойчивость проростков пшеницы. Инкубация в присутствии кадаверина повышала устойчивость проростков к повреждающему нагреву (рис. 1). Значимый защитный эффект наблюдали при его действии в концентрациях диапазона 0,5–2,5 мМ. Наибольшее относи-

тельное количество выживших проростков отмечено в варианте с обработкой 1 мМ кадаверином. Именно в этой концентрации кадаверин использовали для изучения возможной связи между изменениями редокс-гомеостаза и проявлением его стресс-протекторного действия.

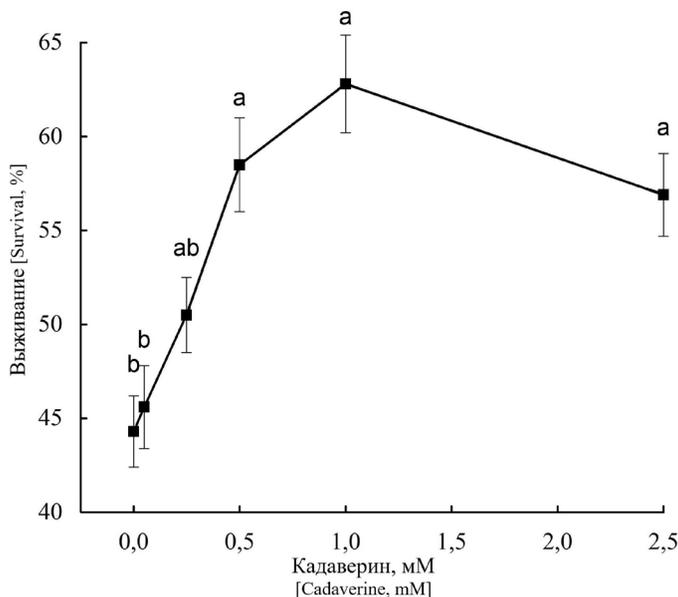


Рис. 1. Концентрационная зависимость влияния кадаверина на выживание (%) проростков пшеницы через 3 суток после 10-минутного прогрева при 45 °С ($M \pm m_M$).

Разными латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически значимы ($p < 0,05$)

[Fig. 1. Concentration dependence of cadaverine effect on wheat seedling survival (%) 3 days after damaging heating (10 min at 45 °C) ($M \pm m_M$).

Different Latin letters denote values, the differences between which are statistically significant ($p < 0,05$)]

Обработка кадаверином вызывала повышение содержания пероксида водорода в корнях (рис. 2). Заметный эффект наблюдался через 1–4 ч после ее начала с максимумом через 2 ч. Увеличение содержания пероксида водорода носило транзиторный характер и через 24 ч инкубации отмечалось даже некоторое снижение количества H_2O_2 в корнях опытного варианта.

Предварительная обработка проростков скаведжером пероксида водорода DMGTU снимала проявление эффекта повышения содержания H_2O_2 в корнях, вызываемое 2-часовым воздействием кадаверина (рис. 3). Этот эффект также полностью устранялся действием ингибитора диаминооксидазы амингуанидином и почти не изменялся в присутствии ингибитора НАДФН-оксидазы имидазола. Таким образом, данные ингибиторного анализа указывают на зависимость вызываемого кадаверином эффекта повышения содержания пероксида водорода в клетках корней в первую очередь от активности диаминооксидазы.

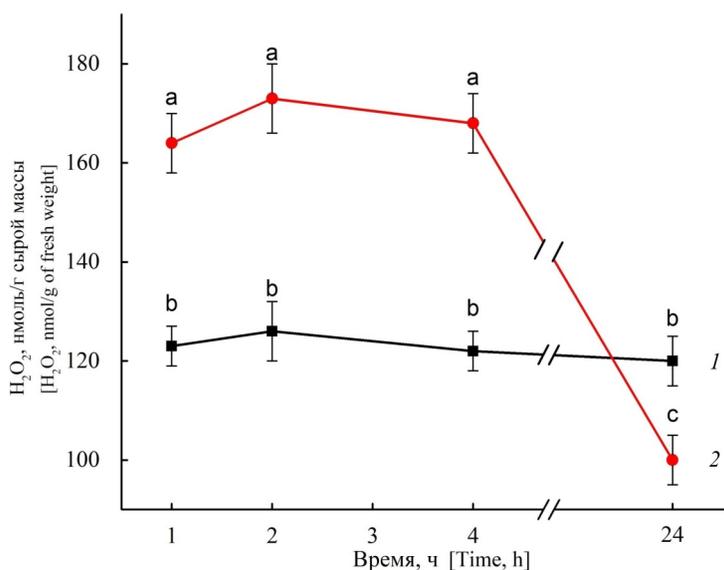


Рис. 2. Динамика содержания пероксида водорода в корнях проростков пшеницы при действии кадаверина ($M \pm m_M$): 1 – контроль; 2 – кадаверин. Разными латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически значимы ($p < 0,05$)

[Fig. 2. Dynamics of the hydrogen peroxide content in roots of wheat seedlings under the action of cadaverine ($M \pm m_M$): 1 - Control; 2 - Cadaverine (1 mM).

Different Latin letters denote values, the differences between which are statistically significant ($p < 0.05$)]

Для выяснения значения ROS в индуцировании кадаверином теплоустойчивости проростков оценивали влияние DMTU, аминугуанидина и имидазола на проявление его протекторных эффектов. Через сутки после повреждающего прогрева в корнях проростков отмечалось повышение содержания продуктов LPO (рис. 4, a). Обработка кадаверином заметно уменьшала проявление окислительного стресса. DMTU слабо влияла на содержание продуктов LPO в корнях, но при этом в значительной степени нивелировала защитный эффект кадаверина. При обработке аминугуанидином содержание продуктов LPO в корнях проростков почти не изменялось, но этот ингибитор диаминооксидазы снимал вызываемый действием кадаверина эффект уменьшения их накопления после теплового стресса. В корнях проростков, обработанных ингибитором НАДФН-оксидазы имидазолом, содержание продуктов LPO не изменялось, не влиял имидазол и на проявление эффекта кадаверина на их содержание в корнях.

Данные по влиянию исследуемых соединений на выживание проростков после повреждающего нагрева согласуются с их эффектами на показатель окислительного стресса. Сами по себе DMTU, аминугуанидин и имидазол не оказывали влияния на выживание проростков после теплового стресса (рис. 4, b). При этом DMTU и аминугуанидин полностью устраняли защитный эффект кадаверина. В присутствии имидазола стресс-протекторное действие диамина немного снизилось.

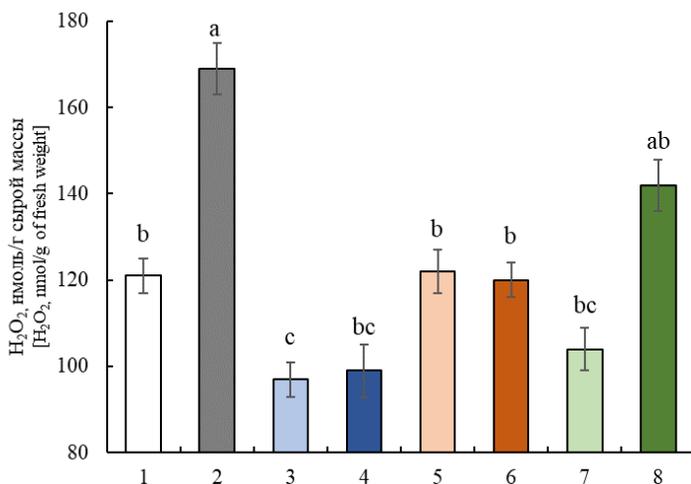


Рис. 3. Содержание пероксида водорода в корнях проростков пшеницы при действии кадаверина, DMTU, аминокуанидина и имидазола ($M \pm m_M$). 1 – контроль; 2 – кадаверин (1 мМ); 3 – DMTU (150 мкМ); 4 – кадаверин (1 мМ) + DMTU (150 мкМ); 5 – аминокуанидин (1 мМ); 6 – кадаверин (1 мМ) + аминокуанидин (1 мМ); 7 – имидазол (10 мкМ); 8 – кадаверин (1 мМ) + имидазол (10 мкМ).

Обработку корней кадаверином проводили в течение 2 ч, DMTU и ингибиторы ферментов добавляли в среду инкубации корней за 2 ч до внесения кадаверина.

Разными латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически значимы ($p < 0,05$)

[Fig. 3. Hydrogen peroxide content in roots of wheat seedlings under the action of cadaverine, DMTU, aminoguanidine and imidazole ($M \pm m_M$).

1 - Control; 2 - Cadaverine (1 mM); 3 - DMTU (150 μM); 4 - Cadaverine (1 mM) + DMTU (150 μM); 5 - Aminoguanidine (1 mM); 6 - Cadaverine (1 mM) + Aminoguanidine (1 mM); 7 - Imidazole (10 μM); 8 - Cadaverine (1 mM) + Imidazole (10 μM). The roots were treated with cadaverine for 2 h; DMTU and enzyme inhibitors were added to the incubation medium of roots 2 h before adding cadaverine.

Different Latin letters denote values, the differences between which are statistically significant ($p < 0.05$)

Уменьшение проявления окислительного стресса (накопления продуктов LPO, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой) после прогрева в корнях проростков под влиянием кадаверина указывает на возможность активации антиоксидантной системы. И действительно, обработка кадаверином вызывала постепенное повышение активности SOD, каталазы и гваяколпероксидазы (рис. 5). При этом максимальный эффект проявлялся через 24 ч после начала воздействия кадаверина. После повреждающего нагрева активность SOD и гваяколпероксидазы изменялась незначительно, а активность каталазы снижалась. Обработка кадаверином способствовала сохранению активности SOD и каталазы в постстрессовый период, однако не влияла на активность гваяколпероксидазы (см. рис. 5).

Для выяснения роли пероксида водорода и ферментативных систем, причастных к его генерации, в вызываемом кадаверином повышении активности SOD, каталазы и гваяколпероксидазы исследовали влияние DMTU, аминокуанидина и имидазола на активность этих ферментов после 24-часовой экспозиции в присутствии кадаверина.

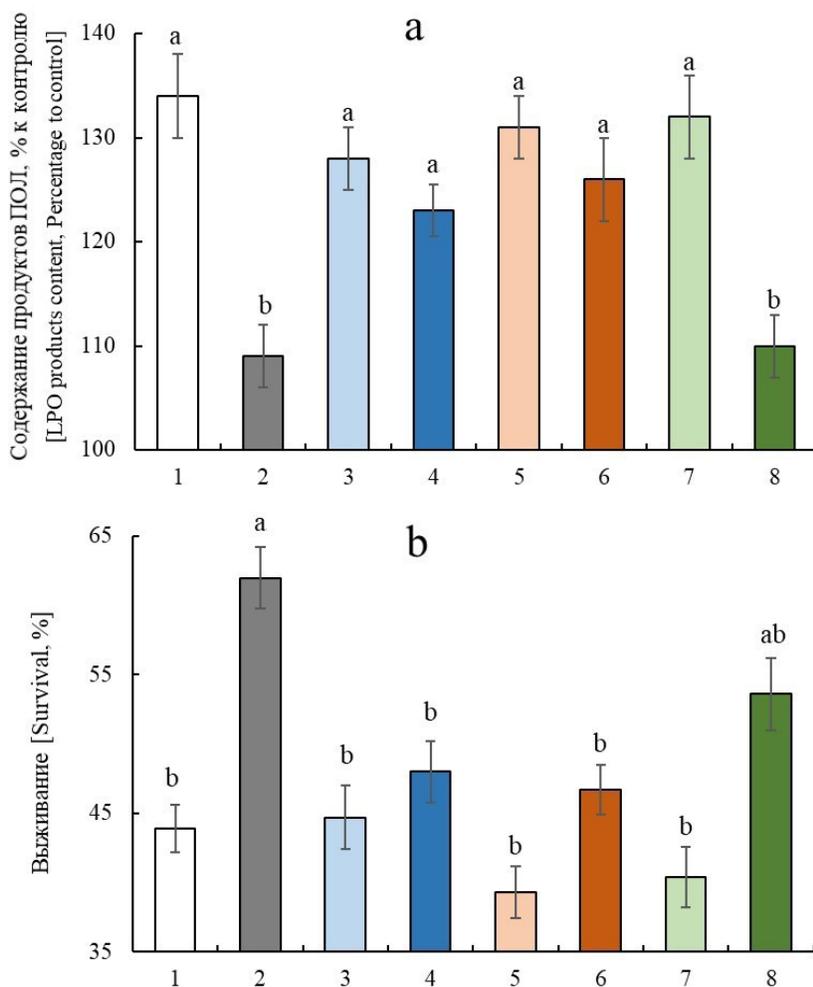


Рис. 4. Содержание в корнях продуктов LPO (а) и выживание проростков пшеницы (б) после повреждающего прогрева ($M \pm m_M$).

1 – контроль; 2 – кадаверин (1 мМ); 3 – DMTU (150 мкМ); 4 – кадаверин (1 мМ) + DMTU (150 мкМ); 5 – аминогуанидин (1 мМ); 6 – кадаверин (1 мМ) + аминогуанидин (1 мМ); 7 – имидазол (10 мкМ); 8 – кадаверин (1 мМ) + имидазол (10 мкМ). Содержание продуктов LPO определяли через 24 ч, выживание проростков – через 3 суток после повреждающего прогрева.

Разными латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически значимы ($p < 0,05$)

[Fig. 4. LPO products content in roots (a) and survival of wheat seedlings (b) after damaging heating ($M \pm m_M$): 1 - Control; 2 - Cadaverine (1 mM); 3 - DMTU (150 μM); 4 - Cadaverine (1 mM) + DMTU (150 μM); 5 - Aminoguanidine (1 mM); 6 - Cadaverine (1 mM) + Aminoguanidine (1 mM); 7 - Imidazole (10 μM); 8 - Cadaverine (1 mM) + Imidazole (10 μM).

The content of LPO products was determined after 24 h, the survival of seedlings was determined 3 days after damaging heating.

Different Latin letters denote values, the differences between which are statistically significant ($p < 0.05$)

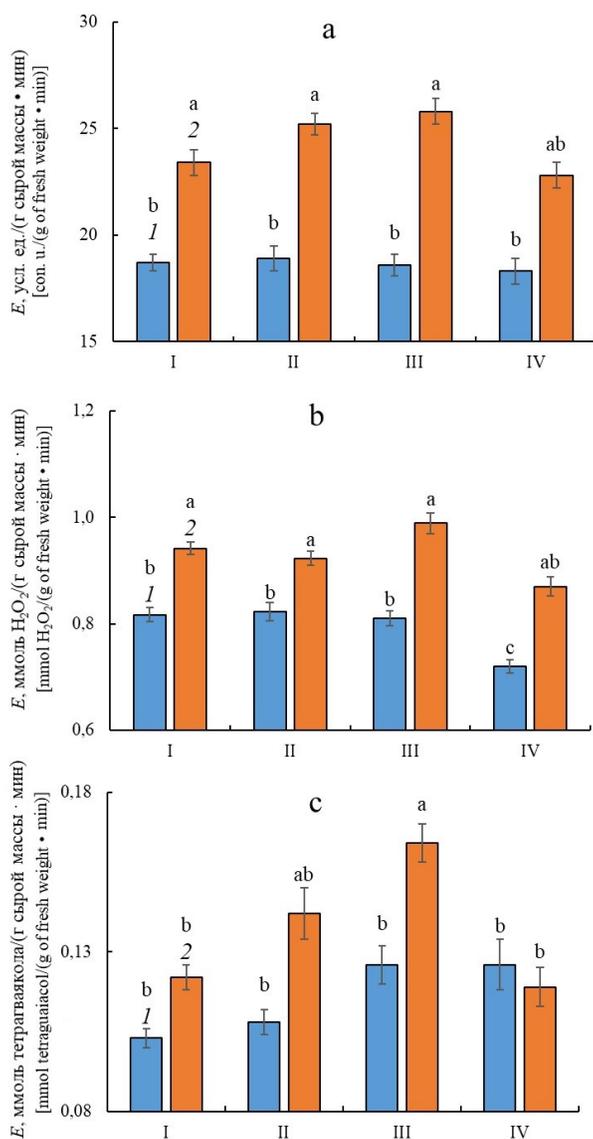


Рис. 5. Динамика активности SOD (a) и каталазы (b) и гваяколпероксидазы (c) в корнях проростков пшеницы при действии кадаверина и повреждающего прогрева ($M \pm m_M$).

I–III – соответственно: через 2, 4 и 24 ч после начала обработки кадаверином, IV – через 24 ч после прогрева при 45 °С. 1 – контроль; 2 – кадаверин (1 mM).

Разными латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически значимы ($p < 0,05$)

[Fig. 5. Dynamics of SOD (a), catalase (b) and guaiacol peroxidase (c) activity in roots of wheat seedlings under the action of cadaverine and damaging heating.

I-III - respectively: 2, 4 and 24 h after the start of treatment with cadaverine,

IV - 24 h after warming up at 45 °С. 1 - Control; 2 - Cadaverine (1 mM).

Different Latin letters denote values, the differences between which are statistically significant ($p < 0.05$)]

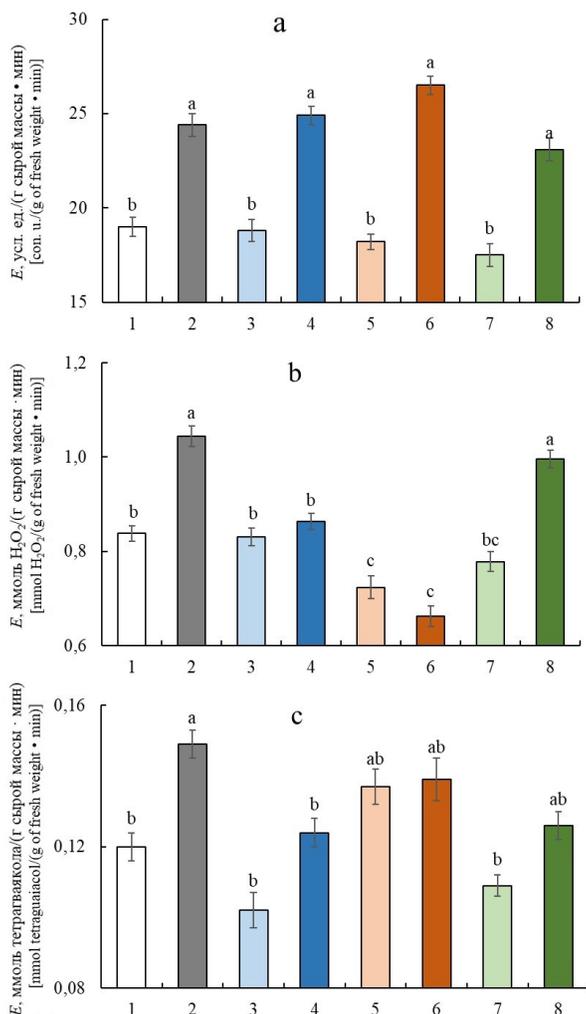


Рис. 6. Активность SOD (а), каталазы (b) и гваяколпероксидазы (с) в корнях проростков пшеницы при обработке кадаверином, DMTU, аминогуанидином и имидазолом ($M \pm m_n$).

1 – контроль; 2 – кадаверин (1 мМ); 3 – DMTU (150 мкМ); 4 – кадаверин (1 мМ) + DMTU (150 мкМ); 5 – аминогуанидин (1 мМ); 6 – кадаверин (1 мМ) + аминогуанидин (1 мМ); 7 – имидазол (10 мкМ); 8 – кадаверин (1 мМ) + имидазол (10 мкМ).

Обработку корней кадаверином проводили в течение 24 ч, DMTU и ингибиторы ферментов добавляли в среду инкубации корней за 2 ч до внесения кадаверина.

Разными латинскими буквами обозначены величины, различия между которыми статистически значимы ($p < 0,05$)

[Fig. 6. Activity of SOD (a), catalase (b), and guaiacol peroxidase (c) in roots of wheat seedlings when treating with cadaverine, DMTU, aminoguanidine and imidazole ($M \pm m_n$).

1 - Control; 2 - Cadaverine (1 mM); 3 - DMTU (150 μM); 4 - Cadaverine (1 mM) + DMTU (150 μM); 5 - Aminoguanidine (1 mM); 6 - Cadaverine (1 mM) + Aminoguanidine (1 mM); 7 - Imidazole (10 μM); 8 - Cadaverine (1 mM) + Imidazole (10 μM).

The roots were treated with cadaverine for 24 h; DMTM and enzyme inhibitors were added to the root incubation environment 2 h before the addition of cadaverine.

Different Latin letters denote values, the differences between which are statistically significant ($p < 0.05$)

Предварительная обработка DMTU не влияла на активность SOD и не устраняла ее повышение, вызываемое кадаверином (рис. 6, *a*). Ингибитор диаминооксидазы амингуанидин сам по себе не оказывал влияния на активность SOD в корнях и не препятствовал ее повышению в присутствии кадаверина. Ингибитор НАДФН-оксидазы также существенно не влиял на величину активности SOD и ее изменение под влиянием кадаверина.

Иные эффекты отмечались при оценке влияния исследуемых ингибиторов на активность каталазы в корнях проростков, обработанных кадаверином (рис. 6, *b*). DMTU не оказывал влияния на активность фермента, но устранял ее повышение, вызываемое кадаверином. Обработка амингуанидином сама по себе немного снижала активность каталазы и полностью устраняла эффект ее увеличения в присутствии кадаверина. В то же время в варианте с имидазолом активность фермента уменьшалась незначительно, при этом ингибитор НАДФН-оксидазы практически не препятствовал эффекту повышения активности каталазы под влиянием кадаверина.

Скавенджер пероксида водорода DMTU не оказывал существенного влияния на активность гваяколпероксидазы в корнях, но при этом нивелировал ее повышение, вызываемое кадаверином (рис. 6, *c*). Обработка амингуанидином сама по себе вызывала некоторое повышение активности гваяколпероксидазы. В варианте с комбинацией кадаверина и амингуанидина активность фермента немного ниже, чем в варианте с одним кадаверином, однако это различие статистически не значимо ($p < 0,05$). Имидазол не влиял на активность гваяколпероксидазы, но немного снижал эффект ее повышения, вызываемый кадаверином.

Обсуждение результатов исследования

В настоящей работе показано повышение теплоустойчивости проростков пшеницы под влиянием экзогенного кадаверина (см. рис. 1). Такой эффект кадаверина оказался зависимым от образования ROS и устранялся действием антиоксиданта DMTU (см. рис. 4). Основным ферментом, генерирующим пероксид водорода при обработке проростков кадаверином, по-видимому, является диаминооксидаза. На это указывает устранение вызываемого кадаверином повышения содержания пероксида водорода в корнях обработкой ингибитором диаминооксидазы амингуанидином (см. рис. 3). Кроме того, в присутствии амингуанидина не проявлялось влияние кадаверина на интегральные показатели – эффект окислительного стресса и выживание проростков после повреждающего нагрева (см. рис. 4).

Другим мощным ферментативным источником ROS в растительных клетках может быть НАДФН-оксидаза [24]. Имеются данные, указывающие на возможность повышения ее активности под влиянием полиаминов, в частности диамина путресцина [25]. Однако влияние кадаверина на образование пероксида водорода не устранялось ингибитором НАДФН-оксидазы

имидазолом (см. рис. 3). Этот ингибитор практически не влиял и на проявление стресс-протекторных эффектов кадаверина (см. рис. 4).

Полученные результаты дают основания полагать наличие в реализации эффектов кадаверина механизмов, как связанных, так и не связанных с его превращением диаминоксидазой и образованием пероксида водорода. Так, повышение активности SOD, вызываемое кадаверином, не устранялось антиоксидантом DMTU и ингибиторами ферментов, генерирующих ROS (аминогуанидином и имидазолом) (см. рис. 6, а). Как уже отмечалось, в работе [15] показано, что эффект индуцирования кадаверином экспрессии гена Cu/Zn-SOD в клетках корней *M. crystallinum* почти полностью сохранялся в присутствии аминогуанидина. При этом экзогенный пероксид водорода значительно слабее по сравнению с кадаверином влиял на экспрессию гена Cu/Zn-SOD. С учетом этих фактов авторы предположили, что кадаверин может непосредственно влиять на экспрессию гена Cu/Zn-SOD в корнях хрустальной травки. Таким образом, можно говорить о сходстве механизмов влияния кадаверина на активность SOD у двух таксономически отдаленных видов – *M. crystallinum* и *T. aestivum*. Следует, однако, отметить, что в наших экспериментах не анализировались экспрессия генов различных молекулярных форм SOD и электрофоретический спектр белков, обладающих каталитической активностью SOD. Как известно, среди форм SOD у большинства растений обычно доминируют Cu/Zn-содержащие изоформы, однако часть ферментативной активности связана и с наличием содержащихся в клеточных компартментах Fe- и Mn-SOD [26]. В связи с этим можно лишь предполагать, что кадаверин способен повышать активность каких-либо форм SOD и/или экспрессию соответствующих генов, действуя без участия пероксида водорода. Кроме того, нельзя полностью исключить, что зафиксированное нами повышение активности SOD под влиянием кадаверина могло быть обусловлено возможным усилением генерации супероксидного анион-радикала. Однако такая причина повышения активности SOD под влиянием кадаверина представляется маловероятной, поскольку этот эффект не устранялся имидазолом – ингибитором НАДФН-оксидазы, которая считается одним из основных ферментов, генерирующих супероксидный анион-радикал [24].

Что касается других исследованных нами антиоксидантных ферментов – каталазы и гваяколпероксидазы, то вызываемые кадаверином модификации их активности, по-видимому, опосредованы пероксидом водорода. Так, повышение активности каталазы под влиянием кадаверина не происходило в присутствии скавенджера H_2O_2 , DMTU и ингибитора диаминоксидазы аминогуанидина (см. рис. 6, б). В то же время ингибитор НАДФН-оксидазы имидазол не устранял такой эффект кадаверина. Можно полагать, что повышение активности каталазы является следствием увеличения содержания пероксида водорода, происходящего в результате окисления кадаверина диаминоксидазой. Следует отметить, что у *M. crystallinum* вызываемое кадаверином повышение содержания пероксида водорода и активности каталазы в

корнях также подавлялось аминогуанидином [17]. Также не исключено, что еще одной причиной повышения содержания пероксида водорода в корнях при действии кадаверина может быть увеличение активности SOD.

Повышение активности гваяколпероксидазы в корнях проростков пшеницы, которое происходило при обработке кадаверином, также устранялось действием DMTU (см. рис. 6, с). Участие диаминоксидазы в этом процессе доказать оказалось сложно вследствие хотя и небольшого, но повышения активности гваяколпероксидазы под влиянием ингибитора диаминоксидазы аминогуанидина. В культуре тканей побегов тополя также показано некоторое увеличение активности этого фермента при внесении в среду аминогуанидина [27]. Примечательно, что у растений *M. crystallinum* вызываемое кадаверином повышение активности пероксидазы устранялось аминогуанидином [28]. Возможно, что этот ингибитор диаминоксидазы оказывает неспецифическое влияние на активность пероксидазы, проявление которого может зависеть от видовых особенностей растений. Еще одной сложностью интерпретации эффектов аминогуанидина является его способность ингибировать образование оксида азота [29], который, наряду с пероксидом водорода, является активным модификатором антиоксидантных ферментов [30].

В целом в связи с наличием функциональных связей ROS с другими посредниками можно предположить, что некоторые физиологические эффекты ди- и полиаминов могут быть обусловлены образованием не только ROS, но и оксида азота (NO). Так, при действии путресцина на проростки пшеницы увеличивалось содержание NO в корнях, а его скавенджер РТЮ (2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide) в значительной степени угнетал развитие теплоустойчивости проростков пшеницы, индуцируемое этим диамином [31]. Возможную роль NO в реализации эффектов кадаверина еще предстоит исследовать. Еще одним сигнальным посредником, задействованным в реализации кадаверина, как и других полиаминов, может быть кальций, который относится к универсальным мессенджерам. Его выход в апопласт зарегистрирован под влиянием путресцина в корнях гороха [32]. Также показана способность полиаминов вытеснять кальций из комплексов с пектиновыми веществами клеточных стенок [33]. Есть сведения и о прямом влиянии содержащегося в апопласте спермина на состояние катионных каналов растительных клеток [34]. В наших экспериментах показана зависимость от кальциевого гомеостаза образования ROS в корнях проростков пшеницы при действии путресцина [35]. В то же время нам не известны специальные исследования влияния кадаверина на кальциевый гомеостаз растительных клеток.

Безусловно, что обсуждаемые механизмы не исключают и возможности прямого влияния кадаверина на биомакромолекулы и, как следствие, на функционирование отдельных белков и экспрессию генов. Как уже отмечалось, в работе Е.Е. Ароновой и соавт. [15] показана возможность независимого от ROS влияния кадаверина на экспрессию гена цитозольной

Cu/Zn-SOD у хрустальной травки. В нашей работе установлено повышение экзогенным кадаверином активности SOD в корнях пшеницы в присутствии ингибитора диаминооксидазы амингуанидина и скавенджера пероксида водорода DMTU (см. рис. 6, *a*), что также косвенно указывает на возможность реализации эффектов кадаверина без участия ROS, образующихся при его окислении диаминооксидазой. Кроме того, одна из составляющих стресс-протекторного действия полиаминов, в том числе и кадаверина, может заключаться в прямых антиоксидантных эффектах. В частности, сообщается о его способности ингибировать окислительную дегградацию ДНК [36]. В целом же, полученные экспериментальные данные показывают важную роль сигнальных путей, в которых задействованы ROS, в реализации протекторного действия кадаверина на проростки пшеницы при тепловом стрессе.

Ранее на такой же модели мы изучали влияние путресцина на редокс-гомеостаз и устойчивость проростков пшеницы к гипертермии [26]. Полученные результаты позволяют говорить о значительном сходстве эффектов экзогенных кадаверина и путресцина. Обработка проростков этими диаминами повышала их теплоустойчивость. В обоих случаях под влиянием диаминов происходило повышение активности антиоксидантных ферментов (SOD, каталазы и гваяколпероксидазы). Влияние обоих соединений на теплоустойчивость практически не проявлялось в присутствии скавенджера пероксида водорода DMTU. Однако при действии путресцина эффекты усиления образования ROS, увеличения активности антиоксидантных ферментов и повышения теплоустойчивости проростков устранялись не только DMTU и ингибитором диаминооксидазы амингуанидином, но и ингибитором НАДФН-оксидазы имидазолом. Повышение активности НАДФН-оксидазы у растений арабидопсиса зафиксировано и под влиянием экзогенного спермидина [37]. Не исключено, что вклад ROS, образуемых разными ферментативными системами при действии полиаминов, может зависеть от природы последних.

Обсуждая стресс-протекторное действие кадаверина, зафиксированное в нашей работе, следует отметить, что его специфичность требует специальных исследований, поскольку при его метаболизации могут образовываться другие соединения с физиологической активностью, в частности путресцин [38], что создает серьезные трудности в изучении его «самостоятельных» стресс-протекторных эффектов [39].

Заключение

Показан эффект повышения теплоустойчивости проростков пшеницы экзогенным диамином кадаверином. Важной составляющей его стресс-протекторного действия, по-видимому, является активация ферментативной антиоксидантной системы. При этом в качестве одного из сигнальных посредников, задействованных в реализации защитного действия кадаверина, выступает пероксид водорода, который образуется при окислении кадаве-

рина диаминоксидазой. Об участии диаминоксидазы и ROS в проявлении эффектов кадаверина свидетельствует устранение его влияния на теплоустойчивость проростков пшеницы и активность каталазы и гваяколпероксидазы скавенджером H_2O_2 DMTU и отчасти ингибитором диаминоксидазы аминогуанидином. Наряду с этим, модификация кадаверином активности SOD в корнях проростков пшеницы, по-видимому, может происходить без участия ROS, образующихся под действием диаминоксидазы, поскольку не устраняется антиоксидантом DMTU и ингибитором диаминоксидазы аминогуанидином.

Литература

1. Takahashi T., Kakehi J. Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses // *Annals of Botany*. 2010. Vol. 105, № 1. PP. 1–6. doi: [10.1093/aob/mcp259](https://doi.org/10.1093/aob/mcp259)
2. Pal M., Szalai G., Janda T. Speculation: Polyamines are important in abiotic stress signaling // *Plant Science*. 2015. Vol. 237. PP. 16–23. doi: [10.1016/j.plantsci.2015.05.003](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.05.003)
3. Pang X.M., Zhang Z.Y., Wen X.P., Ban Y., Moriguchi T. Polyamines, all-purpose players in response to environment stresses in plants // *Plant Stress*. 2007. Vol. 1, № 2. PP. 173–188.
4. Nayyar H., Chander S. Protective effects of polyamines against oxidative stress induced by water and cold stress in chickpea // *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2004. Vol. 190, № 5. PP. 355–365. doi: [10.1111/j.1439-037X.2004.00106.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2004.00106.x)
5. Gill S.S., Tuteja N. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants // *Plant Signaling Behavior*. 2010. Vol. 5, № 1. PP. 26–33. doi: [10.4161/psb.5.1.10291](https://doi.org/10.4161/psb.5.1.10291)
6. Mostofa M.G., Yoshida N., Fujita M. Spermidine pretreatment enhances heat tolerance in rice seedlings through modulating antioxidative and glyoxalase systems // *Plant Growth Regulation*. 2014. Vol. 73, № 1. PP. 31–44. doi: [10.1007/s10725-013-9865-9](https://doi.org/10.1007/s10725-013-9865-9)
7. Rajpal C., Tomar P.C. Cadaverine: A potent modulator of plants against abiotic stresses // *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2020. Vol. 10, № 2. PP. 205–210. doi: [10.15414/jmbfs.2020.10.2.205-210](https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.10.2.205-210)
8. Кузнецов Вл.В., Радюкина Н.Л., Шевякова Н.И. Полиамины при стрессе: биологическая роль, метаболизм и регуляция // *Физиология растений*. 2006. Т. 53, № 5. С. 658–683.
9. Sharma L., Priya M., Kaushal N., Bhandhari K., Chaudhary S., Dhankher O.P., Prasad P.V.V., Siddique K.H.M., Nayyar H. Plant growth-regulating molecules as thermoprotectants: functional relevance and prospects for improving heat tolerance in food crops // *Journal of Experimental Botany*. 2020. Vol. 71, № 2. PP. 569–594. doi: [10.1093/jxb/erz333](https://doi.org/10.1093/jxb/erz333)
10. Edreva A., Yordanov I., Kardjjeva R., Gesheva E. Heat shock responses of bean plants: involvement of free radicals, antioxidants and free radical/active oxygen scavenging systems // *Biologia Plantarum*. 1998. Vol. 41, № 2. PP. 185–191. doi: [10.1023/A:1001846009471](https://doi.org/10.1023/A:1001846009471)
11. Shevyakova N.I., Rakitin V.Yu., Duong D.B., Sadomov N.G., Kuznetsov V.I. Heat shock-induced cadaverine accumulation and translocation throughout the plant // *Plant Science*. 2001. Vol. 161, № 6. PP. 1125–1133. doi: [10.1016/S0168-9452\(01\)00515-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00515-5)
12. Парамонова Н.В., Шевякова Н.И., Шорина М.В., Стеценко Л.А., Ракитин В.Ю., Кузнецов Вл.В. Влияние путресцина на ультраструктуру апопласта мезофилла листьев *Mesembryanthemum crystallinum* при засолении // *Физиология растений*. 2003. Т. 50, № 5. С. 661–674.
13. Cavusoglu K., Kabar K. Comparative effects of some plant growth regulators on the germination of barley and radish seeds under high temperature stress // *EurAsian Journal of BioSciences*. 2007. Vol. 1, № 1. PP. 1–10.

14. Tomar P.C., Lakra N., Narayan M.S. Effect of cadaverine on *Brassica juncea* (L.) under multiple stress // *Indian Journal of Experimental Biology*. 2013. Vol. 51, № 9. PP. 758–763.
15. Аронова Е.Е., Шевякова Н.И., Стаценко Л.А., Кузнецов Вл.В. Индукция кадаверином экспрессии гена супероксиддисмутазы у растений *Mesembryanthemum crystallinum* L. // Докл. АН. 2005. Т. 403, № 1. С. 131–134.
16. Sung M., Hsu Yi., Hsu Yu. Hypersalinity and hydrogen peroxide upregulation of gene expression of antioxidant enzymes in *Ulva fasciata* against oxidative stress // *Marine Biotechnology*. 2009. Vol. 11, № 2. PP. 199–209. doi: [10.1007/s10126-008-9134-5](https://doi.org/10.1007/s10126-008-9134-5)
17. Shevyakova N.I., Rakitin V.Yu., Stetsenko L.A., Aronova E.E., Kuznetsov V.I. Oxidative stress and fluctuations of free and conjugated polyamines in the halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* L. under NaCl salinity // *Plant Growth Regulation*. 2006. Vol. 50, № 1. PP. 69–78. doi: [10.1007/PL00021848](https://doi.org/10.1007/PL00021848)
18. Hung K.T., Hsu Y.T., Kao C.H. Hydrogen peroxide is involved in methyl jasmonate induced senescence of rice leaves // *Physiologia Plantarum*. 2006. Vol. 127, № 2. PP. 293–303. doi: [10.1111/j.1399-3054.2006.00662.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00662.x)
19. Колупаев Ю.Е., Обозный А.И., Швиденко Н.В. Роль пероксида водорода в формировании сигнала, индуцирующего развитие теплоустойчивости проростков пшеницы // Физиология растений. 2013. Т. 60, № 2. С. 221–229. doi: [10.7868/S0015330313020127](https://doi.org/10.7868/S0015330313020127)
20. Sagisaka S. The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gelrica* // *Plant Physiology*. 1976. Vol. 57, № 2. PP. 308–309. doi: [10.1104/pp.57.2.308](https://doi.org/10.1104/pp.57.2.308)
21. Фазлиева Э.Р., Киселева И.С., Жуйкова Т.В. Антиоксидантная активность листьев *Melilotus albus* и *Trifolium medium* из техногенно нарушенных местообитаний Среднего Урала при действии меди // Физиология растений. 2012. Т. 59, № 3. С. 369–375.
22. Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Обозный А.И., Рябчун Н.И., Кириченко В.В. Конститутивная и индуцированная холодом устойчивость проростков ржи и пшеницы к агентам окислительного стресса // Физиология растений. 2016. Т. 63, №3. С. 346–357. doi: [10.7868/S0015330316030064](https://doi.org/10.7868/S0015330316030064)
23. Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Обозный А.И. Влияние модификации NO-статуса, закаливающего прогрева и пероксида водорода на активность антиоксидантных ферментов в проростках пшеницы // Физиология растений. 2015. Т. 62, № 3. С. 317–323. doi: [10.7868/S0015330315030094](https://doi.org/10.7868/S0015330315030094)
24. Kohli S.K., Handa N., Gautam V., Bali S., Sharma A., Khanna K., Arora S., Thukral K.A., Ohri P., Karpets Y., Kolupaev Y., Bhardwaj R. ROS signaling in plants under heavy metal stress // *Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation under Abiotic Stress*, eds. Khan M.I.R., Khan N.A. Singapore : Springer Nature, 2017. PP. 185–214. doi: [10.1007/978-981-10-5254-5_8](https://doi.org/10.1007/978-981-10-5254-5_8)
25. Колупаев Ю.Е., Kokorev A.I., Yastreb T.O., Horielova E.I. Hydrogen peroxide as a signal mediator at inducing heat resistance in wheat seedlings by putrescine // *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2019. Vol. 91, № 6. PP. 103–111. doi: [10.15407/ubj91.06.103](https://doi.org/10.15407/ubj91.06.103)
26. Иванов Ю.В., Савочкин Ю.В. Изоферментный состав супероксиддисмутаз семян сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) при хроническом действии ионов цинка // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. № 2 (22). С. 150–159. doi: [10.17223/19988591/22/12](https://doi.org/10.17223/19988591/22/12)
27. Hausman J.F., Kevers C., Gaspari T. Putrescine control of peroxidase activity in the inductive phase of rooting in poplar shoots *in vitro*, and the adversary effect of spermidine // *Journal of Plant Physiology*. 1995. Vol. 146, № 5–6. PP. 681–685. doi: [10.1016/S0176-1617\(11\)81933-4](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81933-4)
28. Kuznetsov V.I., Shorina M., Aronova E., Stetsenko L., Rakitin V., Shevyakova N. NaCl- and ethylene-dependent cadaverine accumulation and its possible protective role in the

- adaptation of the common ice plant to salt stress // *Plant Science*. 2007. Vol. 172, № 2. PP. 363–370. doi: [10.1016/j.plantsci.2006.09.01](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.09.01)
29. Glyan'ko A.K. Initiation of nitric oxide (NO) synthesis in roots of etiolated seedlings of pea (*Pisum sativum* L.) under the influence of nitrogen-containing compounds // *Biochemistry (Moscow)*. 2013. Vol. 78, № 5. PP. 471–476. doi: [10.1134/S0006297913050052](https://doi.org/10.1134/S0006297913050052)
 30. Arora D., Jain P., Singh N., Kaur H., Bhatla S.C. Mechanisms of nitric oxide crosstalk with reactive oxygen species scavenging enzymes during abiotic stress tolerance in plants // *Free Radical Research*. 2016. Vol. 50, № 3. PP. 291–303. doi: [10.3109/10715762.2015.1118473](https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1118473)
 31. Колупаев Ю.Е., Кокорев А.И., Шкляревский М.А., Луговая А.А., Карлец Ю.В., Иванченко О.Е. Роль модификации синтеза NO в реализации защитного действия путресцина на проростки пшеницы при тепловом стрессе // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2021. Т. 57, № 3. С. 282–290. doi: [10.31857/S0555109921030065](https://doi.org/10.31857/S0555109921030065)
 32. Pottosin I., Velarde-Buendía A.M., Bose J., Fuglsang A.T., Shabala S. Polyamines cause plasma membrane depolarization, activate Ca²⁺, and modulate H⁺-ATPase pump activity in pea roots // *Journal of Experimental Botany*. 2014. Vol. 65, № 9. PP. 2463–2472. doi: [10.1093/jxb/eru133](https://doi.org/10.1093/jxb/eru133)
 33. Messiaen J., Van Cutsem P. Polyamines and pectins. II. Modulation of pectic-signal transduction // *Planta*. 1999. Vol. 208. PP. 247–256. doi: [10.1007/s004250050556](https://doi.org/10.1007/s004250050556)
 34. Kusano T., Berberich T., Tateda C., Takahashi Y. Polyamines: essential factors for growth and survival // *Planta*. 2008. Vol. 228. PP. 367–381. doi: [10.1007/s00425-008-0772-7](https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7)
 35. Колупаев Ю.Е., Кокорев А.И., Шкляревский М.А. Кальцийзависимое изменение активности антиоксидантных ферментов и теплоустойчивости проростков пшеницы под влиянием экзогенного путресцина // *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2020. № 51. С. 105–122. doi: [10.17223/19988591/51/6](https://doi.org/10.17223/19988591/51/6)
 36. Saxena S.C., Kaur H., Verma P., Petla B.P., Andugula V.R., Majee M. Osmoprotectants: Potential for crop improvement under adverse conditions // *Plant Acclimation to Environmental Stress*, eds. Tuteja N., Gill S.S. New York: Springer Science+Business Media, 2013. PP. 197–231. doi: [10.1007/978-1-4614-5001-6_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5001-6_9)
 37. Andronis E.A., Moschou P.N., Toumi I., Roubelakis-Angelakis K.A. Peroxisomal polyamine oxidase and NADPH-oxidase cross-talk for ROS homeostasis which affects respiration rate in *Arabidopsis thaliana* // *Frontiers in Plant Science*. 2014. Vol. 5. Art. 132. doi: [10.3389/fpls.2014.00132](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00132)
 38. Liu T., Dobashi H., Kim D.W., Sagor G.H.M., Niitsu M., Berberich T., Kusano T. *Arabidopsis* mutant plants with diverse defects in polyamine metabolism show unequal sensitivity to exogenous cadaverine probably based on their spermine content // *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2014. Vol. 20. PP. 151–159. doi: [10.1007/s12298-014-0227-5](https://doi.org/10.1007/s12298-014-0227-5)
 39. Jancewicz A.L., Gibbs N.M., Masson P.H. Cadaverine's functional role in plant development and environmental response // *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 7. Art. 870. doi: [10.3389/fpls.2016.00870](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00870)

Поступила в редакцию 28.12.2021 г.; повторно 18.03.2021 г.;
принята 27.05.2021 г.; опубликована 29.06.2021 г.

Авторский коллектив:

Кокорев Александр Игоревич, аспирант кафедры ботаники и физиологии растений, факультет защиты растений, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева (Украина, 62483, г. Харьков, п/о Докучаевское-2).

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Колупаев Юрий Евгеньевич, д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой ботаники и физиологии растений, факультет защиты растений, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева (Украина, 62483, г. Харьков, п/о Докучаевское-2); профессор кафедры физио-

логии и биохимии растений и микроорганизмов, биологический факультет, Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина (Украина, 61002, г. Харьков, пл. Свободы, 4).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-7151-906X>

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Шкляревский Максим Анатольевич, ассистент кафедры лесоводства, факультет лесного хозяйства, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева (Украина, 62483, г. Харьков, п/о Докучаевское-2).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0001-7781-4481>

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Луговая Анна Арнольдовна, канд. биол. наук, доцент кафедры ботаники и физиологии растений, факультет защиты растений Харьковского национального аграрного университета им. В.В. Докучаева (Украина, 62483, г. Харьков, п/о Докучаевское-2).

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

For citation: Kokorev AI, Kolupaev YE, Shkliarevskiy MA, Lugovaya AA. The effect of cadaverine on redox homeostasis of wheat seedling roots and their resistance to damage heating. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;54:116-137. doi: 10.17223/19988591/53/6 In Russian, English Summary

**Alexandr I. Kokorev¹, Yuriy E. Kolupaev^{1,2},
Maxim A. Shkliarevskiy¹, Anna A. Lugovaya¹**

¹ Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, Kharkiv, Ukraine

² Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

The effect of cadaverine on redox homeostasis of wheat seedling roots and their resistance to damage heating

Polyamines are plant metabolites involved in many processes under physiologically normal and stressful conditions. Cadaverine is one of the least studied plant polyamines. The relationship between its physiological effects and the formation of signaling mediators, in particular, reactive oxygen species (ROS), has hardly been specially studied. The aim of this work was to study the possible protective effect of cadaverine on wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings under heat stress and its relationship with the formation and detoxification of ROS by antioxidant enzymes. Etiolated seedlings of soft winter wheat variety Doskonala were used in the work. We treated three-day-old seedlings with cadaverine at concentrations ranging from 0.05 to 2.5 mM by adding it to the root incubation medium. In some variants of the experiment, we treated seedlings with a hydrogen peroxide scavenger dimethylthiourea (DMTU - 150 μ M), a diamine oxidase inhibitor aminoguanidine (1 mM) or an inhibitor NADPH oxidase imidazole (10 μ M), as well as the indicated inhibitors in combination with cadaverine. The hydrogen peroxide content and the activity of antioxidant enzymes were determined in the roots of seedlings a certain time after treatment with the studied compounds. One day after the treatment of seedlings with cadaverine, ROS antagonists, and a combination of effectors, the seedlings were subjected to damaging heating in a water thermostat (10 min at 45 °C). 24 h after heating, we assessed the content of the products of lipid peroxidation (LPO) in the roots and, after 3 days, the survival of seedlings.

Incubation in the presence of cadaverine increased the resistance of seedlings to damaging heat (See Fig. 1). The highest relative number of surviving seedlings was observed in the variant with 1 mM cadaverine treatment. Under the effect of cadaverine, the content of hydrogen peroxide in the roots increased (See Fig. 2). We observed a noticeable effect 1-4 h after the start of treatment, with a maximum after 2 h. Treatment of seedlings with a scavenger of hydrogen peroxide DMTU removed the manifestation

of the effect of an increase in the content of H_2O_2 in the roots caused by the action of cadaverine (See Fig. 3). This effect was also completely eliminated by the diamine oxidase inhibitor aminoguanidine and was almost unchanged in the presence of the NADPH oxidase inhibitor imidazole. The effect of heat stress on seedlings caused an increase in the content of the LPO products in them. Treatment with cadaverine markedly reduced this manifestation of oxidative stress. The antioxidant DMTU and the diamine oxidase inhibitor aminoguanidine largely neutralized the protective effect of cadaverine (See Fig. 4a). At the same time, the NADPH oxidase inhibitor imidazole had almost no effect on the manifestation of the effect of cadaverine on the LPO products content in roots. Under the influence of DMTU and aminoguanidine, but not imidazole, the positive effect of cadaverine on the survival of seedlings after damaging heating was also leveled out (See Fig. 4b). The treatment of seedlings with cadaverine caused a change in the activity of antioxidant enzymes in the roots (superoxide dismutase - SOD, catalase, and guaiacol peroxidase) (See Fig. 5). DMTU and aminoguanidine neutralized the effect of cadaverine-induced increase in the activity of catalase and guaiacol peroxidase, but had almost no effect on the increase in SOD activity in roots induced by this diamine (See Fig. 6). The NADPH oxidase inhibitor imidazole did not significantly affect the manifestation of the effect of increasing the activity of antioxidant enzymes when seedlings are treated with cadaverine.

We can conclude that one of the signaling mediators involved in the regulation activity of catalase and guaiacol peroxidase and in the induction of heat resistance of wheat seedlings by exogenous cadaverine is hydrogen peroxide, which is formed during the oxidation of cadaverine by diamine oxidase. At the same time, the modification of SOD activity in the roots of wheat seedlings with cadaverine, apparently, can occur without the participation of ROS.

The paper contains 6 Figures and 39 References.

Key words: *Triticum aestivum*; cadaverine; hydrogen peroxide; diamine oxidase; antioxidant system; heat resistance.

The Authors declare no conflict of interest.

References

1. Takahashi T, Kakehi J. Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses. *Annals of Botany*. 2010;105(1):1-6. doi: [10.1093/aob/mcp259](https://doi.org/10.1093/aob/mcp259)
2. Pal M, Szalai G, Janda T. Speculation: Polyamines are important in abiotic stress signaling. *Plant Science*. 2015;237:16-23. doi: [10.1016/j.plantsci.2015.05.003](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.05.003)
3. Pang XM, Zhang ZY, Wen XP, Ban Y, Moriguchi T. Polyamines, all-purpose players in response to environment stresses in plants. *Plant Stress*. 2007;1(2):173-188.
4. Nayyar H, Chander S. Protective effects of polyamines against oxidative stress induced by water and cold stress in chickpea. *J Agronomy and Crop Science*. 2004;190(5):355-365. doi: [10.1111/j.1439-037X.2004.00106.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2004.00106.x)
5. Gill SS, Tuteja N. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signaling Behavior*. 2010;5(1):26-33. doi: [10.4161/psb.5.1.10291](https://doi.org/10.4161/psb.5.1.10291)
6. Mostofa MG, Yoshida N, Fujita M. Spermidine pretreatment enhances heat tolerance in rice seedlings through modulating antioxidative and glyoxalase systems. *Plant Growth Regulation*. 2014;73(1):31-44. doi: [10.1007/s10725-013-9865-9](https://doi.org/10.1007/s10725-013-9865-9)
7. Rajpal C, Tomar PC. Cadaverine: A potent modulator of plants against abiotic stresses. *J Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2020;10(2):205-210. doi: [10.15414/jmbfs.2020.10.2.205-210](https://doi.org/10.15414/jmbfs.2020.10.2.205-210)
8. Kuznetsov VIV, Radyukina NL, Shevyakova NI. Polyamines and stress: Biological role, metabolism, and regulation. *Russian J Plant Physiology*. 2006;53(5):583-604. doi: [10.1134/S1021443706050025](https://doi.org/10.1134/S1021443706050025)

9. Sharma L, Priya M, Kaushal N, Bhandhari K, Chaudhary S, Dhankher OP, Prasad PVV, Siddique KHM, Nayyar H. Plant growth-regulating molecules as thermoprotectants: functional relevance and prospects for improving heat tolerance in food crops. *J Experimental Botany*. 2020;71(2):569-594. doi: [10.1093/jxb/erz333](https://doi.org/10.1093/jxb/erz333)
10. Edreva A, Yordanov I, Kardjieva R, Gesheva E. Heat shock responses of bean plants: involvement of free radicals, antioxidants and free radical/active oxygen scavenging systems. *Biologia Plantarum*. 1998;41(2):185-191. doi: [10.1023/A:1001846009471](https://doi.org/10.1023/A:1001846009471)
11. Shevyakova NI, Rakitin VYu, Duong DB, Sadomov NG, Kuznetsov VIV, Heat shock-induced cadaverine accumulation and translocation throughout the plant. *Plant Science*. 2001;161(6):1125-1133. doi: [10.1016/S0168-9452\(01\)00515-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00515-5)
12. Paramonova NV, Shevyakova NI, Shorina MV, Stetsenko LA, Rakitin VYu, Kuznetsov VIV. The effect of putrescine on the apoplast ultrastructure in the leaf mesophyll of *Mesembryanthemum crystallinum* under salinity stress. *Russian J Plant Physiology*. 2003;50 (5):587-598. doi: [10.1023/A:1025623704298](https://doi.org/10.1023/A:1025623704298)
13. Cavusoglu K, Kabar K. Comparative effects of some plant growth regulators on the germination of barley and radish seeds under high temperature stress. *EurAsian J BioSciences*. 2007;1(1):1-10.
14. Tomar PC, Lakra N, Narayan MS. Effect of cadaverine on *Brassica juncea* (L.) under multiple stress. *Indian J Experimental Biology*. 2013;51(9):758-763.
15. Aronova EE, Shevyakova NI, Stetsenko LA, Kuznetsov VIV. Cadaverine-induced induction of superoxide dismutase gene expression in *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Doklady Biological Sciences*. 2005;403(1-6):257-259. doi: [10.1007/s10630-005-0104-z](https://doi.org/10.1007/s10630-005-0104-z)
16. Sung M, Hsu Yi, Hsu Yu. Hypersalinity and hydrogen peroxide upregulation of gene expression of antioxidant enzymes in *Ulva fasciata* against oxidative stress. *Marine Biotechnology*. 2009;11(2):199-209. doi: [10.1007/s10126-008-9134-5](https://doi.org/10.1007/s10126-008-9134-5)
17. Shevyakova NI, Rakitin VYu, Stetsenko LA, Aronova EE, Kuznetsov VIV. Oxidative stress and fluctuations of free and conjugated polyamines in the halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* L. under NaCl salinity. *Plant Growth Regulation*. 2006;50(1):69-78. doi: [10.1007/PL00021848](https://doi.org/10.1007/PL00021848)
18. Hung KT, Hsu YT, Kao CH. Hydrogen peroxide is involved in methyl jasmonate induced senescence of rice leaves. *Physiologia Plantarum*. 2006;127(2):293-303. doi: [10.1111/j.1399-3054.2006.00662.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00662.x)
19. Kolupaev YuE., Oboznyi AI, Shvidenko NV. Role of hydrogen peroxide in generation of a signal inducing heat tolerance of wheat seedlings. *Russian J Plant Physiology*. 2013;60(2):227-234. doi: [10.1134/S102144371302012X](https://doi.org/10.1134/S102144371302012X)
20. Sagisaka S. The occurrence of peroxide in a perennial plant, *Populus gelrica*. *Plant Physiology*. 1976;57(2):308-309. doi: [10.1104/pp.57.2.308](https://doi.org/10.1104/pp.57.2.308)
21. Fazlieva ER, Kiseleva IS, Zhuikova TV. Antioxidant activity in the leaves of *Melilotus albus* and *Trifolium medium* from man-made disturbed habitats in the Middle Urals under the influence of copper. *Russian J Plant Physiology*. 2012;59(3):333-338. doi: [10.1134/S1021443712030065](https://doi.org/10.1134/S1021443712030065)
22. Kolupaev YuE, Yastreb TO, Oboznyi AI, Ryabchun NI, Kirichenko VV. Constitutive and cold-induced resistance of rye and wheat seedlings to oxidative stress. *Russian J Plant Physiology*. 2016;63(3):326-337. doi: [10.1134/S1021443716030067](https://doi.org/10.1134/S1021443716030067)
23. Karpets YuV, Kolupaev YuE, Yastreb T.O, Oboznyi AI. Effects of NO-status modification, heat hardening, and hydrogen peroxide on the activity of antioxidant enzymes in wheat seedlings. *Russian J Plant Physiology*. 2015;62(3): 292–298. doi: [10.1134/S1021443715030097](https://doi.org/10.1134/S1021443715030097)
24. Kohli SK, Handa N, Gautam V, Bali S, Sharma A, Khanna K, Arora S, Thukral KA, Ohri P, Karpets Y, Kolupaev Y, Bhardwaj R. ROS signaling in plants under heavy metal stress. In: *Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation under*

- Abiotic Stress*. Khan MIR, Khan NA, editors. Singapore: Springer Nature; 2017, pp. 185-214. doi: [10.1007/978-981-10-5254-5_8](https://doi.org/10.1007/978-981-10-5254-5_8)
25. Kolupaev YuE, Kokorev AI, Yastreb TO, Horielova EI. Hydrogen peroxide as a signal mediator at inducing heat resistance in wheat seedlings by putrescine. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2019;91(6):103-111. doi: [10.15407/ubj91.06.103](https://doi.org/10.15407/ubj91.06.103)
 26. Ivanov YuV, Savochkin YuV. Isozymes composition of scots pine seedling's (*Pinus sylvestris* L.) superoxide dismutase under chronic effect of zinc. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2013;2(22):150-159. doi: [10.17223/19988591/22/12](https://doi.org/10.17223/19988591/22/12) In Russian, English Summary
 27. Hausman JF, Kevers C, Gaspari T. Putrescine control of peroxidase activity in the inductive phase of rooting in poplar shoots *in vitro*, and the adversary effect of spermidine. *J Plant Physiology*. 1995;146(5-6):681-685. doi: [10.1016/S0176-1617\(11\)81933-4](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81933-4)
 28. Kuznetsov VI, Shorina M, Aronova E, Stetsenko L, Rakitin V, Shevyakova N. NaCl- and ethylene-dependent cadaverine accumulation and its possible protective role in the adaptation of the common ice plant to salt stress. *Plant Science*. 2007;172(2):363-370. doi: [10.1016/j.plantsci.2006.09.01](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.09.01)
 29. Glyan'ko AK. Initiation of nitric oxide (NO) synthesis in roots of etiolated seedlings of pea (*Pisum sativum* L.) under the influence of nitrogen-containing compounds. *Biochemistry (Moscow)*. 2013;78(5):471-476. doi: [10.1134/S0006297913050052](https://doi.org/10.1134/S0006297913050052)
 30. Arora D, Jain P, Singh N, Kaur H, Bhatla SC. Mechanisms of nitric oxide crosstalk with reactive oxygen species scavenging enzymes during abiotic stress tolerance in plants. *Free Radical Research*. 2016;50(3):291-303. doi: [10.3109/10715762.2015.1118473](https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1118473)
 31. Kolupaev YuE, Kokorev AI, Shkliarevskiy MA, Lugovaya AA, Karpets YuV, Ivanchenko OE. Role of NO synthesis modification in the protective effect of putrescine in wheat seedlings subjected to heat stress. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2021. 57(3): 384-391. doi: [10.1134/S0003683821030066](https://doi.org/10.1134/S0003683821030066)
 32. Pottosin I, Velarde-Buendía AM, Bose J, Fuglsang AT, Shabala S. Polyamines cause plasma membrane depolarization, activate Ca²⁺-, and modulate H⁺-ATPase pump activity in pea roots. *J Experimental Botany*. 2014;65(9):2463-2472. doi: [10.1093/jxb/eru133](https://doi.org/10.1093/jxb/eru133)
 33. Messiaen J, Van Cutsem P. Polyamines and pectins. II. Modulation of pectic-signal transduction. *Planta*. 1999;208:247-256. doi: [10.1007/s004250050556](https://doi.org/10.1007/s004250050556)
 34. Kusano T, Berberich T, Tateda C, Takahashi Y. Polyamines: essential factors for growth and survival. *Planta*. 2008;228:367-381. doi: [10.1007/s00425-008-0772-7](https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7)
 35. Kolupaev YE, Kokorev AI, Shkliarevskiy MA. Calcium-dependent changes in the activity of antioxidant enzymes and heat resistance of wheat seedlings under the influence of exogenous putrescine. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2020;51:105-122. doi: [10.17223/19988591/51/6](https://doi.org/10.17223/19988591/51/6) In Russian, English Summary
 36. Saxena SC, Kaur H, Verma P, Petla BP, Andugula VR, Majee M. Osmoprotectants: Potential for crop improvement under adverse conditions. In: *Plant Acclimation to Environmental Stress*. Tuteja N and Gill SS, editors. New York: Springer Science+Business Media; 2013. pp. 197-231. doi: [10.1007/978-1-4614-5001-6_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5001-6_9)
 37. Andronis EA, Moschou PN, Toumi I, Roubelakis-Angelakis KA. Peroxisomal polyamine oxidase and NADPH-oxidase cross-talk for ROS homeostasis which affects respiration rate in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science*. 2014;5:132. doi: [10.3389/fpls.2014.00132](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00132)
 38. Liu T, Dobashi H, Kim DW, Sagor GHM, Niitsu M, Berberich T, Kusano T. Arabidopsis mutant plants with diverse defects in polyamine metabolism show unequal sensitivity to exogenous cadaverine probably based on their spermine content. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2014;20:151-159. doi: [10.1007/s12298-014-0227-5](https://doi.org/10.1007/s12298-014-0227-5)

39. Jancewicz AL, Gibbs NM, Masson PH. Cadaverine's functional role in plant development and environmental response. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:870. doi: [10.3389/fpls.2016.00870](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00870)

Received 28 December 2020; Revised 18 March 2021;

Accepted 27 May 2021; Published 29 June 2021.

Author info:

Kokorev Alexandr I, Post-Graduate Student, Department of Botany and Plant Physiology, Faculty of Plant Protection, Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, p/o Dokuchaevskoe-2, Kharkiv 62483, Ukraine.

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Kolupaev Yuriy E, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of the Department of Botany and Plant Physiology, Faculty of Plant Protection, Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, p/o Dokuchaevskoe-2, Kharkiv 62483, Ukraine; Professor, Department of Physiology and Biochemistry of Plants and Microorganisms, Faculty of Biology, Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody square, Kharkiv 61002, Ukraine.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-7151-906X>

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Shkliarevskiy Maxim A, Assistant, Department of Forestry, Faculty of Forestry, Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, p/o Dokuchaevskoe-2, Kharkiv 62483, Ukraine.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-7781-4481>

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

Lugovaya Anna A, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Professor, Department of Botany and Plant Physiology, Faculty of Plant Protection, Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, p/o Dokuchaevske-2, Kharkiv 62483, Ukraine.

E-mail: plant.biology.knau@gmail.com

ЭКОЛОГИЯ

УДК 632.754.1: 57.045
doi: 10.17223/19988591/54/7

Е.Н. Беседина, В.Я. Исмаилов

Федеральный научный центр биологической защиты растений, г. Краснодар, Россия

Мониторинг развития клопа дубовая кружевница (*Corythucha arcuata* Say) на основе использования теплосодержания атмосферы

Исследование выполнено согласно государственному заданию Министерства науки и высшего образования РФ в рамках НИР по теме № 0686-2019-0012 при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и администрации Краснодарского края в рамках научного проекта № 19-44-233009 р_мол_а.

*Рассчитано количество тепла, необходимое для выхода клопа дубовая кружевница (*Corythucha arcuata* Say) после зимней диапаузы (140–145 ккал/кг воздуха) и прохождения преимагинальных стадий развития от откладки яиц (158–167 ккал/кг), отрождения личинок (180–194 ккал/кг) до окрыления имаго новой генерации (136–145 ккал/кг). Показано, что теплосодержание (энтальпия) воздуха является наиболее предпочтительным показателем оценки термических характеристик для определения сроков появления перезимовавших особей, прохождения фенофаз насекомых и количества их генераций по сравнению с суммой эффективных температур. Установлено, что находящееся в прямой зависимости от теплосодержания воздуха количество генераций дубовой кружевницы в центральной, северо-восточной и западной зонах Краснодарского края (умеренный климатический пояс) равно трем, а в черноморской (субтропический климатический пояс) – четырем за сезонный цикл. Разработана методика мониторинга фенофаз вредителя на основе расчета теплосодержания воздуха, которая может использоваться в практических целях для оптимизации защитных мероприятий в дубовых насаждениях (проведение обработок инсектицидами, регуляторами роста и развития насекомых, выпуск энтомофагов).*

Ключевые слова: *Corythucha arcuata*; насекомые; вредители; фенология; генерация; энтальпия; биологическая защита растений

Сокращения: SET – сумма эффективных температур, гр.-дн. [Sum of the effective temperatures, degree-days]; j – энтальпия, ккал/кг [Enthalpy, kcal/kg].

Для цитирования: Беседина Е.Н., Исмаилов В.Я. Мониторинг развития клопа дубовая кружевница (*Corythucha arcuata* Say) на основе использования теплосодержания атмосферы // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 54. С. 138–157. doi: 10.17223/19988591/54/7

Введение

Лесные ресурсы занимают важное место в экономическом потенциале многих стран мира. Однако в последние годы сложилась негативная ситуация в результате массовых инвазий на землях лесного фонда адвентивных вредителей, среди которых клоп дубовая кружевница *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) требует особого внимания. Родиной клопа является Северная Америка, где насчитывается более 50 видов этого семейства [1]. Карантинный объект проник в Европу в 1999 г. и впервые обнаружен в Италии [2–4]. В 2003 г. клоп впервые выявлен на Черноморском побережье Турции [5–6]. Из Турции клоп проник в Болгарию [7] и стал распространяться в странах Балканского полуострова. К настоящему времени вид отмечен в Швейцарии, Франции, Боснии и Герцеговине, Хорватии, Румынии, Сербии, Словакии, Болгарии, Греции, Иране [8–10].

На территории России дубовая кружевница впервые отмечена в 2015 г. в г. Краснодаре [11–13]. В 2016 г. вид расселился на юго-запад края, в парковых и лесных зонах городов Геленджик, Новороссийск и Туапсе, на северо-запад – до г. Славянска-на-Кубани, на юго-востоке достиг Республики Адыгея [14]. В 2017 г. дубовая кружевница найдена в районе Большого Сочи [15]. В 2018 г. вид зарегистрирован в Крыму [16–17]. В 2019 г. опасный вредитель впервые найден в Ставропольском крае, Ростовской области и Карачаево-Черкесии [18–19].

В связи с тем, что дуб в Краснодарском крае относится к основным лесообразующим породам, наиболее остро в регионе стоит вопрос сохранения дубовых насаждений, заселенных быстро распространяющейся кружевницей. Питание клопов-кружевниц клеточным соком листьев растений приводит к развитию хлороза и преждевременной дефолиации [16, 20–21]. В результате сильных повреждений, наносимых вредителем, происходит не только резкое угнетение дубрав, но и создаются благоприятные условия для развития патогенов, способных вызвать их гибель. Кружевница нарушает фотосинтез листьев, ослабляет деревья и снижает их семенную продуктивность, что особенно опасно для объектов животного мира, основной кормовой базой которых являются желуди.

Кроме того, дубовая кружевница повреждает не только дуб (*Quercus* L.), но и граб (*Carpinus* L.), ясень (*Fraxinus* L.), бук (*Fagus* L.), вяз (*Ulmus* L.), клен (*Acer* L.), иву (*Salix* L.), лещину (*Corylus* L.), каштан (*Aesculus* L.), ольху (*Alnus* L.) и робинию псевдоакацию (*Robinia pseudoacacia* L.). К числу вторичных кормовых растений также относятся вербейник (*Lysimachia* L.), девясил (*Inula* L.), хурма (*Diospyros* L.), черешня (*Prunus* L.), яблоня (*Malus* P. Mill.), боярышник (*Crataegus* Tourn. ex L.), шиповник (*Rosa* L.), малина (*Rubus* L.), ежевика (*Rubus* subg. L.) [16, 22–24]. Скорость распространения и инвазивного развития вредителя объясняется его активной миграцией, дополняемой пассивными переносами: анемохорным и антропогенным (ав-

томобильным и другими видами транспорта), а также высокой плодовитостью [25]. В России инвазивно-опасный вредитель дуба может развиваться в трех-четыре поколения за вегетационный период [19]. Самки откладывают яйца на нижней стороне листа, которые не смываются дождем и мало доступны для инсектицидов. Листья повреждают имаго и нимфы. Зимуют взрослые клопы в углублениях коры, при этом могут переносить достаточно низкие зимние температуры [26]. Температура выше 10 °С стимулирует массовый выход имаго и начало жизненного цикла [19].

Успешное расселение клопов-кружевниц в различных климатических условиях тесно связано с их устойчивостью к экстремальным температурам, особенно к высоким, что определяет их широкое распространение в субтропических регионах. Согласно лабораторным данным, личинки не могут развиваться до имагинальной стадии при постоянном культивировании при температуре выше 36 °С, однако в природных условиях насекомые подвергаются и более высоким температурам. Исследования показали, что кратковременное воздействие высоких температур наносит вред насекомым, а летальной является температура от 40 до 50 °С в зависимости от стадии жизненного цикла. Самцы и самки демонстрировали одинаковую выживаемость при температуре до 43 °С. Однако самки не откладывали яйца при постоянной температуре выше 36 °С, но при снижении температуры эта способность восстанавливалась [27–28]. Термостойкость клопов к высоким температурам подтверждена при идентификации гена HSP70, отвечающего за экспрессию белков теплового шока. Исследования показали, что экспрессия гена в ответ на высокие температуры значительно увеличивалась и в лабораторных, и в полевых условиях, что способствует термостойкости клопов-кружевниц [29].

Исследования влияния низких температур на примере клопа платановая кружевница *Corythucha ciliata* (Say, 1832) показали, что резкое снижение температуры вызывало высокую смертность насекомых, особенно самок, а постепенное снижение увеличивало их выживаемость. В результате были сделаны выводы, что *C. ciliata* устойчива к холоду [30–31]. При вторжении в новые районы инвазивные насекомые неизбежно сталкиваются с условиями окружающей среды, отличающимися от условий их естественного ареала. Приспособляемость к окружающей среде, особенно устойчивость к высоким и низким температурам играет важную роль в распространении клопов-кружевниц.

Прогнозируемое увеличение площадей лесов и лесных насаждений, заселенных инвазивными вредителями, среди которых особую опасность представляет клоп дубовая кружевница, приведет к ухудшению санитарной и лесопатологической обстановки. В этой ситуации необходима разработка эффективных и экологически обоснованных методов управления численностью вредителя, так как применение традиционных инсектицидов в лесах и парковых зонах строго регламентировано. Кроме того, прогнозирование

численности локальных популяций или локализации следующих вспышек массового размножения *C. arcuata* в настоящее время осложнены особенностями биологии вида (зимовочные и репродуктивные миграции, разная скорость развития в различных микроклиматических условиях). Отсюда изучение фенологии и динамики численности клопа дубовая кружевница позволит оптимизировать защитные мероприятия с учетом наиболее уязвимых фаз развития фитофага и сроков обработок.

Цель данного исследования – разработка прецизионных методов мониторинга динамики численности и возрастной структуры популяции клопа дубовая кружевница на основе использования теплосодержания атмосферы.

Материалы и методики исследования

Исследования проведены в 2018–2020 гг. в центральной (г. Краснодар), северо-восточной (г. Тихорецк) и западной (г. Крымск) зонах Краснодарского края, относящихся к умеренному климатическому поясу, а также черноморской зоне (г. Сочи), расположенной в субтропическом климатическом поясе. Выбор локалитетов исследований осуществлен с учетом территорий инвазивного распространения клопа дубовая кружевница в Краснодарском крае и различий в климатических условиях от умеренно континентальных до субтропических.

Фенологические наблюдения и учет численности клопов *C. arcuata* проведены на модельных деревьях дуба черешчатого (*Quercus robur* L.). Выборка составила не менее 10 дубов из каждого локалитета. Учеты вредителя осуществляли через каждые 7–10 суток после выхода клопов из зимовки (III декада апреля) в течение всего вегетационного периода до момента ухода взрослых насекомых в диапаузу (I–III декады ноября в зависимости от климатического пояса). Метеоданные (показатели среднесуточной температуры и относительной влажности) взяты из архива погоды для городов России [32].

Сумму эффективных температур определяли по формуле [33–34]

$$C = (t - t_0) * n,$$

где C – сумма эффективных температур (SET), гр.-дн. [Sum of the effective temperatures (SET), degree-days]; t – температура окружающей среды [Ambient temperature], °C; t_0 – температура порога развития [Developmental threshold temperature], °C; n – число часов или дней с температурой, превышающей порог развития, дней [The number of hours or days of with a temperature exceeding the threshold of development, days].

В качестве нижнего порога развития принято значение $T_0 = +12,2$ °C [19, 35].

Расчет теплосодержания (энтальпии, j) воздуха для прогнозирования даты выхода клопа дубовая кружевница из мест зимовки, откладки яиц, отрождения личинок и окрыления имаго новой генерации проведен с помощью модифицированной номограммы Рамзина [36] (рис. 1). На оси

ординат отмечены значения среднесуточной температуры и проведена прямая до пересечения с изолинией влажности в точке соответствующего показателя относительной влажности воздуха. Перпендикуляр, проведенный на ось абсцисс от изолинии влажности, указывает искомый показатель теплосодержания за сутки. Для учета фенологии вредителя и определения конкретных периодов прохождения фаз развития показатели теплосодержания складывали в нарастающей последовательности. Сумма этих значений за определенный промежуток времени – количество тепла, необходимого насекомому для прохождения конкретной стадии развития и генерации вредителя.

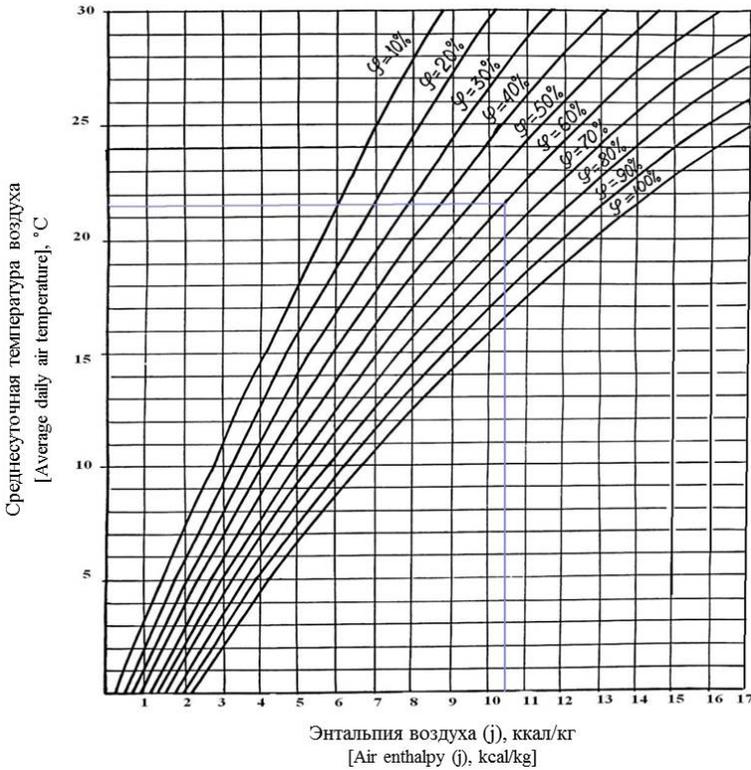


Рис. 1. Номограмма для расчета энтальпии воздуха. По оси абсцисс – энтальпия воздуха, ккал/кг; по оси ординат – среднесуточная температура воздуха, °C
[Fig. 1. Nomogram for calculating air enthalpy. On the X-axis - Air enthalpy, kcal/kg; on the Y-axis - Average daily air temperature, °C]

Дата отсчета (1 апреля) выбрана эмпирически на основе использования различных по срокам отсчета и соответствующих этим периодам показателей теплосодержания (табл. 1).

Таблица [Table 1]

**Примеры определения оптимальной точки отсчета теплосодержания
для выхода перезимовавших клопов (г. Краснодар, 2018–2020 гг.)**

**[Examples of determining the optimal heat content reference point
for the emergence of overwintered bugs (Krasnodar, 2018-2020)]**

Дата выхода перезимовавших клопов [Date of the emergence of overwintered bugs]	Энтальпия, рассчитанная от различных точек отсчета до даты выхода клопов, ккал/кг [Enthalpy calculated from different reference points up to bugs emergence date, kcal/kg]			
	С 1 апреля [From April 1]	С 5 апреля [From April 5]	С 10 апреля [From April 10]	С 15 апреля [From April 15]
21.04.2018	143	119	87	48
24.04.2019	141	123	89	49
30.04.2020	144	127	107	84

Результаты исследования и обсуждение

Существующие методы мониторинга вредителей не всегда отражают реальные константы фенологии целевых объектов, что приводит к ошибкам в определении оптимальных сроков защитных мероприятий и снижению их эффективности. Поэтому разработка прецизионных методов фитосанитарного мониторинга вредных видов является актуальной проблемой защиты растений, особенно биологической. Несомненный интерес в этом направлении представляют методы фенологических наблюдений за развитием адвентивных видов с использованием теплосодержания атмосферы.

В результате исследований, проведенных в течение 2018–2020 гг., установлены фактические сроки наступления фенофаз клопа дубовая кружевница и соответствующая им энтальпия воздуха (рис. 2, табл. 2).

Так, в 2018 г. в г. Краснодаре первые клопы после перезимовки появились 21 апреля, что соответствовало сумме тепла 143 ккал/кг, в 2019 г. – 24 апреля с аналогичным теплосодержанием (142 ккал/кг) и в 2020 г. – 30 апреля (144 ккал/кг). Аналогичным образом проведен учет в г. Тихорецке, г. Крымске и г. Сочи. Таким образом, фактическая сумма тепла, необходимая для выхода клопа дубовая кружевница после зимней диапаузы, составляет 140–145 ккал/кг воздуха (в среднем 143 ккал/кг).

Первые яйцекладки клопа-вредителя в 2018 г. в г. Краснодаре обнаружены 9 мая, при этом сумма тепла с 1 апреля по 9 мая составила 305 ккал/кг, в 2019 г. – 13 мая (307 ккал/кг), в 2020 г. – 19 мая (303 ккал/кг). Таким образом, количество тепла, достаточное для созревания и откладки яиц самками, колеблется от 302 до 308 ккал/кг воздуха.

Фактическое отрождение личинок клопа дубовая кружевница в г. Краснодаре зафиксировано в 2018 г. – 28 мая (191 ккал/кг), в 2019 г. – 28 мая (191 ккал/кг), в 2020 г. – 8 июня (188 ккал/кг). На основании данных, полученных в результате ежегодных наблюдений, определено теплосодержание, необходимое для прохождения инкубационного периода яиц (от начала яйцекладки до отрождения личинок), оно составляет в среднем 188 ккал/кг.

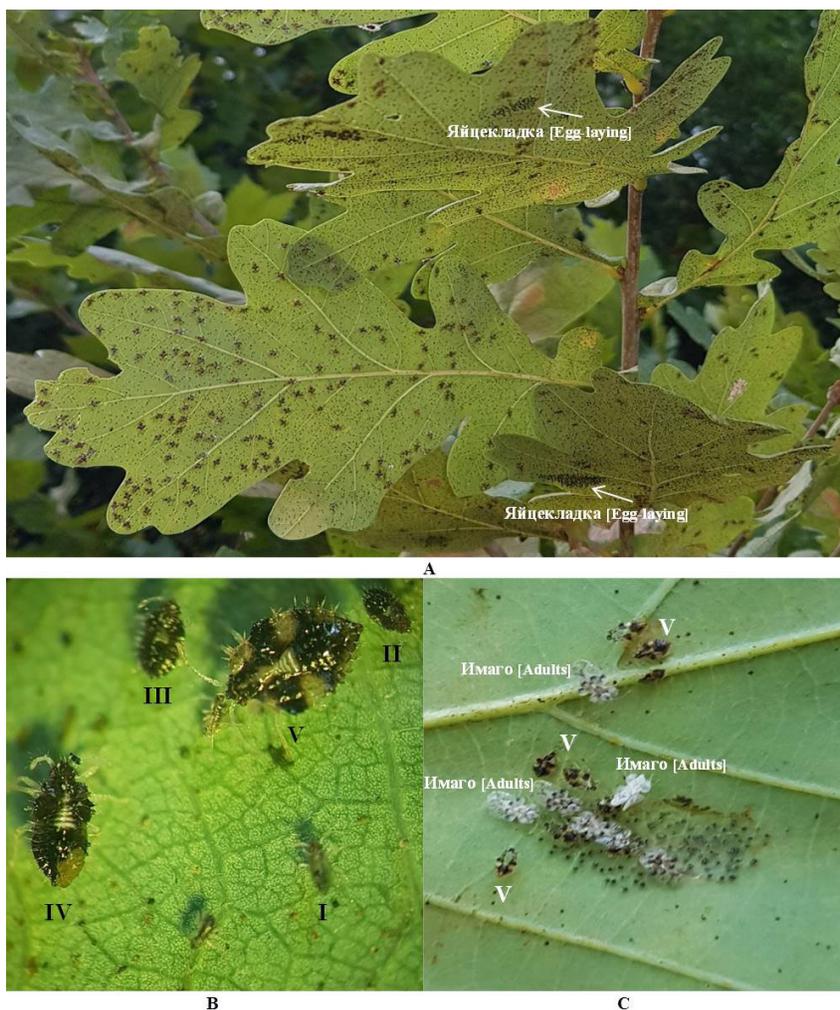


Рис. 2. Фенофазы клопа дубовая кружевница *Corythucha arcuata* Say. А – имаго; В – личинки I–V возрастов; С – окрыление имаго I летней генерации (фото Е.Н. Бесединой)

[Fig. 2. Phenophases of the oak lace bug *Corythucha arcuata*. A - Adults; B - Larvae of I-V ages; C - Fledging of adults of the 1st summer generation; Photo by Ekaterina Besedina]

А общее теплосодержание, накопленное с 1 апреля к этому периоду, составляет 488–498 ккал/кг воздуха, что в дальнейшем учитывалось при расчете суммы тепла для прохождения полной генерации вредителя (см. табл. 2).

Установлено, что теплосодержание, необходимое для развития генерации клопа, составляет 485–498 ккал/кг воздуха (в среднем 491 ккал/кг), которое в среднем соответствует 50 сут развития от появления перезимовавших имаго до окрыления клопов I генерации.

Таблица 2 [Table 2]

**Фактические сроки прохождения фенофаз клопа дубовая кружевница
Corythucha arcuata с учетом энтальпии атмосферы
 [Actual timing of the passage of phenophases of the oak lace bug *Corythucha arcuata*
 taking into account the enthalpy of the atmosphere]**

Год [Year]	Краснодар [Krasnodar]			Тихорецк [Tikhoretsk]			Крымск [Krymsk]			Сочи [Sochi]		
	Дата [Date]	Энтальпия (j), ккал/кг [Enthalpy, kcal/kg]		Дата [Date]	Энтальпия (j), ккал/кг [Enthalpy, kcal/kg]		Дата [Date]	Энтальпия (j), ккал/кг [Enthalpy, kcal/kg]		Дата [Date]	Энтальпия (j), ккал/кг [Enthalpy, kcal/kg]	
		P	SC		P	SC		P	SC		P	SC
Выход имаго перезимовавшей генерации [The emergence of adults of the overwintered generation]												
2018	21.04	143	143	24.04	142	142	23.04	144	144	21.04	141	141
2019	24.04	142	142	26.04	145	145	26.04	143	143	22.04	143	143
2020	30.04	144	144	01.05	142	142	30.04	140	140	25.04	145	145
Яйцекладка [Egg-laying]												
2018	09.05	162	305	13.05	162	304	11.05	160	304	09.05	167	308
2019	13.05	165	307	14.05	158	303	16.05	162	305	12.05	160	303
2020	19.05	159	303	22.05	166	308	21.05	162	302	15.05	162	307
Отрождение личинок [Hatching of larvae]												
2018	28.05	191	496	01.06	187	491	01.06	187	491	26.05	186	494
2019	28.05	191	498	01.06	194	497	03.06	189	494	30.05	193	496
2020	08.06	188	491	10.06	180	488	11.06	193	495	03.06	184	491
Окрыление имаго I летней генерации [Fledging of adults of the first summer generation]												
2018	12.06	136	632	16.06	138	629	16.06	145	636	06.06	145	639
2019	08.06	137	635	12.06	140	637	14.06	143	637	10.06	140	636
2020	18.06	138	629	22.06	142	630	22.06	138	633	15.06	145	636
Яйцекладка II генерации [Egg-laying of the second generation]												
2018	26.06	170	802	30.06	161	790	29.06	161	797	19.06	163	802
2019	21.06	169	804	25.06	163	800	27.06	169	806	21.06	164	800
2020	01.07	161	790	06.07	169	799	05.07	164	797	27.06	164	800
Отрождение личинок II генерации [Hatching of larvae of the second generation]												
2018	09.07	184	986	16.07	200	990	14.07	190	987	02.07	186	988
2019	06.07	189	993	11.07	189	989	14.07	188	994	05.07	191	991
2020	15.07	202	992	22.07	195	994	20.07	190	987	10.07	192	992
Окрыление имаго II генерации [Fledging of adults of the second generation]												
2018	19.07	145	1131	27.07	146	1136	25.07	144	1131	12.07	143	1131
2019	19.07	138	1131	24.07	148	1137	26.07	142	1136	16.07	139	1130
2020	26.07	143	1135	29.07	136	1130	01.08	152	1139	20.07	141	1133
Яйцекладка III генерации [Egg-laying of the third generation]												
2018	30.07	169	1300	08.08	160	1296	06.08	167	1298	24.07	168	1299
2019	31.07	165	1296	07.08	161	1298	09.08	161	1297	28.07	162	1292
2020	07.08	159	1294	12.08	162	1292	15.08	158	1297	01.08	165	1298
Отрождение личинок III генерации [Hatching of larvae of the third generation]												
2018	13.08	185	1485	26.08	193	1489	24.08	194	1492	05.08	193	1492
2019	16.08	192	1488	23.08	183	1481	25.08	192	1489	12.08	190	1482
2020	23.08	189	1483	31.08	193	1485	02.09	195	1492	14.08	185	1483
Окрыление имаго III генерации [Fledging of adults of the third generation]												
2018	25.08	138	1623	07.09	140	1629	04.09	140	1632	15.08	142	1634

Окончание табл. 2 [Table 2 (end)]

Год [Year]	Краснодар [Krasnodar]			Тихорецк [Tikhoretsk]			Крымск [Krymsk]			Сочи [Sochi]		
	Дата [Date]	Энтальпия (j), ккал/кг [Enthalpy, kcal/kg]		Дата [Date]	Энтальпия (j), ккал/кг [Enthalpy, kcal/kg]		Дата [Date]	Энтальпия (j), ккал/кг [Enthalpy, kcal/kg]		Дата [Date]	Энтальпия (j), ккал/кг [Enthalpy, kcal/kg]	
		P	SC		P	SC		P	SC		P	SC
2019	27.08	140	1628	06.09	144	1625	08.09	141	1630	23.08	144	1626
2020	04.09	141	1624	13.09	140	1625	14.09	143	1635	24.08	145	1628
Яйцекладка IV генерации [Egg-laying of the fourth generation]												
2018	–	–	–	–	–	–	–	–	–	26.08	161	1795
2019	–	–	–	–	–	–	–	–	–	04.09	167	1793
2020	–	–	–	–	–	–	–	–	–	05.09	162	1790
Отрождение личинок IV генерации [Hatching of larvae of the fourth generation]												
2018	–	–	–	–	–	–	–	–	–	08.09	184	1979
2019	–	–	–	–	–	–	–	–	–	20.09	184	1977
2020	–	–	–	–	–	–	–	–	–	18.09	183	1973
Окрыление имаго IV генерации [Fledging of adults of the fourth generation]												
2018	–	–	–	–	–	–	–	–	–	21.09	139	2118
2019	–	–	–	–	–	–	–	–	–	05.10	145	2122
2020	–	–	–	–	–	–	–	–	–	30.09	144	2117

Примечание. P – данные для учета фенофаз; SC – данные для учета сезонного цикла развития.

[Note. P - Data for phenophases recording; SC - Data for the recording of seasonal cycle development].

Это, в свою очередь, позволило определить возможное количество генераций вредителя в исследуемых локалитетах, выбранных нами для исследований. Известно, что под сезонным циклом развития понимается характеристика развития вида в течение всех сезонов одного года [37]. Так, в 2018–2020 гг. в центральной, северо-восточной и западной зонах Краснодарского края умеренного климатического пояса продолжительность сезонного цикла развития дубовой кружевницы была сопоставимой и наблюдалось три генерации вредителя, тогда как в черноморской зоне субтропического климатического пояса сезонный цикл развития более продолжительный, в результате чего там развивалось четыре поколения фитофага.

Развитие второй генерации заняло в 2018 г.: 37 сут (Краснодар, j = 499 ккал/кг), 41 сут (Тихорецк, j = 507 ккал/кг), 39 сут (Крымск, j = 495 ккал/кг), 36 сут (Сочи, j = 492 ккал/кг); в 2019 г.: 41 сут (Краснодар, j = 496 ккал/кг), 42 сут (Тихорецк, j = 500 ккал/кг), 42 сут (Крымск, j = 499 ккал/кг), 36 сут (Сочи, j = 494 ккал/кг); в 2020 г.: 38 сут (Краснодар, j = 506 ккал/кг), 37 сут (Тихорецк, j = 500 ккал/кг), 40 сут (Крымск, j = 506 ккал/кг), 35 сут (Сочи, j = 497 ккал/кг). Длительность развития третьей генерации достигла в 2018 г.: 36 сут (Краснодар, j = 492 ккал/кг), 41 сут (Тихорецк, j = 493 ккал/кг), 40 сут (Крымск, j = 501 ккал/кг), 33 сут (Сочи, j = 503 ккал/кг); в 2019 г.: 38 сут (Краснодар, j = 497 ккал/кг), 43 сут (Тихорецк, j = 488 ккал/кг), 43 сут (Крымск, j = 494 ккал/кг), 37 сут

(Сочи, $j = 496$ ккал/кг); в 2020 г.: 39 сут (Краснодар, $j = 489$ ккал/кг), 45 сут (Тихорецк, $j = 495$ ккал/кг), 43 сут (Крымск, $j = 496$ ккал/кг), 34 сут (Сочи, $j = 495$ ккал/кг). Развитие четвертой генерации в Сочи заняло в 2018 г. 36 сут, в 2019 г. – 42 сут, 2020 г. – 36 сут; при теплосодержании $j = 484–496$ (в среднем 490 ккал/кг).

В период с сентября по ноябрь, когда в центральной, северо-восточной и западной зонах Краснодарского края завершается цикл развития дубовой кружевницы и взрослые особи уходят на зимовку, в субтропиках на Черноморском побережье продолжается развитие и формируется четвертая генерация вредителя. В этот период отмечалось недостаточное для развития очередного поколения вредителя количество тепла в г. Краснодаре – 355–390 ккал/кг (в среднем за 3 года – 375 ккал/кг), г. Тихорецке – 322–347 ккал/кг (в среднем – 338 ккал/кг) и г. Крымске – 353–393 ккал/кг (в среднем за 3 года – 376 ккал/кг). Тогда как в районе г. Сочи этот показатель составил 491–495 ккал/кг (в среднем – 493 ккал/кг), что является достаточным для прохождения фазы яиц и отрождения личинок. Кроме того, рассчитанное по фактическим показателям температуры и влажности теплосодержание, необходимое для развития личинок (188 ккал/кг), отмечалось только в г. Сочи – 190–203 ккал/кг (в среднем за 3 года 199 ккал/кг), тогда как в г. Краснодаре, г. Тихорецке и г. Крымске этот показатель составил всего 108–135 ккал/кг (в среднем 124 ккал/кг), 92–117 ккал/кг (в среднем 104 ккал/кг) и 117–146 ккал/кг (в среднем 129 ккал/кг) соответственно. За период фенологических наблюдений (2018–2020 гг.) в центральной, северо-восточной и западной зонах Краснодарского края не отмечена четвертая генерация вредителя, однако появление дополнительной генерации, скорее всего частичной, возможно в исследуемых и других локалитетах в годы с более высоким теплосодержанием воздуха в марте–апреле и сентябре–октябре [19].

Энтальпия воздуха в качестве основного предиктора выбрана в связи с тем, что традиционно используемый показатель SET дает существенные отличия как по годам и зонам исследований, так и по фазам развития насекомых (табл. 2–3). Например, в зоне Краснодара SET на дату появления имаго после перезимовки в 2018 г. составляла 46 гр.-дн., в 2019 г. – 31 гр.-дн., в 2020 г. – 13 гр.-дн. Различия при оценке этого показателя составили 15–33 гр.-дн., в то время как при использовании показателя теплосодержание отличия между годами не превышали 1 ккал/кг воздуха. От выхода имаго до начала яйцекладки показатель SET составил 100–129 гр.-дн. (различие до 29 гр.-дн.), а энтальпия – 159–165 ккал/кг (разница 6 ккал/кг). При расчете SET от яйцекладки до отрождения личинок диапазон различий составил 12–14 гр.-дн., а при использовании теплосодержания – 3 ккал/кг. От отрождения личинок до окрыления имаго I летней генерации разброс данных для SET составил 3–16 гр.-дн., тогда как при использовании энтальпии – 2 ккал/кг. По другим локалитетам выявлен диапазон различий в сумме эффективных температур по трем годам исследований: в Тихорецке в стадии окрыления имаго II ге-

нерации (23–55 гр.-дн.) и в стадии яйцекладки III генерации (2–45 гр.-дн.), в Крымске в стадии окрыления имаго III генерации (12–28 гр.-дн.) и в Краснодаре в этой же стадии (11–24 гр.-дн.). При этом разница в теплосодержании в Тихорецке равнялась 10–12 ккал/кг (окрыление имаго II генерации) и 1–2 ккал/кг (яйцекладка III генерации), в Крымске – 1–3 ккал/кг (окрыление имаго III генерации) и в Краснодаре – 1–3 ккал/кг воздуха соответственно. Также значительный диапазон различий по сравнению с энтальпией выявлен при оценке SET между зонами исследований: 17–34, 48–61 и 26–54 гр.-дн. (в стадии яйцекладки I–III генераций); 20–39, 33–72 и 46–78 гр.-дн. (в стадии отрождения личинок I–III генераций); 13–28, 13–69 и 34–46 гр.-дн. (в стадии окрыления имаго I–III генерации) (см. табл. 3). Разница в энтальпии составила: 7, 6–9 и 4–9 ккал/кг (в стадии яйцекладки I–III генераций); 5–13, 3–12 и 9–10 ккал/кг (в стадии отрождения личинок I–III генераций); 6–7, 3–16 и 4–5 ккал/кг (в стадии окрыления имаго I–III генерации).

Таблица 3 [Table 3]

Фактические сроки прохождения фенофаз клопа дубовая кружевница *Corythucha arcuata* с учетом суммы эффективных температур
[Actual timing of the passage of phenophases of the oak lace bug *Corythucha arcuata* taking into account the sum of the effective temperatures]

Год [Year]	Краснодар [Krasnodar]			Тихорецк [Tikhoretsk]			Крымск [Krymsk]			Сочи [Sochi]		
	Дата [Date]	SET		Дата [Date]	SET		Дата [Date]	SET		Дата [Date]	SET	
		P	SC		P	SC		P	SC		P	SC
Выход имаго перезимовавшей генерации [The emergence of adults of the overwintered generation]												
2018	21.04	46	46	24.04	29	29	23.04	42	42	21.04	38	38
2019	24.04	31	31	26.04	31	31	26.04	22	22	22.04	24	24
2020	30.04	13	13	01.05	13	13	30.04	5	5	25.04	14	14
Яйцекладка [Egg-laying]												
2018	09.05	129	175	13.05	121	150	11.05	117	159	09.05	112	150
2019	13.05	107	138	14.05	109	140	16.05	85	107	12.05	76	100
2020	19.05	100	113	22.05	104	117	21.05	93	98	15.05	70	84
Отрождение личинок [Hatching of larvae]												
2018	28.05	136	311	01.06	157	307	01.06	150	309	26.05	129	279
2019	28.05	134	272	01.06	173	313	03.06	166	273	30.05	146	246
2020	08.06	122	235	10.06	131	248	11.06	142	240	03.06	125	209
Окрыление имаго I летней генерации [Fledging of adults of the first summer generation]												
2018	12.06	131	442	16.06	135	442	16.06	140	449	06.06	112	391
2019	08.06	144	416	12.06	149	462	14.06	138	411	10.06	134	380
2020	18.06	128	363	22.06	139	387	22.06	126	366	15.06	130	339
Яйцекладка II генерации [Egg-laying of the second generation]												
2018	26.06	175	617	30.06	203	645	29.06	163	612	19.06	142	533
2019	21.06	193	609	25.06	200	662	27.06	189	600	21.06	152	532
2020	01.07	166	529	06.07	201	588	05.07	188	554	27.06	148	487
Отрождение личинок II генерации [Hatching of larvae of the second generation]												
2018	09.07	198	815	16.07	239	884	14.07	205	817	02.07	167	700
2019	06.07	204	813	11.07	212	874	14.07	190	790	05.07	175	707

Окончание табл. 3 [Table 3 (end)]

Год [Year]	Краснодар [Krasnodar]			Тихорецк [Tikhoretsk]			Крымск [Krymsk]			Сочи [Sochi]		
	Дата [Date]	SET		Дата [Date]	SET		Дата [Date]	SET		Дата [Date]	SET	
		P	SC		P	SC		P	SC		P	SC
2020	15.07	221	750	22.07	220	808	20.07	211	765	10.07	188	675
Окрыление имаго II генерации [Fledging of adults of the second generation]												
2018	19.07	151	966	27.07	150	1034	25.07	134	951	12.07	128	828
2019	19.07	134	947	24.07	127	1001	26.07	136	926	16.07	123	830
2020	26.07	148	898	29.07	95	903	01.08	164	929	20.07	138	813
Яйцекладка III генерации [Egg-laying of the third generation]												
2018	30.07	165	1131	08.08	202	1236	06.08	189	1140	24.07	148	976
2019	31.07	153	1100	07.08	157	1158	09.08	165	1091	28.07	139	969
2020	07.08	164	1062	12.08	200	1103	15.08	188	1117	01.08	169	982
Отрождение личинок III генерации [Hatching of larvae of the third generation]												
2018	13.08	218	1349	26.08	245	1481	24.08	261	1401	05.08	183	1159
2019	16.08	194	1294	23.08	213	1371	25.08	218	1309	12.08	172	1141
2020	23.08	218	1280	31.08	231	1334	02.09	213	1330	14.08	177	1159
Окрыление имаго III генерации [Fledging of adults of the third generation]												
2018	25.08	180	1529	07.09	167	1648	04.09	153	1554	15.08	134	1293
2019	27.08	156	1450	06.09	180	1551	08.09	165	1474	23.08	146	1287
2020	04.09	167	1447	13.09	165	1499	14.09	137	1467	24.08	123	1282
Яйцекладка IV генерации [Egg-laying of the fourth generation]												
2018	–	–	–	–	–	–	–	–	–	26.08	153	1446
2019	–	–	–	–	–	–	–	–	–	04.09	149	1436
2020	–	–	–	–	–	–	–	–	–	05.09	162	1444
Отрождение личинок IV генерации [Hatching of larvae of the fourth generation]												
2018	–	–	–	–	–	–	–	–	–	08.09	182	1628
2019	–	–	–	–	–	–	–	–	–	20.09	160	1596
2020	–	–	–	–	–	–	–	–	–	18.09	163	1607
Окрыление имаго IV генерации [Fledging of adults of the fourth generation]												
2018	–	–	–	–	–	–	–	–	–	21.09	125	1753
2019	–	–	–	–	–	–	–	–	–	05.10	103	1699
2020	–	–	–	–	–	–	–	–	–	30.09	129	1736

Примечание: SET – сумма эффективных температур, гр.-дн.; P – данные для учета фенофаз; SC – данные для учета сезонного цикла развития.

[Note: SET - Sum of the effective temperatures, degree-days; P - Data for phenophases recording; SC - Data for the recording of seasonal cycle development].

Противоречивые результаты при использовании SET получены и другими авторами [19]. Так, появление первых яйцекладок клопа дубовая кружевница в Краснодаре и северо-западных предгорьях (Крымск–Белореченск) происходило при значениях SET 44–88 гр.-дн., что отличалось в 2 раза. Аналогичные выводы при изучении фенологии других вредителей сделаны еще рядом исследователей [38–39]. Установлено, что определение сроков наступления тех или иных фаз развития по сумме эффективных температур дает большие ошибки (например, стадии отрождения гусениц яблонной плодовой жоржки) [38]. То есть эксплуатация только одного параметра – температура воздуха – не обеспечивает точного прогноза сроков развития вредителя, так как насекомые испытывают кратковременные задержки развития или периоды активации. Так как энталпия учитывает две составляющие – темпера-

туру и влажность, которые наиболее значимо влияют на скорость роста и развития пойкилотермных организмов (насекомые и др.), этот показатель является более предпочтительным.

Таким образом, использование предиктора – теплосодержание воздуха является оптимальным для прогноза фенологии большого числа видов вредных и полезных насекомых. На основании теплосодержания, рассчитанного за период прохождения вредителем сезонного цикла развития, прогнозируется и рассчитывается количество генераций за год. По результатам исследований появилась возможность на основе использования показателей энтальпии воздуха с вполне определенной достоверностью проводить прогноз появления фаз насекомых, что можно использовать в практических целях – оптимизации защитных мероприятий, связанных с применением инсектицидов, регуляторов роста и развития насекомых, энтомопатогенов и энтомофагов в сельскохозяйственных и лесных ценозах.

Заключение

Показано, что теплосодержание (энтальпия) воздуха является наиболее предпочтительным показателем оценки термических характеристик для определения сроков появления перезимовавших особей, прохождения фенофаз насекомых и количества их генераций по сравнению с суммой эффективных температур. Рассчитано количество тепла, необходимое для выхода клопа дубовая кружевница (*C. arcuata*) после зимней диапаузы (140–145 ккал/кг сухого воздуха) и прохождения преимагинальных стадий развития от откладки яиц (158–167 ккал/кг воздуха), отрождения личинок (180–194 ккал/кг) до окрыления имаго новой генерации (136–145 ккал/кг). Установлено, что находящееся в прямой зависимости от теплосодержания воздуха количество генераций дубовой кружевницы в центральной, северо-восточной и западной зонах Краснодарского края (умеренный климатический пояс) равняется трем, а в черноморской (субтропический климатический пояс) – четырем за сезонный цикл. Отмечена возможность появления дополнительных генераций вредителя в годы с более высоким теплосодержанием в ранневесенние и осенние месяцы. Для повышения достоверности прогнозирования сроков наступления фенологических фаз клопа дубовая кружевница разработана методика мониторинга фенофаз вредителя на основе расчета теплосодержания воздуха, которая может использоваться в практических целях для оптимизации защитных мероприятий в дубовых насаждениях (проведение обработок инсектицидами, выпуск энтомофагов и т.д.).

Литература

1. Froeschner R.C., Miller L.T. *Corythucha melissa*, a new species of lace bug (Heteroptera: Tingidae) from manzanita in California // Entomological News. 2002. Vol. 113, № 2. PP. 94–96.
2. Bernardinelli I. Potential host plants of *Corythucha arcuata* (Het., Tingidae) in Europe: a laboratory study // Journal of Applied Entomology. 2006. Vol. 130, № 9–10. PP. 480–484.

3. Bernardinelli I., Zandigiacomo P. First record of the oak lace bug *Corythucha arcuata* (Say) (Heteroptera, Tingidae) in Europe // *Informatore Fitopatologico*. 2000. № 12. PP. 47–49.
4. Bernardinelli I. GIS representation of *Corythucha arcuata* (Say) distribution in northern Italy // *Journal of Forestry Science*. 2001. Vol. 47. PP. 54–55.
5. Mutun S. First report of the oak lace bug, *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) from Bolu, Turkey // *Israel Journal of Zoology*. 2003. № 49 (4). PP. 323–324.
6. Mutun S., Ceyhan Z., Sözen C. Invasion by the oak lace bug, *Corythucha arcuata* (Say) (Heteroptera: Tingidae), in Turkey // *Turkish Journal of Zoology*. 2009. № 33. PP. 263–268.
7. Dobрева M., Simov N., Georgiev G., Mirchev P., Georgieva M. First record of *Corythucha arcuata* (Say) (Heteroptera: Tingidae) on the Balkan Peninsula // *Acta Zoologica Bulgarica*. 2013. Vol. 3, № 65. PP. 409–412.
8. Forster B., Giacalone I., Moretti M., Dioli P., Wermelinger B. Die amerikanische Eichennetzwanze *Corythucha arcuata* (Say) (Heteroptera, Tingidae) hat die Südschweiz erreicht // *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*. 2005. № 78. PP. 317–323.
9. Hrašovec B., Posarić D., Lukić I., Pernek M. First record of oak lace bug (*Corythucha arcuata*) in Croatia // *Šumarski list*. 2013. № 137 (9–10). PP. 499–503.
10. EPPO, 2019. *Corythucha arcuata* (Crthar). URL: <https://gd.eppo.int/taxon/CRTHAR/distribution> (дата обращения: 1.07.2020).
11. Gninenko Yu.I. Identification of invasive bugs in Russian forests. Pushkino : VNIILM, 2018. 32 p.
12. Гниненко Ю.И., Хегай И.В., Васильева У.А. Клоп дубовая кружевница – новый опасный инвайдер в лесах России // *Карантин растений. Наука и практика*. 2017. Т. 22, № 4. С. 9–12.
13. Гниненко Ю.И., Чернова У.А., Раков А.Г., Гимранов Р.И., Хегай И.В. Методические рекомендации по защите от дубового клопа-кружевницы (для производственной проверки). Пушкино : ВНИИЛМ, 2019. 28 с.
14. Neimorovets V.V., Shchurov V.I., Bondarenko A.S., Skvortsov M.M., Konstantinov F.V. First documented outbreak and new data on the distribution of *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Hemiptera: Tingidae) in Russia // *Acta Zoologica Bulgarica*. 2017. Suppl. 9. PP. 139–142.
15. Карпун Н.Н. Проценко В.Е., Борисов Б.А., Ширяева Н.В. Обнаружение дубовой кружевницы *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) в субтропической зоне Черноморского побережья Кавказа и прогноз изменения фитосанитарной ситуации в регионе // *Евразийский энтомологический журнал*. 2018. Т. 17, № 2. С. 113–119. doi: [10.15298/euroasentj.17.2.07](https://doi.org/10.15298/euroasentj.17.2.07)
16. Стрюкова Н.М., Омеляненко Т.З., Голуб В.Б. Дубовая кружевница в Республике Крым // *Защита и карантин растений*. 2019. № 9. С. 43–44.
17. Мартынов В.В., Никулина Т.В. Дубовая кружевница *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Hemiptera: Tingidae) – новый инвазивный вредитель в лесах юго-западной части Горного Крыма // *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2020. № 72. С. 124–138. doi: [10.31360/2225-3068-2020-72-124-138](https://doi.org/10.31360/2225-3068-2020-72-124-138)
18. Мартынов В.В., Никулина Т.В. Первая находка дубовой кружевницы *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Hemiptera: Tingidae) в Ставропольском крае // *Сборник статей III Международной научно-практической конференции, посвященной памяти Вадима Анатольевича Цинкевича (1971–2018) «Итоги и перспективы развития энтомологии в Восточной Европе»*, 19–21 ноября 2019 г., г. Минск, Беларусь. Минск : А.Н. Вараксин, 2019. С. 245–247.
19. Щуров В.И., Замотайлов А.С., Бондаренко А.С., Щурова А.В., Скворцов М.М., Глушенко Л.С. Кружевница дубовая *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) на Северо-Западном Кавказе: фенология, биология, мониторинг территориальной экспансии и вредоносности // *Известия Санкт-Петербургской*

- лесотехнической академии. 2019. Вып. 228. С. 58–87. doi: [10.21266/2079-4304.2019.228.58-87](https://doi.org/10.21266/2079-4304.2019.228.58-87)
20. Иерусалимов Е.Н. Зоогенная дефолиация и лесное сообщество. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2004. 263 с.
 21. Halbert S.E. and Meeker J.R. Sycamore Lace Bug, *Corythucha ciliata* (Say) (Insecta: Hemiptera: Tingidae) // EDIS. 2004. Vol. 4. PP. 1–4.
 22. Щуров В.И., Замотайлов А.С., Щурова А.В. Особенности сезонного цикла и экологии кружевницы дубовой *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) в природных зонах и высотных поясах Западного Кавказа (Heteroptera: Tingidae) // Материалы международной научной конференции «Биосфера и человек». 24–25 октября 2019 г., г. Майкоп, Республика Адыгея. Майкоп : ООО «Электронные издательские технологии», 2019. С. 118–120.
 23. Борисов Б.А., Карпун Н.Н., Бибин А.Р., Грабенко Е.А., Ширяева Н.В., Лянгузов М.Е. Новые данные о трофических связях инвазионного клопа дубовой кружевницы *Corythucha arcuata* (Heteroptera: Tingidae) в Краснодарском крае и Республике Адыгея по результатам исследований в 2018 году // Субтропическое и декоративное садоводство. 2018. № 67. С. 188–203. doi: [10.31360/2225-3068-2018-67-188-203](https://doi.org/10.31360/2225-3068-2018-67-188-203)
 24. Щуров В.И., Бондаренко А.С., Скворцов М.М., Щурова А.В. Чужеродные насекомые – вредители леса, выявленные на северо-западном Кавказе в 2010–2016 гг., и последствия их неконтролируемого расселения // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2017. Вып. 220. С. 212–228. doi: [10.21266/2079-4304.2017.220.212-228](https://doi.org/10.21266/2079-4304.2017.220.212-228)
 25. Wu H., Liu H. Movement behavior and host location ability of *Corythucha ciliata* // Plos One. 2016. Vol. 11, № 3. PP. 1–13. doi: [10.1371/journal.pone.0152205](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152205)
 26. Дребуадзе Ю.Ю., Петросян В.Г., Хляп Л.А. Самые опасные инвазионные виды России (ТОП-100). М. : Товарищество научных изданий КМК, 2018. 688 с.
 27. Ju R.T., Wang F., Li B. Effects of temperature on the development and population growth of the sycamore lace bug, *Corythucha ciliata* // Journal of Insect Science. 2011. Vol. 11, № 1. PP. 1–16. doi: [10.1673/031.011.0116](https://doi.org/10.1673/031.011.0116)
 28. Ju R.T., Gao L., Zhou X.H., Li B. Tolerance to High Temperature Extremes in an Invasive Lace Bug, *Corythucha ciliata* (Hemiptera: Tingidae), in Subtropical China // Plos One. 2013. Vol. 8, № 1. PP. 1–8. doi: [10.1371/journal.pone.0054372](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054372)
 29. Ju R.T., Luo Q.Q., Gao L., Zhou X.H., Yang J., Li B. Identification of HSP70 gene in *Corythucha ciliata* and its expression profiles under laboratory and field thermal conditions // Cell Stress and Chaperones. 2018. Vol. 23. PP. 195–201.
 30. Ju R.T., Xiao Y.Y., Li B. Rapid cold hardening increases cold and chilling tolerances more than acclimation in the adults of the sycamore lace bug, *Corythucha ciliata* (Say) (Hemiptera: Tingidae) // Journal of Insect Physiology. 2011. Vol. 57, № 11. PP. 1577–1582. doi: [10.1016/j.jinsphys.2011.08.012](https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2011.08.012)
 31. Ju R.T., Wang F., Xiao Y.Y., Li B. Supercooling capacity and cold hardiness of the adults of the sycamore lace bug, *Corythucha ciliata* (Hemiptera: Tingidae) // Cryo Letters. 2010. № 31 (6). PP. 445–453.
 32. Прогноз и архив погоды для городов России. URL: <https://weatherarchive.ru/catalog1> (дата обращения: 1.12.2020).
 33. Чернова Н.М., Былова А.М. Общая экология : учебник. М. : Дрофа, 2004. 416 с.
 34. Замотайлов А.С., Попов И.Б., Белый А.И. Экология насекомых : краткий курс лекций. Краснодар : КубГАУ, 2009. 184 с.
 35. Saulich A.Kh., Musolin D.L. Seasonal development of aquatic and semiaquatic true bugs (Heteroptera). St. Petersburg : Saint-Petersburg University Press, 2007. 225 p.
 36. Александров М.В. Тепло атмосферы и прогнозы развития пойкилотермных аэробов. Ташкент : Фан, 1974. 164 с.

37. Шарова И.Х. Зоология беспозвоночных : учеб. для студ. высш. учеб. заведений. М. : Гуманит. изд. центр ВЛАДОС, 2002. 592 с.
38. Болдырев М.И. Теплосодержание воздуха и продолжительность развития яблонной плодовой гнили // Вестник сельскохозяйственной науки. 1983. № 7. С. 59–64.
39. Badowska-Czubik T., Suski Zbigniew W. Influence of variable temperature on the development of the codling moth *Laspeyresia pomonella* L. // Agr. Meteor. 1981. № 4. PP. 112–121.

Поступила в редакцию 11.01.2021 г.; повторно 24.05.2021 г.;
принята 31.05.2021 г.; опубликована 29.06.2021 г.

Авторский коллектив:

Беседина Екатерина Николаевна, канд. биол. наук, с.н.с. сектора биотехнологии, ФГБНУ «Федеральный научный центр биологической защиты растений» (Россия, 350039, г. Краснодар, п/о 39, ВНИИБЗР).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9976-5614>

E-mail: katrina7283@yandex.ru

Исмаилов Владимир Яковлевич, канд. биол. наук, заведующий лабораторией химической коммуникации и массового разведения насекомых, ФГБНУ «Федеральный научный центр биологической защиты растений» (Россия, 350039, г. Краснодар, п/о 39, ВНИИБЗР).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6713-0059>

E-mail: vlyaism@yandex.ru

For citation: Besedina EN, Ismailov VYa. Monitoring the development of the oak lace bug (*Corythucha arcuata* Say) based on the use of atmospheric heat content. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;54:138-157. doi: 10.17223/19988591/54/7
In Russian, English Summary

Ekaterina N. Besedina, Vladimir Ya. Ismailov

Federal Scientific Center of Biological Plant Protection, Krasnodar, Russian Federation

**Monitoring the development of the oak lace bug
(*Corythucha arcuata* Say) based on the use of atmospheric heat content**

In recent years, a negative situation has developed as a result of mass invasions of adventive pests on the lands of the forest fund, among which the oak lace bug *Corythucha arcuata* Say (Heteroptera: Tingidae) requires special attention. The pest poses a great danger to the survival and productivity of oak forests and forest plantations in the South of Russia. The existing methods of pest monitoring do not always reflect the real constants of the phenology of target objects, which leads to errors in determining the optimal timing of protective measures and a decrease in their effectiveness. Hence, research in the development of precision methods for phytosanitary monitoring of harmful species is an important problem of plant protection, especially biological. The study of the phenology and dynamics of the oak lace bug will allow optimizing protective measures, taking into account the most vulnerable phases of phytophage development and the timing of treatments. The aim of this study was to develop precision methods for monitoring the dynamics of the number and age structure of the oak lace bug population based on the use of the heat content of the atmosphere.

The studies were carried out in the central (Krasnodar), northeastern (Tikhoretsk) and western (Krymsk) zones of Krasnodar Krai belonging to the temperate climatic zone, as well as the Black Sea zone (Sochi), located in the subtropical climatic zone. The choice of localities for the research was carried out taking into account the territories of invasive distribution of the oak lace bug and the differences in climatic conditions

from moderate continental to subtropical. The calculation of the heat content (enthalpy) of air was carried out using a modified Ramzin nomogram (See Fig. 1). Phenological observations and counting of the number of *C. arcuata* bugs were carried out on model trees of English oak (*Quercus robur* L.) (See Fig. 2). The reference date was chosen empirically based on the use of heat content indicators that are different in terms of reference periods and corresponding to these periods (See Table 1).

As a result of the studies carried out during 2018-2020, the actual dates of the onset of the phenophases of the oak lace bug and the corresponding enthalpy of air (the heat content) were determined (See Table 2). We calculated the amount of heat required for the emergence of the oak lace bug after winter diapause (140-145 kcal/kg air) and passing through the preimaginal stages of development from egg-laying (158-167 kcal/kg), hatching of larvae (180-194 kcal/kg) before fledging of adults of a new generation (136-145 kcal/kg). The sum of effective temperatures (SET) was calculated according to the generally accepted method (Chernova, Bylova, 2004; Zamotajlov et al., 2009) (See Table 3). We have shown that the enthalpy of air is the most preferable indicator for assessing thermal characteristics for determining the timing of the appearance of overwintered individuals, the passage of phenophases of insects and the number of their generations in comparison with the sum of effective temperatures (See Table 2 and 3). We found that the number of generations of oak lace bug in the central, western and northeastern zones (temperate climatic zone) of Krasnodar Krai, which is directly dependent on the heat content of the air, was three, and in the Black Sea zone (subtropical climatic zone) there were four generations per seasonal cycle. To improve the reliability of predicting the timing of phenological phases of the oak lace bug, a method for monitoring phenophases of the pest based on calculating the heat content of the air has been developed, which can be used for practical purposes to optimize protective measures associated with the use of insecticides, growth and development regulators of insects, entomopathogens and entomophages in agricultural and forest cenoses.

Thus, distribution, development rate, number dynamics and harmfulness of the species to the greatest extent depend on the ecological resource of the inhabited territory, determined by the enthalpy of the air. On the basis of enthalpy, the rate of passage of phenophases and the number of generations of the pest, which determine its invasive development in large areas, are reliably calculated.

The paper contains 2 Figures, 3 Table and 39 References.

Key words: *Corythucha arcuata*; insects; pests; phenology; generation; enthalpy; biological plant protection.

Funding: The reported study was carried out in accordance with the State Assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of research work topic No. 0686-2019-0012 partially supported by the Russian Foundation for Basic Research and the Administration of Krasnodar Krai according to the Scientific Project No. 19-44-233009 r_mol_a.

The Authors declare no conflict of interest.

References

1. Froeschner RC, Miller LT. *Corythucha melissa*, a new species of lace bug (Heteroptera: Tingidae) from manzanita in California. *Entomological News*. 2002;113(2):94-96.
2. Bernardinelli I. Potential host plants of *Corythucha arcuata* (Het., Tingidae) in Europe: a laboratory study. *Applied Entomology*. 2006;130(9-10):480-484.
3. Bernardinelli I, Zandigiacomo P. First record of the oak lace bug *Corythucha arcuata* (Say) (Heteroptera, Tingidae) in Europe. *Informatore Fitopatologico*. 2000;12:47-49.
4. Bernardinelli I. GIS representation of *Corythucha arcuata* (Say) distribution in northern Italy. *Forestry Science*. 2001;47:54-55.

5. Mutun S. First report of the oak lace bug, *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) from Bolu, Turkey. *Israel Zoology*. 2003;49(4):323-324.
6. Mutun S, Ceyhan Z, Sözen C. Invasion by the oak lace bug, *Corythucha arcuata* (Say) (Heteroptera: Tingidae), in Turkey. *Turkish Zoology*. 2009;33:263-268.
7. Dobрева M, Simov N, Georgiev G., Mirchev P, Georgieva M. First record of *Corythucha arcuata* (Say) (Heteroptera: Tingidae) on the Balkan Peninsula. *Acta Zoologica Bulgarica*. 2013;65(3):409-412.
8. Forster B, Giacalone I, Moretti M, Dioli P, Wermelinger B. Die amerikanische Eichennetzwanze *Corythucha arcuata* (Say) (Heteroptera, Tingidae) hat die Südschweiz erreicht. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*. 2005;78:317-323. In German
9. Hrašovec B, Posarić D, Lukić I, Pernek M. First record of oak lace bug (*Corythucha arcuata*) in Croatia. *Šumarski list*. 2013;137(9-10):499-503. In Croatia
10. EPPO, 2019. *Corythucha arcuata* (Crthar). [Electronic resource]. Available at: <https://gd.eppo.int/taxon/CRTHAR/distribution> (accessed: 01.07.2020).
11. Gninenko YuI. Identification of invasive bugs in Russian forests. Pushkino: VNIILM; 2018. 32 p.
12. Gninenko YuI, Kheday IV, Vasil'eva WA. Klop dubovaya kruzhevitsa - novyy opasnyy invayder v lesakh Rossii [Oak lace bug is a new dangerous invader in the forests of Russia]. *Karantin Rasteniy. Nauka i Praktika*. 2017;4(22):9-12. In Russian
13. Gninenko YuI, Chernova UA, Rakov AG, Gimranov RI, Kheday IV. Metodicheskie rekomendatsii po zashchite ot dubovogo klopa-kruzhevitsy (dlya proizvodstvennoy proverki) [Guidelines for protection against the oak lace bug (for production check)]. Pushkino: VNIILM Publ.; 2019. 28 p. In Russian
14. Neimorovets VV, Shchurov VI, Bondarenko AS, Skvortsov MM, Konstantinov FV. First documented outbreak and new data on the distribution of *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Hemiptera: Tingidae) in Russia. *Acta Zoologica Bulgarica*. 2017;9:139-142.
15. Karpun NN, Protsenko VE, Borisov BA, Shiryayeva NV. A new record of the oak lace bug, *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae), in subtropical zone of Black Sea coast of the Caucasus with forecast of phytosanitary situation change in the region. *Evrazijskii Entomologicheskii Zhurnal*. 2018;17(2):113-119. doi: [10.15298/euroasentj.17.2.07](https://doi.org/10.15298/euroasentj.17.2.07) In Russian, English Summary
16. Stryukova NM, Omelyanenko TZ, Golub VB. *Corythucha arcuata* in the Republic of Crimea. *Plant Protection and Quarantine*. 2019;9:43-44. In Russian, English Summary
17. Martynov VV, Nikulina TV. Oak lace bug *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Hemiptera: Tingidae) - a new invasive pest in forests of the south-western part of Mountain Crimea. *Subtropical and Ornamental Horticulture*. 2020;72:124-138. doi: [10.31360/2225-3068-2020-72-124-138](https://doi.org/10.31360/2225-3068-2020-72-124-138) In Russian, English Summary
18. Martynov VV, Nikulina TV. Pervaya nakhodka dubovoy kruzhevitsy *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Hemiptera: Tingidae) v Stavropol'skom krae [First finding of *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Hemiptera: Tingidae) in Stavropol region]. In: *Itogi i perspektivy razvitiya entomologii v vostochnoy Evrope*. Sbornik statey III Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy pamyati Vadima Anatol'evicha Tsinkevicha (1971-2018) [Results and prospects for the development of entomology in Eastern Europe. Proc. of the Int. Sci.-Pract Conf. (Minsk, Belarus, 19-21 November 2019)]. Varaksin AN, editor. Minsk: Minsk Publ.; 2019. pp. 245-247. In Russian, English Summary
19. Shchurov VI, Zamotajlov AS, Bondarenko AS, Shchurova AV, Skvortsov MM, Glushchenko LS. The oak lace bug *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) in the Northwestern Caucasus: phenology, biology, monitoring of the territorial expansion and harmfulness. *Izvestia Sankt-Peterburgskoj lesotehnikeskoy akademii*. 2019;228:58-87. doi: [10.21266/2079-4304.2019.228.58-87](https://doi.org/10.21266/2079-4304.2019.228.58-87) In Russian, English Summary

20. Ierusalimov EN. Zoogennaya defoliatsiya i lesnoe soobshchestvo [Zoogenic defoliation and forest community]. Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ.; 2004. 263 p. In Russian
21. Halbert SE, Meeker JR. Sycamore Lace Bug, *Corythucha ciliata* (Say) (Insecta: Hemiptera: Tingidae). *EDIS*. 2004;4:1-4.
22. Shchurov VI, Zamotajlov AS, Shchurova AV. Osobennosti sezonnogo tsikla i ekologii kruzhevnytsy dubovoy *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) v prirodnykh zonakh i vysotnykh poyasakh Zapadnogo Kavkaza (Heteroptera: Tingidae) [Features of the seasonal cycle and ecology of the oak lace bug *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) in natural zones and high-altitude zones of the Western Caucasus (Heteroptera: Tingidae) (Maykop, Adygeya Republic, 24-25 October 2019)]. In: *Biosfera i chelovek*. Materialy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii [Biosphere and Man. Proc. of the Int. Sci. Conf.]. Maykop: OOO «Elektronnye izdatel'skie tekhnologii» Publ.; 2019. pp.118-120. In Russian
23. Borisov BA, Karpun NN, Bibin AR, Grabenko EA, Shiryayeva NV, Lyanguzov ME. New data on trophic relations of the invasive oak lace bug *Corythucha arcuata* (Heteroptera: Tingidae) in the Krasnodar region and in the republic of Adygea based on the research findings for the year 2018. *Subtropical and ornamental horticulture*. 2018;67:188-203. doi: [10.31360/2225-3068-2018-67-188-203](https://doi.org/10.31360/2225-3068-2018-67-188-203) In Russian, English Summary
24. Shchurov VI, Bondarenko AS, Skvortsov MM, Shchurova AV. Alien forest insect pests revealed in the Northwest Caucasus in 2010-2016 and consequences of their uncontrolled dispersal. *Izvestia Sankt-Peterburgskoj Lesotekhnicheskoy Akademii*. 2017;220:212-228. doi: [10.21266/2079-4304.2017.220.212-228](https://doi.org/10.21266/2079-4304.2017.220.212-228) In Russian, English Summary
25. Wu H, Liu H. Movement Behavior and Host Location Ability of *Corythucha ciliata*. *Plos One*. 2016;11(3):1-13. doi: [10.1371/journal.pone.0152205](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152205)
26. Dgebuadze YuYu, Petrosyan VG, Khlyap LA. The most dangerous invasive species of Russia (TOP-100). Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ.; 2018. 688 p. In Russian
27. Ju RT, Wang F, Li B. Effects of temperature on the development and population growth of the sycamore lace bug, *Corythucha ciliata*. *J Insect Science*. 2011;11(1):1-16. doi: [10.1673/031.011.0116](https://doi.org/10.1673/031.011.0116)
28. Ju RT, Gao L, Zhou XH, Li B. Tolerance to High Temperature Extremes in an Invasive Lace Bug, *Corythucha ciliata* (Hemiptera: Tingidae), in Subtropical China. *Plos One*. 2013;8(1):1-8. doi: [10.1371/journal.pone.0054372](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054372)
29. Ju RT, Luo QQ, Gao L, Zhou XH, Yang J, Li B. Identification of HSP70 gene in *Corythucha ciliata* and its expression profiles under laboratory and field thermal conditions. *Cell Stress and Chaperones*. 2018;23:195-201
30. Ju RT, Xiao YY, Li B. Rapid cold hardening increases cold and chilling tolerances more than acclimation in the adults of the sycamore lace bug, *Corythucha ciliata* (Say) (Hemiptera: Tingidae). *J Insect Physiology*. 2011;57(11):1577-1582. doi: [10.1016/j.jinsphys.2011.08.012](https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2011.08.012)
31. Ju RT, Wang F, Xiao YY, Li B. Supercooling capacity and cold hardiness of the adults of the sycamore lace bug, *Corythucha ciliata* (Hemiptera:Tingidae). *Cryo Letters*. 2010;31(6):445-453
32. Prognoz i arhiv pogody dlja gorodov Rossii. [Electronic resource]. Available at: <https://weatherarchive.ru/catalog1> (accessed: 01.12.2020).
33. Chernova NM, Bylova AM. Obshhaya ekologiya. Uchebnik [General ecology. Textbook]. Moscow: Drofa Publ.; 2004. 416 p. In Russian
34. Zamotaylov AS, Popov IB, Belyi AI. Ekologiya nasekomykh. Kratkiy kurs lektsiy [Ecology of insects. Short course of lectures]. Krasnodar: Kuban State Agrarian University Publ.; 2009. 184 p. In Russian

35. Saulich AKh, Musolin DL. Seasonal development of aquatic and semiaquatic true bugs (Heteroptera). St. Petersburg: Saint-Petersburg University Press; 2007. 225 p. In Russian
36. Alexandrov MV. Teplo atmosfery i prognozy razvitiya poikilothermykh aerobov [The warmth of the atmosphere and forecasts of development of poikilothermic aerobes]. Tashkent: Fan Publ.; 1974. 164 p. In Russian
37. Sharova IKh. Zoologiya bespozvonochnykh: Ucheb. dlya stud. vyssh. ucheb. zavedeniy [Zoology of invertebrates: Textbook for students of Higher Education]. Moscow: Gumanit. izd. tsentr VLADOS Publ.; 2002. 592 p. In Russian
38. Boldyrev MI. Teplosoderzhanie vozduha i prodolzhitel'nost' razvitiya jablonnoj plodozhorki [The heat content of the air and the duration of the codling moth development]. *Vestnik Sel'skhozjajstvennoj Nauki*. 1983;7:59-64. In Russian
39. Badowska-Czubik T, Suski Zbigniew W. Influence of variable temperature on the development of the codling moth *Laspeyresia pomonella* L. *Agr. Meteor.* 1981;4:112-121.

*Received 11 January 2021; Revised 24 May 2021;
Accepted 31 May 2021; Published 29 June 2021.*

Author info:

Besedina Ekaterina N, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Sector of Biotechnology, FSBSI "Federal Scientific Center of Biological Plant Protection", p/o 39, Krasnodar 350039, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9976-5614>

E-mail: katrina7283@yandex.ru

Ismailov Vladimir Ya, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Chemical Communication and Mass Insect Breeding, FSBSI "Federal Scientific Center of Biological Plant Protection", p/o 39, Krasnodar 350039, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6713-0059>

E-mail: vlyaism@yandex.ru

УДК 528.88: 504.062
doi: 10.17223/19988591/54/8

Н.В. Иванова^{1,2}, М.П. Шашков², В.Н. Шанин²

¹ Институт математических проблем биологии РАН – филиал
ИПМ им. М.В. Келдыша РАН, г. Пуцзино, Россия

² Институт физико-химических и биологических проблем
почвоведения ФИЦ ПНЦБИ РАН, г. Пуцзино, Россия

Определение характеристик смешанных древостоев по данным аэрофотосъёмки с применением беспилотного летательного аппарата (БПЛА)

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда
(проект № 18-14-00362-П). Анализ данных выполнен Н.В. Ивановой частично
в рамках бюджетной темы ИМПБ РАН – филиала ИПМ им. М.В. Келдыша РАН.

*Оценены характеристики смешанного древостоя по данным, полученным с помощью беспилотного летательного аппарата (БПЛА) – квадрокоптера. Исследования проведены на постоянной пробной площади 100×100 м в Приокско-Тerrasном биосферном заповеднике (Московская обл.), где ранее наземными методами картографировано расположение деревьев и проекций их крон. По цифровой модели высот древесного полога, построенной на основе данных аэрофотосъёмки, выполнен автоматический поиск деревьев и получены оценки их высот. Сопоставление результатов с данными наземных исследований и ортофотопланом показало, что из 241 найденного алгоритмом дерева 175 обнаружены корректно (72,6%). Использованный метод позволил автоматически выделить большинство деревьев в пологе леса. Определение положения хвойных деревьев (сосны и ели) почти всегда являлось корректным. При детектировании лиственных деревьев (в основном берёзы) в пределах одной кроны алгоритм часто находил несколько вершин, соответствующих на самом деле крупным скелетным ветвям. Высоты деревьев, оцененные автоматически по данным аэрофотосъёмки, хорошо согласовывались с высотами, измеренными наземными методами. Для корректно детектированных деревьев среднее значение высоты, полученное по данным аэрофотосъёмки, составило 25,0±4,8 м, по данным наземных исследований – 25,3±5,2 м. Зависимость между данными аэрофотосъёмки и полевыми измерениями соответствовала линейной модели ($y=k*x$, $R^2=0,99$, $k=0,98$). Полученные результаты показывают перспективность использования данных БПЛА для оценки таксационных характеристик древостоев, тем не менее для получения надежных оценок требуется верификация полученных автоматически данных.*

Ключевые слова: БПЛА; цифровая модель высот древесного полога; автоматическое детектирование деревьев; смешанные леса

Для цитирования: Иванова Н.В., Шашков М.П., Шанин В.Н. Определение характеристик смешанных древостоев по данным аэрофотосъёмки с применением беспилотного летательного аппарата (БПЛА) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 54. С. 158–175. doi: 10.17223/19988591/54/8

Введение

Важное направление развития методов дистанционного зондирования Земли – использование беспилотных летательных аппаратов (БПЛА). В последние годы эта технология все шире применяется в исследованиях лесных экосистем [1, 2]. Востребованность данных БПЛА в этой области обусловлена несколькими причинами. Во-первых, такой подход позволяет быстро получить информацию для больших площадей (в десятки и более га) при низких трудозатратах, что делает данные БПЛА важным дополнением к традиционным наземным методам исследований [3–5]. Во-вторых, двухмерные изображения (ортофотопланы), являющиеся результатом обработки данных аэрофотосъемки, имеют высокое пространственное разрешение (до 1–3 см на местности), что делает их важным источником для визуального и автоматического дешифрирования. Фотограмметрическая обработка изображений позволяет строить трехмерные модели местности, которые являются основой для дальнейшего анализа данных.

Трехмерные цифровые модели и ортофотопланы широко применяются для изучения механизмов лесных сукцессий [6–9], исследования структуры древостоев [10–12], оценки наземной биомассы лесной растительности [5, 13], определения характеристик отдельных деревьев [4, 14–21]. Важно отметить, что большинство отечественных исследователей в данной предметной области работает с ортофотопланами (иногда с привлечением мультиспектральной съемки) [6, 12, 14, 21, 22], тогда как полученные на основе фотограмметрической обработки изображений [7, 12, 23, 24] или методом воздушного лазерного сканирования [25] трехмерные облака точек используются реже. В то же время зарубежными исследователями широко применяются методы анализа облаков точек и трехмерных цифровых моделей. Значительная часть подобных исследований выполнена в управляемых лесах с одноярусными одновидовыми древостоями, часто с регулярной схемой посадки [19, 26–31]. Показана перспективность использования такого подхода для оценки характеристик отдельных деревьев и древостоев в целом.

Цель исследования – определение некоторых характеристик смешанных древостоев по данным аэрофотосъемки при помощи БПЛА и оценка качества результатов по данным наземных измерений.

Материалы и методики исследования

В работе использованы данные наземного картографирования и результаты аэрофотосъемки постоянной пробной площади (ППП), расположенной на территории Приокско-Террасного государственного природного биосферного заповедника (г. о. Серпухов, Московская обл.). PPP размером 100×100 м (1 га) заложена в 2016 г., координаты центра 54,88876° с.ш., 37,56273° в.д. (WGS84). Методика наземных исследований подробно описана в работе В.Н. Шанина с соавт. [32] и заключалась в следующем: при за-

кладке ППП картографировано положение всех деревьев с диаметром ствола >6 см с помощью дальномера-угломера TruPulse 360В, для каждого живого дерева измерены высота и 4 радиуса проекции кроны от ствола по сторонам света, оценены принадлежность к одному из классов Крафта, а также некоторые другие характеристики. Для деревьев разных видов, относящихся к разным классам Крафта, выборочно определен возраст при помощи возрастного бура. По данным наземных исследований установлено, что древостой на ППП смешанный, в первом ярусе преобладают сосна (*Pinus sylvestris* L.) и берёза (*Betula* spp.), единично участвует осина (*Populus tremula* L.). Второй ярус образован елью (*Picea abies* (L.) H.Karst.), липой (*Tilia cordata* Mill.) и дубом (*Quercus robur* L.). В пологе леса имеются крупные окна, возникшие в результате усыхания ели (последствия засухи 2010 г. и повреждения короедом-типографом *Ips typographus* (Linnaeus, 1758)). Средний возраст сосны в древостое 113 лет, берёзы – 100 лет, ели – 78 лет. План-схема проекций крон учетных деревьев представлена на рис. 1, число деревьев разных классов Крафта в табл. 1.

Аэрофотосъёмка ППП проведена 12 октября 2017 г. Выбор такого срока обусловлен тем, чтобы, с одной стороны, получить достаточное для дальнейшей обработки число точек класса «земная поверхность», так как в это время большинство растений уже не вегетирует, а с другой – контрастный растровый ортофотоплан с деревьями в осенней окраске для минимизации ошибок при визуальном дешифрировании. Съёмка проведена БПЛА – квадрокоптером DJI Phantom 4 в режиме mosaic flight mode с 90% перекрытием фотографий с высоты 68 м. Технические характеристики камеры квадрокоптера представлены в табл. 2. Для предотвращения краевого эффекта съёмка выполнена с буферной зоной шириной около 50 м.

Плотное облако точек и ортофотоплан построены в программе фотограмметрической обработки Agisoft Metashape [33] – отечественном продукте, который широко применяется в мире [9, 24, 27, 29]. Затем облако точек обработано в среде статистического программирования R [34] для получения модели высот древесного полога (canopy height model, СНМ). Используются специализированные пакеты, предназначенные для анализа данных воздушного лазерного сканирования, для которых используются те же методы, что и для обработки фотограмметрических облаков точек. Последовательность этапов работы с плотными облаками точек для получения СНМ подробно описана в литературе [29, 35].

На первом этапе использованы функции пакета lidR. Сначала выделены точки, относящиеся к классу «земная поверхность», с помощью функции *lasground()* по алгоритму cloth simulation filtering [36].

Этот алгоритм разработан специально для обработки данных природных (не городских) территорий и позволяет учесть особенности микрорельефа за счет разной эластичности виртуальной ткани, которая опускается на перевернутое облако точек.

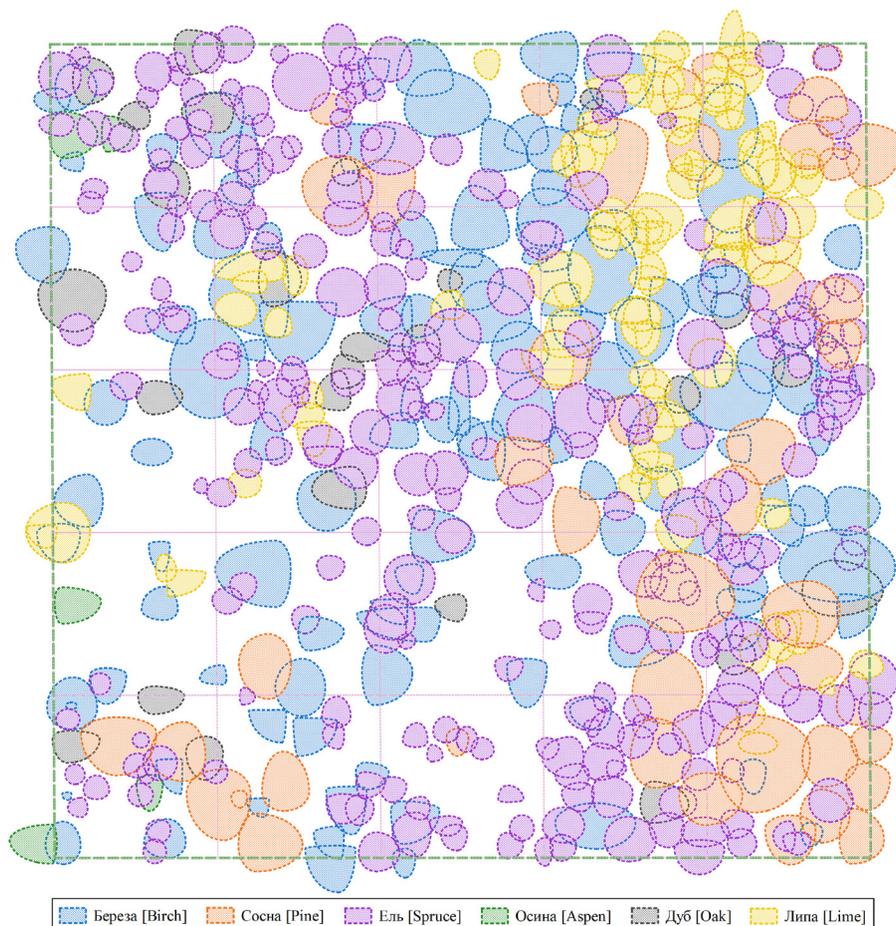


Рис. 1. План-схема проекций крон на постоянной пробной площадке (ППП)
Fig 1. The scheme of tree crown projections on the permanent sampling plot

Таблица 1 [Table 1]

Число деревьев разных классов Крафта, учтенных на ППП
[Number of trees of each Kraft's class observed on the permanent sampling plot]

Деревья [Trees]	Классы Крафта [Kraft's classes]				
	I	II	III	IV	V
Береза [Birch]	12	74	35	13	0
Сосна [Pine]	21	21	3	2	0
Ель [Spruce]	2	19	61	180	5
Осина [Aspen]	1	3	1	0	0
Дуб [Oak]	0	2	15	11	0
Липа [Lime]	0	2	12	76	12
Всего [Total]	36	121	127	282	17

Таблица 2 [Table 2]

Технические характеристики камеры квадрокоптера DJI Phantom 4
[Technical parameters of DJI Phantom 4 camera]

Характеристика [Parameter]	Значение [Value]
Камера [Camera]	FC 330
Матрица [Image sensor]	1 / 2.3" CMOS
Объектив [Camera lens]	FOV 94° 20 мм
Диафрагма [Aperture]	f / 2.8
Диапазон ISO [ISO range]	100–1600
Цветовое пространство [RGB color space]	sRGB
Скорость затвора [Shutter speed]	1 / 8000 s
Размер изображения, пикселей [Photo size]	12 Мп, 4000 × 3000
Формат изображений [Image format]	JPEG, RAW

Затем выполнена нормализация набора данных с помощью функции *lasnormalize()* по алгоритму tin, в процессе которой значения высот нормированы на уровень земной поверхности. Этот алгоритм пространственной интерполяции на основе триангуляции Делоне выполняет линейную интерполяцию внутри каждого треугольника. Далее построена CHM по алгоритму pit-free [37] с помощью функции *grid_canopy()*. Этот алгоритм основан на вычислении триангуляций на разных высотах и позволяет избежать пикселей с неинтерпретированной высотой. На следующем этапе по цифровой модели высот выделены отдельные деревья. Для поиска вершин деревьев и определения их высот использован алгоритм, реализованный в функции *FindTreesCHM()* пакета rLiDAR [35]. Алгоритм основан на поиске локальных максимумов при помощи скользящего окна заданного размера с учетом минимальной возможной высоты дерева. В результате предварительных запусков функции с разными сочетаниями этих аргументов минимальная высота для выделения отдельных деревьев принята в 1,37 м, размер окна 5×5 пикселей.

Полученные автоматически координаты вершин конвертированы в точечный векторный файл. Далее в среде QGIS [38] при визуальном сопоставлении полученного слоя с ортофотопланом и данными наземной съемки экспертно оценены результаты автоматического поиска вершин деревьев. Дерево считалось найденным корректно, если автоматически найденная вершина лежала в пределах кроны соответствующего дерева на ортофотоплане. Если в пределах кроны детектировано несколько вершин, дерево считалось найденным корректно, но для дальнейшего анализа оставляли маркер только одной вершины с наибольшим значением высоты (вычисленным автоматически), другие вершины учтены как ложные, и соответствующие точки удалены вручную.

Затем рассчитана доля корректно детектированных алгоритмом деревьев относительно всех найденных автоматически. Для деревьев I–II классов Крафта рассчитана доля корректно найденных алгоритмом деревьев относительно учтенных наземными методами. Для всех корректно детектированных алгоритмом живых деревьев выполнено сравнение высот, оцененных по цифровой модели высот, и полученных в результате наземных измерений.

Результаты исследования и обсуждение

В ходе работы выполнена фотограмметрическая обработка материалов аэрофотосъемки, на основе которой построены плотное облако точек и ортофотоплан, затем рассчитана цифровая модель высот древесного полога, по которой выполнен автоматический поиск деревьев и оценены их высоты, после чего проведена верификация результатов по данным наземных исследований.

Для построения плотного облака точек и ортофотоплана использовано 501 изображение. Получено плотное облако точек, содержащее 3,57 млн точек плотностью 163,7 точки/м². После его обработки получены цифровая модель высот с разрешением 50 см/пиксель и ортофотоплан (3 см/пиксель). По модели высот в пределах ППП автоматически детектировано 241 дерево (рис. 2, А).

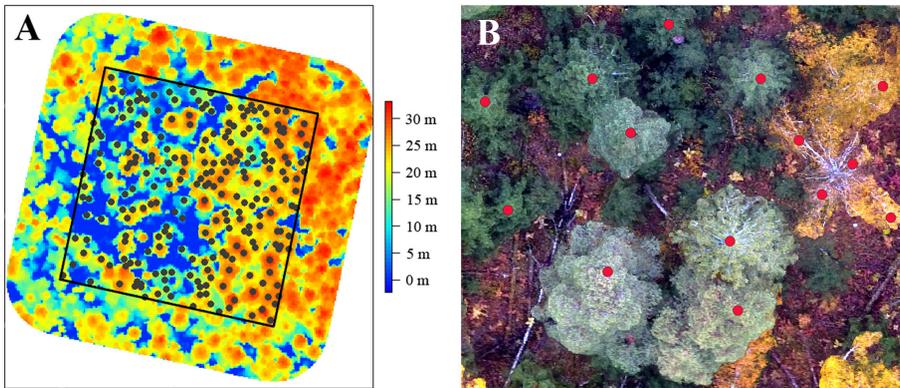


Рис. 2. Результаты автоматического поиска деревьев по алгоритму [18].

A – найденные алгоритмом деревья на цифровой модели высот. Рамка – границы ППП;

B – найденные алгоритмом деревья на фрагменте ортофотоплана

[Fig 2. Trees detected by algorithm [18].

A - Detected trees in the CHM. Frame - Borders of the permanent sampling plot;

B - Detected trees in the orthophoto mosaic image]

Сопоставление полученных результатов с ортофотопланом показало лишь частичное соответствие вершин, найденных автоматически, и деревьев, визуально детектируемых на ортофотоплане (рис. 2, В, табл. 3). Доля корректно детектированных деревьев (от всех найденных алгоритмом) составила 72,6% (175 деревьев). Выяснено, что автоматическое определение положения вершин хвойных деревьев почти всегда выполнено корректно. Все найденные автоматически вершины, соответствующие деревьям ели, найдены алгоритмом правильно. Число ложных срабатываний для сосны невелико. При поиске вершин лиственных деревьев (в основном берёзы) в пределах одной кроны алгоритм, как правило, находил несколько ложных вершин, соответствующих на самом деле крупным скелетным ветвям, в ре-

зультате чего одно дерево учитывалось как несколько (рис. 2, В). Вершины других лиственных деревьев (осины, липы и дуба) определены алгоритмом с разной степенью корректности, но небольшое число этих деревьев не позволило сделать выводы о качестве их обнаружения. Сухостойные деревья успешно детектированы по цифровой модели высот. Единственное ложное срабатывание соответствовало крупной скелетной ветви сухостойного дуба.

Таблица 3 [Table 3]

Качество автоматического поиска вершин деревьев
[The quality of automatic detection of trees]

Деревья [Trees]	Общее число автоматически детектированных деревьев, шт. [Total number of trees detected by algorithm, ind.]	Число корректно детектированных деревьев, шт. [Number of correctly detected trees, ind.]	Доля корректно детектированных деревьев [Percentage of correctly detected trees], %
Живые деревья [Living trees]			
Береза [Birch]	134	78	58,2
Сосна [Pine]	50	43	86,0
Ель [Spruce]	30	30	100
Осина [Aspen]	3	3	100
Дуб [Oak]	4	2	50,0
Липа [Lime]	2	2	100
Всего [Total]	223	158	70,9
Сухостойные деревья [Dead trees]			
Ель [Spruce]	16	16	100
Другие деревья [Other trees]	2	1	50,0
Всего [Total]	18	17	94,4

На следующем этапе выполнено сравнение полученных автоматически результатов поиска вершин деревьев с фактическим числом деревьев на ППП, учтенных наземными методами. В данном случае рассмотрены только деревья, относящиеся к пологу древостоя (I и II классы Крафта), так как они визуально могли быть выделены на ортофотоплане. На момент проведения аэрофотосъемки на ППП насчитывалось 157 деревьев I и II классов Крафта. Из них алгоритмом корректно детектированы 128 (81,5%), т.е. использованный нами метод позволяет учесть большинство деревьев в пологе древостоя. Более низкие деревья детектированы автоматически только в тех случаях, когда они росли в окнах в пологе и их кроны не перекрывались с другими деревьями. В частности, из 127 деревьев III класса Крафта автоматически найдено только 30. Алгоритмом также обнаружены 17 из 22 учтенных наземными методами сухостойных деревьев.

Таким образом, использованный нами метод автоматического поиска вершин позволяет выделить большинство деревьев в пологе, но наиболее надежные оценки дает при детектировании хвойных деревьев. Эти результаты согласуются с выводами других исследователей [5, 7, 29, 35]. Присутствие в древостое старых лиственных деревьев приводит к завышению получа-

емых автоматически оценок и требует дополнительной верификации. При этом известно, что молодые лиственные деревья, для которых характерна одна, хорошо выраженная вершина, по цифровой модели высот можно детектировать с высокой точностью. Согласно литературным данным [7], точность автоматического распознавания вершин в молодых березовых лесах (до 20 лет) составляет 70–90%. Для успешного детектирования лиственных деревьев старших классов возраста по данными аэрофотосъемки, вероятно, более эффективно использовать ортофотопланы (т.е. растровые изображения цветовой модели RGB (red, green, blue)) и алгоритмы неконтролируемой классификации, такие как метод *k*-средних и ISODATA [39, 40].

Высоты, полученные алгоритмом по данным аэрофотосъемки, хорошо согласовывались с высотами, измеренными наземными методами. Для выборки всех корректно детектированных автоматически деревьев среднее значение высоты по данным аэрофотосъемки составило $25,0 \pm 4,8$ м (мин. 8,2 м, макс. 32,9 м), по данным наземных исследований – $25,3 \pm 5,2$ м (мин. 5,9 м, макс. 34,0 м). Значимых различий между средними значениями высот, полученных обоими методами, не выявлено (парный критерий Стьюдента, $p=0,049$). Зависимость между данными аэрофотосъемки и полевыми измерениями соответствовала линейной модели $y=k*x$ ($R^2=0,99$, $k=0,98$) (см. рис. 2). Высоты, полученные по данным аэрофотосъемки, в среднем на 1,5% ниже полученных при наземных измерениях.

Сравнения на уровне отдельных видов деревьев показали, что наибольшие различия высот, измеренных двумя методами, характерны для березы, наименьшие – для ели, сосна занимает промежуточное положение (рис. 3, А). Данный результат можно объяснить особенностями морфологии крон деревьев разных видов. Наличие крупных скелетных ветвей у березы не только приводит к ложным срабатываниям алгоритма, но и затрудняет визуальное выделение вершины при наземных измерениях, что может вносить ошибку в определение высоты. Как видно из рис. 3, В, результаты наземных измерений высот березы и сосны более вариабельны по сравнению с оценками, полученными автоматически. Расчет коэффициентов вариации (табл. 4) также показал, что высоты березы и сосны, измеренные наземными методами, варьируют несколько больше, чем высоты, оцененные автоматически.

Крона ели, как правило, имеет хорошо распознаваемую вершину. Значения коэффициентов вариации высот ели, оцененных двумя методами, практически совпадают. Это означает, что наземные измерения высот, выполненные по одной методике, имеют разную точность для деревьев разных видов, что важно учитывать при оценке данных аэрофотосъемки.

В то же время значения высот, полученные автоматически по цифровой модели, по всей видимости, также имеют погрешности. Например, неизвестно, насколько полно учитываются особенности микрорельефа при определении точек класса «земная поверхность» и последующей нормализации облака точек. Для изучения этих вопросов требуются дополнительные исследования.

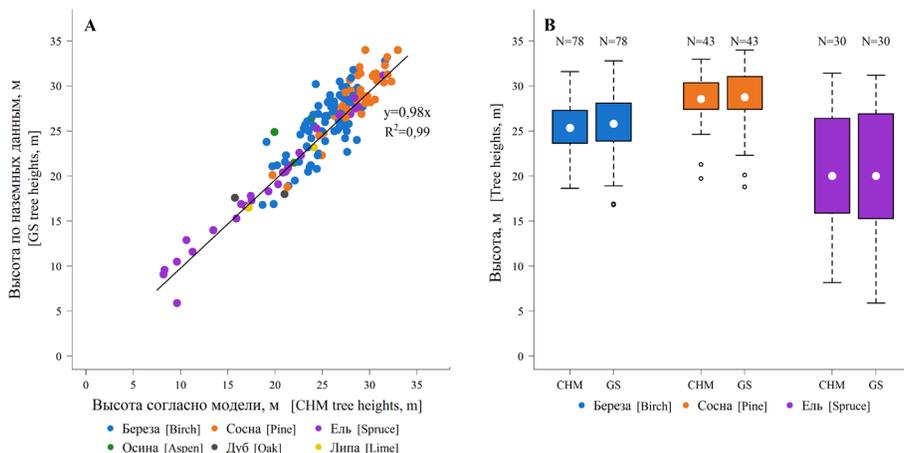


Рис. 3. Соотношение высот деревьев по данным аэрофотосъемки (CHM) и наземным измерениям (GS). N – число измерений
[Fig. 3. Relationship between estimated (CHM) tree heights and the ground survey (GS), N - Number of measurements]

Таблица 4 [Table 4]

Коэффициенты вариации высот деревьев разных видов, оцененных по данным аэрофотосъемки и наземным измерениям
[Coefficient of variation of tree heights obtained by CHM and ground survey]

Коэффициенты вариации [Coefficients of variation]	Береза [Birch]	Сосна [Pine]	Ель [Spruce]
Коэффициент вариации высоты, оцененной автоматически по данным аэрофотосъемки [Coefficient of variation for tree height obtained by CHM]	10,1% (N = 78)	9,4% (N = 43)	34,5% (N = 30)
Коэффициент вариации высоты, измеренной наземными методами [Coefficient of variation for tree height obtained by ground survey]	12,9% (N = 78)	11,2% (N = 43)	34,3% (N = 30)

Заключение

Данное исследование – одно из первых в России по применению цифровых моделей высот древесного полога, полученных на основе данных аэрофотосъемки квадрокоптером, для изучения структуры древостоев в смешанных лесах. На основе сопоставления данных наземных исследований и результатов анализа материалов аэрофотосъемки постоянной пробной площади в Приокско-Тerrasном биосферном заповеднике выяснено, что по дистанционным данным получены приемлемые оценки численности деревьев и их высот. Автоматические методы поиска вершин позволяют выявить большинство деревьев в пологе леса. При этом качество детектирования вершин различается для деревьев разных видов. Вершины хвойных (ель и сосна) обнаружены с высокой точностью. При детектировании ли-

ственных деревьев (березы) в пределах одной кроны алгоритмом часто выделяются ложные вершины, соответствующие крупным скелетным ветвям. Результаты свидетельствуют о необходимости верификации получаемых автоматически данных при работе с материалами аэрофотосъемки многовидовых древостоев. Установлено хорошее соответствие между высотами деревьев, измеренными наземными методами и полученными по данным аэрофотосъёмки. Сделаны предварительные выводы о различиях в качестве оценки высот деревьев разных видов. Показано, что наземные измерения высот крупных деревьев березы и сосны, у которых часто сложно визуальное определить вершину, более вариабельны по сравнению с дистанционными оценками. Для ели, крона которой имеет хорошо распознаваемую вершину, подобных различий не выявлено.

В целом полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования аэрофотосъемки при помощи квадрокоптера для оценки таксационных характеристик древостоев. Тем не менее существующие алгоритмы поиска вершин деревьев пока не дают высококачественных результатов при обработке данных съемки смешанных древостоев. Для широкого применения этих методов в лесоведении и лесном хозяйстве необходимо совершенствование алгоритмов и методов обработки данных.

Литература

1. Anderson K., Gaston K.J. Lightweight unmanned aerial vehicles will revolutionize spatial ecology // *Frontiers in Ecology and the Environment*. 2013. Vol. 11, № 3. PP. 138–146. doi: [10.1890/120150](https://doi.org/10.1890/120150)
2. Pajares G. Overview and current status of remote sensing applications based on unmanned aerial vehicles (UAV) // *Photogrammetric Engineering & Remote Sensing*. 2015. Vol. 81, № 4. PP. 281–330. doi: [10.14358/PERS.81.4.281](https://doi.org/10.14358/PERS.81.4.281)
3. Dandois J., Ellis E.C. High spatial resolution three-dimensional mapping of vegetation spectral dynamics using computer vision // *Remote Sensing of Environment*. 2013. Vol. 136. PP. 259–276. doi: [10.1016/j.rse.2013.04.005](https://doi.org/10.1016/j.rse.2013.04.005)
4. Puliti S., Ole Orka H., Gobakken T., Naesset E. Inventory of small forest areas using an unmanned aerial system // *Remote Sensing*. 2015. Vol. 7, № 8. PP. 9632–9654. doi: [10.3390/rs70809632](https://doi.org/10.3390/rs70809632)
5. Messinger M., Gregory P., Asner G.P., Silman M. Rapid assessment of Amazon forest structure and biomass using small unmanned aerial systems // *Remote Sensing*. 2016. Vol. 8, № 8. PP. 1–15. doi: [10.3390/rs8080615](https://doi.org/10.3390/rs8080615)
6. Денисов С.А., Домрачев А.А., Елсуков А.С. Опыт применения квадрокоптера для мониторинга возобновления леса // *Вестник Поволжского государственного технологического университета. Серия: Лес. Экология. Природопользование*. 2016. № 4(32). С. 34–46. doi: [10.15350/2306-2827.2016.4.34](https://doi.org/10.15350/2306-2827.2016.4.34)
7. Медведев А.А., Тельнова Н.О., Кудиков А.В. Дистанционный высокодетальный мониторинг динамики зарастания заброшенных сельскохозяйственных земель лесной растительностью // *Вопросы лесной науки*. 2019. № 3. С. 1–12. doi: [10.31509/2658-607x-2019-2-3-1-12](https://doi.org/10.31509/2658-607x-2019-2-3-1-12)
8. Jaskierniak D., Kuczera G., Benyon R.G., Lucieer A. Estimating tree and stand sapwood area in spatially heterogeneous southeastern Australian forests // *Journal of Plant Ecology*. 2016. Vol. 9, № 3. PP. 272–284. doi: [10.1093/jpe/rtv056](https://doi.org/10.1093/jpe/rtv056)

9. Zhang J., Hud J., Liane J., Fan Z., Ouyang X., Ye W. Seeing the forest from drones: testing the potential of lightweight drones as a tool for long-term forest monitoring // *Seeing the forest*. 2016. Vol. 198. PP. 60–69. doi: [10.1016/j.biocon.2016.03.027](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.03.027)
10. Hudak A.T., Haren A.T., Crookston N.L., Liebermann R.J., Ohmann J.L. Imputing forest structure attributes from stand inventory and remotely sensed data in western Oregon, USA // *Forest Science*. 2014. Vol. 60. PP. 253–269. doi: [10.5849/forsci.12-101](https://doi.org/10.5849/forsci.12-101)
11. Hansen E.H., Gobakken T., Bollandsås O.M., Zahabu E., Næsset E. Modeling aboveground biomass in dense tropical submontane rainforest using airborne laser scanner data // *Remote Sensing*. 2015. Vol. 7, № 1. PP. 788–807. doi: [10.3390/rs70100788](https://doi.org/10.3390/rs70100788)
12. Ершов Д.В., Гаврилюк Е.А., Белова Е.И., Никитина А.Д. Определение породной структуры лесного участка по ортофотопланам беспилотной аэрофотосъемки // *Актуальные проблемы современного лесоводства. Вторые Международные чтения памяти Г.Ф. Морозова. Симферополь : ИТ «АРИАЛ», 2020. С. 141–152.*
13. Li W., Niu Z., Chen H., Li D., Wu M., Zhao W. Remote estimation of canopy height and aboveground biomass of maize using high-resolution stereo images from a low-cost unmanned aerial vehicle system // *Ecological Indicators*. 2016. Vol. 67. PP. 637–648. doi: [10.1016/j.ecolind.2016.03.036](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.03.036)
14. Богданов А.П., Алешко Р.А., Ильинцев А.С. Выявление взаимосвязи диаметра крон деревьев с различными таксационными показателями в северо-таежном лесном районе // *Вопросы лесной науки*. 2019. Т. 2, № 4. С. 1–10. doi: [10.31509/2658-607x-2019-2-4-1-10](https://doi.org/10.31509/2658-607x-2019-2-4-1-10)
15. Данилов М.С., Никитина А.Д., Тихонова Е.В. Использование аэрофотосъемки беспилотными летательными аппаратами для определения характеристик древостоя // *Актуальные проблемы экологии и природопользования: сборник научных трудов XXI Международной научно-практической конференции: в 3 т. Т. 1. М. : РУДН, 2020. С. 89–94.*
16. Zarco-Tejada P.J., Diaz-Varela R., Angileri V., Loudjani P. Tree height quantification using very high resolution imagery acquired from an unmanned aerial vehicle (UAV) and automatic 3D photo-reconstruction methods // *European Journal of Agronomy*. 2014. Vol. 55. PP. 89–99. doi: [10.1016/j.eja.2014.01.004](https://doi.org/10.1016/j.eja.2014.01.004)
17. Mohan M., Silva C.A., Klauber C., Jat P., Catts G., Cardil A., Hudak A.T., Dia M. Individual tree detection from unmanned aerial vehicle (UAV) derived canopy height model in an open canopy mixed conifer forest // *Forests*. 2017. Vol. 8, № 9. PP. 1–17. doi: [10.3390/f8090340](https://doi.org/10.3390/f8090340)
18. Birdal A.C., Avdan U., Türk T. Estimating tree heights with images from an unmanned aerial vehicle // *Geomatics, Natural Hazards and Risk*. 2017. Vol. 8. PP. 1144–1156. doi: [10.1080/19475705.2017.1300608](https://doi.org/10.1080/19475705.2017.1300608)
19. Bennett G., Hardy A., Bunting P., Morgan P., Fricker A. A transferable and effective method for monitoring continuous cover forestry at the individual tree level using UAVs // *Remote Sensing*. 2020. Vol. 12, № 13. PP. 1–21. doi: [10.3390/rs12132115](https://doi.org/10.3390/rs12132115)
20. Krisanski S., Taskhiri M.S., Turner P. Enhancing methods for under-canopy unmanned aircraft system based photogrammetry in complex forests for tree diameter measurement // *Remote Sensing*. 2020. Vol 12, № 10. PP. 1–21. doi: [10.3390/rs12101652](https://doi.org/10.3390/rs12101652)
21. Домнина Е.А., Тимонов А.С., Кантор Г.Я., Кислицына А.П., Савиных В.П. Опыт составления детальной карты растительности пойменного луга // *Теоретическая и прикладная экология*. 2017. № 1. С. 42–49. doi: [10.21046/2070-7401-2020-17-1-150-163](https://doi.org/10.21046/2070-7401-2020-17-1-150-163)
22. Санников П.Ю., Андреев Д.Н., Бузмаков С.А. Выявление и анализ сухостоя при помощи беспилотного летательного аппарата // *Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса*. 2018. Т. 15, № 3. С. 103–113. doi: [10.21046/2070-7401-2018-15-3-103-113](https://doi.org/10.21046/2070-7401-2018-15-3-103-113)
23. Медведев А.А., Тельнова Н.О., Кудиков А.В., Алексеенко Н.А. Анализ и картографирование структурных параметров редкостойных северотаежных

- лесов на основе фотограмметрических облаков точек // Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса. 2020. Т. 17, № 1. С. 150–163. doi: [10.21046/2070-7401-2020-17-1-150-163](https://doi.org/10.21046/2070-7401-2020-17-1-150-163)
24. Алешко Р.А., Алексеева А.А., Шошина К.В., Богданов А.П., Гурьев А.Т. Разработка методики актуализации информации о лесном участке с использованием снимков со спутников и малых БПЛА // Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса. 2017. Т. 14, № 5. С. 87–99. doi: [10.21046/2070-7401-2017-14-5-87-99](https://doi.org/10.21046/2070-7401-2017-14-5-87-99)
 25. Ковязин В.Ф., Виноградов К.П., Васильева Е.А., Киценко А.А. Воздушное лазерное сканирование для уточнения таксационных характеристик древостоев // Известия вузов. Лесной журнал. 2020. № 6. С. 42–54. doi: [10.37482/0536-1036-2020-6-42-54](https://doi.org/10.37482/0536-1036-2020-6-42-54)
 26. Zhou J., Proisy C., Descombes X., Le Maire G., Nouvellon Y., Stape J.L., Viennois G., Zerubia J., Couteron P. Mapping local density of young *Eucalyptus* plantations by individual tree detection in high spatial resolution satellite images // Forest Ecology and Management. 2013. Vol. 301. PP. 129–141. doi: [10.1016/j.foreco.2012.10.007](https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.10.007)
 27. Zahawi R.A., Dandois J.P., Holl K.D., Nadwodny D., Reid J.L., Ellis E.C. Using lightweight unmanned aerial vehicles to monitor tropical forest recovery // Biological Conservation. 2015. Vol. 186. PP. 287–295. doi: [10.1016/j.biocon.2015.03.031](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.03.031)
 28. Miller E., Dandois J.P., Detto M., Hall J.S. Drones as a tool for monoculture plantation assessment in the steepland tropics // Forests. 2017. Vol. 8, № 5. PP. 1–14. doi: [10.3390/f8050168](https://doi.org/10.3390/f8050168)
 29. Otero V., Van De Kerchove R., Satyanarayana B., Martínez-Espinosa C., Amir Bin Fisol M., Rodila Bin Ibrahim M., Sulong I., Mohd-Lokman H., Lucas R., Dahdouh-Guebas F. Managing mangrove forests from the sky: forest inventory using field data and unmanned aerial vehicle (UAV) imagery in the Matang Mangrove Forest Reserve, peninsular Malaysia // Forest Ecology and Management. 2018. Vol. 411. PP. 35–45. doi: [10.1016/j.foreco.2017.12.049](https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.12.049)
 30. Eysn L., Hollaus M., Lindberg E., Berger F., Monnet J.-M., Dalponte M., Kobal M., Pellegrini M., Lingua E., Mongus D., Pfeifer P. A benchmark of LiDAR-based single tree detection methods using heterogeneous forest data from the alpine space // Forests. 2015. Vol. 6, № 5. PP. 1721–1747. doi: [10.3390/f6051721](https://doi.org/10.3390/f6051721)
 31. Picos J., Bastos G., Míguez D., Alonso L., Armesto J. Individual tree detection in a *Eucalyptus* plantation using unmanned aerial vehicle (UAV)-LiDAR // Remote Sensing. 2020. Vol. 12. PP. 1–17. doi: [10.3390/rs12050885](https://doi.org/10.3390/rs12050885)
 32. Шанин В.Н., Шашков М.П., Иванова Н.В., Быховец С.С., Грабарник П.Я. Исследование структуры древостоев и микроклиматических условий под пологом леса на постоянной пробной площади в Приокско-Тerrasном заповеднике // Труды Приокско-Тerrasного заповедника. Вып. 7. М. : КМК, 2018. С. 68–80.
 33. Agisoft LLC. Agisoft Metashape (Version 1.5). Software. 2019. Available at: <https://www.agisoft.com/> (дата обращения: 17.01.2021).
 34. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. 2019. Available at: <https://www.R-project.org/> (дата обращения: 17.01.2021).
 35. Silva C.A., Hudak A.T., Vierling L.A., Loudermilk E.L., O'Brien J.J., Hiers J.K., Khosravipour A. Imputation of individual Longleaf Pine (*Pinus palustris* Mill.) tree attributes from field and LiDAR Data // Canadian Journal of Remote Sensing. 2016. Vol. 42, № 5. PP. 554–573. doi: [10.1080/07038992.2016.1196582](https://doi.org/10.1080/07038992.2016.1196582)
 36. Zhang W., Qi J., Wan P., Wang H., Xie D., Wang X., Yan G. An easy-to-use airborne LiDAR data filtering method based on cloth simulation // Remote Sensing. 2016. Vol. 8, № 6. PP. 1–22. doi: [10.3390/rs8060501](https://doi.org/10.3390/rs8060501)
 37. Khosravipour A., Skidmore A.K., Skidmore M., Wang T., Hussin Y. Generating pit-free canopy height models from airborne LiDAR // Photogrammetric Engineering and Remote Sensing. 2014. № 9. PP. 863–872. doi: [10.14358/PERS.80.9.863](https://doi.org/10.14358/PERS.80.9.863)

38. QGIS development team. QGIS geographic information system. Open source geospatial foundation project. 2019. Available at: <http://qgis.osgeo.org> (дата обращения 17.01.2021).
39. Dhodhi M.K., Saghri J.A., Ahmad I., Ul-Mustafa R. D-ISODATA: a distributed algorithm for unsupervised classification of remotely sensed data on network of workstations // Journal of Parallel and Distributed Computing. 1999. Vol. 59, № 2. PP. 280–301. doi: [10.1006/jpdc.1999.1573](https://doi.org/10.1006/jpdc.1999.1573)
40. Jin Y., Sung S., Lee D.K., Biging G.S., Jeong S. Mapping deforestation in North Korea using phenology-based multi-index and Random forest // Remote Sensing. 2016. Vol. 8, № 12. PP. 1–15. doi: [10.3390/rs8120997](https://doi.org/10.3390/rs8120997)

Поступила в редакцию 10.09.2020 г.; повторно 19.01.2021 г. и 15.04.2021 г.;
принята 27.05.2021 г.; опубликована 29.06.2021 г.

Авторский коллектив:

Иванова Наталья Владимировна, канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории вычислительной экологии, Институт математических проблем биологии РАН – филиал ИПМ им. М.В. Келдыша РАН (Россия, 142290, Московская область, г. Пушкино, ул. Проф. Виткевича, д. 1).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-4199-5924>

E-mail: Natalya.dryomys@gmail.com

Шашков Максим Петрович, н.с. лаборатории моделирования экосистем, Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения ФИЦ ПНЦБИ РАН (Россия, 142290, Московская область, г. Пушкино, ул. Институтская, д. 2).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-1328-8758>

E-mail: Max.carabus@gmail.com

Шанин Владимир Николаевич, канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории моделирования экосистем, Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения ФИЦ ПНЦБИ РАН (Россия, 142290, Московская область, г. Пушкино, ул. Институтская, д. 2).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-8294-7796>

E-mail: Shaninvn@gmail.com

For citation: Ivanova NV, Shashkov MP, Shanin VN. Obtaining tree stand attributes from unmanned aerial vehicle (UAV) data: the case of mixed forests. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;54:158-175. doi: [10.17223/19988591/54/8](https://doi.org/10.17223/19988591/54/8)
In Russian, English Summary

Natalya V. Ivanova^{1,2}, Maxim P. Shashkov², Vladimir N. Shanin²

¹*Institute of Mathematical Problems of Biology, Russian Academy of Sciences – The Branch of Keldysh Institute of Applied Mathematics of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russian Federation*

²*Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russian Federation*

Obtaining tree stand attributes from unmanned aerial vehicle (UAV) data: the case of mixed forests

Nowadays, due to the rapid development of lightweight unmanned aerial vehicles (UAV), remote sensing systems of ultra-high resolution have become available to many researchers. Conventional ground-based measurements for assessing tree stand attributes can be expensive, as well as time- and labor-consuming. Here, we assess whether remote sensing measurements with lightweight UAV can be more effective in comparison to ground survey methods in the case of temperate mixed forests.

The study was carried out at the Prioksko-Terrasny Biosphere Nature Reserve (Moscow region, Russia). This area belongs to a coniferous-broad-leaved forest zone. Our field works were carried out on the permanent sampling plot of 1 ha (100×100 m) established in 2016. The coordinates of the plot center are N 54.88876°, E 37.56273°

in the WGS 84 datum. All trees with DBH (diameter at breast height) of at least 6 cm (779 trees) were mapped and measured during the ground survey in 2016 (See Fig. 1 and Table 1). Mapping was performed with Laser Technology TruPulse 360B angle and a distance meter. First, polar coordinates of each tree trunk were measured, and then, after conversion to the cartesian coordinates, the scheme of the stand was validated on-site. Species and DBH were determined for each tree. For each living tree, we detected a social status class (according to Kraft). Also for living trees, we measured the tree height and the radii of the crown horizontal projection in four cardinal directions.

A lightweight UAV Phantom 4 (DJI-Innovations, Shenzhen, China) equipped with an integrated camera of 12Mp sensor was used for aerial photography in this study. Technical parameters of the camera are available in Table 2. The aerial photography was conducted on October 12, 2017, from an altitude of 68 m. The commonly used mosaic flight mode was used with 90% overlapping both for side and front directions. We applied Agisoft Metashape software for orthophoto mosaic image and dense point cloud building. The canopy height model (CHM) was generated with lidR package in R. We used *lasground()* function and cloth simulation filter for classification of ground points. To create a normalized dataset with the ground at 0, we used spatial interpolation algorithm *tin* based on a Delaunay triangulation, which performs a linear interpolation within each triangle, implemented in the *lasnormlise()* function. CHM was generated according to the pit-free algorithm based on the computation of a set of classical triangulations at different heights. The location and height of individual trees were automatically detected by the function *FindTreesCHM()* from the package rLIDAR in R. The algorithm implemented in this function is local maximum with fixed window size. Accuracy assessment of automatically detected trees (in QGIS software) was performed through visual interpretation of orthophoto mosaic and comparison with ground survey data. The number of correctly detected trees, omitted by the algorithm and not existing but detected trees were counted. As a result of aerial photography, 501 images were obtained. During these data processing with the Metashape, dense point cloud of 163.7 points / m² was generated. CHM with 0.5 m resolution was calculated.

According to the individual-tree detection algorithm, 241 trees were found automatically (See Fig. 2A). The total accuracy of individual tree detection was 73.9%. Coniferous trees (*Pinus sylvestris* and *Picea abies*) were successfully detected (86.0% and 100%, respectively), while results for birch (*Betula* spp.) required additional treatment. The algorithm correctly detected only 58.2% of birch trees due to false-positive trees (See Fig. 2B and Table 3). These results confirm the published literature data obtained for managed tree stands. Tree heights retrieved from the UAV were well-matched to ground-based method results. The mean tree heights retrieved from the UAV and ground surveys were 25.0±4.8 m (min 8.2 m, max 32.9 m) and 25.3±5.2 m (min 5.9 m, max 34.0 m), respectively (no significant difference, p-value=0.049). Linear regression confirmed a strong relationship between the estimated and measured heights ($y=k*x$, $R^2=0.99$, $k=0.98$) (See Fig. 3A). Slightly larger differences in heights estimated by the two methods were found for birch and pine; for spruce, the differences were smaller (See Fig. 3B and Table 4). We believe that ground measurements of birch and pine height are less accurate than for spruce due to different crown shapes of these trees. So, our results suggested that UAV data can be used for tree stand attributes estimation, but automatically obtained data require validation.

The paper contains 3 Figures, 4 Tables and 40 References.

Key words: UAV; canopy height model; tree detection; mixed forests.

Funding: This study was supported by the Russian Science Foundation (Project No. 18-14-00362-P). The work of Natalya Ivanova was partly done in the framework of the Basic Scientific Research theme of the Institute of Mathematical Problems of

Biology, Russian Academy of Sciences – the Branch of Keldysh Institute of Applied Mathematics of the Russian Academy of Sciences.

The Authors declare no conflict of interest.

References

1. Anderson K, Gaston K. Lightweight unmanned aerial vehicles will revolutionize spatial ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 2013;11(3):138-146. doi: [10.1890/120150](https://doi.org/10.1890/120150)
2. Pajares G. Overview and current status of remote sensing applications based on unmanned aerial vehicles (UAV). *Photogrammetric Engineering & Remote Sensing*. 2015;81(4):281-330. doi: [10.14358/PERS.81.4.281](https://doi.org/10.14358/PERS.81.4.281)
3. Dandois J, Ellis EC. High spatial resolution three-dimensional mapping of vegetation spectral dynamics using computer vision. *Remote Sensing of Environment*. 2013;136:259-276. doi: [10.1016/j.rse.2013.04.005](https://doi.org/10.1016/j.rse.2013.04.005)
4. Puliti S, Ole Orka H, Gobakken T, Naesset E. Inventory of small forest areas using an unmanned aerial system. *Remote Sensing*. 2015;7(8):9632-9654. doi: [10.3390/rs70809632](https://doi.org/10.3390/rs70809632)
5. Messinger M, Gregory P, Asner GP, Silman M. Rapid assessment of Amazon forest structure and biomass using small unmanned aerial systems. *Remote Sensing*. 2016;8(8):1-15. doi: [10.3390/rs8080615](https://doi.org/10.3390/rs8080615)
6. Denisov SA, Domrachev AA, Elsukov AS. Quadcopter practical application for forest regeneration monitoring. *Vestnik Povolzhskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta. Seriya: les. Ekologiya. Prirodopol'zovanie = Vestnik of Volga State University of Technology. Series: Forest. Ecology. Nature management*. 2016;4(32):34-46. doi: [10.15350/2306-2827.2016.4.34](https://doi.org/10.15350/2306-2827.2016.4.34) In Russian
7. Medvedev AA, Telnova NO, Kudikov AV. Highly detailed remote sensing monitoring of tree overgrowth on abandoned agricultural lands. *Voprosy lesnoy nauki = Forest Science Issues*. 2019;3:1-12. doi: [10.31509/2658-607x-2019-2-3-1-12](https://doi.org/10.31509/2658-607x-2019-2-3-1-12) In Russian
8. Jaskierniak D, Kuczera G, Benyon RG, Lucieer A. Estimating tree and stand sapwood area in spatially heterogeneous southeastern Australian forests. *J Plant Ecology*. 2016;9(3):272-284. doi: [10.1093/jpe/rtv056](https://doi.org/10.1093/jpe/rtv056)
9. Zhang J, Hud J, Liane J, Fan Z, Ouyang X, Ye W. Seeing the forest from drones: testing the potential of lightweight drones as a tool for long-term forest monitoring. *Seeing the Forest*. 2016;198:60-69. doi: [10.1016/j.biocon.2016.03.027](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.03.027)
10. Hudak AT, Haren AT, Crookston NL, Liebermann RJ, Ohmann JL. Imputing forest structure attributes from stand inventory and remotely sensed data in western Oregon, USA. *Forest Science*. 2014;60:253-269. doi: [10.5849/forsci.12-101](https://doi.org/10.5849/forsci.12-101)
11. Hansen EH, Gobakken T, Bollandsås OM, Zahabu E, Næsset E. Modeling aboveground biomass in dense tropical submontane rainforest using airborne laser scanner data. *Remote Sensing*. 2015;7(1):788-807. doi: [10.3390/rs70100788](https://doi.org/10.3390/rs70100788)
12. Ershov DV, Gavriluk EA, Belova EI, Nikitina AD. Opredelenie porodnoy struktury lesnogo uchastka po ortofotoplanam bespilotnoy aerofotos"emki [Determination of the species structure of a forest area using orthophotoimages from unmanned aerial vehicles]. In: *Aktual'nye problemy sovremennogo lesovodstva. Vtorye mezhdunarodnye chteniya pamyati G. F. Morozova* [Actual problems of modern forestry. Second international readings in memory of G.F. Morozov (Republic of Crimea, Russia, 23-27 September, 2020)]. Saltykov AN, Boyko GE and Rogovoy VI, editors. Simferopol': IT «ARIAL» Publ.; 2020. pp. 141-152. In Russian
13. Li W, Niu Z, Chen H, Li D, Wu M, Zhao W. Remote estimation of canopy height and aboveground biomass of maize using high-resolution stereo images from a low-cost unmanned aerial vehicle system. *Ecological Indicators*. 2016;67:637-648. doi: [10.1016/j.ecolind.2016.03.036](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.03.036)

14. Bogdanov AP, Aleshko RA, Iltsev AS. Relationship between tree crown diameter and various taxation indicators in the North-taiga forest area. *Voprosy lesnoy nauki – Forest Science Issues*. 2019;2(4):1-10. doi: [10.31509/2658-607x-2019-2-4-1-10](https://doi.org/10.31509/2658-607x-2019-2-4-1-10) In Russian
15. Danilov MS, Nikitina AD, Tikhonova EV Use of aerial photography by unmanned aerial vehicles to determine stand characteristics. In: *Aktual'nye problemy ekologii i prirodopol'zovaniya: sbornik nauchnykh trudov xxi mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii* [Actual problems of ecology and nature management: proceedings of the XXI int. sci. and prac. conf.: in 3 volumes. Vol. 1 (Russia, Moscow, 24-26 September, 2020)]. Ledasheva TN, editor. Moscow: RUDN Publ.; 2020. pp. 89-94. In Russian
16. Zarco-Tejada PJ, Diaz-Varela R, Angileri V, Loudjani P. Tree height quantification using very high resolution imagery acquired from an unmanned aerial vehicle (UAV) and automatic 3D photo-reconstruction methods. *European J Agronomy*. 2014;55:89-99. doi: [10.1016/j.eja.2014.01.004](https://doi.org/10.1016/j.eja.2014.01.004)
17. Mohan M, Silva CA, Klauberg C, Jat P, Catts G, Cardil A, Hudak AT, Dia M. Individual tree detection from unmanned aerial vehicle (UAV) derived canopy height model in an open canopy mixed conifer forest. *Forests*. 2017;8(9):1-17. doi: [10.3390/f8090340](https://doi.org/10.3390/f8090340)
18. Birdal AC, Avdan U, Türk T. Estimating tree heights with images from an unmanned aerial vehicle. *Geomatics, Natural Hazards and Risk*. 2017;8:1144-1156. doi: [10.1080/19475705.2017.1300608](https://doi.org/10.1080/19475705.2017.1300608)
19. Bennett G, Hardy A, Bunting P, Morgan P, Fricker A. A transferable and effective method for monitoring continuous cover forestry at the individual tree level using UAVs. *Remote Sensing*. 2020;12(13):1-21. doi: [10.3390/rs12132115](https://doi.org/10.3390/rs12132115)
20. Krisanski S, Taskhiri MS, Turner P. Enhancing Methods for Under-Canopy Unmanned Aircraft System Based Photogrammetry in Complex Forests for Tree Diameter Measurement. *Remote Sensing*. 2020;12(10):1-21. doi: [10.3390/rs12101652](https://doi.org/10.3390/rs12101652)
21. Domnina EA, Timonov AS, Kantor GYa, Kislitsyna, AP Savinykh VP. Experience of detailed mapping of floodplain meadow vegetation. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya = Theoretical and Applied Ecology*. 2017;1:42-49. doi: [10.21046/2070-7401-2020-17-1-150-163](https://doi.org/10.21046/2070-7401-2020-17-1-150-163) In Russian
22. Sannikov PYu, Andreev DN, Buzmakov SA. Identification and analysis of deadwood using an unmanned aerial vehicle. *Sovremennye problemy distantsionnogo zondirovaniya Zemli iz kosmosa = Problems in Remote Sensing of the Earth from Space*. 2018;15(3):103-113. doi: [10.21046/2070-7401-2018-15-3-103-113](https://doi.org/10.21046/2070-7401-2018-15-3-103-113) In Russian
23. Medvedev AA, Telnova, NO, Kudikov, AV, Alekseenko NA. Use of photogrammetric point clouds for the analysis and mapping of structural variables in sparse northern boreal forests. *Sovremennye problemy distantsionnogo zondirovaniya Zemli iz kosmosa = Current Problems in Remote Sensing of the Earth from Space*. 2020;17(1):150-163. doi: [10.21046/2070-7401-2020-17-1-150-163](https://doi.org/10.21046/2070-7401-2020-17-1-150-163) In Russian
24. Aleshko RA, Alekseeva, AA, Shoshina KV, Bogdanov AP, Guriev. AT. Development of the methodology to update the information on a forest area using satellite imagery and small UAVs. *Sovremennye problemy distantsionnogo zondirovaniya Zemli iz kosmosa = Current Problems in Remote Sensing of the Earth from Space*. 2017;14(5):87-99. doi: [10.21046/2070-7401-2017-14-5-87-99](https://doi.org/10.21046/2070-7401-2017-14-5-87-99) In Russian
25. Kovyazin VF, Vinogradov KP, Vasilyeva EA, Kitcenko AA. Airborne laser scanning for clarification of the valuation indicators of forest stands. *Izvestiya VUZov. Lesnoy zhurnal = Russian Forestry Journal*. 2020;6:42-54. doi: [10.37482/0536-1036-2020-6-42-54](https://doi.org/10.37482/0536-1036-2020-6-42-54) In Russian
26. Zhou J, Proisy C, Descombes X, Le Maire G, Nouvellon Y, Stape JL, Viennois G, Zerubia J, Couteron P. Mapping local density of young *Eucalyptus* plantations by individual tree detection in high spatial resolution satellite images. *Forest Ecology and Management*. 2013;301:129-141. doi: [10.1016/j.foreco.2012.10.007](https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.10.007)

27. Zahawi RA, Dandois JP, Holl KD, Nadwodny D, Reid JL, Ellis EC. Using lightweight unmanned aerial vehicles to monitor tropical forest recovery. *Biological Conservation*. 2015;186:287-295. doi: [10.1016/j.biocon.2015.03.031](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.03.031)
28. Miller E, Dandois JP, Detto M, Hall JS. Drones as a tool for monoculture plantation assessment in the stepland tropics. *Forests*. 2017;8(5):1-14. doi: [10.3390/f8050168](https://doi.org/10.3390/f8050168)
29. Otero V, Van De Kerchove R, Satyanarayana B, Martínez-Espinosa C, Amir Bin Fisol M, Rodila Bin Ibrahim M, Sulong I, Mohd-Lokman H, Lucas R, Dahdouh-Guebas F. Managing mangrove forests from the sky: forest inventory using field data and unmanned aerial vehicle (uav) imagery in the Matang Mangrove Forest Reserve, peninsular Malaysia. *Forest Ecology and Management*. 2018;411:35-45. doi: [10.1016/j.foreco.2017.12.049](https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.12.049)
30. Eysn L, Hollaus M, Lindberg E, Berger F, Monnet J-M, Dalponte M, Kobal M, Pellegrini M, Lingua E, Mongus D, Pfeifer P. A benchmark of LiDAR-based single tree detection methods using heterogeneous forest data from the alpine space. *Forests*. 2015;6(5):1721-1747. doi: [10.3390/f6051721](https://doi.org/10.3390/f6051721)
31. Picos J, Bastos G, Míguez D, Alonso L, Armesto J. Individual tree detection in a *Eucalyptus* plantation using unmanned aerial vehicle (UAV)-LiDAR. *Remote Sensing*. 2020;12:1-17. doi: [10.3390/rs12050885](https://doi.org/10.3390/rs12050885)
32. Shanin VN, Shashkov MP, Ivanova NV, Bykhovets SS, Grabarnik PYa. The study of stand structure and microclimatic conditions under the forest canopy on permanent sampling plot in Prioksko-Terrasny Reserve. In: *Trudy Prioksko-Terrasnogo zapovednika* [Proceedings of the Prioksko-Terrasny Nature Reserve]. Iss. 7. Moscow: KMK Publ.; 2018. pp. 68-80. In Russian
33. Agisoft LLC. Agisoft Metashape (Version 1.5). Software. 2019. Available at: <https://www.agisoft.com/> (accessed 17.01.2021)
34. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. 2019. Available at: <https://www.R-project.org/> (accessed 17.01.2021)
35. Silva CA, Hudak AT, Vierling LA, Loudermilk EL, O'Brien JJ, Hiers JK, Khosravipour A. Imputation of individual Longleaf Pine (*Pinus palustris* Mill.) tree attributes from field and LiDAR data. *Canadian J Remote Sensing*. 2016;42(5):554-573. doi: [10.1080/07038992.2016.1196582](https://doi.org/10.1080/07038992.2016.1196582)
36. Zhang W, Qi J, Wan P, Wang H, Xie D, Wang X, Yan G. An Easy-to-Use Airborne LiDAR data filtering method based on cloth simulation. *Remote Sensing*. 2016;8(6):1-22. doi: [10.3390/rs8060501](https://doi.org/10.3390/rs8060501)
37. Khosravipour A, Skidmore AK, Skidmore M, Wang T, Hussin Y. Generating pit-free canopy height models from airborne LiDAR. *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing*. 2014;9:863-872. doi: [10.14358/PERS.80.9.863](https://doi.org/10.14358/PERS.80.9.863)
38. QGIS Development Team. QGIS geographic information system. Open source geospatial foundation project. 2019 Available at: <http://qgis.osgeo.org> (accessed 17.01.2021).
39. Dhodhi MK, Saghri JA, Ahmad I, Ul-Mustafa R. D-ISODATA: A distributed algorithm for unsupervised classification of remotely sensed data on network of workstations. *J Parallel and Distributed Computing*. 1999;59(2):280-301. doi: [10.1006/jpdc.1999.1573](https://doi.org/10.1006/jpdc.1999.1573)
40. Jin Y, Sung S, Lee DK, Biging GS, Jeong S. Mapping deforestation in North Korea using phenology-based multi-index and Random forest. *Remote Sensing*. 2016;8(12):1-15. doi: [10.3390/rs8120997](https://doi.org/10.3390/rs8120997)

Received 10 September 2020; Revised 19 January and 15 April 2021;
Accepted 27 May 2021; Published 29 June 2021.

Author info:

Ivanova Natalya V, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Computational Ecology, Institute of Mathematical Problems of Biology, Russian Academy of Sciences – The Branch of Keldysh Institute of Applied Mathematics of the Russian Academy of Sciences, 1 Professor Vitkevich St., Pushchino, Moscow Region 142290, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-4199-5924>

E-mail: Natalya.dryomys@gmail.com

Shashkov Maxim P, Researcher, Laboratory of Ecological Modelling, Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Russian Academy of Sciences, 2 Institutskaya Str., Pushchino, Moscow Region 142290, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-1328-8758>

E-mail: Max.carabus@gmail.com

Shanin Vladimir N, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Ecological Modelling, Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Russian Academy of Sciences, 2 Institutskaya Str., Pushchino, Moscow Region 142290, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-8294-7796>

E-mail: Shaninvn@gmail.com

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 581.526.3(571.151)
doi: 10.17223/19988591/54/9

Л.М. Киприянова^{1,2}, Р.Е. Романов^{1,3}

¹ Институт водных и экологических проблем СО РАН, г. Барнаул, Россия

² Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, г. Новосибирск, Россия

³ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, г. Санкт-Петербург, Россия

Флористические находки в Республике Алтай

Работа выполнена в рамках государственных заданий № 121031200178-8
Института водных и экологических проблем СО РАН,
№ АААА-А21-121011290026-9 Центрального сибирского ботанического сада
СО РАН и № 121021600184-6 Ботанического института им. В.Л. Комарова
РАН при частичной поддержке РФФИ, проект № 16-04-00931.

В Республике Алтай обнаружены пять новых для региона видов водных растений: *Utricularia macrorhiza* Le Conte, *Ranunculus subrigidus* W.B. Drew, *Lemna turionifera* Landolt, *Zannichellia repens* Boenn., *Stuckenia chakassiensis* (Kaschina) Klinkova. Первые три вида обнаружены в пресных, *Z. repens* и *S. chakassiensis* – в солоноватых водах. Все эти находки дополняют сведения о распространении этих видов в Сибири. *Utricularia macrorhiza*, *Ranunculus subrigidus*, *Lemna turionifera* – виды преимущественно американско-азиатского распространения, *Stuckenia chakassiensis* – в основном азиатского.

Ключевые слова: *Lemna turionifera*; *Ranunculus subrigidus*; *Utricularia macrorhiza*; флористические находки; водные растения; озера; Республика Алтай

Для цитирования: Киприянова Л.М., Романов Р.Е. Флористические находки в Республике Алтай // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 54. С. 176–185. doi: 10.17223/19988591/54/9

Введение

Республика Алтай располагает огромным озерным фондом – около 7 тыс. озер общей площадью более 600 км² (более 0,6% территории республики), многие из которых практически не исследованы. Несмотря на то, что ботанические исследования проводятся на территории этого региона в течение довольно длительного периода и опубликован «Определитель растений Республики Алтай» [1], водная флора региона изучена недостаточно полно.

Цель данного исследования – представление обработанной части данных по флористическим находкам, полученным в ходе гидробиотических исследований озер Горного Алтая.

Материалы и методики исследования

Полевые работы выполнены в первой половине июля 2018 г. Маршрутным методом с использованием надувной лодки обследовано 12 озер, расположенных в Усть-Канском, Онгудайском, Улаганском и Кош-Агачском районах, а также несколько небольших придорожных водоемов. В ходе работ использованы гидробиотические грабельки-кошки, портативный навигатор Garmin eTrex Vista (с GPS приемником), водостойкая фотокамера Pentax. Измерения минерализации выполнены в поверхностном слое воды портативным кондуктометром-термометром-рН-метром Hanna HI 98130 (Hanna Instruments, США). Определение растений проведено с помощью стереоскопического микроскопа Альтами ПС0745-Г («Альтами», Россия). Идентификация сосудистых растений проведена по Определителю [2], современным обзорным статьям по роду *Ranunculus* [3] и монографиям (роды *Utricularia* и *Stuckenia*) [4, 5]. Гербарные образцы переданы в Гербарий Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (NSK).

Результаты исследования и обсуждение

В июле 2018 г. в ходе гидробиотических работ на водных объектах Республики Алтай обнаружены 5 видов водных макрофитов, ранее не указанных для этого региона.

Utricularia macrorhiza Le Conte (рис. 1).

Исходный материал: 1) Усть-Канский р-н, окрестности с. Усть-Кан, пойма р. Кан, 50°56'50,64"N 84°48'25.49"E, 04.VII.2018, образует сообщества; 2) там же, 7 км на восток от с. Усть-Кан, оз. Ябоганское, 50°55'33.67"N 84°52'47.85"E (GPS 21), минерализация 0,34 г/дм³, 05.VII.2018, образует сообщества; 3) там же, 2 км на северо-запад от с. Оро, р. Большая Шиверта, 50°55'33.95"N 84°58'35.64"E (GPS 20), минерализация 0,31 г/дм³, 05.VII.2018, образует сообщества, NSK0084776; 4) Онгудайский р-н, оз. Теньгинское, 50°55'59.39"N 85°33'44.32"E (GPS 61), минерализация 0,19 г/дм³, 06.VII.2018, образует сообщества; 5) Кош-Агачский район, оз. Большое, 49°59'27.10"N 88°35'23.10"E (GPS 187), 12.VI.2018.

Монограф рода *Utricularia* [4] указывает, что *U. vulgaris* L. – европейско-западноазиатский вид. В Азии восточнее Алтая и в Северной Америке его замещает близкий вид *U. macrorhiza*, хорошо отличающийся деталями строения цветка. В сводке по флоре российского Дальнего Востока приведён только *U. macrorhiza* [6]. По данным В.В. Чепиноги, в Байкальской Сибири также встречается только этот вид [7]. В Западной Сибири пузырчатка

крупнокорневая отмечена относительно недавно в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре (ХМАО-Югра) [8], а нами найдена в трех озерах Алтайского края в (оз. Лена Баевского р-на, озеро Большое Угловского района, озеро Ракиты Рубцовского района) [9]. На сайте iNaturalist опубликована фотография пузырчатки крупнокорневой с Панкрушихинского района Алтайского края (фото П.А. Косачев, дата наблюдения 13.VI.2008. Координаты 53,849476, 80,202474). Имеются сведения о произрастании этого вида в Кемеровской области [10].



Рис. 1. *Utricularia macrorhiza*. Пойма р. Кан (Усть-Канский р-н) (фото Л.М. Киприяновой)
[**Fig. 1.** *Utricularia macrorhiza*. The Kan river floodplain (Ust-Kanskii district). Photo by Laura Kipriyanova]

Ranunculus subrigidus W.B. Drew (*Batrachium subrigidum* (W.B. Drew) Ritchie).

Исходный материал: 1) Улаганский район, пруд недостроенной Чуйской ГЭС, 50°15'11,80"N, 87°39'42,63"E, минерализация 0,08 г/дм³, 10.VII.2018; 2) Кош-Агачский район, с. Кош-Агач, озеро без назв., 50°15'10,6"N, 87°39'47,5"E, 13.VII.2018; 3) там же, оз. Пресное, глуб. 20 см, 49°59'02,75"N, 88°34'53,30"E, минерализация 0,14 г/дм³, 11.VII.2018, образует сообщество, NSK0084774; 4) там же, оз. Большое, 12.VII.2018.

Это еще один преимущественно американско-восточноазиатский вид, который недавно стал достоверно известен с территории России. Согласно со-

временной обобщающей сводке по роду *Ranunculus* [3], растения габитуально похожие на *Ranunculus circinatus* Sibth. со следующими отличительными признаками: грушевидные нектарники, опушенные листья, прилистники и верхние части стеблей, более мягкие и редкие листья, следует относить к *R. subrigidus*. Шелковник полужёсткий широко распространён в Северной Америке, в Азии встречается в Сибири, на российском Дальнем Востоке, в Монголии и Китае [3]. Имеются публикации с указанием вида в Республиках Тыва и Саха (Якутия), в Новосибирской области и Алтайском крае [11–14]. В Европе этот вид известен с крайнего северо-востока (Полярный Урал) [3].

Lemna turionifera Landolt.

Исходный материал: 1) Усть-Канский р-н, оз. Букалу, 50°57'54,04"N, 84°46'46,75"E, минерализация 0,45 г/дм³, 05.VII.2018; 2) Кош-Агачский район, оз. Пресное, 49°59'06,49"N, 88°34'53,19"E, минерализация 0,14 г/дм³, 11.VII.2018, NSK0084775; 3) там же, оз. Большое, 49°59'27,10"N, 88°35'23,10"E, 12.VII.2018.

Lemna turionifera – вид, относительно недавно выделенный из более обычной *L. minor* L., от которой отличается способностью к турионообразованию, что облегчает выживание вида в холодных регионах. Ряска турионообразующая ранее, как правило, просматривалась ботаниками из-за внешнего сходства с ряской малой, от которой отличается наличием ряда бугорков на верхней стороне фрондов вдоль средней линии. Первичный ареал вида расположен в умеренных областях Северной Америки и Азии, где вид тяготеет к внутриконтинентальным районам, а в горы поднимается примерно до высоты 3000–3700 м над ур. м. [15]. В Сибири он распространён почти повсеместно, за исключением арктических широт [16]. В Азиатской России вид приводится для Охотской, Западно-Сибирской, Алтае-Енисейской, Маньчжурской, Камчатской и Сахалинской флористических провинций [17]. Статус вида в Европе является спорным, многими он считается заносным видом.

Zannichellia repens Voenn.

Исходный материал: 1) Усть-Канский район, карьер у дороги, глуб. 40 см, сообщество *Chara vulgaris* L., 50°56'33,26"N, 85°01'14,55" E, минерализация 0,43 г/дм³, 06.VII.2018; 2) Онгудайский р-н, канава у дороги, 50°47'22,34"N, 85°21'33,05"E, глуб. 20 см, вязкая глина, минерализация 0,88 г/дм³, образует сообщество, 06.VII.2018, NSK0084778.

В Определителе Республики Алтай [1] значится только один вид рода занникеллия – 3. болотная – *Z. palustris* L., представителей которого мы в этой поездке также обнаружили (в озере Пресном Кош-Агачского района).

Stuckenia chakassiensis (Kaschina) Klinkova.

Исходный материал: 1) Кош-Агачский р-н, безым. оз. у дороги, 49°57'14,33"N, 88°43'49,41"E, минерализация 2,7 г/дм³, 12.VII.2018, NSK0084777; 2) там же, озеро Соленое, 49°58'58,07"N, 88°34'18,85"E, минерализация 0,75 г/дм³, 11.VII.2018.

Мы принимаем этот таксон в ранге самостоятельного вида вслед за рядом авторов [5, 18]. Этот вид отличается от штукении гребенчатой как наличием субэпидермальных тяжей механической ткани, так и рядом особенностей морфологии плода [18], имеет своеобразную экологию и ареал. В солоноватых озерах степи и лесостепи юга Сибири (Курганская и Новосибирская области, Алтайский край, Республики Хакасия и Бурятия, Забайкальский край) вид обычен, образует обширные заросли [19, 20], встречается в Северном Казахстане, северном Китае, Монголии. Редок вид на юге Восточной Европы (Волгоградская обл., Чернышковский р-н, в лиманах и озерах Цимлянского песчаного массива близ хуторов Тормосина и Морского) [5] и на Кавказе [21].

Таким образом, список флоры Республики Алтай пополнился еще пятью видами в большей степени за счет появившегося нового знания о ранее неизвестных или относительно мало известных таксонах для Сибири в целом.

Выражаем признательность сотрудникам группы по оцифровке гербария ЦСБС СО РАН (NSK, USU_440537) канд. биол. наук, с.н.с. Н.К. Ковтонюк и ст. лаб. Л.З. Лукмановой за оперативную регистрацию гербарных образцов. Авторы благодарны А.И. Киприянову за помощь в экспедиционных работах.

Литература

1. Определитель растений Республики Алтай / под ред. И.М. Красноборова, И.А. Артемова, Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2012. 701 с.
2. Лисицына Л.И., Папченков В.Г. Флора водоемов России: Определитель сосудистых растений. М. : Наука, 2000. 237 с.
3. Wiegleb G., Moravec J., Therillat J.-P., Bobrov A. A., Zalewska-Gałosz J. A taxonomic account of *Ranunculus* section *Batrachium* (Ranunculaceae) // Phytotaxa. 2017. Vol. 319, № 1. PP. 1–55. doi: [10.11646/phytotaxa.319.1.1](https://doi.org/10.11646/phytotaxa.319.1.1)
4. Taylor P. The genus *Utricularia* – a taxonomic monograph. Kew Bulletin Additional Series XIV. London: BPC Wheatons Ltd, 1989. xii+724 p.
5. Флора Нижнего Поволжья. Т. 1 (споровые, голосеменные, однодольные) / под ред. А.К. Скворцова. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2006. 434 с.
6. Цвелев Н.Н. Сем. Пузырчатковые Lentibulariaceae Rich. // Сосудистые растения Советского Дальнего Востока. СПб. : Наука, 1996. Т. 8. С. 260–267.
7. Чепинога В.В. Флора и растительность водоемов Байкальской Сибири. Иркутск : Изд-во Ин-та географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2015. 468 с.
8. Капитонова О.А., Капитонов В.И., Ильминских Н.Г. О находке *Utricularia macrorhiza* (Lentibulariaceae) в Западной Сибири // Turczaninowia. 2014. Т. 17, № 2. С. 82–86.
9. Nobis M., Nowak A., Piowarczyk R., Ebel A., Király G., Kushunina M., Sukhorukov A.P., Chernova O.D., Kipriyanova L.M., Paszko B., Seregin A.P., Zalewska-Gałosz J., Denysenko M., Nejfeld P., Stebel A., Gudkova P.D. Contribution to the flora of Asian and European countries: new national and regional vascular plant records, 5 // Botany Letters. 2016. Vol. 163, № 2. PP. 159–174. doi: [10.1080/23818107.2016.1165145](https://doi.org/10.1080/23818107.2016.1165145)
10. Эбель А.Л., Эбель Т.В., Михайлова С.И., Шереметова С.А. Флористические находки в Западной и Средней Сибири // Систематические заметки по материалам Гербария им. П.Н. Крылова Томского государственного университета. 2020. № 122. С. 11–21. doi: [10.17223/20764103.122.2](https://doi.org/10.17223/20764103.122.2)

11. Иванова М.О., Волкова П.А., Копылов-Гуськов Ю.О., Бобров А.А. Флористические находки в южных природных районах Республики Тувы и в охранной зоне заповедника «Убсунурская котловина» // *Turczaninowia*. 2017. Т. 20, № 4. С. 15–25. doi: [10.14258/turczaninowia.20.4.2](https://doi.org/10.14258/turczaninowia.20.4.2)
12. Бобров А.А., Мочалова О.А. Заметки о водных сосудистых растениях Якутии по материалам якутских гербариев // *Новости систематики высших растений*. 2014. Т. 45. С. 122–144.
13. Киприянова Л.М. О новых местонахождениях малоизвестных и редких для Западной Сибири водных растений // *Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отд. Биол.* 2018. Т. 123, вып. 3. С. 84–85.
14. Nobis M., Klichowska E., Terlević A., Wróbel A., Erst A., Hrivnák R., Ebel A.L., Byalt V.V., Gudkova P.D., Király G., Kipriyanova L.M., Olonova M., Piwowarczyk R., Pliszko A., Rosadziński S., Seregin A.P., Honcharenko V., Marciniuk J., Marciniuk P., Oklejewicz K., Wolanin M., Batlai O., Bubíková K., Choi H.J., Kochjarová J., Molnár A.V., Nobis A., Nowak A., Ořahelová H., Óvári M., Shukherdorj B., Sramkó G., Troshkina V.I., Verkhozina A.V., Xiang K., Wang W., Xiang K., Zykova E.Yu. Contribution to the flora of Asian and European countries: new national and regional vascular plant records // *Botany Letters*. 2019. Vol. 166, iss. 2. PP. 163–188. doi: [10.1080/23818107.2019.1600165](https://doi.org/10.1080/23818107.2019.1600165)
15. Landolt E. The family of Lemnaceae. Zürich: Ed. Geobot. Inst. ETH. 1986. Vol. 1. 566 p.
16. Капитонова О.А. Материалы к биологии и экологии рясковых (Lemnaceae) Сибири // *Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии : сборник научных статей по материалам XVIII Международной научно-практической конференции (20–23 мая 2019 г., Барнаул)*. 2019. № 18. С. 127–131. doi: [10.14258/pbssm.2019024](https://doi.org/10.14258/pbssm.2019024)
17. Конспект флоры Азиатской России: сосудистые растения / ред. К.С. Байков. Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2012. 640 с.
18. Волобаев П.А. О двух таксонах рода *Potamogeton* L. из Сибири II. *Potamogeton chakassiensis* (Kaschina) Volob. // *Сибирский биологический журнал*. 1993. № 3. С. 51–59.
19. Киприянова Л.М. Новая ассоциация *Cladophoro fractae*–*Stuckenietum chakassiensis* класса *Ruppiaetea maritimaе* из Сибири // *Растительность России*. 2017. № 30. С. 55–60. doi: [10.31111/vegus/2017.30.55](https://doi.org/10.31111/vegus/2017.30.55)
20. Киприянова Л.М., Долматова Л.А., Базарова Б.Б., Найданов Б.Б., Романов Р.Е., Цыбекмитова Г.Ц., Дьяченко А.В. К экологии представителей рода *Stuckenia* (Potamogetonaceae) в озерах Забайкальского края и Республики Бурятия // *Биология внутренних вод*. 2017. № 1. С. 1–10. doi: [10.1134/S1995082917010096](https://doi.org/10.1134/S1995082917010096)
21. Цвелев Н.Н. О некоторых новых для Кавказа видах растений // *Новости систематики высших растений*. 1990. Т. 27. С. 179–183.

*Поступила в редакцию 01.04.2021 г.; повторно 15.05.2021 г.;
принята 27.05.2021 г.; опубликована 29.06.2021 г.*

Авторский коллектив:

Киприянова Лаура Мингалевна, д-р биол. наук, в.н.с. лаборатории гидробиологии, Институт водных и экологических проблем СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, Морской проспект, 2; в.н.с. лаборатории географии и экологии биоразнообразия, Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолгинская, 101).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9999-1956>

E-mail: kipriyanova@mail.ru

Романов Роман Евгеньевич, канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории альгологии, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН (Россия, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Про-

фессора Попова, 2); с.н.с. Новосибирского филиала Института водных и экологических проблем СО РАН (Россия, 630090, г. Новосибирск, Морской проспект, 2).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6137-3586>

E-mail: romanov_r_e@mail.ru

For citation: Kipriyanova LM, Romanov RE. Floristic novelties in the Republic of Altai. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;54:176-185. doi: 10.17223/19988591/54/9 In Russian, English Summary

Laura M. Kipriyanova^{1,2}, Roman E. Romanov^{1,3}

¹ Institute for Water and Environmental Problems, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Barnaul, Russian Federation

² Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

³ Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation

Floristic novelties in the Republic of Altai

In the Republic of Altai, there are about 7 thousand lakes with a total area of more than 600 km² and most of them are practically unexplored. Despite the fact that botanical research has been carried out on the territory of the Republic of Altai for a rather long period and generalizing works have been published, the aquatic flora of the region has not been fully studied. This work presents a processed part of the data on floristic findings obtained during hydrobotanical research in lakes of the Altai Mountains.

We completed the fieldwork in the first half of July 2018. 12 lakes located in Ust-Kanskii, Ongudayskii, Ulaganskii and Kosh-Agachskii districts, as well as several small roadside water bodies were surveyed by the route method using an inflatable boat. In the course of the work, we used hydrobotanical cat-rakes, a portable Garmin eTrex Vista navigator (with a GPS receiver), and a Pentax waterproof camera. Mineralization measurements were carried out in the surface layer of water using a Hanna HI 98130 portable conductometer-thermometer-pH meter. To determine the plants, we used an Altami PS0745-T stereoscopic microscope with a camera. Herbarium specimens were transferred to the NSK Herbarium of the Central Siberian Botanical Garden of the Siberian Branch, Russian Academy of Sciences.

During our hydrobotanical research on a number of water bodies of the Altai Republic, we discovered five species that had not been previously indicated for this region.

Utricularia macrorhiza Le Conte. Localities: 1) Ust-Kanskii district, environs of Ust-Kan village, the Kan river floodplain, 50°56'50.64"N. 84°48'25.49"E, 04 VII 2018, forms communities (see Fig. 1); 2) in the same place, 7 km east of the village of Ust-Kan, lake Yaboganskoye. 50°55'33.67"N 84°52'47.85"E, mineralization 0.34 g/dm³, 05 VII 2018, forms communities; 3) in the same place, 2 km north-west of Oro village, Bolshaya Shiverta river, 50°55'33.95"N 84°58'35.64"E, mineralization 0.31 g/dm³, 05 VII 2018, forms communities, NSK0084776; 4) Ongudayskii district, Tenginskoye lake, 50°55'59.39"N 85 ° 33'44.32"E, mineralization 0.19 g/dm³, 06 VII 2018, forms communities; 5) Kosh-Agachskii district, lake Bolshoye, 49°59'27.10"N 88°35'23.10"E, 12 VI 2018.

Ranunculus subrigidus W.B. Drew. Localities: 1) Ulaganskii district, pond of the unfinished Chuya hydroelectric power station, 50°15'11.80"N 87°39'42.63"E, mineralization 0.08 g/dm³, 10 VII 2018; 2) Kosh-Agachskii district, Kosh-Agach

village, in a lake without a name, 50°15'10.6"N 87°39'47.5"E, 13 VII 2018; 3) in the same place, lake Presnoe, depth 20 cm, forms a community, 49°59'2.75"N 88°34'53.30"E, mineralization 0.14 g/dm³, 11 VII 2018, NSK0084774; 4) in the same place, lake Bolshoye, 12 VII 2018.

Lemna turionifera Landolt. Localities: 1) Ust-Kanskii district, lake Bukalu, 50°57'54.04"N 84°46'46.75"E, mineralization 0.45 g/dm³, 05 VII 2018; 2) Kosh-Agachskii district, lake Presnoe, 49°59'6.49"N 88°34'53.19"E, mineralization 0.14 g/dm³, 11.VII 2018, NSK0084775; 3) in the same place, lake Bolshoye, 49°59'27.10"N 88°35'23.10"E, 12 VII 2018.

Zannichellia repens Boenn. Localities: 1) Ust-Kanskii district, quarry near the road, depth 40 cm, in *Chara vulgaris* L. community, 50°56'33.26"N 85°01'14.55"E, mineralization 0.43 g/dm³, 06 VII 2018; 2) Ongudayskii district, ditch by the road, 50°47'22.34"N 85°21'33.05"E, forms a community, depth 20 cm, viscous clay, mineralization 0.88 g/dm³, 06 VII 2018, NSK0084778.

Stuckenia chakassiensis (Kaschina) Klinkova. Localities: 1) Kosh-Agachskii district, an unnamed lake by the road, 49°57'14.33"N 88°43'49.41"E, mineralization 2.7 g/dm³, 12 VII 2018, NSK0084777; 2) in the same place, lake Solyenoye, 49°58'58.07"N 88°34'18.85"E, mineralization 0.75 g/dm³, 11 VII 2018.

Thus, the list of flora of the Republic of Altai was replenished with five more species *Utricularia macrorhiza*, *Ranunculus subrigidus*, *Lemna turionifera*, *Zannichellia repens* and *Stuckenia chakassiensis*. We found the first three species in fresh waters, and *Z. repens* and *S. chakassiensis* in brackish waters. All these findings supplement information on the distribution of these species in Siberia. *Utricularia macrorhiza*, *Ranunculus subrigidus* and *Lemna turionifera* are predominantly American-Asian species, *Stuckenia chakassiensis* is, mainly, an Asian one.

The paper contains 1 Figures and 21 References.

Key words: *Lemna turionifera*; *Ranunculus subrigidus*; *Utricularia macrorhiza*; floristic findings; aquatic plants; lakes; Republic of Altai.

Funding: The work was performed as a part of the state assignments of the Institute for Water and Environmental Problems, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Project No. 121031200178-8), Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Project No. AAAA-A21-121011290026-9), Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences (Project No. 121021600184-6), and the Russian Foundation for Basic research (Project No. 16-04-00931).

Acknowledgments: We would like to express our gratitude to the staff of the group for digitizing the herbarium of the Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (NSK, USU_440537) PhD Nataliya Kovtonyuk and Lyalya Lukmanova for the prompt registration of herbarium specimens. The authors are grateful to Andrey Kipriyanov for his assistance in expeditionary work.

The Authors declare no conflict of interest.

References

1. *Opredelitel' rasteniy Respubliki Altay* [Identification Guide for plants of the Republic of Altai]. Krasnoborov IM and Artemov IA, editors. Novosibirsk: Publishing house of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences; 2012. 701 p. In Russian
2. Lisitsyna LI, Papchenkov VG. Flora vodoemov Rossii: Opredelitel' sosudistykh rasteniy [Flora of Water Bodies of Russia: Identification Guide for Vascular Plants]. Moscow: Nauka Publ.; 2000. 237 p. In Russian

3. Wiegleb G, Moravec J, Therillat J-P, Bobrov AA, Zalewska-Galosz J. A taxonomic account of *Ranunculus* section *Batrachium* (Ranunculaceae). *Phytotaxa*. 2017;319(1):1-55. doi: [10.11646/phytotaxa.319.1.1](https://doi.org/10.11646/phytotaxa.319.1.1)
4. Taylor P. The genus *Utricularia* - a taxonomic monograph. Kew Bulletin Additional Series XIV. BPC Wheatons Ltd; 1989. xii+724 p.
5. *Flora Nizhnego Povolzh'ya. T. 1 (sporovye, golosemennye, odnodol'nye)* [Flora of Lower Volga. Vol. 1. Spore, gymnosperms, monocotyledons]. Svortsov AK, editor. Moscow: KMK Scientific Press Ltd. Publ.; 2006. 434 p. In Russian
6. Tsvelev NN. Lentibulariaceae Rich. In: *Sosudistye rasteniya Sovetskogo Dal'nego Vostoka* [Vascular Plants of the Soviet Far East]. St. Petersburg: Nauka Publ.; 1996. Vol. 8. pp. 260-267. In Russian
7. Chepinoga VV. Flora and vegetation of waterbodies in Baikal Siberia. Irkutsk: V.B. Sochava Institute of Geography SB RAS Publ.; 2015. 468 p. In Russian
8. Kapitonova OA, Kapitonov VI, Il'minskikh NG. About the record of the *Utricularia macrorhiza* (Lentibulariaceae) in the West Siberia. *Turczaninowia*. 2014;17(2):82-86. In Russian
9. Nobis M, Nowak A, Piwowarczyk R, Ebel A, Király G, Kushunina M, Sukhorukov AP, Chernova OD, Kipriyanova LM, Paszko B, Seregin AP, Zalewska-Galosz J, Denysenko M, Nejfeld P, Stebel A, Gudkova PD. Contribution to the flora of Asian and European countries: new national and regional vascular plant records, 5. *Botany Letters*. 2016;163(2):159-174. doi: [10.1080/23818107.2016.1165145](https://doi.org/10.1080/23818107.2016.1165145).
10. Ebel' AL, Ebel' TV, Mikhaylova SI, Sheremetova SA. Floristic findings in Western and Central Siberia. *Sistematicheskie zametki po materialam Gerbariya imeni P.N. Krylova Tomskogo gosudarstvennogo universiteta = Systematic Notes on the Materials of P.N. Krylov Herbarium of Tomsk State University*. 2020;22:11-21. doi: [10.17223/20764103.122.2](https://doi.org/10.17223/20764103.122.2) In Russian, English Summary
11. Ivanova MO, Volkova PA, Kopylov-Gus'kov YuO, Bobrov AA. Floristic findings in southern nature regions of Tuva Republic and in conservation zone of Ubsunur Hollow Biosphere Reserve. *Turczaninowia*. 2017;20(4):15-25. doi: [10.14258/turczaninowia.20.4.2](https://doi.org/10.14258/turczaninowia.20.4.2) In Russian, English Summary
12. Bobrov AA, Mochalova OA. Notes on aquatic vascular plants of Yakutia on materials of the Yakutian Herbaria. *Novosti sistematiki vysshikh rasteniy = Novitates Systematicae Plantarum Vascularium*. 2014;45:122-144. In Russian, English Summary
13. Kipriyanova LM. On new localities of little-known and rare for West Siberia aquatic plants. *Byulleten' Moskovskogo Obshchestva Ispytateley Prirody. Otdelenie Biologicheskoe = Bulletin of Moscow Society of Naturalists. Biological series*. 2018;123(3):84-85. In Russian
14. Nobis M, Klichowska E, Terlević A, Wróbel A, Erst A, Hrivnák R, Ebel AL, Byalt VV, Gudkova PD, Király G, Kipriyanova LM, Olonova M, Piwowarczyk R, Pliszko A, Rosadziński S, Seregin AP, Honcharenko V, Marciniuk J, Marciniuk P, Oklejewicz K, Wolanin M, Batlai O, Bubiková K, Choi HJ, Kochjarová J, Molnár AV, Nobis A, Nowak A, Ofaheřová H, Óvári M, Shukherdorj B, Sramkó G, Troshkina VI, Verkhozina AV, Xiang K, Wang W, Xiang K, Zykova EYu. Contribution to the flora of Asian and European countries: new national and regional vascular plant records. *Botany Letters*. 2019;166(2):163-188. doi: [10.1080/23818107.2019.1600165](https://doi.org/10.1080/23818107.2019.1600165)
15. Landolt E. The family of Lemnaceae. Zürich: Ed. Geobot. Inst. ETH; 1986. Vol. 1. 566 p.
16. Kapitonova OA. Materials to the biology and ecology of duckweeds (Lemnaceae) of Siberia. *Problemy botaniki Yuzhnoy Sibiri i Mongolii = Problems of Botany of Southern Siberia and Mongolia*. 2019;18(1):127-131. doi: [10.14258/pbssm.2019024](https://doi.org/10.14258/pbssm.2019024) In Russian, English Summary
17. *Konспект flory Aziatskoy Rossii: sosudistye rasteniya* [Conspectus florum Rossiae Asiaticae: Plantae vasculares]. Baykov KS, editor. Novosibirsk: Publishing House of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; 2012. 640 p. In Russian

18. Volobaev PA. On the two taxons of the genus *Potamogeton* L. from Siberia, II. *Potamogeton chakassiensis* (Kaschina) Volob. *Sibirskiy Biologicheskiy Zhurnal*. 1993;3:51-59. In Russian
19. Kipriyanova LM. New association *Cladophoro fractae-Stuckenietum chakassiensis* of the class *Ruppietea maritimae* from Siberia. *Rastitel'nost' Rossii = Vegetation of Russia*. 2017;30:55-60. doi: [10.31111/vegus/2017.30.55](https://doi.org/10.31111/vegus/2017.30.55) In Russian, English Summary
20. Kipriyanova LM, Dolmatova LA, Bazarova BB, Naydanov BB, Romanov RE, Tsybekmitova GTs, D'yachenko AV. On the ecology of some species of genus *Stuckenia* (Potamogetonaceae) in lakes of Zabaykalsky Krai and the Republic of Buryatia. *Inland Water Biology*. 2017;10(1):73-82. doi: [10.1134/S1995082917010096](https://doi.org/10.1134/S1995082917010096)
21. Tsvelev NN. O nekotorykh novykh dlya Kavkaza vidakh rasteniy [Some new plant species for the Caucasus]. *Novosti sistematiki vysshikh rasteniy = Novitates Systematicae Plantarum Vascularium*. 1990;27:179-183. In Russian

*Received 01 April 2021; Revised 15 May 2021;
Accepted 27 May 2021; Published 29 June 2021.*

Author info:

Kipriyanova Laura M, Dr. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Hydrobiology, Institute for Water and Environmental Problems, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 2 Morskoy Pr., Novosibirsk 630090, Russian Federation; Leading Researcher, Laboratory of Geography and Ecology of Biodiversity, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskaya Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9999-1956>

E-mail: lkipriyanova@mail.ru

Romanov Roman E, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Algology, Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Sciences, 2 Professor Popov Str., St. Petersburg 197376, Russian Federation; Senior Researcher, Novosibirsk Branch, Institute for Water and Environmental Problems, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 2 Morskoy Pr., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6137-3586>

E-mail: romanov_r_e@mail.ru