

**ВЕСТНИК
ТОМСКОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО
УНИВЕРСИТЕТА
БИОЛОГИЯ**

Tomsk State University Journal of Biology

Научный журнал

2022

№ 58

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, 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, учитывая соответствие материала тематике журнала, актуальность проблемы, научную и практическую новизну и значимость, профессионализм выполнения работы. Принимаются статьи на русском и английском языках. Средний срок публикации 3–6 месяцев. Журнал выходит ежеквартально. Публикации осуществляются на некоммерческой основе. Все опубликованные материалы находятся в свободном доступе.

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

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

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

E-mail: kulizhskiy@yandex.ru

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

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)

Громовых Т.И. – отв. редактор (Московский политехнический университет, Москва, 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)

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

Чернова О.Д. – отв. секретарь (Томский государственный университет, Томск, Россия)

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

Волокитина А.В. (Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск); **Воробьев Д.С.** (Томский государственный университет, Томск); **Дюкарев А.Г.** (Институт мониторинга и климатических систем РАН, Томск); **Кривен С.А.** (Институт мониторинга и климатических систем РАН, Томск); **Минеева Н.М.** (Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова РАН, пос. Борок); **Штернишис 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 В.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 криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия); **Носов А.М.** (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия); **Оденников Д.Н.** (Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия); **Пердус 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.Г. Алиферова; оригинал-макет А.И. Лелюор; дизайн обложки Л.Д. Кривцова

Подписано в печать 29.06.2022 г. Формат 70×108¹/₁₆. Усл. печ. л. 14,6. Тираж 50 экз. Заказ № 5185. Цена свободная.

Дата выхода в свет 27.10.2022 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

Chernova OD - Associate Editor, Tomsk State University, Tomsk, Russia

biojournaltsu@gmail.com, biotsu@mail.ru

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

Bobrovsky MV - Editor, Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, RAS, Pyschchino, Russia

Gromovyykh TI - Editor, Moscow Polytechnic University, Moscow, Russia

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

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

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

Loyko SV - Editor, Tomsk State University, Tomsk, 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

Volokitiina 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); **Aftanas LI**, State Research Institute of Physiology SB RAMS (Novosibirsk, Russia); **Vasil'ev VP**, A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS (Moscow, Russia); **Vasil'eva ED**, Zoological Museum, MV Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russia); **Dubois A**, French National Museum of Natural History (Paris, France); **Zeller B**, French National Institute for Agricultural Research (Nancy, France); **Zinchenko TD**, Institute of Ecology of the Volga River Basin RAS (Togliatti, Russia); **Kingma H**, Maastricht University (Maastricht, Netherlands); **Kryukov VY**, Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS (Novosibirsk, Russia); **Kuznetsov VIV**, Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS (Moscow, Russia); **Lodygin ED**, Institute of Biology of Komi Scientific Centre UB RAS (Syktyvkar, Russia); **Lupashin VV**, University of Arkansas for Medical Sciences (Arkansas, USA); **Maximov TC**, Institute for Biological Problems of the Cryolithozone SB RAS (Yakutsk, Russia); **Nosov AM**, MV Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russia); **Oleennikov 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 MG Aliferova; camera-ready copy AI Leloyur; cover design LD Krivtsova.

Passed for printing 29.06.2022. Format 70×108¹/₁₆. Conventional printed sheets 14,6. Circulation is 50 copies. Orders No 5185. Open price. Date of publication 27.10.2022.

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

E-mail: rio.tsu@mail.ru

СОДЕРЖАНИЕ

АГРОХИМИЯ И ПОЧВОВЕДЕНИЕ

- Фролов О.А., Милановский Е.Ю.** Размер и содержание органических частиц в копролитах *Aporrectodea caliginosa* и *Lumbricus rubellus* (модельный эксперимент) 6

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

- Сидоренко М.Л., Русакова Д.А.** Разнообразие психрофильных бактерий и их биотехнологический потенциал (обзор) 28
- Vassilyeva N.V., Savitskaya I.S., Zhantlessova S.D., Mansurov Z.A., Smagulova G.T.** Morphological and Physicochemical Properties of Nanostructured Cellulose Obtained through Chemical and Biological Methods 55

БОТАНИКА

- Андросова В.И., Виролайнен П.А.** Анатомо-морфологические и физиологические особенности талломов цианолишайника *Peltigera praetextata* (Flörke ex Sommerf.) Zopf разных онтогенетических состояний 71
- Godin V.N., Arkhipova T.V., Vetlova M.A., Kuranova N.G.** Andromonoecy and Floral Protandry of *Oenanthe aquatica* (Apiaceae) 96

КЛЕТочНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

- Петрова Л.В., Сидорчук Ю.В.** Особенности мужского мейоза на примере четырех сортов овса посевного (*Avena sativa* L.), возделываемых в условиях Центральной Якутии 113
- Фёдорова В.С., Бурлак В.А., Артемов Г.Н.** Распространение дирофилярий (Spirurida, Onchocercidae) в природных популяциях малярийных комаров (Diptera, Culicidae) Томского Приобья 128

ЭКОЛОГИЯ

- Евдокименко М.Д., Кривобоков Л.В., Петренко А.Е.** Лесоэкологические последствия ландшафтных пожаров в Забайкалье 153

TABLE OF CONTENTS

AGROCHEMISTRY & SOIL SCIENCE

- Frolov OA, Milanovskiy EYu.** Size and Content of Organic Particles
in the Casts of *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus rubellus* (Model Experiment) 6

BIOTECHNOLOGY & MICROBIOLOGY

- Sidorenko ML, Rusakova DA.** Diversity of Psychrophilic Colonies
and Their Biotechnological Potential 28
- Vassilyeva NV, Savitskaya IS, Zhantlessova SD, Mansurov ZA, Smagulova GT.**
Morphological and Physicochemical Properties of Nanostructured Cellulose Obtained
through Chemical and Biological Methods 55

BOTANY

- Androsova VI, Virolainen PA.** Anatomical, Morphological, and Physiological
Features of Cyanolichen *Peltigera praetextata* (Flörke ex Sommerf.) Zopf Thalli
in Different Ontogenetic States 71
- Godin VN, Arkhipova TV, Vetlova MA, Kuranova NG.** Andromonoecy
and Floral Protandry of *Oenanthe aquatica* (Apiaceae) 96

CELL BIOLOGY & GENETICS

- Petrova LV, Sidorchuk YuV.** Male Meiosis Peculiarities of Four Oat
(*Avena sativa* L.) Varieties Cultivated in Central Yakutia 113
- Fedorova VS, Burlak VA, Artemov GN.** Spread of *Dirofilariae* (Spirurida,
Onchocercidae) in the Natural Populations of Malaria Mosquitos (Diptera, Culicidae)
in Tomsk Ob River Region 128

ECOLOGY

- Evdokimenko MD, Krivobokov LV, Petrenko AE.** Environmental Consequences
of Landscape Fires in Trans-Baikal Forests 153

АГРОХИМИЯ И ПОЧВОВЕДЕНИЕ

Научная статья

УДК 631.4

doi: 10.17223/19988591/58/1

Размер и содержание органических частиц в копролитах дождевых червей *Aporrectodea caliginosa* и *Lumbricus rubellus* (модельный эксперимент)

Олег Алексеевич Фролов^{1,2}, Евгений Юрьевич Милановский³

¹ Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва, Россия

² МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия,

³ Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения
Российской академии наук, Пущино, Россия

^{1,2} <https://orcid.org/0000-0001-6950-2269>, 6.40.7.4@mail.ru
³ milanovskiy@gmail.com

Аннотация. Заметную роль в процессах накопления, перемешивания и преобразования почвенного органического вещества играют дождевые черви. Изменение параметров состояния почвенного органического вещества оказывает влияние на гранулометрический состав почв. Однако до сих пор недостаточно ясно как гранулометрический состав почв меняется в ходе трансформации растительных остатков почвенными дождевыми червями. Поэтому в данном исследовании изучалось воздействие двух видов почвенных дождевых червей (*Aporrectodea caliginosa* и *Lumbricus rubellus*) на гранулометрический состав почвы. В ходе исследований проверяли две гипотезы: а) дождевые черви изменяют гранулометрический состав путем измельчения органического вещества; б) дождевые черви не оказывают влияния на гранулометрический состав минеральной части почв. Для опытов использовали образцы из гумусового горизонта агрочернозёма миграционно-мицеллярного. Гранулометрический состав определяли в четырех вариантах лабораторного микрокосма: почва без опада; почва с опадом; почва с опадом и эндогейнными дождевыми червями (*A. caliginosa*); почва с опадом и эпигейными дождевыми червями (*L. rubellus*). Гранулометрический состав измеряли методом лазерной дифракции. Исследование подтвердило только первую гипотезу, так как в копролитах *A. caliginosa* и *L. rubellus* обнаружены минеральные частицы размером более 100 мкм, отсутствующие в исходной почве. Скорее всего это связано с поступлением фитолитов из опада и накоплением их в копролитах. Показано, что дождевые черви изменяют гранулометрический состав почвы за счет измельчения растительного опада. В связи с поступлением органических частиц из опада дождевые черви увеличили долю крупного песка в песчаной фракции. Дождевые черви вида *A. caliginosa* концентрируют в копролитах минеральные частицы мелкого песка (+0,46%), среднего песка (+0,37%), крупного песка (+0,07%), а *L. rubellus* концентрируют частицы ила (+3,8%) и мелкого песка (+0,36%). Таким образом, показано, что дождевые черви изменили гранулометрический состав почвы.

Ключевые слова: чернозем, дождевые черви, органическое вещество почвы, элементарные почвенные частицы, распределение частиц по размерам

Источник финансирования: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90069.

Для цитирования: Фролов О.А., Милановский Е.Ю. Размер и содержание органических частиц в копролитах *Aporrectodea caliginosa* и *Lumbricus rubellus* (модельный эксперимент) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 58. С. 6–27. doi: 10.17223/19988591/58/1

Original article

doi: 10.17223/19988591/58/1

Size and Content of Organic Particles in the Casts of *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus rubellus* (Model Experiment)

Oleg A. Frolov^{1,2}, Evgeniy Yu. Milanovskiy³

¹ V. V. Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow, Russian Federation

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

³ Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, RAS, Pushchino, Russian Federation

^{1,2} <https://orcid.org/0000-0001-6950-2269>, 6.40.7.4@mail.ru

³ milanovskiy@gmail.com

Summary. Being part of a wide variety of soil invertebrates, earthworms play an important role in soil organic matter (SOM) accumulation, mixing and transformation. The goal of this study is to detect organic and mineral particles in the particle-size distributions (PSD) of the casts of *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus rubellus*. The two hypotheses of this study are as follows: (a) earthworms change PSD by grinding organic matter (OM), and (b) PSD without OM does not vary in all the variants. For the first time ever, the authors studied PSD before and after OM oxidation in casts. For the first time ever, they also described the increase in the content of mineral particles in the casts of *A. caliginosa* and *L. rubellus* that was not observed in the control samples. The soil did not contain particles of >100 µm (based on the performed particle-size distribution analysis).

The experimental site was located 15 km to the north of V. V. Alekhin Central Black Earth State Biosphere Reserve. In 1947, a black earth plot having an area of 0.6 hectares was ploughed under regularly mowed virgin motley grass-meadow vegetation within the Reserve territory (51°34'12.5"N 36°05'22.5" E). In this study, we used a model experiment based on microcosms with earthworms. We took soil from the arable black earth horizon of Kursk Region (51°37'17.1" N; 36°15'42.0" E). This type of soil was Protocalcic Chernozem (Loamic, Pachic). The microcosms belonged to four variants: soil, soil&litter, soil&litter and worms (*A. caliginosa*), soil&litter and worms (*L. rubellus*). All the variants had four replications. We took a total of 24 samples (an average sample from 10 different parts of the microcosm) from each variant based on replications and sampling timing (Figure 2). We measured the total content of C after dry combustion in an oxygen stream at 1,000 °C with the AN-7529 carbon analyzer (Gomel Plant of Measuring Devices, Republic of Belarus) using the method of automatic coulometric titration. For our PSD analysis, we used the laser diffractometer Malvern Mastersizer 3000E with a helium-neon red light at a wavelength of 632.8 nm, and the 600ml Hydro LV dispersing device. The measurement ranges of particle sizes were from 0.01 to 2,000 µm (Malvern Panalytical Inc., GB). We determined PSD in soil samples and casts before and after OM oxidation. The laboratory model experiment variants had four replications. We performed a carbon content analysis in three dimensions for each sample. We obtained PSD results in six replications, each of which being an average value of three

sample suspension scans. The figures show arithmetic mean values for the replications and the confidence intervals of a standard deviation at the significance level ($\alpha = 0.05$) calculated using Excel (2010). We made an analysis of variance (ANOVA) and a principal component analysis (PCA) using additive logarithmic ratio transformation for data normalization.

The contribution of the earthworm *A. caliginosa* to SOM accumulation is insignificant. The TOC in the casts of *A. caliginosa* is $0.32 \pm 0.06\%$ higher vs. the reference variant "soil." The TOC in the soil with the epigeic soil-litter earthworm *L. rubellus* ($4.99 \pm 0.4\%$) and its casts ($5.03 \pm 0.24\%$) is significantly higher vs. other experiment variants (Figure 3). Earthworms changed the soil PSD, which led to a redistribution of particles (Table 1). Owing to the intake of organic particles, earthworms increased the share of coarse sand in the sand fraction (vs. the particle fraction (PF) of the control sample – soil without litter and earthworms) for *A. caliginosa* (very fine sand +1.05%, fine sand +1.07%, medium sand +0.4%, coarse sand +0.22%) and *L. rubellus* (very fine sand +3.36%, fine sand +4.7%, medium sand +2.24%, coarse sand +1.03%) (Figure 4). The earthworms *A. caliginosa* concentrate mineral particles of fine sand (+0.46%), medium sand (+0.37%), and coarse sand (+0.07%) in their casts, while *L. rubellus* concentrate silt particles (+3.8%) and fine sand (+0.36%) (Figure 5). The loss of vol.(%) after oxidation in all fractions in all the variants is caused by soil organic matter (Table 2). We used PCA to assess the effect of earthworm species and litter on the size and content of organic particles in casts and soil (Figure 6). The PCA results show important fractions for detection of organic ($>100 \mu\text{m}$) and mineral (250–500 μm , 500–1,000 μm) particles in the PSD. We assessed the effect of the size and content of organic particles in casts using ANOVA (Table 3). The most important factors are earthworm species and litter (based on the partial η -square). We assume that the source of mineral particles in the casts of *A. caliginosa* are phytoliths from the litter of *Acer platanoides* (L). The earthworms *L. rubellus* have a stronger effect on soil vs. *A. caliginosa*. The study does not confirm some of our hypotheses. Earthworms change PSD through OM grinding, but the PSD without OM is different in all the variants. We hypothesize in our paper that the reason is the destruction of phytoliths from litter and their accumulation in casts. One may distinguish between organic and mineral components in samples through determination of PSD before and after organic matter removal. We recommend determining a particle-size distribution both before and after organic matter removal from initial samples.

The paper contains 5 Figures, 3 Tables, 54 References.

Keywords: chernozem, earthworms, soil organic matter, elementary soil particles, particle-size distribution

Funding: The work was carried out within the framework of the research RFBR projects 19-34-90069-19

For citation: Frolov OA, Milanovskiy EYu. Size and Content of Organic Particles in the Casts of *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus rubellus* (Model Experiment). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;58:6-27. doi: 10.17223/19988591/58/1

Введение

Среди большого разнообразия почвенных беспозвоночных важную роль в процессах накопления, перемешивания и преобразования почвенного органического вещества (ПОВ) играют дождевые черви [1, 2]. Поглощение дождевыми червями почвенной массы гумусовых горизонтов достига-

ет 200–400 мг сухого веса на 1 г массы тела дождевого червя в сутки; скорость прохождения по кишечнику дождевого червя колеблется от нескольких часов до суток [3]. Активно воздействуя на почву, дождевые черви меняют ее свойства. Результат жизнедеятельности дождевых червей в почве отражается на свойствах почвы: содержание углерода органических соединений ($C_{орг}$) и его стабилизация [4–8], пористость, устойчивость и влагоотталкивающие свойства [9–11], содержание обменных катионов, рН [12–14], влияние нор дождевых червей на миграцию влаги. Дождевые черви воздействуют на почву и как природную систему, и как сельскохозяйственный объект [15–17]. Например, no-till вызывает увеличение содержания ПОВ [18, 19]. Вклад в это увеличение вносят все микроорганизмы почвы, животные, в том числе и дождевые черви. Есть исследования, свидетельствующие о том, что численность дождевых червей возрастает при использовании системы земледелия no-till [20].

Оценка воздействия дождевых червей на почву основывается на изучении почвы с дождевыми червями и сравнении ее с эталонным образцом почвы без дождевых червей. Такой подход не позволяет точно определить, что вызывает изменение тех или иных свойств почвы. В частности, не всегда ясно, произошло ли изменение за счет появления на поверхности растительных остатков и преобразования их микроорганизмами или различия вызваны деятельностью почвенных животных. Также при оценке свойств почвы в целом, где обитали дождевые черви, неизбежно будет происходить усреднение и наложение результатов, тогда как наиболее активные процессы и изменения происходят именно в копролитах, которые являются «горячими точками» для микроорганизмов [4].

В природе, особенно в условиях агроценоза, значение дождевых червей трудно переоценить. В работе P. Nedělec et al. [21] проведен эксперимент с *Lumbricus rubellus*, результат которого показал, что наибольшая численность и высокая активность микроорганизмов приурочена к дрилосфере. Авторы, к сожалению, копролиты не выделили в отдельную группу, а включили в «дрилосферу». Тем не менее полученные результаты исследования согласуются с нашим предположением – максимальный эффект и результат воздействия дождевых червей на почву локализован в копролитах. В ряде исследований [22, 23] отмечается важность присутствия дождевых червей в почвах сельскохозяйственных угодий, их вклад в стабилизацию ПОВ [7].

В работе [7] показано, что слизь дождевых червей стимулирует микробиологическое разложение органических веществ (ОВ) в почве, где микроорганизмы находятся в адгезированном состоянии [23]. Увеличение площади поверхности органических частиц способствует росту микробной биомассы и как следствие общей скорости управляемых ими процессов. Большая площадь поверхности органических частиц способствует росту количества микроорганизмов помимо слизи. Дождевые черви разрушают растительные остатки, таким образом увеличивая площадь поверхности органических частиц [24], что свидетельствует об изменении гранулометрического

состава (ГС) с учетом ОВ. Измельчение растительных остатков дождевыми червями является необходимым условием эффективного функционирования почвенных экосистем. ГС почвы являются ее фундаментальной физической характеристикой [25]. Соотношение разноразмерных элементарных почвенных частиц (ЭПЧ) в ГС и их тип зависят от свойств и генезиса почвы [25, 26].

О ГС копролитов известно немного, несмотря на большое количество публикаций о характеристике свойств копролитов и влиянии дождевых червей на почву. ГС копролитов позволяет оценить роль дождевых червей в изменении физических свойств почвы (плотность, пористость, агрегатный состав почвы и др.), определяющих ее плодородие и агротехническую ценность. Существующие литературные данные по ГС копролитов трудно сопоставимы, так как они получены разными методами (просеивание, седиментация, лазерная дифракция), а также либо для исходных образцов, либо после удаления из них ОВ, но не для двух вариантов одновременно.

О. Шульманн и А. Тиунов [27] анализировали копролиты дождевых червей ситовым методом в трех диапазонах (2–3, 1–2 и 0,5–1 мм) с учетом их субстратов (песок смешанный с опадом). Они показали, что скорость кормления *Lumbricus terrestris* снижалась, когда не было песка. В работе [28] показано, что наличие песка полезно для дождевых червей. Другой автор [29] показал, что компостным дождевым червям не нужен песок. Косвенное предположение об избирательном накоплении песка дождевыми червями продемонстрировано в работе [30], где отмечено увеличение содержания кремния в копролитах.

Наши исследования [31] показали повышенное содержание мелкой и средней фракций песка в ГС копролитов по сравнению с почвой (в которой жили дождевые черви) из микрокосма. Остается неясной причина (генезис) обогащения копролитов дождевых червей песчаными частицами – избирательное поступление/накопление в кишечнике червя из вмещающей почвы или это связано с органическим генезисом.

Таким образом, определение содержания органических и минеральных частиц в ГС копролитов *Aporrectodea caliginosa* и *Lumbricus rubellus* необходимо для понимания механизмов, влияющих на функционирование почвенных экосистем и, следовательно, на функционирование большого числа наземных экосистем, как естественных, так и антропогенных. Цель исследования заключается в обнаружении органических и минеральных частиц в ГС копролитов *A. caliginosa* и *L. rubellus*. Проверены две гипотезы. Первая – дождевые черви изменяют ГС путем измельчения ОВ. Вторая – дождевые черви не оказывают влияния на гранулометрический состав минеральной части почв.

Объекты и методы

Образцы почвы. В данном исследовании использовали модельный эксперимент, основанный на микрокосмах с дождевыми червями. Почва взята из пахотного горизонта агрочернозема миграционно-мицеллярного (Классификация и диагностика почв России, 2004) Курской области

(51°37'17,1"N; 36°15'42,0"E). Эта почва диагностирована в [32] как Protocalcic Chernozem (Loamic, Pachic) и имеет большое агротехническое значение. Плотность твердой фазы в слое 0–20 см составляет 2,55 г/см³ [33]. Плотность почвы в слое 0–20 см составляет 1,18 г·см³ [44], рН_{H₂O} – 6,32±0,11 [34]. Южнее, в 15 км от места отбора образцов, расположен Центрально-Черноземный государственный биосферный заповедник им. В.В. Алехина. В 1947 г. на территории заповедника (51°34'12,5"N; 36°05'22,5"E) был распахан участок чернозема под регулярно скашиваемой целинной разнотравно-луговой растительностью площадью 0,6 га [35]. Проведенное исследование важно для интерпретации результатов изучения трансформации почв этого распаханного участка.

Микрокосмы. Воздушно-сухая почва хранилась в течение двух лет, что обеспечивает минимальное остаточное воздействие собственной биоты образцов исходной почвы на дождевых червей. Пробы почвы для вариантов опыта отбирали из фракций сухого рассева исходной почвы на ситах 10; 7,15; 5; 3,15; 2; 1; 0,5 и 0,25 мм (амплитуда колебаний 2,5 мм, время 2 мин, (Analysette 3 Spartan Fritsch, Германия)) согласно методике в [36].

Перед проведением опыта влажность почвы доводили до полевой влагостойкости (25%), почву перемешивали и равномерно распределяли по микрокосмам, представляющим собой цилиндрические сосуды объемом 500 мл. Исходные массы воздушно-сухой почвы составляли 350 г. Экспериментальные сосуды выдерживали в темноте при температуре 17–22 °С и гравитационной влажности 35–40% в течение четырех месяцев. Влажность почвы поддерживали путем равномерного добавления воды на поверхность почвы. Уровень влажности контролировали взвешиванием высушенных (105 °С) образцов почвы (исходная масса 5 г) со всех микрокосмов один раз в месяц.

Для исследования были отобраны эндогейные дождевые черви *Apporetodea caliginosa* (почвенные дождевые черви, живущие в минеральной толще почвы, являются микрофагами) и эпигейные дождевые черви *Lumbricus rubellus* (почвенно-подстилочные дождевые черви, живущие на поверхности почвы, мезофаги [37, 38]). Отбор дождевых червей проводили согласно международному стандарту ISO 23611-1, видовую принадлежность дождевых червей определяли по определителю [39]. Дождевые черви были представлены ювенильными и половозрелыми особями в равных пропорциях. Дождевых червей двух видов *A. caliginosa* и *L. rubellus* содержали раздельно в сосудах с опадом (отбор весной перезимовавших листьев) *Acer platanoides* (L.). Масса дождевых червей в микрокосме 10 г.

Вносили 5 г опада в виде воздушно-сухих цельных листьев на поверхность почвы без перемешивания. В отличие от исследований [7, 9, 12] в нашей работе растительный опад помещался на поверхность почвы без предварительного измельчения и смешивания с минеральной массой. Кленовые листья, лежащие на поверхности почвы, имитируют естественные условия в лабораторном эксперименте (из статьи [40]). Это позволяет объективно определить функции дождевых червей по переходу и трансформа-

ции органического вещества из опада в горизонты почвы. Опад из кленовых листьев был выбран как хорошо потребляемый дождевыми червями [3, 40, 41].

Были сделаны микрокосмы в четырех вариантах: почва и почва с опадом в качестве эталонов; почва с опадом и черви *A. caliginosa*, почва с опадом и черви *L. rubellus*. Все варианты имели четырехкратную повторность. Всего отобрано 24 пробы (средняя проба из 10 разных частей микрокосма) из каждого варианта условий с учетом повторности и времени отбора проб (рис. 1). Пробы эталонной почвы отбирали с глубины 0–2 см, суточные копролиты собирали с поверхности почвы. Пробы отбирали через один, два, три и четыре месяца пребывания дождевых червей в микрокосме. Данные за все месяцы анализируются в едином массиве.

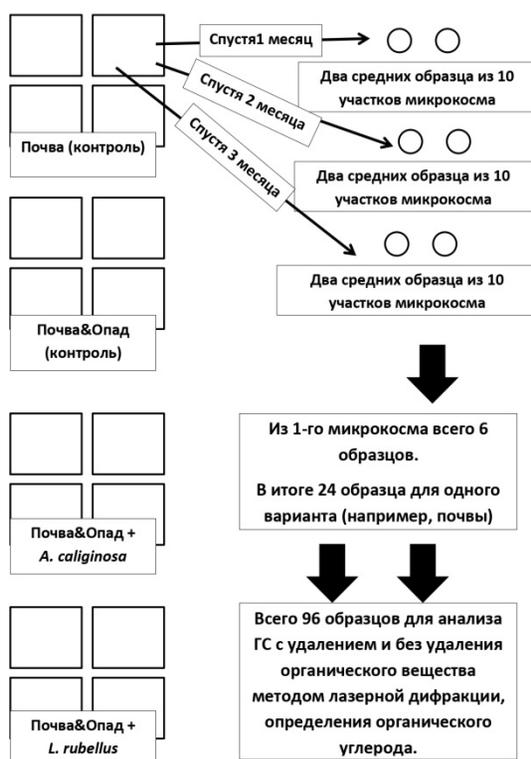


Рис. 1. Дизайн эксперимента
[Fig. 1. The experimental setup]

Содержание органического углерода. Общее содержание углерода после сухого сжигания в токе кислорода при 1000 °С измеряли на анализаторе углерода АН-7529 (Гомельский завод измерительных приборов, Республика Беларусь) методом автоматического кулонометрического титрования. В пахотном горизонте чернозема карбонаты отсутствуют (они глубже 40 см), а весь анализируемый углерод – углерод органических соединений [42].

Лазерный дифракционный анализ размера частиц. Для анализа ГС использовали лазерный дифрактометр Malvern Mastersizer 3000E, оснащенный гелий-неоновым красным светом на длине волны 632,8 нм, диспергатор Hydro LV объемом 600 мл, диапазоны измерения размеров частиц от 0,01 до 2 000 мкм (Malvern Panalytical Inc., Великобритания). ГС определяли в образцах почвы и копролитах до и после окисления ОВ.

Определение ГС следует проводить после разрушения агрегированных частиц в образце. Применение пирофосфата натрия или гексаметафосфата натрия для этой цели невозможно. Обменные катионы из поглощающего комплекса почвы переходят в практически нерастворимый в воде осадок фосфатов кальция и магния, что приводит к несоответствию при определении ГС методом лазерной дифракции [25].

Предварительные испытания показали, что ультразвуковое диспергирование водной суспензии образца на Hydro LV не обеспечивает полного разрушения агрегированных частиц. Образцы диспергировали с помощью предварительно откалиброванного ультразвукового диспергатора Digital Sonifier S-250D (Branson Ultrasound, США). К воздушно-сухой пробе добавляли 30 мл дистиллированной H₂O (120–130 мг с ОВ, 100–110 мг после окисления ОВ) и диспергировали суспензию при энергии ультразвука 450 Дж/мл стандартным роговым наконечником [43–45]. При анализе использовалась теория рассеяния света сферической частицей M_i с показателем преломления твердой фазы 1,55, коэффициентом поглощения 0,1 и показателем преломления воды 1,33 [46, 47].

Классификация фракций ГС проведена по USDA/FAO: ил (0–2 мкм), пыль (мелкая 2–20 мкм, крупная 20–50 мкм) и песок (очень мелкий 50–100 мкм, мелкий 100–250 мкм, средний 250–500 мкм; крупный 500–1000 мкм), обеспечивающая детализацию фракций пыли и песка.

Окисление ОВ. Мокрое окисление органического вещества H₂O₂ проводили по методике, описанной в работе [48]. В этой процедуре использовали количество образца, обеспечивающее уровень затемнения лазерного луча $\geq 10\%$ при определении ГС. 1–2 мл 30% H₂O₂ добавляли к 100–110 мг образца в пробирке «Falcon» (50 мл) при комнатной температуре. На следующий день образцы помещали в термостат (40 °С). Ежедневно добавляли свежую H₂O₂ до прекращения вскипания (10–15 дней). После окисления образцы высушивали при 40 °С и использовали для гранулометрического анализа.

Статистика. Анализ содержания углерода проводили в трех измерениях для каждого микрокосма. Результаты ГС были получены в 24 повторях для каждого объекта (см. рис. 1), каждый из которых представляет собой среднее значение трех сканирований суспензии образца. На рисунках представлены средние арифметические значения и доверительные интервалы стандартного отклонения на уровне значимости ($\alpha = 0,05$), рассчитанные с помощью программы Excel (2010). Дисперсионный анализ (ANOVA) и анализ методом главных компонент (МГК) рассчитывали с использованием преобразования аддитивного логарифмического отношения для нормализации данных.

Результаты исследования и обсуждение

Общий органический углерод. По сравнению с контрольным вариантом «почва» содержание $C_{орг}$ в почве из варианта опыта «опад–почва» увеличивается на $0,30 \pm 0,05\%$, в варианте «опад–почва–*A. caliginosa*» – на $0,39 \pm 0,08\%$, в варианте «опад–почва–*L. rubellus*» – на $1,33 \pm 0,4\%$. Вклад дождевого червя *A. caliginosa* в накопление почвенного $C_{орг}$ незначителен. По сравнению с контрольным вариантом «почва» содержание $C_{орг}$ в копролитах *A. caliginosa* повышено на $0,32 \pm 0,06\%$. Содержание $C_{орг}$ в почве с дождевым червем *L. rubellus* ($4,99 \pm 0,4\%$) и его копролитами ($5,03 \pm 0,24\%$) достоверно выше, чем в других вариантах опыта (рис. 2).

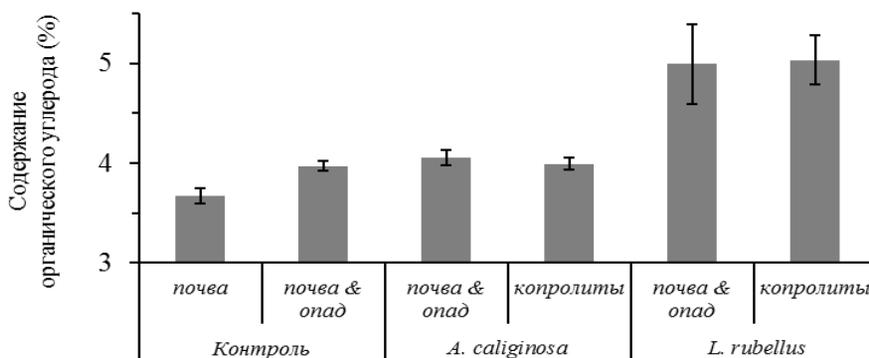


Рис. 2. Содержание $C_{орг}$ (%) в пробах почвы и копролитах
[Fig. 2. The content of OC (%) in the samples of soil and casts]

Части кленовых листьев из опада, переваренного дождевыми червями, пространственно локализованы как на поверхности почвы (откуда были взяты пробы), так и внутри нее.

Гранулометрический состав почвы и копролитов (с ОВ). Гранулометрический состав ($ГС_{ОВ}$) образцов почвы и копролитов (с ОВ) представлен на рис. 3, из которого видно изменение соотношения гранулометрических фракций за счет значительного увеличения содержания песчаных частиц с ОВ размером более 100 мкм по сравнению с их содержанием в тех же образцах, но после окисления ОВ.

Гранулометрический состав почвы и копролитов (без ОВ). Международным методом определения $ГС$ почв предусматривает предварительное удаление ОВ из образца [47, 48]. Результаты определения гранулометрического состава ($ГС_{H_2O_2}$) после окисления ОВ пероксидом водорода представлены на рис. 4.

Содержание (об. %) илистой фракции в образцах постепенно снижается от $12,5 \pm 0,4$ в исходной почве до $12,2 \pm 0,4$ в копролитах *L. rubellus* (табл. 1). В $ГС$ почвы и копролитов преобладает пылевая фракция (2–50 мкм). Повышенное содержание пыли в копролитах *L. rubellus* (83,4 об. %) обусловлено содержанием субфракций 2–20 мкм ($53 \pm 2,6$ об. %).

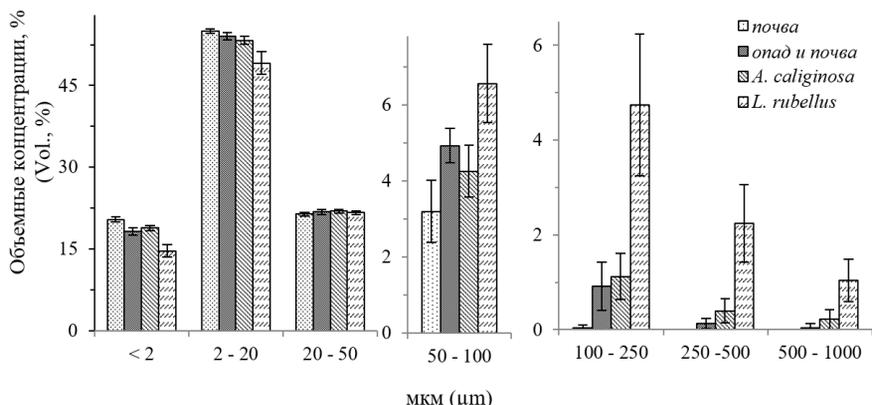


Рис. 3. Гранулометрический состав до окисления органического вещества в образцах почвы и копролитах

[Fig. 3. The PSD before the organic matter oxidation in the samples of soil and casts]

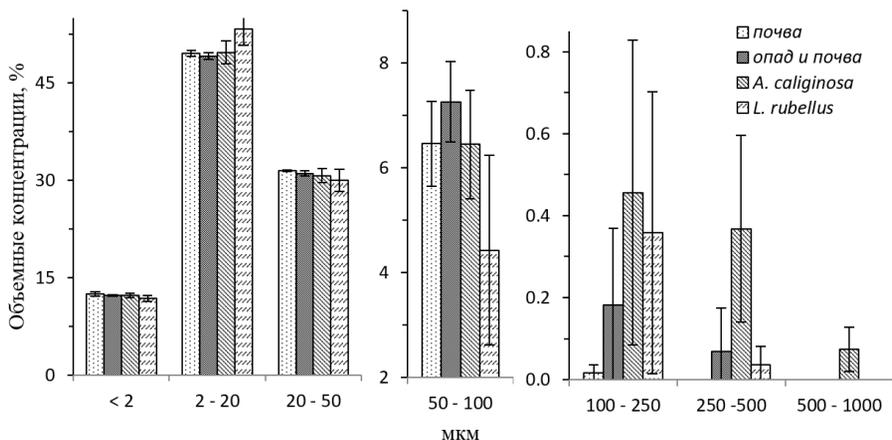


Рис. 4. ГС после окисления ОБ в образцах почвы и копролитах

[Fig. 4. The PSD after the OM oxidation in the samples of soil and casts]

Среднее содержание частиц размером 2–20 мкм в пробах «почва», «почва–опад» и копролитах *A. caliginosa* существенно не различается и составляет 49,1–49,4 об. %. Доля частиц размером 20–50 мкм колеблется в пределах 30–31,5 об. % во всех выборках и статистически не различается. Среди четырех фракций песка (очень мелкий, мелкий, средний и крупный песок) преобладает очень мелкий песок (50–100 мкм). Максимальное его содержание ($7,3 \pm 0,8$ об. %) обнаружено в образце почвы из варианта «почва–опад». Минимум ($4,5 \pm 1,8$ об. %) – у копролитов *L. rubellus*. В «почвенном» варианте и копролитах *A. caliginosa* содержание очень мелкого песка составляет $6,5 \pm 0,8$ и $6,4 \pm 1,8$ об. % соответственно. Содержание мелких частиц песка в «почве» очень низкое ($0,02 \pm 0,03$ об. %), напротив, его содержание значительно выше в образцах варианта «почва и опад», копроли-

тах *A. caliginosa* и *L. rubellus* в 9, 23 и 18 раз соответственно. Частицы среднего размера песка в образце «почва» не наблюдались. В вариантах опыта «опад–почва» (0,07±0,05 об. %) и копролитах *L. rubellus* (0,04±0,02 об. %) содержание этой фракции сравнимо с погрешностью измерения. И только в копролитах *A. caliginosa* значимо присутствие среднего песка (0,4±0,1 об. %). Крупный песок (500–1000 мкм) присутствует только в ГС копролитов *A. caliginosa* (0,07±0,03 об. %).

Статистический анализ. Содержание (об. %) илистой фракции в образцах исходной почвы и копролитов *L. rubellus* составляет 20,41±0,41 и 14,60±1,55 соответственно, что в 1,6 и 1,2 раза выше, чем в ГС после окисления ОВ. В пробах «опад–почва» и копролитах *A. caliginosa* содержание илистой фракции с учетом ОВ увеличилось в 1,5 раза до 18,16±0,69 и 18,83±0,50 об. % соответственно (табл. 1).

Таблица 1 [Table 1]

Сравнение содержания частиц (об.%) в ГС_{ОВ} (до окисления ОВ) с ГС_{Н2О2} (после окисления ОВ) образцов с использованием U-критерия Манна–Уитни [The content of particles (Vol.%) in the PSD_{OM} (before oxidation of OM) and in the PSD_{H2O2} (after oxidation of OM). Mann–Whitney U Test]

Фракция, мкм	Окисление ОВ	Копролиты <i>A. caliginosa</i>	Копролиты <i>L. rubellus</i>		Опад и почва			Почва		
		Среднее	Среднее	p ¹	Среднее	p ¹	p ²	Среднее	p ¹	p ²
0–2	до	18,83	14,6	0	18,16	0,15	0	20,41	0	0
	после	12,25	11,79	0	12,29	0	0	12,49	0,02	0
2–20	до	53,27	49,14	0	54,04	0,62	0	54,99	0	0
	после	49,7	53,35	0,23	49,13	0,01	0,98	49,56	0	0,41
20–50	до	21,91	21,68	0	21,78	0,85	0	21,36	0,04	0
	после	30,72	30,03	0,28	31,07	0,59	0,03	31,47	0,05	0,01
50–100	до	4,25	6,56	0	4,93	0,85	0	3,2	0,04	0
	после	6,44	4,43	0,28	7,26	0,59	0,03	6,46	0,05	0,01
100–250	до	1,12	4,74	0	0,92	0,4	0	0,04	0,03	0
	после	0,45	0,36	0,55	0,18	0,63	0,86	0,02	0,01	0,01
250–500	до	0,4	2,24	0	0,13	0,66	0	0	0,02	0
	после	0,37	0,04	0,21	0,07	0,1	0,93	0	0	0,02
500–1000	до	0,22	1,04	0	0,04	0,52	0	0	0	0
	после	0,07	0	0,03	0	0	1	0	0	1

Примечание. p¹ – сравнение с копролитами *A. caliginosa*, p² – сравнение с копролитами *L. rubellus*.

* Жирным выделены достоверно различающиеся пары при p < 0,05.

* Significantly different pairs are highlighted in bold at p < 0.05.

Сумма фракций ила и мелкой пыли (76,4 ÷ 70,8 об. %) преобладает в ГС_{ОВ} образцов всех вариантов опыта в случае ГС_{Н2О2}. Изменение содержания мелкой пыли (2–20 мкм) в ГС с ОВ исходных проб обратно пропорционально результату ГС проб без ОВ. Максимальное количество мелкой пыли наблюдалось в «почвенном» варианте (54,99±0,38 об. %), минимальное – в копролитах *L. rubellus* (49,14±2,13 об. %). Содержание (21,4±0,3 ÷

21,9±0,3 об. %) крупной пыли (20–50 мкм) в образцах почвы и копролитах имеет слабые различия.

Различие между $ГС_{ОВ}$ и $ГС_{H_2O_2}$ коррелировало с $C_{орг}$ в объектах этого эксперимента (табл. 2). Потери об.(%) после окисления во всех фракциях во всех вариантах обусловлены разложением почвенного органического вещества. Суммарное содержание песчаных фракций в $ГС_{ОВ}$ и доля частиц размером 50–1000 мкм составляют 3,2/0,04% (почва), 6/1% (почва–опад), 6/1,7% (копролиты *A. caliginosa*), 14,6/8% (копролиты *L. rubellus*). Другие значения для этих фракций были получены в $ГС_{H_2O_2}$: 6,5/0,3% (почва), 7,3/3,3% (почва–опад), 6,4/2,2% (копролиты *A. caliginosa*), 4,4/8,2% (копролиты *L. rubellus*).

Т а б л и ц а 2 [Table 2]

Отношение содержания частиц в $ГС_{ОВ}$ к их содержанию в $ГС_{H_2O_2}$ для каждой фракции (левый столбец таблицы). Линейная корреляция между фракциями $ГС_{ОВ}$ и содержанием общего углерода. Соотношение между фракцией частиц ($y = ГС(об.%)$) и содержанием $C_{орг}$ ($x = C_{орг} (%)$)
 [The ratio of the particles content in the PSD_{OM} (a) to their content in the PSD_{H₂O₂}; the linear correlation between “a” and the TOC. Relationship between particle fraction (the Y = PF(Vol.%) and OC content (the X = OC (%))]

Фракция, мкм	Контроль		Копролиты		R ²	Зависимость ГС (об. %) и C _{орг} (%)
	Почва	Опад и почва	<i>A. caliginosa</i>	<i>L. rubellus</i>		
0–2	1,6	1,5	1,5	1,2	0,97	$y = -4,0556x + 34,89$
2–20	1,1	1,1	1,1	0,9	0,99	$y = -4,3061x + 70,795$
20–50	0,7	0,7	0,7	0,7	0,05	$y = -4,3061x + 70,795$
50–100	0,5	0,7	0,7	1,5	0,9	$y = 2,2504x - 4,6386$
100–250	2,7	5,1	2,5	13,2	0,999	$y = 3,4892x - 12,825$
250–500	–	1,9	1,1	62	0,98	$y = 1,7338x - 6,5296$
500–1 000	–	–	2,9	–	0,97	$y = 0,7984x - 3,0022$

МГК использовали для оценки влияния видов дождевых червей и опада на размер и содержание органических частиц в копролитах и почве (рис. 5). Результаты МГК выявляют основные фракции для диагностики органических (> 100 мкм) и минеральных (250–500, 500–1 000 мкм) частиц в ГС.

С помощью ANOVA проведена оценка влияния факторов на перераспределение частиц по размерам в копролитах (табл. 3). Рассматривались факторы: наличие опада, наличие дождевых червей, наличие опада и дождевых червей, наличие опада и дождевых червей (с учетом вида). Последние два варианта были наиболее важными (на основе р-уровня (альфа = 0,05)). Виды дождевых червей влияют на ГС копролитов (на основе частичного η-квадрата). Наиболее важными факторами являются виды дождевых червей и опад (на основе частичного η-квадрата). На их долю приходится основная часть дисперсии ГС в почве и копролитах.

Увеличение содержания общего углерода в вариантах («опад–почва», «опад–почва + *A. caliginosa*», «опад–почва и *L. rubellus*») обусловлено поступлением: 1) мелких сегментов листьев клена; 2) водорастворимых продуктов микробиологического преобразования опада, мигрирующих в почву при увлажнении опада.

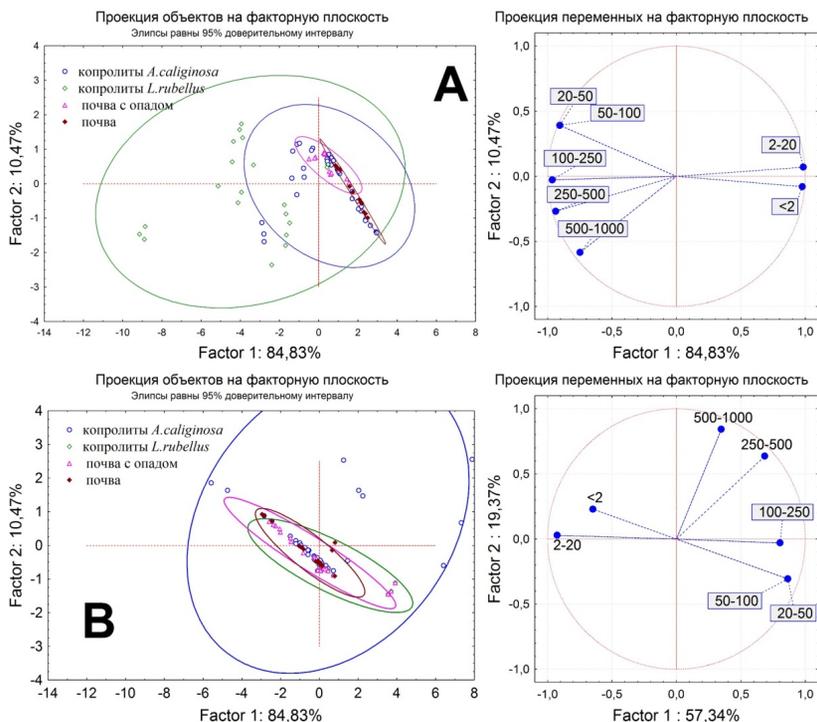


Рис. 5. Метод главных компонент (МГК): проекция на факторную плоскость, основанная на объемных процентах фракций ГС (*A* – с учетом ОВ почвы, *B* – без учета ОВ почвы) для различных образцов (почва–опад, копролиты *A. caliginosa*, копролиты *L. rubellus*)

[Fig. 5. Principal component analysis (PCA) ordination diagram based on coprolites and control on a factorial plane based on volume percentages of PSD fractions (*A* - with OM, *B* - without OM) for various samples (soil, soils with litter, coprolites of *A. caliginosa*, coprolites of *L. rubellus*)]

Т а б л и ц а 3 [Table 3]

Результаты дисперсионного анализа (ANOVA) по сравнению гранулометрического состава образцов с удалением органического вещества пероксидом водорода и без этой процедуры

[Results of analysis of variance (ANOVA) comparing particle size distribution of samples with and without removal of organic matter by hydrogen peroxide]

	Effect df	Error df	p-уровень	Частичный η-квадрат
ОВ	14	69	0,00001	0,47
Дождевые черви	14	69	0,00042	0,4
ОВ и дождевые черви	28	136	<10 ⁻⁷	0,44
ОВ и виды дождевых червей	42	200	<10 ⁻¹⁰	0,54

Соотношение и содержание песчаных частиц в образцах до окисления принципиально иное, чем после. Для всех фракций песка от очень мелкого до крупного содержание частиц в составе этих же фракций постепенно

увеличивается («почва» < «опад–почва» < «копролиты *A. caliginosa*» < «копролиты *L. rubellus*»). С другой стороны, содержание песчаных частиц в пробах одних и тех же почвенных вариантов и копролитах уменьшается одновременно с увеличением размеров песчаных частиц. Увеличение доли песка происходит за счет уменьшения доли глины и тонкой пыли в почве и копролитах. Источником крупных частиц в ГС варианта без окисления ОВ являются листья клёна, что подтверждается высокой корреляцией с содержанием углерода в образцах. Последние три варианта нашего опыта включали опад на поверхности почвы и различались наличием и видом дождевых червей. На основании предварительного исследования, выявившего различия в гранулометрическом составе при использовании одного микроскопа [31] и данного исследования, предполагаем, что наличие, различное содержание и соотношение частиц в ГС_{ОВ} связано с указанными выше факторами.

Обращает на себя внимание и требует объяснения несоответствие результатов определения фракций песка в исходных пробах и после удаления ОВ. В ГС_{ОВ} независимо от варианта опыта содержание частиц фракции песка максимально в копролитах *L. rubellus*, обитающих на поверхности почвы. Однако после удаления ОВ из образцов частицы песка преобладают в копролитах эндогеяного дождевого червя *A. caliginosa*. Дождевые черви накапливают большие песчинки за счёт измельчения растительных остатков [28]. В нашей работе накопление крупных минеральных частиц отмечено только для *A. caliginosa*. Минеральные частицы размером более 250 мкм практически отсутствуют в контрольной почве, но небольшая часть таких частиц попала в почву с опадом и копролитами.

Одна из возможных причин заключается в том, что это различие обусловлено неполным окислением ОВ почвы H_2O_2 [49]. Однако тогда не ясно, почему ГС был разным в вариантах «опад–почва», в копролитах *A. caliginosa* и *L. rubellus*. Предполагаем, что фитолиты из кленовых листьев являются одной из причин и источником частиц крупнее 100 мкм в вариантах опыта с опадом. По литературным данным, живые [50] и опавшие листья клена [51–53] содержат достаточное количество кремния. В листьях клена выявлено высокое содержание фитолитов различной формы (вытянутые, шаровидные, сочлененные) и крупных размеров (≈ 150 мкм) [54]. К сожалению, *Acer platanoides* не вошел в число восьми проанализированных авторами видов. Для проверки этой гипотезы в дальнейшем необходимо провести анализ фитолитов в образцах почвы, копролитов дождевых червей и листьев *Acer platanoides*. Также необходимо выяснить причину несоответствия содержания органических (до окисления ОВ) и минеральных (после окисления ОВ) частиц размером более 250 мкм в копролитах *A. caliginosa* и *L. rubellus*. Если экспериментально удастся подтвердить большой размер фитолитов в листьях *Acer platanoides*, то возможная причина отличий в ГС копролитов могла бы быть объяснена различиями в физиологии *A. caliginosa* и *L. rubellus*. В кишечном тракте *L. rubellus* членистые фитолиты измельчаются и разрушаются, а у *A. caliginosa* этот эффект

выражен меньше. Знание морфологии фитолитов позволит идентифицировать и определить размер частиц минеральной массы копролитов *A. caliginosa* и *L. rubellus*. Подтверждается гипотеза о том, что дождевые черви изменяют ГС путем измельчения частиц ОВ. Исследование не подтверждает гипотезу о том, что ГС без ОВ остаётся неизменным при воздействии дождевых червей.

Выводы

Дифференциация органических и минеральных частиц в пробах возможна при определении ГС до и после удаления органического вещества. Мы рекомендуем проводить определение гранулометрического состава как до, так и после удаления органического вещества из исходных проб.

Дождевые черви изменяют ГС путем измельчения ОВ, но даже без ОВ ГС во всех вариантах различается. Органические частицы в составе копролитов распределены по фракциям песка. Для копролитов *A. caliginosa* увеличение объемной доли во фракциях ГС_{ОВ} относительно исходной почвы составило: очень мелкий песок +1,1%, мелкий песок +1,1%, средний песок +0,4%, крупный песок +0,2%. Аналогично для копролитов *L. rubellus* увеличение составило: очень мелкий песок +3,4%, мелкий песок +4,7%, средний песок +2,2%, крупнозернистый песок +1%. Несмотря на незначительное количество и/или отсутствие минеральных частиц размером более 100 мкм в почве без дождевых червей и опада, они идентифицированы в составе копролитов *A. caliginosa* (песок средний +0,4%, песок крупный +0,1%) и *L. rubellus* (мелкий песок +0,4%, средний песок +0,1%). Возможно, что фитолиты из кленовых листьев являются одной из причин и источником песчинок крупнее 100 мкм в вариантах опыта с опадом.

Список источников

1. Capowiez Y., Gilbert F., Vallat A., Poggiale J.-C., Bonzom J.-M. Depth distribution of soil organic matter and burrowing activity of earthworms—mesocosm study using X-ray tomography and luminophores // *Biology and Fertility of Soils*. 2021. Vol. 57, № 3. PP. 337–346. doi: 10.1007/s00374-020-01536-y
2. Garcia-Franco N., Walter R., Wiesmeier M., Hurtarte L.C.C., Berauer B.J., Bunes V., Zistl-Schlingmann M., Kiese R., Dannenmann M., Kögel-Knabner I. Biotic and abiotic controls on carbon storage in aggregates in calcareous alpine and prealpine grassland soils // *Biology and Fertility of Soils*. 2021. Vol. 57, № 2. PP. 203–218. doi: 10.1007/s00374-020-01518-0
3. Стриганова Б.Р. Питание почвенных сапрофагов. М. : Наука, 1980. 244 с.
4. Medina-Sauza R.M., Álvarez-Jiménez M., Delhal A., Reverchon F., Blouin M., Guerrero-Analco J.A., Barois I. Earthworms building up soil microbiota, a review // *Frontiers in Environmental Science*. 2019. Vol. 7. P. 81. doi: 10.3389/fenvs.2019.00081
5. Angst G., Mueller C.W., Prater I., Angst Š., Frouz J., Jilková V., Peterse F., Nierop K.G. Earthworms act as biochemical reactors to convert labile plant compounds into stabilized soil microbial necromass // *Communications biology*. 2019. Vol. 2, № 1. PP. 1–7. doi: 10.1038/s42003-019-0684-z
6. Álvarez C.R., Jiménez-Moreno M., Bernardo F.G., Martín-Doimeadios R.R., Nevado J.B. Using species-specific enriched stable isotopes to study the effect of fresh mercury inputs in soil-earthworm systems // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2018. Vol. 147. PP. 192–199. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.08.015

7. Angst Š., Mueller C.W., Cajthaml T., Angst G., Lhotáková Z., Bartuška M., Špaldoňová A., Frouz J. Stabilization of soil organic matter by earthworms is connected with physical protection rather than with chemical changes of organic matter // *Geoderma*. 2017. Vol. 289. PP. 29–35. doi: 10.1016/j.geoderma.2016.11.017
8. Fahey T.J., Yavitt J.B., Sherman R.E., Maerz J.C., Groffman P.M., Fisk M.C., Bohlen P.J. Earthworm effects on the incorporation of litter C and N into soil organic matter in a sugar maple forest // *Ecological Applications*. 2013. Vol. 23, № 5. PP. 1185–1201. doi: 10.1890/12-1760.1
9. Bossuyt H., Six J., Hendrix P.F. Protection of soil carbon by microaggregates within earthworm casts // *Soil Biology and Biochemistry*. 2005. Vol. 37, № 2. PP. 251–258. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.07.035
10. Schomburg A., Verrecchia E.P., Guenat C., Brunner P., Sebag D., Le Bayon R.C. Rock-Eval pyrolysis discriminates soil macro-aggregates formed by plants and earthworms // *Soil Biology and Biochemistry*. 2018. Vol. 117. PP. 117–124. doi: 10.1016/j.soilbio.2017.11.010
11. Piron D., Boizard H., Heddadj D., Pérès G., Hallaire V., Cluzeau D. Indicators of earthworm bioturbation to improve visual assessment of soil structure // *Soil and Tillage Research*. 2017. Vol. 173. PP. 53–63. doi: 10.1016/j.still.2016.10.013
12. Lipiec J., Turski M., Hajnos M., Świeboda R. Pore structure, stability and water repellency of earthworm casts and natural aggregates in loess soil // *Geoderma*. 2015. Vol. 243. PP. 124–129. doi: 10.1016/j.geoderma.2014.12.026
13. Ferlian O., Thakur M.P., Castañeda González A., San Emeterio L.M., Marr S., da Silva Rocha B., Eisenhauer N. Soil chemistry turned upside down: A meta-analysis of invasive earthworm effects on soil chemical properties // *Ecology*. 2020. Vol. 101, № 3. PP. e02936. doi:10.1002/ecy.2936
14. Singh S., Singh J., Vig A.P. Earthworm as ecological engineers to change the physico-chemical properties of soil: soil vs vermicast // *Ecological Engineering*. 2016. Vol. 90. PP. 1–5. doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.01.072
15. Nuutinen V., Butt K.R. Earthworm dispersal of plant litter across the surface of agricultural soils // *Ecology*. 2019. Vol. 100, № 7. PP. 1–3.
16. Schon N., Mackay A., Gray R., Van Koten C., Dodd M. Influence of earthworm abundance and diversity on soil structure and the implications for soil services throughout the season // *Pedobiologia*. 2017. Vol. 62. PP. 41–47. doi: 10.1016/j.pedobi.2017.05.001
17. Blouin M., Hodson M.E., Delgado E.A., Baker G., Brussaard L., Butt K.R., Dai J., Dendooven L., Pérès G., Tondoh J. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services // *European Journal of Soil Science*. 2013. Vol. 64, № 2. PP. 161–182. doi: 10.1111/ejss.12025
18. Keşik T., Błażewicz-Woźniak M., Wach D. Influence of conservation tillage in onion production on the soil organic matter content and soil aggregate formation // *International Agrophysics*. 2010. Vol. 24, № 3. PP. 267–273.
19. Neugschwandtner R.W., Száková J., Pachtrog V., Tlustoš P., Černý J., Kulhánek M., Kaul H.-P., Euteneuer P., Moitzi G., Wagentristl H. Basic soil chemical properties after 15 years in a long-term tillage and crop rotation experiment // *International Agrophysics*. 2020. Vol. 34, № 1. doi:10.31545/intagr/114880
20. Bedano J.C., Vaquero F., Domínguez A., Rodríguez M.P., Wall L., Lavelle P. Earthworms contribute to ecosystem process in no-till systems with high crop rotation intensity in Argentina // *Acta Oecologica*. 2019. Vol. 98. PP. 14–24. doi: 10.1016/j.actao.2019.05.003
21. Hedénc P., Cajthaml T., Pižl V., Márialigeti K., Tóth E., Borsodi A.K., Chroňáková A., Krištůfek V., Frouz J. Long-term effects of earthworms (*Lumbricus rubellus* Hoffmeister, 1843) on activity and composition of soil microbial community under laboratory conditions // *Applied Soil Ecology*. 2020. Vol. 150. P. 103463. doi: 10.1016/j.apsoil.2019.103463
22. Boselli R., Fiorini A., Santelli S., Ardeni F., Capra F., Maris S.C., Tabaglio, V. Cover crops during transition to no-till maintain yield and enhance soil fertility in intensive agro-

- ecosystems // *Field Crops Research*. 2020. Vol. 255. P. 107871. doi: 10.1016/j.fcr.2020.107871
23. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв : учебник. М. : Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 2005. 445 с.
 24. Лукина Н.В., Тихонова Е.В., Шевченко Н.Е., Горнов А.В., Кузнецова А.И., Гераскина А.П., Смирнов В.Э., Горнова М.В., Ручинская Е.В., Анищенко Л.Н., Тебенкова Д.Н., Данилова М.А., Бахмет О.Н., Крышень А.М., Князева С.В., Шашков М.П., Быховец С.С., Чертов О.Г., Шанин В.Н. Аккумуляция углерода в лесных почвах и сукцессионный статус лесов. М., 2018. С. 86–98.
 25. Shein E.V. The particle-size distribution in soils: problems of the methods of study, interpretation of the results, and classification // *Eurasian soil science*. 2009. Vol. 42, № 3. PP. 284–291. doi: 10.1134/S1064229309030053
 26. Yudina A., Fomin D., Kotelnikova A., Milanovskii E.Y. From the notion of elementary soil particle to the particle-size and microaggregate-size distribution analyses: A review // *Eurasian soil science*. 2018. Vol. 51, № 11. PP. 1326–1347. doi: 10.1134/S1064229318110091
 27. Schulmann O.P., Tiunov A.V., Tiunov A.V. Leaf litter fragmentation by the earthworm *Lumbricus terrestris* L. // *Pedobiologia*. 1999. Vol. 43, № 5. PP. 453–458.
 28. Marhan S., Scheu S. Effects of sand and litter availability on organic matter decomposition in soil and in casts of *Lumbricus terrestris* L. // *Geoderma*. 2005. Vol. 128, № 1-2. PP. 155–166. doi: 10.1016/j.geoderma.2004.07.001
 29. Karthikeyan M., Gajalakshmi S., Abbasi S. A. Ingestion of sand and soil by phytophagous earthworm *Eudrilus eugeniae*: a finding of relevance to earthworm ecology as well as vermitechnology // *Archives of Agronomy and Soil Science*. 2014. Vol. 60, № 12. PP. 1795–1805. doi: 10.1080/03650340.2014.912034
 30. Georgiadis A., Marhan S., Lattacher A., Mäder P., Rennert T. Do earthworms affect the fractionation of silicon in soil? // *Pedobiologia*. 2019. Vol. 75. PP. 1–7. doi: 10.1016/j.pedobi.2019.05.001
 31. Frolov O., Yakushev A., Milanovskiy E.Y. The heterogeneity of the properties of the coprolites *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus rubellus* in model experiment with chernozem soil // *Bulletin of VV Dokuchaev Soil Science Institute*. 2019. № 99. PP. 92–116. doi: 10.19047/0136-1694-2019-99-92-116
 32. Kholodov V., Yaroslavtseva N., Farkhodov Y.R., Belobrov V., Yudin S., Aydiev A.Y., Lazarev V., Frid A. Changes in the ratio of aggregate fractions in humus horizons of chernozems in response to the type of their use // *Eurasian Soil Science*. 2019. Vol. 52, № 2. PP. 162–170. doi: 10.1134/S1064229319020066
 33. Shein E., Lazarev V., Aidiev A.Y., Sakunkonchak T., Kuznetsov M.Y., Milanovskii E.Y., Khaidapova D. Changes in the physical properties of typical chernozems of Kursk oblast under the conditions of a long-term stationary experiment // *Eurasian Soil Science*. 2011. Vol. 44, № 10. PP. 1097–1103. doi: 10.1134/S1064229311100127
 34. Kholodov V., Farkhodov Y.R., Yaroslavtseva N., Aydiev A.Y., Lazarev V., Ilyin B., Ivanov A., Kulikova N. Thermolabile and thermostable organic matter of chernozems under different land uses // *Eurasian Soil Science*. 2020. Vol. 53, № 8. PP. 1066–1078. doi: 10.1134/S1064229320080086
 35. Афанасьева Е.А. Черноземы Среднерусской возвышенности. М. : Наука, 1966. 222 с.
 36. Fomin D.S. et al. Dry sieving analysis of soil by vibratory sieve shaker: modification and optimization // *Bulletin of VV Dokuchaev Soil Science Institute*. 2019. № 96. PP. 149–177. doi: 10.19047/0136-1694-2019-96-149-177
 37. Satchell J.E., Worms R., Worms K. A basis for classifying lumbricid earthworm strategies // *Soil Biology as Related to Land Use Practices: Proceedings of the VII International Soil Zoology Colloquium*. EPA, 1980. PP. 848–863.
 38. Bouché M.B. Strategies lombriciennes // *Soil Organisms as Components of Ecosystems : 6th Int. Soil Zool. Coli., Ecol. Bull.* / eds. by V. Lohm, T. Persson. Stockholm, 1977. PP. 122–132.

39. Всеволодова-Перель Т.С. Дождевые черви фауны России. М. : Наука, 1997. 102 с.
40. Satchell J.E. Selection of leaf litter by *Lumbricus terrestris* // *Progress in soil biology*. 1967. PP. 102–119.
41. Bornebusch C.H. Laboratory experiments on the biology of worms // *Dansk. Skorforen. Tidssk.* 1953. Vol. 38. PP. 557–559.
42. Милановский Е.Ю., Шеин Е.В., Русанов А.М., Тюгай З.Н., Ильин Л.И., Зинченко С.И., Быкова Г.С. Пространственное распределение содержания органического вещества в почвах агроландшафтов Центрального Черноземья // *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2015. № 6 (181). С. 127–130.
43. Yudina A.V., Milanovskii Y. The microaggregate analysis of soils by the method of laser diffraction: the specificities of sample preparation and result interpretation // *B. Dokuchaev Soil Inst.* 2017. Vol. 89. PP. 3–20. doi: 10.19047/0136-1694-89-3-20
44. Schmidt M.W.I., Rumpel C., Kögel-Knabner I. Evaluation of an ultrasonic dispersion procedure to isolate primary organomineral complexes from soils // *European Journal of Soil Science*. 1999. Vol. 50, № 1. PP. 87–94. doi: 10.1046/j.1365-2389.1999.00211.x
45. Ozer M., Orhan M., Isik N.S. Effect of particle optical properties on size distribution of soils obtained by laser diffraction // *Environmental & Engineering Geoscience*. 2010. Vol. 16, № 2. PP. 163–173. doi: 10.2113/gsegeosci.16.2.163
46. ISO 13320:2020 Particle size analysis – Laser diffraction methods.
47. Pansu M., Gautheyrou J. *Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods*. Springer Science & Business Media, 2007.
48. ISO 11277:1998 Soil quality – Determination of particle size distribution in mineral soil material – Method by sieving and sedimentation.
49. Eusterhues K., Rumpel C., Kögel-Knabner I. Stabilization of soil organic matter isolated via oxidative degradation // *Organic geochemistry*. 2005. Vol. 36, № 11. PP. 1567–1575. doi: 10.1016/j.orggeochem.2005.06.010
50. Айдинян Р.Х. Зольный обмен между древесной растительностью и черноземными почвами Каменной степи // *Почвоведение*. 1953. № 9. С. 40–61.
51. Воронков М.Г., Зелчан Г.И., Лукевиц Э.Я. Кремний и жизнь: Биохимия, токсикология и фармакология соединений кремния. М. : Знание, 1971.
52. Ремезов Н.П. Динамика взаимодействия широколиственного леса с почвой // *Проблемы почвоведения*. М. : Изд-во АН СССР, 1962. С. 101–147.
53. Ремезов Н.П., Быкова Л.Н., Смирнова К.М. Потребление и круговорот азота и зольных элементов в лесах европейской части СССР. М. : Изд-во МГУ, 1959.
54. Ge Y. et al. Phytoliths in selected broad-leaved trees in China // *Scientific reports*. 2020. Vol. 10, № 1. PP. 1–15. doi: 10.1038/s41598-020-72547-w

References

1. Capowiez Y, Gilbert F, Vallat A, Poggiale JC and Bonzom JM. Depth distribution of soil organic matter and burrowing activity of earthworms-mesocosm study using X-ray tomography and luminophores. *Biology and Fertility of Soils*. 2021;57(3):337-346. doi: 10.1007/s00374-020-01536-y
2. Garcia-Franco N, Walter R, Wiesmeier M, Hurtarte LCC, Berauer BJ, Buness V, Zistl-Schlingmann M, Kiese R, Dannenmann M and Kögel-Knabner I. Biotic and abiotic controls on carbon storage in aggregates in calcareous alpine and prealpine grassland soils. *Biology and Fertility of Soils*. 2021;57(2):203-218. doi: 10.1007/s00374-020-01518-0
3. Striganova BR. *Pitanie pochvennykh saprofagov*. [Nutrition of soil saprophages]. Moscow: Nauka Publishers.; 1980. 224 p. In Russian.
4. Medina-Sauza RM, Álvarez-Jiménez M, Delhal A, Reverchon F, Blouin M, Guerrero-Analco JA, Barois I. Earthworms building up soil microbiota, a review. *Frontiers in Environmental Science*. 2019; pp. 81. doi: 10.3389/fenvs.2019.00081
5. Angst G; Mueller CW; Prater I; Angst Š, Frouz J, Jilková V, Peterse F, Nierop KG. Earthworms act as biochemical reactors to convert labile plant compounds into stabilized soil microbial necromass. *Communications biology*. 2019;2(1):1-7. doi: 10.1038/s42003-019-0684-z

6. Álvarez CR; Jiménez-Moreno M, Bernardo FG; Martín-Doimeadios RR; Nevado JB. Using species-specific enriched stable isotopes to study the effect of fresh mercury inputs in soil-earthworm systems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2018;147:192-199. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.08.015
7. Angst Š, Mueller CW, Cajthaml T, Angst G, Lhotáková Z, Bartuška M, Špaldoňová A, Frouz J. Stabilization of soil organic matter by earthworms is connected with physical protection rather than with chemical changes of organic matter. *Geoderma*. 2017;289:29-35. doi: 10.1016/j.geoderma.2016.11.017
8. Fahey TJ, Yavitt JB, Sherman RE, Maerz JC, Groffman PM, Fisk MC, Bohlen PJ. Earthworm effects on the incorporation of litter C and N into soil organic matter in a sugar maple forest. *Ecological Applications*. 2013;23(5):1185-1201. doi: 10.1890/12-1760.1
9. Bossuyt H., Six J., Hendrix P. F. Protection of soil carbon by microaggregates within earthworm casts // *Soil Biology and Biochemistry*. 2005;37(2):251-258. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.07.035
10. Schomburg, A.; Verrecchia, E.P.; Guenat, C.; Brunner, P.; Sebag, D.; Le Bayon, R.C. Rock-Eval pyrolysis discriminates soil macro-aggregates formed by plants and earthworms. *Soil Biology and Biochemistry*. 2018;117:117-124. doi: 10.1016/j.soilbio.2017.11.010
11. Piron D, Boizard H, Heddadj D, Pérès G, Hallaire V, Cluzeau D. Indicators of earthworm bioturbation to improve visual assessment of soil structure. *Soil and Tillage Research*. 2017;173:53-63. doi: 10.1016/j.still.2016.10.013
12. Lipiec J, Turski M, Hajnos M, Świeboda R. Pore structure, stability and water repellency of earthworm casts and natural aggregates in loess soil. *Geoderma*. 2015;243:124-129. doi: 10.1016/j.geoderma.2014.12.026
13. Ferlian O, Thakur MP, Castañeda González A, San Emeterio LM, Marr S, da Silva Rocha B, Eisenhauer, N. Soil chemistry turned upside down: A meta-analysis of invasive earthworm effects on soil chemical properties. *Ecology*. 2020;101(3):e02936. doi:10.1002/ecy.2936
14. Singh S, Singh J, Vig AP. Earthworm as ecological engineers to change the physico-chemical properties of soil: soil vs vermicast. *Ecological Engineering*. 2016;90:1-5. doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.01.072
15. Nuutinen V, Butt KR. Earthworm dispersal of plant litter across the surface of agricultural soils. *Ecology*. 2019;100(7):1-3.
16. Schon N, Mackay A, Gray R, Van Koten C, Dodd M. Influence of earthworm abundance and diversity on soil structure and the implications for soil services throughout the season. *Pedobiologia*. 2017;62:41-47. doi: 10.1016/j.pedobi.2017.05.001
17. Blouin M, Hodson ME, Delgado EA, Baker G, Brussaard L, Butt KR, Dai J, Dendooven L, Pérès G, Tondoh J. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *European Journal of Soil Science*. 2013;64(2):161-182. doi: 10.1111/ejss.12025
18. Keşik T, Błażewicz-Woźniak M, Wach D. Influence of conservation tillage in onion production on the soil organic matter content and soil aggregate formation. *International Agrophysics*. 2010;24(3):267-273.
19. Neugschwandtner RW, Száková J, Pachtrog V, Tlustoš P, Černý J, Kulhánek M, Kaul HP, Euteneuer P, Moitzi G, Wagentristl H. Basic soil chemical properties after 15 years in a long-term tillage and crop rotation experiment. *International Agrophysics*. 2020;34(1). doi:10.31545/intagr/114880
20. Bedano JC, Vaquero F, Domínguez A, Rodríguez MP, Wall L, Lavelle P. Earthworms contribute to ecosystem process in no-till systems with high crop rotation intensity in Argentina. *Acta Oecologica*. 2019;98:14-24. doi: 10.1016/j.actao.2019.05.003
21. Heděněc, P.; Cajthaml, T.; Pižl, V.; Márialigeti, K.; Tóth, E.; Borsodi, A.K.; Chroňáková, A.; Krišťáček, V.; Frouz, J. Long-term effects of earthworms (*Lumbricus rubellus* Hoffmeister, 1843) on activity and composition of soil microbial community under laboratory conditions // *Applied Soil Ecology*. 2020. T. 150. C. 103463. doi: 10.1016/j.apsoil.2019.103463

22. Boselli R, Fiorini A, Santelli S, Ardeni F, Capra F, Maris SC, Tabaglio V. Cover crops during transition to no-till maintain yield and enhance soil fertility in intensive agroecosystems. *Field Crops Research*. 2020;255:107871. doi: 10.1016/j.fcr.2020.107871
23. Zvyagintsev, D., Bab'eva, I., Zenova, G. *Biologiya pochv*. [Soil biology]. Moscow: Moscow State University. 2005. p.445. In Russian.
24. Geras'kina AP. Glava 3.1. Suktsessionnaya dinamika kompleksa dozhdevykh chervei v pochvakh khvoino-shirokolistvennykh lesov. Akkumulyatsiya ugleroda v lesnykh pochvakh i suktsessionnyi status lesov. [Chapter 3.1. Successional dynamics of the earthworm complex in soils of coniferous-deciduous forests. Carbon Accumulation In Forest Soils And Successional Status Of Forests]. Moscow: KMK Scientific Press Ltd.; 2018. pp. 86-98. In Russian.
25. Shein EV. The particle-size distribution in soils: problems of the methods of study, interpretation of the results, and classification. *Eurasian soil science*. 2009;42(3):284-291. doi: 10.1134/S1064229309030053
26. Yudina A, Fomin D, Kotelnikova A, Milanovskii EY. From the notion of elementary soil particle to the particle-size and microaggregate-size distribution analyses: A review. *Eurasian soil science*. 2018;51(11):1326-1347. doi: 10.1134/S1064229318110091
27. Schulmann O P, Tiunov AV, Tiunov AV. Leaf litter fragmentation by the earthworm *Lumbricus terrestris* L. *Pedobiologia*. 1999;43(5):453-458.
28. Marhan S, Scheu S. Effects of sand and litter availability on organic matter decomposition in soil and in casts of *Lumbricus terrestris* L. *Geoderma*. 2005;128(1-2):155-166. doi: 10.1016/j.geoderma.2004.07.001
29. Karthikeyan M, Gajalakshmi S, Abbasi SA. Ingestion of sand and soil by phytophagous earthworm *Eudrilus eugeniae*: a finding of relevance to earthworm ecology as well as vermitechnology. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 2014;60(12):1795-1805. doi:10.1080/03650340.2014.912034
30. Georgiadis A, Marhan S, Lattacher A, Mäder P, Rennert T. Do earthworms affect the fractionation of silicon in soil? *Pedobiologia*. 2019;75:1-7. doi: 10.1016/j.pedobi.2019.05.001
31. Frolov O, Yakushev A, Milanovskiy EY. The heterogeneity of the properties of the coprolites *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus rubellus* in model experiment with chernozem soil. *Bulletin of VV Dokuchaev Soil Science Institute*. 2019;99:92-116. doi: 10.19047/0136-1694-2019-99-92-116
32. Kholodov V, Yaroslavtseva N, Farkhodov YR, Belobrov V, Yudin S, Aydiev AY, Lazarev V, Frid A. Changes in the ratio of aggregate fractions in humus horizons of chernozems in response to the type of their use. *Eurasian Soil Science*. 2019;52(2):162-170. doi: 10.1134/S1064229319020066
33. Shein E, Lazarev V, Aidiev AY, Sakunkonchak T, Kuznetsov MY, Milanovskii EY, Khaidapova D. Changes in the physical properties of typical chernozems of Kursk oblast under the conditions of a long-term stationary experiment. *Eurasian Soil Science*. 2011;44(10):1097-1103. doi: 10.1134/S1064229311100127
34. Kholodov V, Farkhodov YR, Yaroslavtseva N, Aydiev AY, Lazarev V, Ilyin B, Ivanov A, Kulikova N. Thermolabile and thermostable organic matter of chernozems under different land uses. *Eurasian Soil Science*. 2020;53(8):1066-1078. doi:10.1134/S1064229320080086
35. Afanas'eva EA. Chernozemy Srednerusskoi vozvyshechnosti. [Chernozems of the Central Russian Upland]. Moscow: Nauka Publishers.; 1966. 227 p. In Russian.
36. Fomin DS, Valdes-Korovkin IA, Holub AP, Yudina AV. Dry sieving analysis of soil by vibratory sieve shaker: modification and optimization. *Bulletin of VV Dokuchaev Soil Science Institute*. 2019;96:149-177. doi: 10.19047/0136-1694-2019-96-149-177
37. Satchell JE. r worms and K Worms: A basis for classifying lumbricid earthworm strategies. *Soil Biology as Related to Land Use Practices: Proceedings of the VII International Soil Zoology Colloquium*. EPA, 1980:848-863.
38. Bouché MB. Strategies lombriciennes. *Ecological Bulletins*. 1977:122-132.

39. Vsevolodova-Perel TS. The earthworms of the fauna of Russian: Cadaster and key. Chernova N, editor. Moscow: Nauka Publishers.; 1997. 102 p. In Russian.
40. Satchell JE. Selection of leaf litter by *Lumbricus terrestris*. *Progress in soil biology*. 1967;102-119.
41. Bornebusch CH. Laboratory experiments on the biology of worms. *Dansk. Skovforen. Tidssk.* 1953;38:557-559.
42. Milanovskiy EYu, Shein EV, Rusanov AM, Tygai ZN, Il'in LI, Zinchenko SI, Fomin DS, Bykova GS. Spatial Distribution of the organic Matter Content in the Soil in the Central Chernozem Agrolandscapes. *Vestnik of the Orenburg State University*. 2015;6(181):127-130. In Russian.
43. Yudina AV, Milanovskii Y. The microaggregate analysis of soils by the method of laser diffraction: the specificities of sample preparation and result interpretation. *Bulletin of VV Dokuchaev Soil Science Institute*. 2017;89:3-20. doi:10.19047/0136-1694-89-3-20
44. Schmidt MWI, Rumpel C, Kögel-Knabner I. Evaluation of an ultrasonic dispersion procedure to isolate primary organomineral complexes from soils. *European Journal of Soil Science*. 1999;50(1):87-94. doi:10.1046/j.1365-2389.1999.00211.x
45. Ozer M, Orhan M, Isik NS. Effect of particle optical properties on size distribution of soils obtained by laser diffraction. *Environmental & Engineering Geoscience*. 2010;16(2):163-173. doi: 10.2113/gsegeosci.16.2.163
46. ISO 13320:2020 Particle size analysis - Laser diffraction methods.
47. Pansu M, Gautheyrou J. Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods. Springer Science & Business Media. 2007. 993 p.
48. ISO 11277:1998 Soil quality - Determination of particle size distribution in mineral soil material - Method by sieving and sedimentation.
49. Eusterhues K, Rumpel C, Kögel-Knabner I. Stabilization of soil organic matter isolated via oxidative degradation. *Organic geochemistry*. 2005;36(11):1567-1575. doi: 10.1016/j.orggeochem.2005.06.010
50. Aidinyan RKh. Zol'nyi obmen mezhdru drevesnoi rastitel'nost'yu i chernozemnymi pochvami Kamennoi stepi [Ash exchange between woody vegetation and chernozem soils of the Stone Steppe]. *Soviet Soil Science*. 1953;9:40-61. In Russian.
51. Voronkov MG, Zelchan GI, Lukevits EYa. Kremnii i zhizn': Biokhimiya, toksikologiya i farmakologiya soedinenii kremniya. [Silicon and life: Biochemistry, toxicology and pharmacology of silicon compounds]. *Znanie*. 1971; 587 p. In Russian.
52. Remezov NP. Dinamika vzaimodeistviya shirokolistvennogo lesa s pochvoi. [Dynamics of interaction between broad-leaved forest and soil]. *Problemy pochvovedeniya*. M. Izd-vo AN SSSR. 1962. pp. 101-147. In Russian.
53. Remezov NP, Bykova LN, Smirnova KM. Potreblenie i krugovorot azota i zol'nykh elementov v lesakh Evropeiskoi chasti SSSR. [Consumption and cycle of nitrogen and ash elements in the forests of the European part of the USSR]. M.: Izd-vo MGU. 1959. 284 p. In Russian.
54. Ge Y, Lu H, Wang C, Gao X. Phytoliths in selected broad-leaved trees in China. *Scientific reports*. 2020;10(1):1-15. doi:10.1038/s41598-020-72547-w

Информация об авторах:

Фролов Олег Алексеевич – аспирант, кафедра физики и мелиорации почв, факультет почвоведения, МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия); инженер-исследователь, Почвенный институт им. В.В. Докучаева (Москва, Россия).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6950-2269>

E-mail: 6.40.7.4@mail.ru

Милановский Евгений Юрьевич – д-р биологических наук, ведущий научный сотрудник, Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук (Пушино, Россия).

E-mail: milanovskiy@gmail.com

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Oleg A. Frolov, Post-Graduate Student, Department of Physics and Reclamation, Soil Science Faculty, Lomonosov Moscow State University (Moscow, Russian Federation); research engineer, V.V. Dokuchaev Soil Science Institute (Moscow, Russian Federation).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6950-2269>

E-mail: 6.40.7.4@mail.ru

Evgeniy Yu. Milanovskiy, Dr. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, RAS (Pushchino, Russian Federation).

E-mail: milanovskiy@gmail.com

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 06.04.2022;
одобрена после рецензирования 29.08.2022; принята к публикации 03.10.2022.*

*The article was submitted 06.04.2022;
approved after reviewing 29.08.2022; accepted for publication 03.10.2022.*

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.2

doi: 10.17223/19988591/58/2

Разнообразие психрофильных бактерий и их биотехнологический потенциал (обзор)

Марина Леонидовна Сидоренко¹, Дарья Александровна Русакова^{2,3}

^{1,2} *Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии
ДВО РАН, Владивосток, Россия*

³ *Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия*

¹ *sidorenko@biosoil.ru*

^{2,3} *dashka93.1993@mail.ru*

Аннотация. Психрофильные микроорганизмы широко распространены по всему миру. Из выделенных и охарактеризованных таксономических групп психрофильных микроорганизмов подавляющее большинство составляют бактерии. На основе литературных данных рассмотрено разнообразие психрофильных бактерий. Показано, что они встречаются в морях, океанах, глубоководных соленых озерах, во льдах Арктики, почвах тундры и вершинах горных массивов, пещерах. Психрофильные бактерии обладают ценным природным ресурсом с потенциалом в различных биологических областях, проявляя разнообразную биохимическую активность. В природе встречаются бактерии, имеющие отличительные особенности строения клетки, например, присутствие в клеточной стенке восков и липидов является одним из способов адаптации к холодным условиям. Для защиты от замерзания некоторые бактерии выделяют антифризные белки. Особое внимание уделено биоразнообразию психрофильных бактерий, способных производить промышленно значимые ферменты. Выявлены наиболее значимые и интересные представители данной группы микроорганизмов. Холодоактивные ферменты, выделяемые психрофильными бактериями, имеют большой потенциал применения их в биотехнологии, медицине, сельском хозяйстве, генной инженерии. Известны психрофилы, которые являются деструкторами нефтепродуктов и гербицидов.

Ключевые слова: психрофильные бактерии, холодоактивные ферменты, разнообразие, среда обитания

Источник финансирования: работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121031000134-6).

Для цитирования: Сидоренко М.Л., Русакова Д.А. Разнообразие психрофильных бактерий и их биотехнологический потенциал (обзор) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 58. С. 28–54. doi: 10.17223/19988591/58/2

Original article

doi: 10.17223/19988591/58/2

Diversity of Psychrophilic Colonies and Their Biotechnological Potential

Marina L. Sidorenko¹, Daria A. Rusakova^{2,3}

¹ Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity FEB RAS,
Vladivostok, Russian Federation

² Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

¹ sidorenko@biosoil.ru

^{2,3} dashka93.1993@mail.ru

Summary. Psychrophilic bacteria are a large group of microorganisms that prevail in low-temperature ecosystems. Psychrophilic bacteria have undergone a number of adaptations that help them exist in such conditions. One of such adaptations is the use of enzymes with a high specific activity at low temperatures. Such enzymes are usually called “cold-active.” These enzymes have potential applications in biotechnology and industry. In our review, we considered individual genera of psychrophilic bacteria, current global trends in the study of cold-active enzymes, their applications, and place in industrial biotechnology. Thus, the main goal of this study was to explore the diversity of psychrophilic bacteria, as well as opportunities of their application in biotechnology.

The natural ecological sites of psychrophiles are numerous and varied. Psychrophiles form a permanent microflora of eternal cold regions, polar regions and oceans. Bacteria belonging to this group are found in soil, water or associated with plants and animals. An important site for psychrophilic microorganisms is a low-temperature water reservoir. At present, many new genera of psychrophiles and psychrotrophs have been derived from the bottom sediments and sea waters of the Arctic and Antarctic and described. Psychrophilic microorganisms are found in caves and in ancient ice crystal structures. The latter testifies to the very possibility of the super-long anabiosis phenomenon, as well as vital capacity preservation without division for a long period of time.

Psychrophiles do not have a single form, they belong to at least several phylogenetic groups. Psychrophilic forms are found among the representatives of a large number of genera. There are no common physiological and biochemical parameters typical of psychrophilic bacteria. They comprise rods, cocci, vibrios, gram-negative and gram-positive bacteria, bacteria that produce and do not produce spores, strict aerobes, facultative and strict anaerobes.

We lay greater emphasis on the diversity of psychrophilic bacteria capable of producing industrially important enzymes. The review considers bacteria belonging to the genera *Vibrio* and *Aliivibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Pseudoalteromonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Psychrobacter*, *Psychromonas*, *Flavobacterium*, and psychrophilic methanotrophic microorganisms. These bacteria enzymes are used in agriculture, biotechnology, pharmaceuticals and household chemicals, as well as other sectors of the national economy.

Psychrophilic bacteria produce a chemical compound that can be used in medicine. For example, *Pseudomonas antarctica* contains a cluster of genes encoding microcin B, R-type pyocins, adenosylcobalamin, and pyrroloquinoline quinone. Thus, *P. antarctica* has antibiotic activity. *Psychrobacter proteolyticus* also has an antineoplastic action and secretes an extracellular cold-adapted metalloproteinase being able to inhibit the space-occupying process. Cold-active metalloproteinases are also widely used as detergents, in currying, food sector and molecular biology. The immunogenic Pal conformable protein was derived from the psychrophilic strain of

Aliivibrio salmonicida suggested for use as an effective component of vaccines and in pathogenicity studies.

The representatives of the genus *Arthrobacter* capable of metabolizing diuron and petroleum products have an important property. *A. agilis* produces a red pigment, a bacterioruberin-type carotenoid being interesting as an antioxidant. *A. psychrochitiniphilus* is promising for cleaning water areas, oil-polluted coastlines, as it decomposes oil and petroleum products. *Flavobacterium limicola* is a potential source of cold-active protease. This bacterium is characterized by an increase in protease secretion as temperature decreases. Thus, *F. limicola* can be used in environmental biotransformations and bioremediations.

The psychrophilic bacteria of the genus *Bacillus* are the participants of active studies. Their cold-active enzymes have a high potential in various areas of biomedicine, immunology, decontamination, and various industrial applications. The antifreeze proteins of psychrophilic *Clostridia* are considered a promising biotechnological product for use in medicine, food, beauty products, fuel, and other industries.

This study reviews literary sources and indicates that at present obligate and facultative psychrophiles (psychrotrophs) and their cold-active enzymes are of scientific interest throughout the world. A significant part of the research is focused on a general understanding of the distribution of psychrophilic bacteria and a local study of enzymatic activity. A further study of psychrophilic microorganisms producing enzymes at low temperatures will reveal new ways for the development of biotechnologies in various sectors of the national economy.

The paper contains 94 References.

Keywords: psychrophilic bacteria; cold-active enzymes; diversity; environmental conditions

Funding: The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (theme No. 121031000134-6).

For citation: Sidorenko ML, Rusakova DA. Diversity of Psychrophilic Colonies and Their Biotechnological Potential. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;58:28-54. doi: 10.17223/19988591/58/2. In Russian, English Summary

Введение

Среди микроорганизмов, способных к росту при низких температурах, выделяют две физиологические группы – облигатные и факультативные психрофилы (иногда называемые психротрофами) [1, 2]. Они различаются по своим экологическим нишам и механизмам адаптации к холоду. Облигатно психрофильные микроорганизмы растут при температурах ниже 20 °С (оптимум ниже 15 °С) вплоть до отрицательных значений температур. Факультативные психрофилы способны расти и развиваться при 0 °С с температурным оптимумом от 25 до 30 °С и температурным максимумом около 35 °С. Таким образом, факультативные психрофилы способны расти в условиях, благоприятных для мезофилов [3, 4], при этом осуществляют полный цикл развития при низких температурах [5].

При понижении температуры нормальные процессы жизнедеятельности клеток нарушаются: наблюдается снижение активности ферментов и текучести мембран [6], нарушается транспорт питательных веществ и продуктов метаболизма [7], снижается скорость транскрипции, трансляции и деления клеток, наблюдаются холодная денатурация и сворачивание белка

[8]. В низкотемпературных экосистемах, как правило, доминируют бактерии [9]. Психрофильные бактерии выработали ряд адаптаций, позволяющих им существовать в подобных условиях. Одной из таких адаптаций является использование ферментов, обладающих высокой удельной активностью при низких температурах. Такие ферменты обычно называются холодоактивными [3].

Возрастающий интерес мирового научного сообщества к психрофильным микроорганизмам связан с их холодоактивными ферментами, которые являются перспективным ресурсом применения в биотехнологии и промышленности. Благодаря высокой каталитической активности при температурах ниже 25 °С, они являются превосходным биокатализатором, не требующим нагревания, что обеспечивает более высокое качество продукции, устойчивость и эффективность промышленных процессов [8]. Помимо активности при низких температурах, интересна также высокая термоллабильность холодоактивных ферментов, которая обеспечивает возможность быстрой инактивации этих ферментов путем мягкой термической обработки, что представляет особый интерес в пищевой промышленности [10, 11].

В обзоре мы рассматриваем отдельные рода психрофильных бактерий, существующие мировые тенденции к изучению холодоактивных ферментов, их применение и место в промышленной биотехнологии. Особое внимание уделили биоразнообразию психрофильных бактерий, способных производить промышленно значимые ферменты. Таким образом, основная цель этого исследования состояла в том, чтобы изучить разнообразие психрофильных бактерий, а также возможность их применения в биотехнологии.

Многообразие сред обитания психрофилов

Природные экологические ниши психрофилов многочисленны и многообразны. Психрофилы формируют постоянную микрофлору регионов вечного холода, полярных регионов и океанов. Океаны занимают большую часть холодных местообитаний (70%), за ними следуют заснеженные массивы суши (15%), а остальные составляют микроклиматические холодные зоны и антропогенные холодные области [1]. Бактерии данной группы обнаружены в почве, воде или связаны с растениями и животными [12].

В лесных криогенных почвах севера Средней Сибири выявлено преимущественное развитие комплексов психротолерантных бактерий и микромицетов [13]. Психрофильные бактерии обнаружены также в высокогорье – альпийских почвах [14]. Из заболоченной почвы тундры выделен первый психрофильный метанотроф *Methylobacter psychrophilus* (грамотрицательные кокки и диплококки), оптимальная температура его роста составляла 5–10 °С [15]. В тундре обнаружено метанотрофное психрофильное сообщество бактерий, из которого выделен психротолерантный аэробный гетеротрофный представитель простекобактерий рода *Caulobacter* [16].

Важным местообитанием психрофильных микроорганизмов являются низкотемпературные водоёмы. Исследования В.В. Парфеновой с соавт. по-

казали, что температурный оптимум роста большинства байкальских бактерий находится в области от 18 до 22°C [17]. Следует подчеркнуть, что психрофилы широко распространены в природе, поскольку они формируют постоянную микрофлору регионов вечного холода. В настоящее время из донных отложений и морских вод Арктики и Антарктики выделено и описано много новых родов психрофилов и психротрофов семейства *Flavobacteriaceae* [18, 19] и *Chryseobacterium* [20]. Большинство бактерий, выделенных из морского льда, пигментированы, хорошо адаптированы к холоду, а некоторые способны образовывать газовые пузырьки [4].

Психрофильные микроорганизмы обнаружены в пещерах. Изучение микробитоты пещер Средней Сибири [21] показало присутствие в естественных микробных сообществах психрофильных и психротолерантных бактерий, способных к росту в интервале температур от 3 до 20 и от 3 до 28 °C соответственно. При этом общая численность бактерий в пещерах во многих случаях соответствует численности бактерий и в наземных экосистемах региона или даже превосходит её [22]. В тысячелетних льдах пещеры Скэришоара (горы Апусени, Румыния) обнаружены психрофильные бактерии, демонстрирующие широкий спектр устойчивости к противомикробным препаратам и значительную каталитическую активность, являясь, таким образом, ценными кандидатами для биомедицинских и биотехнологических применений [23]. Обнаружение микроорганизмов в древних кристаллических структурах льда свидетельствует о принципиальной возможности явления сверхдлительного анабиоза, о сохранении жизнеспособности древнего поколения без деления в течение продолжительного временного периода [9, 24]. Психротрофы более широко распространены, чем облигатные психрофилы. При температуре 0 °C облигатные психрофилы растут быстрее, что в конечном счете и обеспечивает их доминирование в местах обитания с постоянно низкими значениями температуры [25]. В условиях умеренного климата весной, когда температура поднимается до 25–30 °C, она становится мощным селективным фактором, благоприятным для психротолерантных микроорганизмов и исключаящим облигатные формы [26]. В регионах с постоянно низкими температурами психрофильные бактерии играют существенную роль в превращении веществ. В таких условиях деятельность мезофильной микрофлоры полностью блокирована низкими температурами, однако благодаря психрофилам круговорот веществ не прерывается [4].

Биоразнообразие психрофильных бактерий

Психрофилы не образуют единой или хотя бы нескольких филогенетических групп [1, 27]. Из выделенных и охарактеризованных таксономических групп психрофильных микроорганизмов подавляющее большинство составляют бактерии [4, 12]. Среди них есть палочки, кокки, вибрионы, грамотрицательные и грамположительные, образующие споры и не образующие их, строгие аэробы, факультативные и строгие анаэробы [28]. Психрофильные формы обнаружены среди представителей родов *Vibrio*, *Aliivibrio*, *Pseudomonas*,

Achromobacter, Aeromonas, Alcaligenes, Alteromonas, Arthobacter, Bacillus, Clostridium, Corynebacterium, Nitro-bacter, Nitrozomonas, Micrococcus, Myxococcus, Sorangium, Proteus, Psychro-bacter, Psychromonas, Streptococcus, Flavobacterium, Janthinobacterium и др. [5, 7, 28, 29].

В 1970-е гг. обнаружили фаги психрофильных бактерий, которые в большинстве случаев сами проявляют психрофильные свойства. Выделены фаги, специфичные для грамотрицательных бактерий, в частности, для видов *Pseudomonas* и некоторых морских бактерий, и для грамположительных (например, *Micrococcus cryophilus*) [29].

Среди фототрофных микроорганизмов встречаются психрофилы, способные развиваться на поверхности снега или льда. Опубликованы сведения о составе микробного сообщества «красного снега» прибрежного района Восточной Антарктиды, характерная окраска которого обусловлена наличием пигмента астаксантина, накапливающегося в результате роста фототрофных бактерий на поверхности снега, принадлежащих к нескольким таксономическим группам Bacteroidetes, Actinobacteria, Firmicutes и Proteobacteria [30].

Представители родов *Vibrio* и *Aliivibrio*

Vibrio – род грамотрицательных бактерий, обладающих формой изогнутой палочки (запятой). Виды вибрионов, обычно встречающиеся в соленой воде, являются факультативными анаэробами, которые дают положительный результат на оксидазу и не образуют спор. Все представители рода подвижны. Они могут иметь полярный или латеральный жгутик с оболочками или без них [31]. Н. Urbanczyk et al. продемонстрировали филогенетические и фенотипические отличия группы микроорганизмов от других родов семейства Vibrionaceae и предложили новый род *Aliivibrio*. Род *Aliivibrio* включает четыре вида: *Aliivibrio fischeri* и три психротолерантных вида – *Aliivibrio salmonicida*, *Aliivibrio wodanis* и *Aliivibrio logei* [32].

Из дренажного бассейна завода по переработке рыбопродуктов выделен штамм психротрофной бактерии *Vibrio rumoiensis* с оптимальной температурой активности каталазы около 30 °С. Этот штамм предложено применять для очистки сточных вод с низким энергопотреблением [33].

Aliivibrio salmonicida – грамотрицательная морская бактерия, являющаяся причиной холодноводного вибриоза у атлантического лосося (*Salmo salar*), трески (*Gadus morhua*) и иногда радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*). С. Karlsen et al. выделили из суспензии клеток *A. salmonicida* Pal-подобный белок – липопропротеин [34], который можно считать потенциально полезным компонентом при разработке вакцин и исследованиях патогенности в будущем. Недавние исследования доказали, что *A. salmonicida* может разлагать и метаболизировать хитин [35]. Хитиназная активность бактерий является перспективным источником в качестве потенциального биоинсектицида и биофунгицида [36].

С.А. Хрульнова с соавт. изучили Quorum sensing, регуляцию экспрессии lux-генов и структуру lux-оперона у бактерий *Aliivibrio logei*, которые являют-

ся психрофилами (растут при 4 °С, и не растут при 30 °С). Эти вибрионы обнаруживаются исключительно в световых органах кальмаров рода *Sepiola*, обитающих в глубоких и холодных водах Атлантики [37]. Полученные знания в области исследования Quorum sensing позволяют применять их в борьбе с резистентностью антибиотиков по отношению к биопленкам, так как Quorum Sensing действует как механизм, который определяет регуляцию скоординированного поведения бактерий на уровне популяции.

Представители рода *Pseudomonas*

Pseudomonas – род грамотрицательных аэробных неспорообразующих бактерий. Представители рода *Pseudomonas* подвижны и имеют форму прямых или изогнутых палочек и два полярно расположенных жгутика [31]. Они широко используются в хозяйственной практике, для производства антибиотиков, извлечения остаточной нефти из скважин, для борьбы с загрязнением окружающей среды, а также в качестве моделей для многочисленных теоретических исследований [2, 33].

Из пресной воды Антарктики выделен психрофильный штамм *Pseudomonas antarctica*, который проявляет антимикробную активность за счет содержания кластера генов, кодирующих микроцин В, ингибирующий регуляцию ДНК. Кроме того, *P. antarctica* может продуцировать пиоцины R-типа, а также содержит полный набор белков для биосинтеза аденозилкобаламина и, возможно, стимулирует рост растений путем подачи молекул пирролохинолина квинона [38]. В исследованиях S. Kumar et al. задокументирован протеом гималайского психрофильного диазотрофа *Pseudomonas helmanticensis* и показана его сеть взаимодействия белок-белок при холодовом стрессе [39]. Данные исследования позволяют подробно изучить механизм адаптации психрофильных бактерий к холодовому стрессу, выявить многообещающих кандидатов для изучения эволюции резистомы окружающей среды и получения новых активных биомолекул для борьбы с кризисом антибиотиков и ценных биокатализаторов, активных при низких температурах.

Известны случаи обнаружения биокатализаторов, обладающих высокоэффективным и энергосберегающим каталитическим свойством, у адаптивных к холоду бактерий [40]. Y. Luo et al. выделили липазу B68 из *Pseudomonas fluorescens*, которая имеет большие перспективы применения в производстве биодизельного топлива. Поскольку производство биодизельного топлива осуществляется посредством действия липазы при температуре 35–50 °С, наличие высокоактивной липазы при низкой оптимальной температуре может обеспечить существенную экономию энергопотребления [41]. Такая психрофильная липаза (LIPB68) может представлять собой высококонкурентный энергосберегающий биокатализатор.

Представители рода *Achromobacter*

Achromobacter – род бактерий, входящий в семейство Alcaligenaceae порядка Burkholderiales. Клетки представляют собой грамотрицательные

прямые палочки и подвижны за счет использования от 1 до 20 перитрихальных жгутиков. Они строго аэробны и встречаются в воде (пресной и морской) и почве [31].

Из образцов почв, загрязненных органофосфонатами, выделили бактерии *Achromobacter* sp. MPS 12, *Achromobacter xylosoxydans* GPK 1 [42] и *Achromobacter* sp. ВКМ В-2694 [43], способные использовать в качестве единственных источников фосфора глифосфат или метилфосфоновую кислоту. Высокая деструктивная активность изолятов сохранялась при длительном хранении клеток в лиофильно высушенном состоянии, при замораживании до $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ [42, 43]. Эти штаммы можно использовать для очистки почвы и поверхностных вод, загрязненных фосфорорганическими соединениями.

Представители рода *Arthrobacter*

Все виды рода *Arthrobacter* – грамположительные облигатные аэробы, которые представляют собой палочки во время экспоненциального роста и кокки в стационарной фазе. Они обитают в почве, илах, подземных пещерах, морских, ледниковых илах, сточных водах, воздушных поверхностях растений, овощах, рыбах и различных видах животных [31]. Некоторые виды являются психрофильными и психротрофными, могут использовать ароматические соединения [44], широкий спектр органических субстратов и не требуют витаминов и других органических факторов роста [45].

Более 600 различных каротиноидов вырабатываются бактериями, водорослями, грибами, растениями и животными. Одним из представителей является психротрофный штамм *Arthrobacter agilis*, выделенный из морского льда Антарктики, обладающий свойством вырабатывать красный пигмент каротиноид типа С-50 [46]. На сегодняшний день каротиноиды бактериоруберинового типа С-50 выделены только из экстремофильных бактерий и нескольких архей, включая виды *Halobacterium* [47] и *Haloferax* [48]. Все эти организмы требуют адаптивных механизмов, чтобы справляться с экстремальными условиями окружающей среды и производством бактериоруберина, пигменты могут способствовать такой адаптации. Это наблюдение согласуется с концепцией адаптивной роли бактериоруберинов в стабилизации мембран при низкой температуре [46].

Известен еще один психрофильный штамм *Arthrobacter psychrophilus* ARC 42 ВКПМ Ас-2076, который обладает способностью к деструкции нефти и нефтепродуктов при температуре от $2,5$ до $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, что делает его уникальным и наиболее перспективным в использовании для очистки акваторий водоемов, береговой линии, загрязненных нефтью и нефтепродуктами [49].

Штаммы рода *Arthrobacter* активно применяются не только как деструкторы нефти и нефтепродуктов, а также в разложении гербицидов. Их использование способствует более эффективному усвоению элементов минерального питания из почвы и удобрений, усиливает ростовые процессы, защищает от бактериальных и грибковых инфекций, повышает толе-

рантность растений к неблагоприятным факторам среды и увеличивает продуктивность посевов [50]. Выделенный из почвы штамм *Arthrobacter* sp. метаболизировал диурон при температуре 18 °С, что говорит о его психротолерантных свойствах. Преобразование диурона в различных концентрациях являлось более эффективным в присутствии альтернативных источников углерода и азота [51].

Представители рода *Pseudoalteromonas*

Pseudoalteromonas представлен многочисленными морскими видами гетеротрофных грамотрицательных жгутиковых бактерий. В 1995 г. G. Gauthier et al. предложили выделить *Pseudoalteromonas* в качестве нового рода, который следует отделить от *Alteromonas*. Представители этого рода производят ряд соединений, активных против различных организмов-мишеней, которые могут принести большую пользу клеткам *Pseudoalteromonas* в их конкуренции за питательные вещества и колонизации поверхностей [52, 53].

Ферменты психрофильных микроорганизмов характеризуются не только выраженной термолабильностью, но и высокой удельной активностью при низких и умеренных температурах. Психрофильная α -амилаза, выделенная из *Pseudoalteromonas haloplanktis*, имеет в семь раз более высокие значения скорости реакции при 4 °С, чем один из ее мезофильных аналогов. В теории теплостойкость, а также высокая удельная активность являются следствием повышенной молекулярной гибкости, требующей в качестве компенсации снижения скорости реакции при низких температурах [54]. Из-за своей высокой удельной активности при низких температурах психрофильная α -амилаза представляет большой потенциальный интерес применения в промышленных процессах, таких как производство моющих средств, пивоварение и выпечка [55].

Проведены исследования, направленные на изучение свойств фермента щелочной фосфатазы, выделенной из психрофильной бактерии *Pseudoalteromonas undina*. Согласно полученным данным, щелочная фосфатаза, выделенная из *P. undina* P2, является термолабильным ферментом и может быть использована в молекулярной биологии для удаления концевых фосфатных групп из молекул нуклеиновых кислот [56].

Представители рода *Bacillus*

Bacillus – род грамположительных палочковидных бактерий, образующих внутриклеточные споры, являются аэробами или факультативными анаэробами, большинство представителей – хемоорганогетеротрофы. Некоторые виды способны к нитратредукции [31].

Бактерии рода *Bacillus*, выделенные из почвы и воды, продемонстрировали оптимальную температуру роста от –4,5 до 30 °С [57]. Психрофильный фермент аланинрацемазы, выделенный из *Bacillus psychrosaccharolyticus*, обладает более высокой каталитической активностью, чем соответствующий термофильный фермент при высоких температурах [58].

В последнее время большой научный интерес направлен на изучение и образование бактериями наночастиц различных металлов. Все процессы биосинтеза наночастиц золота, о которых сообщалось до настоящего времени, использовали температуру более 20 °С [59]. Однако в 2020 г. K.R. Das et al. провели исследования психротолерантного штамма *Bacillus* sp. GL1.3, который может внеклеточно синтезировать наночастицы золота размером 30–50 нм при температуре 4 °С. Эти наночастицы обладают анти-SRB-эффектом в зависимости от дозы, что может быть полезно для профилактики различных заболеваний, вызванных сульфатредуцирующими бактериями (SRB) [60]. Наночастицы золота обладают огромным потенциалом в различных областях биомедицины, иммунологии, для очистки от загрязняющих веществ и различных промышленных применений.

Изучение влияния метаболитов *Bacillus* sp. МЗ, выделенного из многолетнемерзлых пород, на уровень секреции мононуклеарами про- (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-8, ИЛ-2, ИФН- γ) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов как показателей иммунологической реактивности, представляется актуальным в перспективе создания новых иммунотропных препаратов [61].

Представители рода *Clostridium*

Бактерии рода *Clostridium* – грамположительные облигатные анаэробные спорообразующие бактерии, у которых размер споры превышает поперечник клетки, и поэтому они принимают форму веретена, теннисной ракетки или булавки [31]. *Clostridium* принимают участие в круговороте веществ в природе. Благодаря спорообразованию они способны длительно выживать, а при определенных условиях – вегетировать в объектах окружающей среды [62].

Существуют случаи выделения психротрофных микроорганизмов рода *Clostridium*, которые не являются токсичными для человека, однако имеют огромное экономическое влияние на мясную промышленность. J. Wambui и R. Stephan выделили *Clostridium estertheticum* из вакуумно упакованного мяса. Авторы в своей работе предполагают, что именно этот микроорганизм является причиной «взрыва вакуумной упаковки с мясом», так как порча продукта происходит без нарушения температурного режима [63]. *C. estertheticum* предлагается применять для обнаружения порчи мясной продукции с целью предотвращения взрыва вакуумной упаковки [64]. В 2022 г. зафиксированы результаты эксперимента, показывающие, что *C. estertheticum* производит стабильные бактериоцины, обладающие активностью против клинически значимых патогенов [65]. Описано несколько психрофильных клостридий в Антарктических микробных матах с температурным оптимумом роста в диапазоне 4–16 °С, способных ферментировать глюкозу, фруктозу, инулин и ксилозу [66].

Психрофильные бактерии продуцируют различные соединения, чтобы защитить себя от внутриклеточного замерзания или свести к минимуму вредное воздействие формирования кристаллов льда. Один из механизмов –

это образование антифризных белков [67]. Антифризные белки считаются перспективным биотехнологическим продуктом для применения в медицине и пищевой, косметической, топливной и других отраслях промышленности [68]. Штамм *Clostridium tagluense* A121 образует антифризные белки, за счет генома кодирующего четыре гена белков холодового шока, которые действуют как шапероны для мРНК во время холодового шока [69].

Одним из важных способов выживания бактерий считается образование внутриклеточных полимерных веществ (полисахаридов, липидов, полифосфатов) [1]. Известно, что *Clostridium algorithilum* обладает свойством накапливать полисахарид в клетке. Предполагается, что полисахарид бактерии *C. algorithilum* не только напрямую участвует в биохимических реакциях, но и может способствовать образованию оптимальной цитоплазматической вязкости для низкотемпературного протекания биохимических реакций. Это в конечном итоге приводит к выживанию *C. algorithilum* в условиях криопэга (подземные природные засоленные воды, имеющие отрицательную температуру) [70].

Представители рода *Micrococcus*

Micrococcus – род сферических бактерий семейства Micrococcales. Бактерии рода *Micrococcus* имеют грамположительные сферические клетки диаметром примерно от 0,5 до 3 мкм и обычно появляются тетрадами. Они каталазоположительны, оксидазоположительны, индолотрицательны и цитратотрицательны [31]. Все микрококки содержат «животный крахмал» гликоген, который выполняет роль запасного вещества клетки. У большинства видов оптимум температуры роста 25–30 °С. Многие виды микрококков могут развиваться при 5–8 °С [71].

На китайской станции Great-Wall в Антарктиде, выделен адаптированный к холоду *Micrococcus antarcticus* (штамм T2T), сохраняющий жизнеспособность при 0 °С с оптимальной температурой роста 16 °С, гидролизующий крахмал и твин (20, 40, 80) [71]. Из *M. antarcticus* выделили адаптированную к холоду амилазу, которая показала устойчивость к инактивации 0,1% неионогенных поверхностно-активных веществ, таких как твин 80, тритон X-100 [72].

Представители рода *Psychrobacter*

Psychrobacter – род грамотрицательных, осмоотолерантных, психрофильных или психротолерантных аэробных бактерий, принадлежащих к семейству Moraxellaceae и классу Gammaproteobacteria. Форма представлена в виде кокков и коккобацилл [31]. E. Juni и G. Neum описали род *Psychrobacter* для размещения грамотрицательных, кокковых или палочковидных бактерий, обладающих строго окислительным метаболизмом, которым не хватало подвижности [73]. Известно, что бактерии рода *Psychrobacter* являются облигатными или факультативными психрофилами и изо-

лированы из широкого спектра мест обитания, включая пищу, клинические образцы, кожу, жабры и кишечник рыб, морскую воду в Антарктике, Антарктический морской лед и отложения Японских впадин [74].

Антарктическая морская бактерия *Psychrobacter proteolyticus* выделена из желудка антарктического криля (*Euphasia superb*). *P. proteolyticus* свойственно выделять адаптированную к холоду внеклеточную металлопротеиназу [75]. Известно, что металлопротеиназы – это цинк-зависимые эндопептидазы, способные разрушать все типы белков внеклеточного матрикса [76]. Соответственно, *P. proteolyticus* могут применяться в биотехнологии и медицине, так как метапротеиназы играют большую роль в ремоделировании тканей, ангиогенезе, пролиферации, миграции и дифференциации клеток, апоптозе, сдерживании роста опухолей [77].

Psychrobacter namhaensis можно рассматривать в качестве кормовой добавки, так как получены положительные результаты исследования по оценке эффективности в отношении показателей роста и иммунного ответа нильской тилляпии (*Oreochromis niloticus*) [78].

Представители рода *Psychromonas*

Бактерии рода *Psychromonas* принадлежат к классу *Gamma*proteobacteria и являются психрофильными, аэротолерантными анаэробами. Клетки представляют собой грамотрицательные неподвижные крупные палочки длиной 6–14 мкм и шириной 1,25–1,5 мкм, встречающиеся поодиночке или парами [79]. На сегодняшний день описаны пятнадцать видов рода *Psychromonas* [80–81].

Штамм *Psychromonas ingrahamii* 37T изолирован из морского льда недалеко от Пойнт-Барроу (Аляска). *P. ingrahamii* – грамотрицательная бактерия палочковидной формы, восстанавливает неорганические нитраты и является гетеротрофом, использующим многие органические соединения в качестве источников углерода. Показано, что *P. ingrahamii* растет при температуре ниже точки заморзания (самая низкая температура роста среди всех изученных до сих пор организмов) –12 °С со временем генерации 240 ч [79]. Из психрофильной бактерии *P. ingrahamii* выделена нуклеаза (PinNuc), обладающая способностью расщеплять различные формы нуклеиновых кислот. Этот фермент содержит шесть цистеиновых остатков, наиболее вероятно, что все они связаны с дисульфидными мостиками [81].

Психрофильная бактерия *Psychromonas arctica* также выживает при отрицательных температурах, адаптировав несколько защитных механизмов против заморзания, активировав белки холодового шока (Csp). Первые исследования белков холодового шока в основном изучали на Csp мезофильной бактерии *Escherichia coli* [82], а не на психрофильных бактериях. В дальнейшем предприняли попытки понять молекулярные механизмы психрофильных бактерий, которые позволяют им выдерживать замораживание. Y.H. Jung et al. клонировали ген, кодирующий белок холодового шока CspA(Pa), из *P. arctica* KOPRI 22215 и сверхэкспрессировали его в *E. coli*, это вызвало морфологическое удлинение и замедление роста кле-

ток. Интересно, что сверхэкспрессия CspA(Pa) в *E. coli*, резко увеличила холодостойкость хозяина более чем в десять раз, что говорит о том, что этот белок способствует выживанию в полярных условиях [83].

Представители рода *Flavobacterium*

Flavobacterium – это род грамотрицательных, неподвижных и подвижных палочковидных бактерий, который состоит из 130 признанных видов. Представители рода *Flavobacterium* широко распространены в почве и воде; обнаружены также в сыром мясе, молоке и других пищевых продуктах [31]. Психрофильные формы микроорганизмов рода *Flavobacterium* в основном являются представителями антарктической флоры, такие как *F. gillisiae*, *F. degerlachei*, *F. frigoris*, *F. xinjiangense*, *F. xanthum*, *F. omnivorum*, *F. frigidarium*, *F. gelidilacus*, *F. limicola*, *F. tegetincola*, *F. micromat*, *F. Hibernum*, *F. psychrophilum*, *F. fryxellicola* и *F. psychrolimnae* [3, 4, 8, 84].

Flavobacterium limicola имеет диапазон температур роста от 0 до 25 °С, при этом оптимальный рост происходит при 15–20 °С. *F. limicola* способны гидролизовать казеин, желатин, крахмал, агар, эскулин, мочевины, мочевую кислоту и тирозин, а также лизировать клетки *Escherichia coli* и *Pseudomonas putida*. Интересен тот факт, что для *F. limicola* характерно увеличение секреции протеазы по мере снижения температуры [84]. *F. limicola* является перспективным источником холодоактивной протеазы, которая в теории может использоваться в специфических биотрансформациях и биоремедиациях окружающей среды [85]. В 2002 г. из фекалий антарктических пингвинов выделен *Flavobacterium faecale* WV33(T), обладающий агаразной активностью при 16 °С [86].

В ходе скрининга психрофильных микроорганизмов, выделенных из загрязненной нефтью арктической почвы, обнаружили бактериальный штамм, обладающий свойством разлагать дизельное топливо, для которого предложили название *Flavobacterium petroe* [87].

Из психрофильной бактерии *Flavobacterium* sp. YS-80-122 выделен новый фермент – 1-каррагеназа (CgiF), который проявляет холодоактивные и термоустойчивые свойства. Холодовая адаптация и термоустойчивость делают его отличным кандидатом для промышленного применения в производстве олигосахаридов 1-каррагена из полисахаридов морских водорослей [88].

Психрофильные метанотрофные микроорганизмы

Метанотрофы – уникальная группа микроорганизмов, способных использовать метан в качестве единственного источника углерода и энергии. Окисление метана осуществляется ими как в аэробных, так и в анаэробных условиях [89]. Чистые культуры психрофильных и психротолерантных метанотрофов выделены и охарактеризованы как новые роды и виды: *Methylobacter psychrophilus*, *Methylosphaera hansonii*, *Methylocella palustris*, *Methylocella silvestris*, *Methylocella tundrae*, *Methylocapsa acidiphila* и *Methylomonas scandinavica* [90].

Систематические исследования метанотрофов психросферы привели к выделению из тундровой почвы первого психрофильного метанотрофа *Methylobacter psychrophilus* [91]. *M. psychrophilus* растет при температурах от 3,5 до 20 °С, оптимально при 5–10 °С. Согласно проведенному полному генетическому анализу, штамм *M. psychrophilus* SPH1Т обладает геномным потенциалом для биосинтеза гопаноидов, который необходим для поддержания внутрицитоплазматических мембран [92].

И.Ю. Ошкин с соавт. (Oshkin et al.) выделили из антарктических озер 8 штаммов метанотрофных микроорганизмов, описанных в качестве нового вида *Methylosphaera hansonii*. Клетки *M. hansonii* представлены неподвижными крупными кокками, ассимилирующими углерод по рибулозомонофосфатному пути. Штаммы *M. hansonii* являются психрофильными, с оптимальной температурой роста 10–13°С и максимальной 16–21 °С [93]. Также сообщалось о способности *M. hansonii* к биосинтезу специфических 4,4-диметилированных и 4-метилированных стеролов [94].

Биосферная роль представителей психрофильных метаногенов намного превосходит таковую у термофилов, так как именно холодовые экосистемы являются основными источниками метана, поступающего в атмосферу Земли, однако метаболизм и механизм регуляции активности метанотрофов холодных экосистем остаются мало изученными [93].

Заключение

Обзор литературы свидетельствует о том, что в настоящее время облигатные и факультативные психрофилы (психротрофы) и их холодоактивные ферменты представляют научный интерес во всем мире. Существенная часть исследований носит общее понимание распространения психрофильных бактерий и локальное изучение ферментативной активности. В данном обзоре мы рассмотрели разнообразие промышленно значимых психрофильных бактерий, структурируя их по родам.

Разнообразие психрофильных бактерий широко. Среди них встречаются представители различных родов и видов, которые представлены палочковидными и кокковыми формами, образующие споры и не образующие их, грамотрицательные и грамположительные, строгие аэробы, факультативные и строгие анаэробы. Обнаружены также фаги психрофильных бактерий.

Реакция бактерий на снижение температуры имеет общие черты. Однотипность реакции на действие холода самых разных видов и родов бактерий подтверждается данными, приведенными в вышеизложенном материале. Холод индуцирует гены холодового шока, в результате этого происходят значительные изменения в регуляции синтеза белков, подавляется синтез основных белков микробной клетки. Однако синтезируется множество новых белков – белков холодового шока.

В настоящее время холодоактивные ферменты имеют огромное значение. Эффективность применения в промышленности таких холодоактивных ферментов, как липаза, амилаза, протеаза, эстераза, фосфатаза, рас-

смотрена во многих работах. Эти ферменты активно используются в производстве бытовой химии, сельском хозяйстве, фармацевтике и других отраслях народного хозяйства. Скрининг новых микроорганизмов и их холодоактивных ферментов открывает новые и более простые пути для синтетических процессов. Следовательно, это может дать новые решения биотехнологических и экологических проблем.

Список источников

1. Hassan N. Temperature driven membrane lipid adaptation in glacial psychrophilic bacteria // *Frontiers in Microbiology*. 2020. № 11. P. 824. doi: 10.3389/fmicb.2020.00824.
2. Ксенофонтов Б.С. Основы микробиологии и экологической биотехнологии : учеб. пособие. М. : Инфра-М Форум, 2015. 224 с.
3. Ермилова Е.В. Молекулярные аспекты адаптации прокариот. СПб. : Химиздат, 2012. 341 с.
4. Заварзин Г.А., Колотилова Н.Н. Введение в природоведческую микробиологию : учеб. пособие. М. : Университет, 2001. 256 с.
5. Хижняк С.В., Илиенц И.Р., Рубчевская Л.П., Меньяло Л.Н. Карстовые пещеры как источник психрофильных штаммов для ферментативной переработки сырья зерноперерабатывающей и плодоовощной отрасли и повышения пищевой биологической ценности продукции // *Вестник КрасГАУ*. 2012. № 5. С. 411–415.
6. Gohrbandt M., Lipski A., Grimshaw J.W., Buttress J.A, Baig Z., Herkenhoffl B., Walter S., Kurre R., Deckers-Hebestreit G., Strahl H. Low membrane fluidity triggers lipid phase separation and protein segregation in living bacteria // *The EMBO Journal*. 2022. Vol. 4, № 5. P. e109800. doi: 10.15252/embj.2021109800
7. Klein W.M., Weber H., Marahiel M.A. Cold shock response of *Bacillus subtilis*: isoleucine-dependent switch in the fatty acid branching pattern for membrane adaptation to low temperatures // *Journal of Bacteriology*. 1999. Vol. 181, № 17. PP. 5341–5349. doi: 10.1128/JB.181.17.5341-5349.1999
8. D'Amico S., Collins T., Marx J.C., Feller G., Gerday C. Psychrophilic microorganisms: challenges for life // *EMBO reports*. 2006. Vol. 7, № 4. PP. 385–389. doi: 10.1038/sj.embor.7400662
9. Саралов А.И. Адаптивность экстремофилов Archaea и Bacteria // *Микробиология*. 2019. Т. 88, № 4. С. 377–400. doi: 10.1134/S0026365619040104
10. Wang S.Y., Hu W., Lin X.Y., Wu Z.H., Li Y.Z. A novel cold-active xylanase from the cellulolytic myxobacterium *Sorangium cellulosum* So9733-1: gene cloning, expression, and enzymatic characterization // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2012. Vol. 93, № 4. PP. 1503–1512. doi: 10.1007/s00253-011-3480-3
11. Adapa V., Ramya L.N., Pulicherla K.K., Rao K.R.S.S. Cold-Adapted Fungi: Evaluation and Comparison of Their Habitats, Molecular Adaptations and Industrial Applications // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2014. Vol. 172, № 5. PP. 2324–2337. doi: 10.1007/s12010-013-0685-1
12. Tapia-Vázquez I., Sánchez-Cruz R., Arroyo-Domínguez M., Lira-Ruan V., Sánchez-Reyes A., Del Rayo Sánchez-Carbente M., Padilla-Chacón D., Batista-García R.A., Folch-Mallol J.L. Isolation and characterization of psychrophilic and psychrotolerant plant-growth promoting microorganisms from a high-altitude volcano crater in Mexico // *Microbiological Research*. 2020. № 232. P. 126394. doi: 10.1016/j.micres.2019.126394
13. Сорокин Н.Д., Афанасова Е.Н. Микробиологическая диагностика состояния почв и филлосферы лесных экосистем Сибири // *Известия РАН. Серия биологическая*. 2012. № 1. С. 100–108. doi: 10.1134/S1062359012010086
14. Zhang D.C., Schumann P., Liu H.C. *Arthrobacter alpinus* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from alpine soil // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2010. Vol. 60, № 9. PP. 2149–2153. doi: 10.1099/ij.s.0.017178-0

15. Берестовская Ю.Ю., Васильева Л.В., Честных О.В. Метанотрофы психрофильного микробного сообщества заполярной тундры России // Микробиология. 2002. Т. 71, № 4. С. 538–544. doi: 10.1023/A:1019805929529
16. Berestovskaya Y.Y., Lysenko A.M., Tourova T.P., Vasil'eva L.V. A Psychrotolerant *Caulobacter* sp. from Russian polar tundra soil // Microbiology. 2006. Vol. 75, № 3. PP. 317–322. doi: 10.1134/S0026261706030131
17. Парфенова В.В., Теркина Т.Я., Косторнова И.Г., Никулина И.Г., Черных В.И., Максимова Э.А. Микробное сообщество пресноводных губок оз. Байкал // Микробиология. 2008. № 4. С. 435–441. doi: 10.1134/S 1062359008040079
18. Bowman J.P., Nichols D.S. Novel members of the family Flavobacteriaceae from Antarctic maritime habitats including *Subsaximicrobium wynnwilliamsii* gen. nov., sp. nov., *Subsaximicrobium saxinquilinus* sp. nov., *Subsaxibacter broadyi* gen. nov., sp. nov., *Lacinutrix copepodicola* gen. nov., sp. nov., and novel species of the genera *Bizionia*, *Gelidibacter* and *Gillisia* // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2005. Vol. 55, № 4. PP. 1471–1486. doi: 10.1099/ijs.0.63527-0
19. Kampf P., Lodders N., Vanechoutte M., Wauters G. Transfer of *Sejongia antarctica*, *Sejongia jeonii* and *Sejongia marina* to the genus *Chryseobacterium* as *Chryseobacterium antarcticum* comb. nov., *Chryseobacterium jeonii* comb. nov. and *Chryseobacterium marinum* comb. nov. // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2009. Vol. 59, № 9. PP. 2238–2240. doi: 10.1099/ijs.0.009142-0
20. Bajerski F., Ganzert L., Mangelsdorf K., Padur L., Lipski A., Wagner D. *Chryseobacterium frigidisoli* sp. nov., a psychrotolerant species of the family Flavobacteriaceae isolated from sandy permafrost from a glacier forefield // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2013. Vol. 63, № 7. PP. 2666–2671. doi: 10.1099/ijs.0.046904-0
21. Хижняк С.В., Таушева И.В., Березикова А.А. Психрофильные и психротолерантные гетеротрофные микроорганизмы карстовых полостей Средней Сибири // Экология. 2003. № 4. С. 261–266. doi: 10.1023/A:102 4537513439
22. Хижняк С.В., Илиенц И.Р., Рубчевская Л.П. Карстовые пещеры как источник психрофильных штаммов для ферментативной переработки сырья зерноперерабатывающей и плодоовощной отрасли и повышения пищевой биологической ценности продукции // Вестник КрасГАУ. 2012. № 5. С. 411–415.
23. Paun V.I., Lavin P., Chifriuc M.C., Purcarea C. First report on antibiotic resistance and antimicrobial activity of bacterial isolates from 13,000-year old cave ice core // Scientific Reports. 2021. № 11. P. 514. doi: org/10. 1038/s41598-020-79754-5
24. Ewert M., Deming J.W. Sea ice microorganisms: environmental constraints and extracellular responses // Biology (Basel). 2013. Vol. 2, № 2. PP. 603–628. doi: 10.3390/biology2020603
25. Ланкина Е.П., Хижняк С.В. Сравнительный анализ встречаемости бактерий-антагонистов к фитопатогенным грибам в бактериальных сообществах почв, почвоподобном субстрате и карстовых пещерах // Вестник КрасГАУ. 2013. Т. 2, № 77. С. 65–68.
26. Кузьмина Л.Ю., Галимзянова Н.Ф., Абдуллин Ш.Р., Рябова А.С. Микробиота пещеры Киндерлинская (Республика Башкортостан) // Микробиология. 2012. № 81. С. 273–281. doi: 10.1134/S0026261712010109
27. Мямин В.Е., Никитина Л.В., Чернявская М.И., Занюк А.А., Титок М.А., Лозюк С.К., Сидоренко А.В., Валентович Л.Н., Долгих А.В. Микробиологические исследования в районе участка Вечерний оазиса Холмы Тала (Восточная Антарктида) // Труды БГУ. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. 2014. Т. 9, № 2. С. 58–67.
28. Онищенко О.М., Киприанова Е.А., Ярошенко Л.В. Психрофильные бактерии родов *Alteromonas* и *Psychrobacter*, выделенных из воды Черного моря // Морской экологический журнал. 2008. Т. 7, № 1. С. 56–59.
29. Olsen R.H., Metcalf S.E., Todd J.K. Characteristics of bacteriophages attacking psychrophilic and mesophilic *Pseudomonads* // Journal of Virology. 1968. Vol. 2, № 4. PP. 357–364.
30. Мямин В.Е., Сидоренко А.В., Валентович Л.Н., Гигиняк Ю.Г., Новик Г.И., Коломиец Э.И. Характеристика микроорганизмов, выделенных из «зеленого снега» прибреж-

- ной зоны Восточной Антарктиды // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты : сб. науч. тр. Минск : Беларуская наука, 2016. С. 106–125.
31. Определитель бактерий Берджи : в 2 т. Т. 1: пер. с англ. / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. М.: Мир, 1997. 761 с.
 32. Urbanczyk H., Ast J.C., Higgins M.J., Carson J., Dunlap P.V. Reclassification of *Vibrio fischeri*, *Vibrio logei*, *Vibrio salmonicida* and *Vibrio wodanis* as *Aliivibrio fischeri* gen. nov., comb. nov., *Allivibrio logei* comb. nov., *Allivibrio salmonicida* comb. nov. and *Aliivibrio wodanis* comb. nov. // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2007. № 57. PP. 2823–2829. doi: 10.1099/ijs.0.65081-0
 33. Yumoto I., Iwata H., Sawabe T., Ueno K., Ichise N., Matsuyama H., Okuyama H., Kawasaki K. Characterization of a facultatively psychrophilic bacterium, *Vibrio rumoiensis* sp. nov., that exhibits high catalase activity // Applied and Environmental Microbiology. 1999. Vol. 65, № 1. PP. 67–72. doi: 10.1128/AEM.65.1.67-72.1999
 34. Karlsen C., Espelid S., Willassen N.P., Paulsen S.M. Identification and cloning of immunogenic *Aliivibrio salmonicida* Pal-like protein present in profiled outer membrane and secreted subproteome // Diseases of aquatic organisms. 2011. Vol. 93, № 3. PP. 215–223. doi: 10.3354/dao02302.
 35. Skanes A.C., Minniti G., Loose J.S., Mekasha S., Bissaro B., Mathiesen G., Arntzen M., Vaaje-Kolstad G. The fish pathogen *Aliivibrio salmonicida* LF11238 can degrade and metabolize chitin despite gene disruption in the chitinolytic pathway // Applied and Environmental Microbiology. 2021. Vol. 87, № 19. P. 56. doi: 10.1128/AEM.00529-21
 36. Цветкова Ю.Д. Особенности культивирования светящихся бактерий как перспективных продуцентов хитиназы для борьбы с патогенами растений // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2014. № 6-1. С. 113–116.
 37. Хрульнова С.А., Манухов И.В., Завильгельский Г.Б. Quorum sensing регуляция экспрессии Lux-генов и структура Lux-оперона у морских бактерий *A. iivibrio* // Генетика. 2011. Т. 12, № 47. С. 1596–1603. doi: 10.1134/S1022795411120052
 38. Lee J., Cho Y.J., Yang J., Jung Y.J., Hong S.G., Kim O.S. Complete genome sequence of *Pseudomonas antarctica* PAMC 27494, a bacteriocin-producing psychrophile isolated from Antarctica // Journal of Biotechnology. 2017. № 259. PP.15–18.
 39. Kumar S., Suyal D.C., Yadav A., Shouche Y., Goel R. Psychrophilic *Pseudomonas helmanticensis* proteome under simulated cold stress // Cell Stress Chaperones. 2020. Vol. 25, № 6. PP. 1025–1032. doi: 10.1007/s12192-020-01139-4
 40. Mhetras N., Mapare V., Gokhale D. Cold Active Lipases: Biocatalytic Tools for Greener Technology // Applied Biochemistry and Biotechnology. 2021. Vol. 197, № 7. PP. 2245–2266. doi: 10.1007/s12010-021-03516-w
 41. Luo Y., Zheng Y., Jiang Zh., Ma Y., Wei D. A novel psychrophilic lipase from *Pseudomonas fluorescens* with unique property in chiral resolution and biodiesel production via transesterification // Applied Microbiology and Biotechnology. 2006. Vol. 73, № 2. PP. 349–355. doi: 10.1007/s00253-006-0478-3
 42. Ермакова И.Т., Шушкова Т.В., Леонтьевский А.А. Микробная деструкция органофосфонатов почвенными бактериями // Микробиология. 2008. Т. 77, № 5. С. 689–695. doi: 10.1134/S0026261708050160
 43. Sviridov A.V., Shushkova T.V., Zelenkova N.F., Vinokurova N.G., Morgunov I.G., Ermakova I.T., Leontievsky A.A. Distribution of glyphosate and methylphosphonate catabolism systems in soil bacteria *Ochrobactrum anthropi* and *Achromobacter* sp. // Applied Microbiology and Biotechnology. 2012. № 93. PP. 787–796. doi: 10.1007/s00253-011-3485-y
 44. O'Loughlin E.J., Sims G.K., Traina S.J. Biodegradation of 2-methyl, 2-ethyl, and 2-hydroxypyridine by an *Arthrobacter* sp. isolated from subsurface sediment // Biodegradation. 1999. Vol. 10, № 2. PP. 93–104. doi: 10.1023/a:1008309026751
 45. Khasaeva F., Vasilyuk N., Terentyev P., Troshina M., Lebedev A.T. A novel soil bacterial strain degrading pyridines // Environmental Chemistry Letters. 2011. № 9. PP. 439–445. doi: 10.1007/s10311-010-0299-6

46. Flegler A., Lipski A. The C50 carotenoid bacterioruberin regulates membrane fluidity in pink-pigmented *Arthrobacter* species // Archives of Microbiology. 2022. Vol. 204, № 1. P. 70. doi: 10.1007/s00203-021-02719-3
47. Kelly M., Norgard S., Liaaen-Jensen S. Bacterial carotenoids XXXI C50 carotenoids of *Halobacterium salinarium*, especially bacterioruberin // Acta Chemica Scandinavica. 1970. № 24. PP. 2169–2182. doi: 10.3891/acta.chem.scand.24-2169.
48. Ronnekleiv M., Lenes M., Norgard S., Liaaen-Jensen S., Three dodecaene C50-carotenoids from halophilic bacteria // Phytochemistry. 1995. Vol. 39, № 3. PP. 631–634. doi: 003194229500975D
49. Шестаков А.И., Сержкин И.Н., Ламова Я.А., Гавирова Л.А., Шестакова О.О., Ершова О.А., Шабалин Н.В., Исаченко А.И.; ООО «Арктический научно-проектный центр шельфовых разработок». штамм *Arthrobacter psychrochitiniphilus* ARC 42 ВКПМ АС-2076 – деструктор нефти и нефтепродуктов. Патент: Ru 2699990 С. № заявки 2018140400; Заявл. 15.11.2018; Опубл.11.09.2019. Бюл. № 26.
50. Воробейков Г.А., Павлова Т.К., Кондрат С.В., Лебедев В.Н., Юргина В.С., Муратова Р.Р., Макаров П.Н., Дубенская Г.И., Хмелевская И.А. Исследование эффективности штаммов ассоциативных ризобактерий в посевах различных видов растений // Известия Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена. 2011. № 141. С. 114–123.
51. Lamrani M.D., Pesce S., Rouard N., Laurent F.M. Evidence for cooperative mineralization of diuron by *Arthrobacter* sp. BS2 and *Achromobacter* sp. SP1 isolated from a mixed culture enriched from diuron exposed environments // Chemosphere. 2014. № 117. PP. 208–215. doi: org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.080
52. Beurmann S., Ushijima B., Svoboda C.M., Videau P., Smith A.M., Donachie S.P., Aebby G.S., Callahan S.M. *Pseudoalteromonas piratica* sp. nov., a budding, prosthecate bacterium from diseased *Montipora capitata*, and emended description of the genus *Pseudoalteromonas* // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2017. Vol. 67, № 8. PP. 268–2688. doi: 10.1099/ijsem.0.001995
53. Gauthier G., Gauthier M., Christen R. Phylogenetic analysis of the genera *Alteromonas*, *Shewanella*, and *Moritella* using genes coding for small-subunit rRNA sequences and division of the genus *Alteromonas* into two genera, *Alteromonas* (emended) and *Pseudoalteromonas* gen. nov., and proposal of twelve new species combinations // International Journal of Systematic Bacteriology. 1995. Vol. 45, № 4. PP. 755–761. doi: 10.1099/00207713-45-4-755
54. Kumar S., Khare S.K. Chloride activated halophilic α -amylase from *Marinobacter* sp. EMB8: Production optimization and nanoimmobilization for efficient starch hydrolysis // Enzyme Research. 2015. Vol. 2015. P. 9. doi: org/10.1155/2015/859485
55. Struvay C., Feller G. Optimization to low temperature activity in psychrophilic enzymes // International Journal of Molecular Sciences. 2012. Vol. 13, № 9. PP. 11643–11665.
56. Зернов Ю.П., Дедков В.С., Антонова Ю.А., Михненкова Н.А., Дегтярев С.Х. Термолабильная щелочная фосфатаза из психрофильного микроорганизма *Alteromonas undina* P2 // Биотехнология. 2005. № 2. С. 38–43. doi: 10.3390/ijms 130911643
57. Larkin J.M., Stokes J.L. Isolation of psychrophilic species of *Bacillus* // Journal of bacteriology. 1966. Vol. 91, № 5. PP. 1667–1671. doi: 10.1128/jb.91.5.1667-1671.1966
58. Okubo Y., Yokoigawa K., Esaki N., Soda K., Misono H. High catalytic activity of alanine racemase from psychrophilic *Bacillus psychrosaccharolyticus* at high temperatures in the presence of pyridoxal 5'-phosphate / FEMS Microbiology Letters. 2000. Vol. 192, № 2. PP. 169–173. doi: org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09377.x
59. Радциг М.А., Кокшарова О.А., Надточенко В.А., Хмель И.А. Получение наночастиц золота методом биогенеза с использованием бактерий // Микробиология. 2016. Т. 85, № 1. С. 42–49. doi: 10.7868/S002636 5616010092
60. Das K.R., Tiwari A.K., Kerkar S. Psychrotolerant Antarctic bacteria biosynthesize gold nanoparticles active against sulphate reducing bacteria // Preparative Biochemistry & Biotechnology. 2020. Vol. 50, № 5. PP. 438–444. doi: 10.1080/10826068.2019.1706559.

61. Колыванова С.С., Каленова Л.Ф. Влияние метаболитов микроорганизмов многолетнемерзлых пород на синтез цитокинов мононуклеарными клетками периферической крови человека *in vitro* // Медицинская иммунология. 2021. Т. 23, № 1. С. 137–142. doi: org/10.15789/1563-0625-IOM-2014
62. Dobrovol'skaya T.G., Zvyagintsev D.G., Chernov I.Yu., Golovchenko A.V., Zeno-va G.M., Lysak L.V., Manucharova N.A., Marfenina O.E., Polyanskaya L.M., Stepanov A.L., Umarov M.M. The role of microorganisms in the ecological functions of soils // *Eurasian Soil Science*. 2015. Vol. 48, № 9, PP. 959–967. doi: 10.1134/S1064229315090033
63. Wambui J., Stephan R. Relevant aspects of *Clostridium estertheticum* as a specific spoilage organism of vacuum-packed meat // *Microorganisms*. 2019. Vol. 7, № 5. P. 142. doi: 10.3390/microorganisms7050142
64. Broda D.M., Delacy K.M., Bell R.G., Braggins T.J., Cook R.L. Psychrotrophic *Clostridium* spp. associated with «blown pack» spoilage of chilled vacuum-packed red meats and dog rolls in gas-impermeable plastic casings // *International Journal of Food Microbiology*. 1996. Vol. 29, № 2–3. PP. 335–352. doi: 10.1016/0168-1605(95)00 070-4.
65. Wambui J., Stevens M.J.A., Sieber S., Cernela N., Perreten V., Stephan R. Targeted genome mining reveals the psychrophilic *Clostridium estertheticum* complex as a potential source for novel bacteriocins, including cesin A and esterctin A // *Frontiers in Microbiology*. 2022. Vol. 12, № 801467. P. eCollection 2021. doi: 10.3389/fmicb. 2021.801467
66. Spring S., Merkhoffer B., Weiss N., Kroppenstedt R.M., Hippe H., Stackebrandt E. Characterization of novel psychrophilic clostridia from an Antarctic microbial mat: description of *Clostridium frigoris* sp. nov., *Clostridium lacusfryxellense* sp. nov., *Clostridium bowmanii* sp. nov. and *Clostridium psychrophilum* sp. nov. and reclassification of *Clostridium laramiense* as *Clostridium estertheticum* subsp. laramiense subsp. nov. // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2003. Vol. 53, № 4. PP. 1019–1029. doi: 10.1099/ijs.0.02554-0.
67. Riley M., Staley J.T., Danchin A., Wang T.Z., Brettin T.S., Hauser L.J., Land M.L., Thompson L.S. Genomics of an extreme psychrophile *Psychromonas ingrahamii* // *BMC Genomics*. 2008. Vol. 9, № 210. P. 19. doi: 10.1186/1471-2164-9-210
68. Shcherbakova V., Troshina O. Biotechnological perspectives of microorganisms isolated from the Polar Regions // *Microbiology Australia*. 2018. Vol. 39, № 3. PP. 137–140. doi: 10.1071/MA18042
69. Murakami T., Mori H., Shcherbakova V.A., Yoshimura Y., Segawa T. Draft genome sequence of *Clostridium tagluense* strain A121^T, isolated from a permafrost core in the canadian high Arctic. *Microbiology Resource Announcements*. 2019. Vol. 8, № 5. PP. e01630–18. doi: 10.1128/MRA.01630-18
70. Печерицына С.А., Архипова О.В., Сузина Н.Е., Лысанская В.Я., Лауринавичюс К.С., Щербакова В.А. Внутриклеточный полисахарид анаэробного психрофила *Clostridium algariphilum* // *Микробиология*. 2011. Т. 1, № 80. С. 40–46. doi: 10.1134/S0026261710061050
71. Liu H., Xu Y., Ma Y., Zhou P. Characterization of *Micrococcus antarcticus* sp. nov., a psychrophilic bacterium from Antarctica // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2000. Vol. 50, № 2. PP. 715–719. doi: 10.1099/00207713-50-2-715
72. Fan H.X., Liu Y., Liu Z.P. Optimization of fermentation conditions for cold-adapted amylase production by *Micrococcus antarcticus* and its enzymatic properties // *Chinese Journal of Environmental Science*. 2009. № 8. PP. 2473–2478.
73. Juni E., Heym A. *Psychrobacter immobilis* gen. nov., sp. Nov.: Genospecies composed of gram-negative, aerobic, oxidase-positive coccobacilli // *Microbiological Societies*. 1986. Vol. 3, № 36. PP. 388–391. doi: org/10.1099/0020 7713-36-3-388
74. Yumoto I., Hirota K., Sogabe Y., Nodasaka Y., Yokota Y., Hoshino T. *Psychrobacter okhotskensis* sp. nov., a lipaseproducing facultative psychrophile isolated from the coast of the Okhotsk Sea // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2003. Vol. 53, № 6. PP. 1985–1989. doi: 10.1099/ijs.0.02686-0

75. Denner E.B., Mark B., Busse H.J., Turkiewicz M., Lubitz W. *Psychrobacter proteolyticus* sp. nov., a psychrotrophic, halotolerant bacterium isolated from the antarctic krill *Euphausia superba* Dana, excreting a cold-adapted metalloprotease // Systematic and Applied Microbiology. 2001. Vol. 24, № 1. PP. 44–53. doi: 10.1078/0723-2020-00006
76. Лайнен Г.Р. Матриксные металлопротеиназы и фибринолитическая активность клеток // Биохимия. 2002. Т. 67, № 1. С. 107–115.
77. Abdel-Hamid N.M., Abass S.A. Matrix metalloproteinase contribution in management of cancer proliferation, metastasis and drug targeting // Molecular Biology Reports. 2021. Vol. 48, № 9. PP. 6525–6538. doi: 10.1007/s11033-021-06635-z
78. Makled S.O., Hamdan A.M., El-Sayed A.M., Hafez E.E. Evaluation of marine psychrophile, *Psychrobacter namhaensis* SO89, as a probiotic in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets // Fish Shellfish Immunology. 2017. № 61. PP. 194–200. doi: 10.1016/j.fsi.2017.01.001
79. Auman A.J., Breezee J.L., Gosink J.J., Kampf P., Staley J.T. *Psychromonas ingrahamii* sp. nov., a novel gas vacuolate, psychrophilic bacterium isolated from Arctic polar sea ice // Evolutionary Microbiology. 2006. Vol. 56, № 5. PP. 1001–1007. doi: 10.1099/ijs.0.64068-0
80. Breezee J., Cady N., Staley J.T. Subfreezing growth of the sea ice bacterium *Psychromonas ingrahamii* // Microbial Ecology. 2004. Vol. 47, № 3. PP. 300–304. doi: 10.1007/s00248-003-1040-9
81. Maciejewska N., Walkusz R., Olszewski M., Szymańska A. New nuclease from extremely psychrophilic microorganism *Psychromonas ingrahamii* 37: Identification and characterization // Molecular Biotechnology. 2019 Vol. 61, № 2. PP. 122–133. doi: 10.1007/s12033-018-0142-z
82. Хайруллин Р.Ф., Киямова Р.Г., Ризванов А.А. Экспрессия рекомбинантных белков в *E. coli*: учеб. пособие. Казань: Изд-во Казан. ун-а, 2018. 142 с.
83. Jung Y.H., Protein J. Overexpression of cold shock protein of *Psychromonas arctica* KOPRI 22215 confers cold-resistance // The Protein Journal. 2010. Vol. 29, № 2. PP. 136–42. doi: 10.1007/s10930-010-9233-9
84. Tamaki H., Hanada S., Kamagata Y., Nakamura K., Nomura N., Nakano K., Matsumura M. *Flavobacterium limicola* sp. nov., a psychrophilic, organic-polymer-degrading bacterium isolated from freshwater sediments // Systematic and Evolutionary Microbiology. 2003. Vol. 53, № 2. PP. 519–526. doi: 10.1099/ijs.0.02369-0
85. Chattopadhyay M.K., Reddy G.S., Shivaji S. Psychrophilic bacteria: Biodiversity, molecular basis of cold adaptation and biotechnological implications // Current Biotechnology. 2014. Vol. 1, № 3. PP. 100–116. doi: 10.2174/22115501113026660039
86. Kim J.H., Choi B.H., Jo M., Kim S.C., Lee P.C. *Flavobacterium faecale* sp. nov., an agarase-producing species isolated from stools of Antarctic penguins // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2014. Vol. 64, № 8. PP. 2884–2890. doi: 10.1099/ijs.0.059618-0
87. Chaudhary D.K., Kim D.U., Kim D., Kim J. *Flavobacterium petrolei* sp. nov., a novel psychrophilic, diesel-degrading bacterium isolated from oil-contaminated Arctic soil // Scientific Reports. 2019. Vol. 9, № 1. P. 4134. doi: 10.1038/s41598-019-40667-7
88. Li S., Hao J., Sun M. Cloning and characterization of a new cold-adapted and thermotolerant ι-carrageenase from marine bacterium *Flavobacterium* sp. YS-80-122 // International journal of biological macromolecules. 2017. № 102. PP. 1059–1065. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.04.070
89. Каллистова А.Ю., Меркель А.Ю., Тарновецкий И.Ю., Пименова Н.В. Образование и окисление метана прокарियोтами // Микробиология. 2017. Т. 6, № 86. С. 661–683. doi: 10.7868/S002636561706009X
90. Бакунина М.С., Пономарева А.Л., Дубовчук С.С., Еськова А.И., Шакиров Р.Б., Обжиров А.И. Особенности психрофильных и термофильных метанотрофных микроорганизмов // Вестник ДВО РАН. 2020. № 5. С. 43–50. doi: 10.37102/08697698.2020.213.5.004

91. Омельченко М.В., Васильева Л.В., Заварзин Г.А., Савельева Н.Д., Лысенко А.М., Митюшина Л.Л. Новый психрофильный метанотроф рода *Methylobacter* // Микробиология. 1996. Т. 65, № 3. С. 384–389. doi: 10.1099/00221287-143-4-1451
92. Турова Т.П., Омельченко М.В., Фегединг К.В., Васильева Л.В. Филогенетическое положение психрофильного метанотрофа *Methylobacter psychrophilus* sp. nov. // Микробиология. 1999. Т. 68, № 4. С. 568–570.
93. Oshkin I.Y., Miroshnikov K.K., Belova S.E. Draft genome sequence of *Methylovulum psychrotolerans* Sph1T, an obligate methanotroph from low-temperature environments // Microbiology Resource Announcements. 2018. Vol. 6, № 11. PP. e01488-17. doi: 10.1128/genomeA.01488-17
94. Schouten S., Bowman J.P., Rijpstra W.I., Sinninghe Damsté J.S. Sterols in a psychrophilic methanotroph, *Methylosphaera hansonii* // FEMS Microbiology Letters. 2000. Vol. 186, № 2. PP. 193–195. doi: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09103.x

References

1. Hassan N. Temperature driven membrane lipid adaptation in glacial psychrophilic bacteria. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:824. doi: 10.3389/fmicb.2020.00824
2. Ksenofontov BS. Fundamentals of microbiology and environmental biotechnology. Moscow: Infra-M Forum; 2015. 224 p. In Russian
3. Ermilova EV. Molecular aspects of prokaryotic adaptation. Sankt-Peterburg: Khimizdat; 2012. 341p. In Russian.
4. Zavarzin GA, Kolotilova NN. Vvedenie v prirodovedcheskuyu mikrobiologiyu [Introduction to natural history microbiology]. Moscow: Knizhnyy dom «Universitet» Publ.; 2001. 256 p. In Russian
5. Khizhnyak SV, Ilients IR, Rubchevskaya LP, Menyaylo LN. Karst caves as a source of psychrophilic strains for enzymatic processing of raw materials in the grain processing and fruit and vegetable industry and increasing the nutritional biological value of products. *Vestnik KrasGAU=Bulleten KrasGAU*. 2012;5(68):411-415. In Russian
6. Gohrbandt M, Lipski A, Grimshaw JW, Buttress JA, Baig Z, Herkenhoff B, Walter S, Kurre R, Deckers-Hebestreit G, Strahl H. Low membrane fluidity triggers lipid phase separation and protein segregation in living bacteria. *The EMBO Journal*. 2022;4(5):e109800. doi: 10.15252/embj.2021109800
7. Klein WM, Weber H, Marahiel MA. Cold shock response of *Bacillus subtilis*: isoleucine-dependent switch in the fatty acid branching pattern for membrane adaptation to low temperatures. *Journal of Bacteriology*. 1999;181(17):5341-5349. doi: 10.1128/JB.181.17.5341-5349.1999
8. D'Amico S, Collins T, Marx JC, Feller G, Gerday C. Psychrophilic microorganisms: challenges for life. *EMBO reports*. 2006;7(4):385-389. doi: 10.1038/sj.embor.7400662
9. Saralov AI. Adaptability of extremophiles Archaea and Bacteria. *Mikrobiologiya = Microbiology*. 2019;88(4):377-400. In Russian, English summary doi: 10.1134/S0026365619040104
10. Wang SY, Hu W, Lin XY, Wu ZH, Li YZ. A novel cold-active xylanase from the cellulolytic myxobacterium *Sorangium cellulosum* So9733-1: gene cloning, expression, and enzymatic characterization. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2012;93(4):1503-1512. doi: 10.1007/s00253-011-3480-3
11. Adapa V, Ramya LN, Pulicherla KK, Rao KRSS. Cold-Adapted Fungi: Evaluation and Comparison of Their Habitats, Molecular Adaptations and Industrial Applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2014;172(5):2324-2337. doi: 10.1007/s12010-013-0685-1
12. Tapia-Vázquez I, Sánchez-Cruz R, Arroyo-Domínguez M, Lira-Ruan V, Sánchez-Reyes A, Del Rayo Sánchez-Carbente M, Padilla-Chacón D, Batista-García RA, Folch-Mallol JL. Isolation and characterization of psychrophilic and psychrotolerant plant-growth promoting microorganisms from a high-altitude volcano crater in Mexico. *Microbiological Research*. 2020;232:126394 doi: 10.1016/j.micres.2019.126394

13. Sorokin ND, Afanasova EN. Microbiological diagnostics of soil stage in the phyllosphere of the woodland ecosystem of Siberia. *Izvestiya Akademii Nauk, Seriya Biologicheskaya = Biology Bulletin*. 2012;1:100-108. doi: 10.1134/S1062359012010086
14. Zhang DC, Schumann P, Liu HC. *Arthrobacter alpinus* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from alpine soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2010; 60(9):2149-2153. doi:10.1099/ijs.0.017178-0
15. Berestovskaya YY, Vasil'eva LV, Chestnykh OV. Methanotrophs of the psychrophilic microbial community of the Russian arctic tundra. *Microbiology = Mikrobiologiya*. 2002;71(4):538-544. doi: 10.1023/A:1019805929529 In Russian, English
16. Berestovskaya YY, Lysenko AM, Tourova TP, Vasil'eva LV. A *Psychrotolerant caulobacter* sp. from Russian polar tundra soil. *Microbiology*. 2006;75(3):317-322. doi: 10.1134/S0026261706030131
17. Parfenova VV, Terkina TY, Kostornova IG. Microbial community of freshwater sponges in Lake Baikal. *Izvestiya Akademii Nauk, Seriya Biologicheskaya = Biology Bulletin*. 2008;4 (4):35-441. doi: 10.1134/S1062359008040079. In Russian, English summary
18. Bowman JP, Nichols DS. Novel members of the family *Flavobacteriaceae* from Antarctic maritime habitats including *Subsaximicrobium wynwilliamsii* gen. nov., sp. nov., *Subsaximicrobium saxinquilinus* sp. nov., *Subsaxibacter broadyi* gen. nov., sp. nov., *Lacinutrix copepodicola* gen. nov., sp. nov., and novel species of the genera *Bizionia*, *Gelidibacter* and *Gillisia*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2005;55(4):1471-1486. doi: 10.1099/ijs.0.63527-0
19. Kampf P, Lodders N, Vanechoutte M, Wauters G. Transfer of *Sejongia antarctica*, *Sejongia jeonii* and *Sejongia marina* to the genus *Chryseobacterium* as *Chryseobacterium antarcticum* comb. nov., *Chryseobacterium jeonii* comb. nov. and *Chryseobacterium marinum* comb. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2009;59(9):2238-2240. doi: 10.1099/ijs.0.009142-0
20. Bajerski F, Ganzert L, Mangelsdorf K, Padur L, Lipski A, Wagner D. *Chryseobacterium frigidisoli* sp. nov., a psychrotolerant species of the family *Flavobacteriaceae* isolated from sandy permafrost from a glacier forefield // *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2013;63(7):2666-2671. doi: 10.1099/ijs.0.046904-0
21. Khizhnyak SV, Tausheva IV, Berezikova AA. Психрофильные и психротолерантные гетеротрофные микроорганизмы карстовых полостей Средней Сибири. *Ekologiya = Russian Journal of Ecology*. 2003;4:261-266. doi: 10.1023/A:1024537513439. In Russian, English summary
22. Khizhnyak SV, Ilievs IR, Rubchevskaya LP. Karst caves as a source of psychrophilic strains for enzymatic processing of raw materials in the grain processing and fruit and vegetable industry and increasing the nutritional biological value of products. *Vestnik KrasGAU=Bulleten KrasGAU*. 2012;5:411-415. In Russian
23. Paun VI, Lavin P, Chifriuc MC, Purcarea C. First report on antibiotic resistance and antimicrobial activity of bacterial isolates from 13,000-year old cave ice core. *Scientific Reports*. 2021;11:514. doi: org/10.1038/s41598-020-79754-5
24. Ewert M, Deming JW. Sea ice microorganisms: environmental constraints and extracellular responses. *Biology*. 2013;2(2):603-628. doi: 10.3390/biology2020603
25. Lankina EP, Khizhnyak SV. Comparative analysis of the occurrence of bacteria antagonists to phytopathogenic fungi in bacterial communities of soils, soil-like substrate and karst caves. *Vestnik KrasGAU=Bulleten KrasGAU*. 2013; 2(77): 65-68. In Russian
26. Kuz'mina LY, Galimzyanova NF, Abdullin SR, Ryabova AS. Microbiota of the Kinderlinskaya cave (South Urals, Russia). *Microbiology = Mikrobiologiya*. 2012;81:273-281. doi: 10.1134/S0026261712010109. In Russian, English summary
27. Myamin VE, Nikitina LV, Chernyavskaya MI, Zanyuk AA, Titok MA, Lozyuk SK, Sidorenko AV, Valentovich LN, Dolgikh AV. Microbiological studies in the area of the Evening oasis site of the Tala Hills (East Antarctica). *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Fiziologicheskie, biokhimicheskie i molekulyarnye osnovy funkcionirovaniya biosistem = Proceedings of the Belarusian State University*.

- Physiological, biochemical and molecular basis of the functioning of biosystems.* 2014;9(2):58-67. In Russian.
28. Onishchenko OM, Kiprianova EA, Yaroshenko LV. Psychrophilic bacteria of the genera *Alteromonas* and *Psychrobacter* isolated from the Black Sea water. *Morskoy ekologicheskiy zhurnal = Marine Environmental Journal.* 2008;7(1):56-59. In Russian
 29. Olsen RH, Metcalf SE, Todd JK. Characteristics of bacteriophages attacking psychrophilic and mesophilic *Pseudomonads*. *Journal of Virology.* 1968;2(4):357-364.
 30. Myamin VE, Sidorenko AV, Valentovich LN, Giginyak YuG, Novik GI, Kolomiets EI. Kharakteristika mikroorganizmov, vydelennykh iz «zelenogo snega» pribrezhnoy zony Vostochnoy Antarktity [Characteristics of microorganisms isolated from the "green snow" of the coastal zone of East Antarctica]. Minsk: Belaruskaya nauka Publ.; 2016.106-125. In Russian
 31. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Bergeys manual of determinative bacteriology. Zavarzin GA translated from English. Moscow: Mir Publ.; 1997. 761 p. In Russian.
 32. Urbanczyk H, Ast JC, Higgins MJ, Carson J, Dunlap PV. Reclassification of *Vibrio fischeri*, *Vibrio logei*, *Vibrio salmonicida* and *Vibrio wodanis* as *Aliivibrio fischeri* gen. nov., comb. nov., *Allivibrio logei* comb. nov., *Allivibrio salmonicida* comb. nov. and *Aliivibrio wodanis* comb. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology.* 2007;57:2823-2829. doi: 10.1099/ij.s.0.65081-0
 33. Yumoto I, Iwata H, Sawabe T, Ueno K, Ichise N, Matsuyama H, Okuyama H, Kawasaki K. Characterization of a facultatively psychrophilic bacterium, *Vibrio rumoiensis* sp. nov., that exhibits high catalase activity. *Applied and environmental microbiology.* 1999;65(1):67-72. doi: 10.1128/AEM.65.1.67-72.1999
 34. Karlsen C, Espelid S, Willassen NP, Paulsen SM. Identification and cloning of immunogenic *Aliivibrio salmonicida* Pal-like protein present in profiled outer membrane and secreted subproteome. *Diseases of aquatic organisms.* 2011;93(3):215–223. doi: 10.3354/dao02302
 35. Skanes AC., Minniti G, Loose JS, Mekasha S, Bissaro B, Mathiesen G, Arntzen M, Vaaje-Kolstad G. The fish pathogen *Aliivibrio salmonicida* LF11238 can degrade and metabolize chitin despite gene disruption in the chitinolytic pathway. *Applied and environmental microbiology.* 2021;87(19):56. doi: 10.1128/AEM.00529-21
 36. Tsvetkova YuD. Osobennosti kultivirovaniya svetyashchikhsya bakteriy kak perspektivnykh produktentov khitinazy dlya bor'by s patogenami rasteniy [Features of the cultivation of luminous bacteria as promising producers of chitinase to combat plant pathogens]. *Aktual'nye problemy gumanitarnykh i estestvennykh nauk.* 2014; 6(1):113-116. In Russian
 37. Khrulnova SA, Manukhov IV, Zavgelskii GB. “Quorum sensing” regulation and the structure of *lux* the operon in marine bacteria *Aliivibrio logei*. *Russian journal of genetics.* 2011; 47:1415-1421. doi: <https://link.springer.com/article/10.1134/S1022795411120052>. In English.
 38. Lee J, Cho YJ, Yang J, Jung YJ, Hong SG, Kim OS. Complete genome sequence of *Pseudomonas antarctica* PAMC 27494, a bacteriocin-producing psychrophile isolated from Antarctica. *Journal of biotechnology.* 2017;259:15-18. doi: 10.1016/j.jbiotec.2017.08.013
 39. Kumar S, Suyal DC, Yadav A, Shouche Y, Goel R. Psychrophilic *Pseudomonas helmanticensis* proteome under simulated cold stress. *Cell stress chaperones.* 2020;25(6):1025-1032. doi: 10.1007/s12192-020-01139-4
 40. Mhetras N, Mapare V, Gokhale D. Cold Active Lipases: Biocatalytic Tools for Greener Technology. *Applied biochemistry and biotechnology.* 2021;197(7):2245-2266. doi: 10.1007/s12010-021-03516-w
 41. Luo Y, Zheng Y, Jiang Zh Ma Y, Wei D. A novel psychrophilic lipase from *Pseudomonas fluorescens* with unique property in chiral resolution and biodiesel production via transesterification. *Applied microbiology and biotechnology.* 2006;73(2):349-55. doi: 10.1007/s00253-006-0478-3

42. Ermakova IT., Shushkova TV, Leontevskii AA. Microbial degradation of organophosphonates by soil bacteria. *Mikrobiologiya = Microbiology*. 2008;77:615-620. In Russian, English summary doi: 10.1134/S0026261708050160
43. Sviridov AV, Shushkova TV, Zelenkova NF, Vinokurova NG, Morgunov IG, Ermakova IT, Leontievsky AA. Distribution of glyphosate and methylphosphonate catabolism systems in soil bacteria *Ochrobactrum anthropi* and *Achromobacter* sp. *Applied microbiology and biotechnology*. 2012;93:787-796. doi: 10.1007/s00253-011-3485-y.
44. O'Loughlin EJ, Sims GK, Traina SJ. Biodegradation of 2-methyl, 2-ethyl, and 2-hydroxypyridine by an *Arthrobacter* sp. isolated from subsurface sediment. *Biodegradation*. 1999;10(2):93-104. doi: 10.1023/a:1008309026751
45. Khasaeva F, Vasilyuk N, Terentyev P, Troshina M, Lebedev AT. A novel soil bacterial strain degrading pyridines. *Environmental chemistry letters*. 2011;9:439-445. doi: 10.1007/s10311-010-0299-6
46. Flegler A, Lipski A. The C50 carotenoid bacterioruberin regulates membrane fluidity in pink-pigmented *Arthrobacter* species. *Archives of microbiology*. 2022;204(1):70. doi: 10.1007/s00203-021-02719-3
47. Kelly M, Norgard, Liaaen-Jensen S. Bacterial carotenoids XXXI C50 carotenoids of *Halobacterium salinarum*, especially bacterioruberin. *Acta Chemica Scandinavica*. 1970;24:2169-2182. doi: 10.3891/acta.chem.scand.24-2169.
48. Ronnekleiv M, Lenes M, Norgard S, Liaaen-Jensen S, Three dodecaene C50-carotenoids from halophilic bacteria. *Phytochemistry*. 1995;39(3):631-634. doi: 10.1016/0031-9422(95)00975-D
49. Shestakov AI, Serezhkin IN, Lamova YA, Gavirova LA, Shestakova OO, Ershova OA, Shabalin NV, Isachenko AI. *Arthrobacter psychrochitiniphilus* arc 42 VKPM As-2076 strain - Destructor of oil and oil products. Nomer Patenta: Ru 2699990 C, 2018.
50. Vorobeykov GA, Pavlova TK, Kondrat SV, Lebedev VN, Yurgina VS, Muratova RR, Makarov PN, Dubenskaya GI, Khmelevskaya IA. Investigation of the effectiveness of strains of associative rhizobacteria in crops of various plant species. *Izvestiya Rossijskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta im. A. I. Gercena = Izvestia: Herzen University Journal of Humanities & Sciences*. 2011;141:114-123. In Russian
51. Lamrani MD, Pesce S., Rouard N, Laurent FM. Evidence for cooperative mineralization of diuron by *Arthrobacter* sp. BS2 and *Achromobacter* sp. SP1 isolated from a mixed culture enriched from diuron exposed environments. *Chemosphere*. 2014;117:208–215. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.06.080
52. Beurmann S, Ushijima B, Svoboda CM, Videau P, Smith AM, Donachie SP, Aeby GS, Callahan SM. *Pseudoalteromonas piratica* sp. nov., a budding, prosthecate bacterium from diseased *Montipora capitata*, and emended description of the genus *Pseudoalteromonas*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2017;67(8):268–2688. doi: 10.1099/ijsem.0.001995
53. Gauthier G, Gauthier M, Christen R. Phylogenetic analysis of the genera *Alteromonas*, *Shewanella*, and *Moritella* using genes coding for small-subunit rRNA sequences and division of the genus *Alteromonas* into two genera, *Alteromonas* (emended) and *Pseudoalteromonas* gen. nov., and proposal of twelve new species combinations. *International journal of systematic bacteriology*. 1995;45(4):755–761. doi: 10.1099/00207713-45-4-755
54. Kumar S, Khare SK. Chloride activated halophilic α -amylase from *Marinobacter* sp. EMB8: Production optimization and nanoimmobilization for efficient starch hydrolysis. *Enzyme Research*. 2015;2015:ID 859485. doi: org/10.1155/2015/859485
55. Struvay C, Feller G. Optimization to low temperature activity in psychrophilic enzymes. *International journal of molecular sciences*. 2012;13(9):11643-11665. doi: 10.3390/ijms130911643
56. Zernov YP, Dedkov VS, Antonova YA, Mikhnenkova NA, Degtyarev SK. Heat-labile alkaline phosphatase from psychrophilic bacteria *Alteromonas undina* p2. *Biotechnologiya – Biotechnology in Russia*. 2005;2:38-43. In Russian, English summary

57. Larkin JM, Stokes JL. Isolation of psychrophilic species of *Bacillus*. *Journal of bacteriology*. 1966;91(5):1667-1671. doi: 10.1128/jb.91.5.1667-1671.1966
58. Okubo Y, Yokoigawa K, Esaki N, Soda K, Misono H. High catalytic activity of alanine racemase from psychrophilic *Bacillus psychrosaccharolyticus* at high temperatures in the presence of pyridoxal 5'-phosphate. *FEMS Microbiology Letters*. 2000;192(2):169-173. doi: org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09377.x
59. Radtsig MA, Koksharova OA, Nadtochenko VA, Khmel' IA. Production of Gold Nanoparticles by Biogenesis Using Bacteria. *Mikrobiologiya = Mikrobiology*. 2016;85(1):42-49. In Russian, English summary doi: <https://doi.org/10.1134/S0026261716010094>
60. Das KR, Tiwari AK, Kerkar S. Psychrotolerant Antarctic bacteria biosynthesize gold nanoparticles active against sulphate reducing bacteria. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 2020;(50)5:438-444. doi: 10.1080/10826068.2019.1706559
61. Kolyvanova SS., Kalenova L.F. Influence of metabolites of microorganisms from permafrost on the synthesis cytokines by human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Meditinskaya Immunologiya = Medical Immunology*. 2021;23(1):137-142. In Russian, English summary. doi: org/10.15789/1563-0625-IOM-2014
62. Dobrovol'skaya TG, Zvyagintsev DG, Chernov IYu, Golovchenko AV, Zenova GM, Lysak LV, Manucharova NA, Marfenina OE, Polyanskaya LM, Stepanov AL, Umarov MM. The role of microorganisms in the ecological functions of soils. *Eurasian Soil Science*. 2015; 48(9):959-967. doi: 10.1134/ S1064229315090033
63. Wambui J, Stephan R. Relevant aspects of *Clostridium estertheticum* as a specific spoilage organism of vacuum-packed meat. *Microorganisms*. 2019;7(5):142. doi: 10.3390/mi-croorganisms7050142
64. Broda DM, Delacy KM, Bell RG, Braggins TJ, Cook RL. Psychrotrophic *Clostridium* spp. associated with «blown pack» spoilage of chilled vacuum-packed red meats and dog rolls in gas-impermeable plastic casings. *International Journal of Food Microbiology*. 1996;29(2-3):335-352. doi: 10.1016/0168-1605(95)00 070-4
65. Wambui J, Stevens MJA, Sieber S, Cernela N, Perreten V, Stephan R. Targeted genome mining reveals the psychrophilic *Clostridium estertheticum* complex as a potential source for novel bacteriocins, including cesin A and estercticin A. *Frontiers in Microbiology*. 2022;12:801467. doi: 10.3389/fmicb. 2021.801467
66. Spring S, Merkhoffer B, Weiss N, Kroppenstedt RM, Hippe H, Stackebrandt E. Characterization of novel psychrophilic clostridia from an Antarctic microbial mat: description of *Clostridium frigroris* sp. nov., *Clostridium lacusfryxellense* sp. nov., *Clostridium bowmanii* sp. nov. and *Clostridium psychrophilum* sp. nov. and reclassification of *Clostridium laramiense* as *Clostridium estertheticum* subsp. laramiense subsp. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2003;53(4):1019-1029. doi: 10.1099/ijs.0.02554-0
67. Riley M, Staley JT, Danchin A, Wang TZ, Brettin TS, Hauser LJ, Land ML, Thompson LS. Genomics of an extreme psychrophile *Psychromonas ingrahamii*. *BMC Genomics*. 2008;9(210):19. doi: 10.1186/1471-2164-9-210
68. Shcherbakova V, Troshina O. Biotechnological perspectives of microorganisms isolated from the Polar Regions. *Microbiology Australia*. 2018;39(3):137-140. doi: 10.1071/MA18042
69. Murakami T, Mori H, Shcherbakova VA, Yoshimura Y, Segawa T. Draft genome sequence of *Clostridium tagluense* strain A121^T, isolated from a permafrost core in the canadian high Arctic. *Microbiology Resource Announcements*. 2019;8(5):e01630-18. doi: 10.1128/MRA.01630-18.
70. Pechericyna SA, Arhipova OV, Suzina NE, Lysanskaja VJ, Laurinavichjus KS, Shcherbakova VA. Intracellular polysaccharide of an anaerobic psychrophile *Clostridium algorigophilum*. *Microbiology = Mikrobiologiya*. 2011;80(1): 40-46. doi: 10.1134/ S0026261710061050. In Russian, English summary
71. Liu H, Xu Y, Ma Y, Zhou P. Characterization of *Micrococcus antarcticus* sp. nov., a psychrophilic bacterium from Antarctica. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2000;50(2):715-719. doi: 10.1099/00207713-50-2-715

72. Fan HX, Liu Y, Liu ZP. Optimization of fermentation conditions for cold-adapted amylase production by *Micrococcus antarcticus* and its enzymatic properties. *Chinese journal of environmental science*. 2009;8:2473-2478.
73. Juni E, Heym A. *Psychrobacter immobilis* gen. nov., sp. Nov.: Genospecies composed of gram-negative, aerobic, oxidase-positive coccobacilli. *Microbiological Societies*. 1986;3(36):388–391. doi: org/10.1099/0020 7713-36-3-388
74. Yumoto I, Hirota K, Sogabe Y, Nodasaka Y, Yokota Y, Hoshino T. *Psychrobacter okhotskensis* sp. nov., a lipaseproducing facultative psychrophile isolated from the coast of the Okhotsk Sea. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2003;53(6):1985-1989. doi: 10.1099/ij.s.0.02686-0
75. Denner EB, Mark B, Busse HJ, Turkiewicz M, Lubitz W. *Psychrobacter proteolyticus* sp. nov., a psychrotrophic, halotolerant bacterium isolated from the antarctic krill *Euphausia superba* Dana, excreting a cold-adapted metalloprotease. *Systematic and applied microbiology*. 2001;24(1):44-53. doi: 10.1078/0723-2020-00006
76. Lijnen HR. Матриксные металлопротеиназы и фибринолитическая активность клеток [Matrix metalloproteinases and cellular fibrinolytic activity]. *Биохимия = Biochemistry*. 2002;67(1):107-115. In Russian, English summary
77. Abdel-Hamid NM, Abass SA. Matrix metalloproteinase contribution in management of cancer proliferation, metastasis and drug targeting. *Molecular biology reports*. 2021;48(9):6525-6538. doi: 10.1007/s11033-021-06635-z
78. Makled SO, Hamdan AM, El-Sayed AM, Hafez EE. Evaluation of marine psychrophile, *Psychrobacter namhaensis* SO89, as a probiotic in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. *Fish Shellfish Immunology*. 2017;61:194-200. doi: 10.1016/j.fsi.2017.01.001
79. Auman AJ, Breezee JL, Gosink JJ, Kampfer P, Staley JT. *Psychromonas ingrahamii* sp. nov., a novel gas vacuolate, psychrophilic bacterium isolated from Arctic polar sea ice. *Evolutionary Microbiology*. 2006;56(5):1001-1007. doi: 10.1099/ij.s.0.64068-0
80. Breezee J, Cady N, Staley JT. Subfreezing growth of the sea ice bacterium *Psychromonas ingrahamii*. *Microbial Ecology*. 2004;47(3):300-304. doi: 10.1007/s00248-003-1040-9
81. Maciejewska N, Walkusz R, Olszewski M, Szymańska A. New nuclease from extremely psychrophilic microorganism *Psychromonas ingrahamii* 37: Identification and characterization. *Molecular Biotechnology*. 2019;61(2):122-133. doi: 10.1007/s12033-018-0142-z
82. Khayrullin RF, Kiyamova RG, Rizvanov AA. Экспрессия рекомбинантных белков в *E. coli* [Expression of recombinant proteins in *E. coli*]. Kazan: Kazan University Publ.; 2018. 142 p. In Russian
83. Jung YH, Protein J. Overexpression of cold shock protein a of *Psychromonas arctica* KOPRI 22215 confers cold-resistance. *The Protein Journal*. 2010;29(2):136-142. doi: 10.1007/s10930-010-9233-9
84. Tamaki H, Hanada S, Kamagata Y, Nakamura K, Nomura N, Nakano K, Matsumura M. *Flavobacterium limicola* sp. nov., a psychrophilic, organic-polymer-degrading bacterium isolated from freshwater sediments. *Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2003;53(2):519-526. doi: 10.1099/ij.s.0.02369-0
85. Chattopadhyay MK, Reddy GS, Shivaji S. Psychrophilic bacteria: Biodiversity, molecular basis of cold adaptation and biotechnological implications. *Current Biotechnology*. 2014;1(3):100-116. doi: 10.2174/22115501113026660039
86. Kim JH, Choi BH, Jo M, Kim SC, Lee PC. *Flavobacterium faecale* sp. nov., an agarase-producing species isolated from stools of Antarctic penguins. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2014;64(8): 2884-2890. doi: 10.1099/ij.s.0.059618-0
87. Chaudhary DK, Kim DU, Kim D, Kim J. *Flavobacterium petrolei* sp. nov., a novel psychrophilic, diesel-degrading bacterium isolated from oil-contaminated Arctic soil. *Scientific Reports*. 2019;9(1):4134. doi: 10.1038/s41598-019-40667-7
88. Li S, Hao J, Sun M. Cloning and characterization of a new cold-adapted and thermo-tolerant ι-carrageenase from marine bacterium *Flavobacterium* sp. YS-80-122. *International journal of biological macromolecules*. 2017;102: 1059-1065. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.04.070

89. Kallistova AY, Merkel'a AY, Tarnovetskiy IY, Pimenova NV. Methane formation and oxidation by prokaryotes. *Microbiology = Mikrobiologiya*. 2017; 86(6):661–683. doi: 10.7868/S002636561706009X. In Russian, English
90. Bakunina MS, Ponomareva AL, Dubovchuk SS, Es'kova AI, Shakirov RB, Obzhirov AI. Characteristics of psychrophilic and thermophilic methanotrophic microorganisms. *Vestnik DVO RAN = Bulletin FEB RAS*. 2020;5:43-50. doi: 10.37102/08697698.2020.213.5.004. In Russian
91. Omel'chenko MV, Vasil'eva JB, Zavarzin GA, Savel'eva ND, Lysenko AM, Mityushina JI. A new psychrophilic methanotrophe of the genus *Methylobacter*. *Mikrobiologiya = Microbiology*. 1996;65(3):384-389. doi:10.1099/00221287-143-4-1451 In Russian, English summary
92. Turova TP, Omel'chenko MV, Fegeding KV, Vasil'eva LV. The phylogenetic position of *Methylobacter psychrophilus* sp. nov. *Microbiology = Mikrobiologiya*. 1999; 68(4):568-570.
93. Oshkin IY, Mirosnikov KK, Belova SE. Draft genome sequence of *Methylovulum psychrotolerans* Sph1T, an obligate methanotroph from low-temperature environments. *Microbiology Resource Announcements*. 2018;6(11):e01488-17. doi: 10.1128/genomeA.01488-17
94. Schouten S, Bowman JP, Rijpstra WI, Sinninghe Damsté JS. Sterols in a psychrophilic methanotroph, *Methylosphaera hansonii*. *FEMS Microbiology Letters*. 2000;186(2):193-195. doi: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09103.x

Информация об авторах:

Сидоренко Марина Леонидовна – канд. биол. наук, в.н.с. сектора почвоведения и экологии почв Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (Владивосток, Россия).

E-mail: sidorenko@biosoil.ru

Русакова Дарья Александровна – аспирант кафедры биоразнообразия и морских биоресурсов Дальневосточного федерального университета (Владивосток, Россия); ведущий инженер сектора почвоведения и экологии почв Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (Владивосток, Россия).

E-mail: dashka93.1993@mail.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Marina L. Sidorenko, Cand. Sci. (Biol.), Department of Soil Science and Soil Ecology, Federal Scientific Center for Biodiversity of Terrestrial Biota of East Asia of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (Vladivostok, Russian Federation).

E-mail: sidorenko@biosoil.ru

Darya A. Rusakova, Postgraduate student of the Department of Biodiversity and Marine Bioresources, Far Eastern Federal University (Vladivostok, Russian Federation); engineer, Department of Soil Science and Soil Ecology, Federal Scientific Center for Biodiversity of Terrestrial Biota of East Asia of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (Vladivostok, Russian Federation).

E-mail: dashka93.1993@mail.ru

The Authors declare no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 07.02.2022;
одобрена после рецензирования 06.09.2022; принята к публикации 03.10.2022.

The article was submitted 07.02.2022;
approved after reviewing 06.09.2022; accepted for publication 03.10.2022.

Original article
UDC 661.728.7
doi: 10.17223/19988591/58/3

Morphological and Physicochemical Properties of Nanostructured Cellulose Obtained through Chemical and Biological Methods

Natalia V. Vassilyeva¹, Irina S. Savitskaya², Sirina D. Zhantlessova³,
Zulkhair A. Mansurov⁴, Gaukhar T. Smagulova⁵

^{1, 4, 5} *Institute of combustion problems, Almaty, Kazakhstan*

^{2, 3, 4} *Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan*

¹ *watsonsonist@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1554-9621>*

² *irasava_2006@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3194-9046>*

³ *sirina.zhantlessova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6604-8056>*

⁴ *ZMansurov@kaznu.kz, <https://orcid.org/0000-0002-8956-216X>*

⁵ *smagulova.gauhar@inbox.ru*

Summary. The authors obtained samples of chemically pure, crystalline, micro- and nanostructured cellulose of various modifications using two approaches – biological and chemical. They studied these cellulose samples via scanning electron microscopy (SEM), thermogravimetric analysis, and infrared (IR) spectroscopy. To prepare cellulose microcrystals, they used the mild acid treatment method based on glycerol-acid mixtures for treating cotton fibers. They showed that the chemical processing of cotton fiber ensured its dispersion with generation of microcrystals surrounded by a partially preserved amorphous shell. The authors produced bacterial cellulose (BC) films using the *Komagataeibacter xylinus* C3 strain in surface cultivation conditions. With a view of obtaining higher-quality SEM images, they applied chemical fixation of lipids and proteins with critical drying to fix the process of nanofiber synthesis by bacterial cells. The two-step fixation method helped find the fibrillar structure of a cellulose film, while the morphology of bacterial cells was not deformed. The authors made a comparative analysis of the IR spectroscopy results between chemically synthesized cellulose microcrystals and BC. The obtained cellulose samples do not contain lignin and hemicellulose, both samples are highly crystalline. The BC has an ordered structure, higher crystallinity and gets carbonized when exposed to air pyrolysis. A thermogravimetric analysis of the samples shows the absence of thermally stable impurities. Both cellulose samples of biological and chemical origin are thermally stable, and the initial decomposition temperature is high enough for cellulose materials. These results show that the authors have managed to create nanocellulose materials that might be potentially applied in various industries, such as pharmaceuticals, functional composites, engineering, etc.

The paper contains 6 Figures, 2 Tables, and 36 References.

Keywords: Bacterial cellulose, cellulose microcrystals, morphology, IR spectroscopy, thermogravimetry

Funding: This work was written with the support of the grant AP09259491 “Biotechnology application in production of combined dairy products using polysaccharide matrix with probiotic biofilms” (2021-2023) and grant AP08856321 “Obtaining fiber composite materials by electrospinning and creating electrodes based on them for supercapacitors” funded by the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan.

For citation: Vassilyeva NV, Savitskaya IS, Zhantlessova SD, Mansurov ZA, Smagulova GT. Morphological and Physicochemical Properties of Nanostructured Cellulose Obtained through Chemical and Biological Methods. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;58:55-70. doi: 10.17223/19988591/58/3

Научная статья

УДК 661.728.7

doi: 10.17223/19988591/58/3

Морфологические и физико-химические свойства наноструктурированной целлюлозы, полученной химическим и биологическим способами

Наталья Владимировна Васильева¹, Ирина Станиславовна Савицкая²,
Сирина Дуйсеновна Жантлессова³, Зулхаир Аймухаметович Мансуров⁴,
Гаухар Толбаевна Смагулова⁵

^{1, 4, 5} *Институт проблем горения, Алматы, Казахстан*

^{2, 3, 4} *Казахский национальный университет им. Аль-Фараби, Алматы, Казахстан*

¹ *watsonist@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1554-9621>*

² *irasava_2006@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3194-9046>*

³ *sirina.zhantlessova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6604-8056>*

⁴ *ZMansurov@kaznu.kz, <https://orcid.org/0000-0002-8956-216X>*

⁵ *smagulova.gauhar@inbox.ru*

Аннотация. В работе были получены образцы химически чистых, кристаллических, микро- и наноструктурированных целлюлозных материалов различных модификаций с использованием двух подходов – биологического и химического. Полученные образцы целлюлозы исследовали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), термогравиметрического анализа и инфракрасной (ИК) спектроскопии. Для получения микрокристаллов целлюлозы использовали метод слабокислотной обработки на основе глициринкислотных смесей для обработки хлопковых волокон. Установлено, что химическая обработка хлопкового волокна способствовала его диспергированию с образованием микрокристаллов, вокруг которых частично сохраняется аморфная оболочка. Пленки бактериальной целлюлозы (БЦ) были получены с использованием штамма *Komagataeibacter xylinus* СЗ в условиях поверхностного культивирования. Для получения более качественных СЭМ-изображений была проведена химическая фиксация протеинов и липидов с использованием критической сушки для фиксации процесса синтеза нановолокон бактериальными клетками. В результате метода двуступенчатой фиксации была обнаружена фибриллярная структура целлюлозной пленки, а морфология бактериальных клеток не подвергалась деформации. Проведен сравнительный анализ результатов ИК-спектроскопии между химически синтезированными микрокристаллами целлюлозы и БЦ. Полученные образцы целлюлозы не содержат лигнина и гемицеллюлозы, оба образца являются высококристаллическими. БЦ имеет упорядоченную структуру, более высокую степень кристалличности и подвергается карбонизации при пиролизе на воздухе. Термогравиметрический анализ образцов показал отсутствие термически устойчивых примесей. Оба образца целлюлозы биологического и химического происхождения термически стабильны, а начальная температура разложения достаточно высока для целлюлозных материалов. Результаты

продемонстрировали, что наноцеллюлозные материалы были успешно получены и потенциально могут быть применены в различных областях, таких как фармацевтика, функциональные композиты, инженерия и т.д.

Ключевые слова: бактериальная целлюлоза, микрокристаллы целлюлозы, морфология, ИК-спектроскопия, термогравиметрия

Источник финансирования: работа выполнена при поддержке гранта АР09259491 «Биотехнологии использования полисахаридной матрицы с пробиотическими био пленками для создания комбинированных молочных продуктов» (2021–2023) и гранта АР08856321 «Получение волокнистых композиционных материалов методом электроспиннинга и создание на их основе электродов для суперконденсаторов», финансируемых Министерством образования и науки Республики Казахстан.

Для цитирования: Vassilyeva N.V., Savitskaya I.S., Zhantlessova S.D., Mansurov Z.A., Smagulova G.T. Morphological and Physicochemical Properties of Nanostructured Cellulose Obtained through Chemical and Biological Methods // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 58. С. 55–70. doi: 10.17223/19988591/58/3

Introduction

Cellulose is the most abundant polymer in nature. It is an important structural component of the plant cell walls. Cellulose could also be produced in living organisms such as bacteria and even some marine animals [1]. It consists of β -1,4-linked glucopyranose groups, which form a linear homopolymer, where the monomers are rotated 180° relative to each other [2].

Despite the common chemical composition, depending on structural features, there are several types of cellulose: cellulose nanofibrils, also known as nanofibrillated cellulose; cellulose nanocrystals, with other designations such as nanocrystalline cellulose, cellulose (nano)whiskers, rod-like cellulose microcrystals; bacterial cellulose (BC), also known as microbial cellulose [3].

By subjecting microfibrils to a certain mechanical, chemical, or enzymatic treatment, it is possible to extract highly crystalline regions of cellulose microfibrils, which in turn leads to the formation of cellulose nanocrystals [4]. Normally they are rigid particles with rod-like structure. In contrast to cellulose with high content of amorphous fractions, nanocrystals have high specific strength and modulus of rigidity, as well as significant surface area. Tensile strength of cellulose nanocrystals is 7.5–7.7 GPa, which is significantly higher than that of steel wire and Kevlar [5].

Another important property of cellulose nanocrystals is their ability to behave like liquid crystals. Under suitable conditions and critical concentrations, asymmetric rod-like and lamellar particles tend to self-assemble into ordered structures. Size, charge, electrolyte, and other factors affect the liquid crystal properties of cellulose nanocrystals. Combined with the ability to refract rays, it leads to interesting optical phenomena. The acid used for hydrolysis also affects the process. For example, the use of sulfuric acid results in negatively charged nanocrystals, which facilitates the formation of water dispersion. Cellulose crys-

tals obtained with sulfuric and phosphoric acids usually lead to chiral nematic structures, whilst crystals obtained with hydrochloric acid and sulfonation are likely to form a birefringent glassy phase [6].

Along with plant sources, the non-pathogenic bacteria *Komagateibacter*, for example, *K. xylinus*, could be highlighted here [7]. Some strains of these bacteria, amenable to isolation from various sources, are capable of producing highly crystalline cellulose networks and fibers that form biofilms of various thicknesses to maintain high oxygen levels on the surface and create a protective barrier against drying, radiation, and contamination [6].

In addition to such pros as biodegradability, non-toxicity, and biocompatibility, an important advantage of BC in comparison with plant analogs is its unique purity, which in practice allows skipping additional purification stages. The chemical composition of such biological celluloses is equivalent to cellulose of plant origin; however, an important advantage is that BC does not contain such by-products as lignin, pectin, hemicellulose, and other substituents in lignocellulosic materials [8].

BC is a nanostructured polymer with diverse levels of organization (protofibrils - ribbons - pellicle). It is obtained by fermentation in a medium containing only microbial cells, nutrients, and secondary metabolites, which could be easily removed to obtain the purest nanostructured cellulose films. Films formed in this way possess a unique three-dimensional structure that is not inherent for plant-based celluloses. As a result, physical and mechanical properties also differ.

BC aggregates form long fibrils (about 1.5 nm wide), providing high specific surface area, elasticity, resistance, and flexibility [9]. It is important that the physical properties of BCs strongly depend on their method of production and processing. Hereby, for dried samples, it was stated that, as a rule, tensile strength is about 240 MPa, Young's modulus is approximately 10 GPa and maximum deformation is about 3%, although it is believed that the modulus for a single fiber can reach 114 GPa [10].

Regarding hydrated samples (water content 98%), results showed the following properties: tensile strength 380 kPa, maximum deformation 21%, and water vapor transmission rate $2,900 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ [11]. Determined compression modulus for such samples was 0.06 MPa.

Concerning morphological properties of hydrated samples, it was found that BC had a specific surface area of about $60 \text{ m}^2/\text{g}$, a specific pore volume of $0.2 \text{ cm}^3/\text{g}$, and an average pore diameter of about 13 nm [12].

Another important parameter in the analysis of BC applicability is its water-retaining properties. To assess it, there are quantitative parameters such as water capacity and water release rate. The water capacity of cellulose is 60 to 700 times its dry weight, depending on synthesis conditions. In typical films cultured under static conditions, cellulose weight itself consists of about 1% of total weight [13].

The use of various strategies during the synthesis of nanostructured cellulose films can increase their water retention capacity [14]. There is a direct relationship between pore size and the ability to regain moisture [15]. It was found that

a decrease in pore size and surface area resulted in a decrease in water retention and an increase in the rate of water release. The ability of BC fibers to retain and release water is especially important for biomedical applications.

Due to the flexibility and strength of such cellulose films, it is possible to create flexible electronics for flexible displays, portable electronic devices, and electronic skin. Some of the main applications are reflected below in Fig. 1.



Fig. 1. Nanocellulose materials applications

From an ecological point of view, it is relevant to search for methods that will cause minimal harm to the environment, for example, obtaining cellulose using bacteria, which gives a chance to perform waste-free production of chemically pure nanostructured cellulose. However, like any product of biosynthesis, the production cost of BC is quite expensive, since the development of the producer requires a nutrient medium and operating costs [16]. It is easier to obtain cellulose from cotton fiber since nearly 90% of the cotton fibers are cellulose [17].

Table 1 shows the comparison between nanocrystalline cellulose and BC (source of isolation, production method, and structural features).

Table 1

The main characteristics of nanocrystalline cellulose and bacterial cellulose

Type of nanocellulose	Cellulosic source	Preparation methods	Features	References
Nanocrystalline cellulose (cellulose (nano)whiskers, rodlike cellulose microcrystals, cellulose nanocrystals)	Cotton, wood, wheat straw, corn-cob residue, cellulose from algae, cornhusk, sugarcane bagasse, blue agave bagasse, jute, spruce bark, lax fibers, pineapple leaf and coir, banana	Acid hydrolysis, oxidation method, enzymatic hydrolysis, ionic liquid treatment, subcritical water hydrolysis	Rod or needle-like particles, high crystallinity and specific surface area, biocompatibility, biodegradability, optical transparency, low cost, high tensile strength, elasticity, low density, and purity; crystallinity index: 54-88%; degree of polymerization: 500-15,000; width: 4-70 nm; length: 100-6,000 nm	[3, 18-27]
Bacterial cellulose (microbial cellulose)	<i>Aerobacter</i> , <i>Agrobacterium</i> , <i>Rhizobium</i> , <i>Glucanacetobacter</i> (presently <i>Komagataeibacter</i>), <i>Acetobacter</i> , <i>Sarcina</i> , and <i>Pseudomonas</i>	Microbial fermentation	Mechanical strength, biocompatibility, polyfunctionality, purity, non-toxicity, high stability of the single cellulose fibers and thermal stability; water holding capacity: from 60 to 700 times its dry weight; crystallinity index: 84-89%; degree of polymerization: 800-10,000; diameter: 20-100 nm	[1, 3, 18, 28, 29]

Thus, the development of mild modifications of acid hydrolysis, making it possible to obtain micro- and nanostructured cellulose crystals in accordance with the principles of green chemistry, becomes a promising task. Since, as previously known, BC obtained by microbial synthesis can be attributed to nanocellulose, nanocrystalline cellulose obtained by mild acid hydrolysis was compared with BC in several key parameters. This was the purpose of this research work.

Materials and methods

Obtaining BC in static cultivation condition. Synthesis of cellulose by *Komagataeibacter xylinus* C-3 strain was conducted in Hestrin-Schramm (HS) nutrient medium (pH 6), which consists of following components (g/L): glucose - 20, peptone - 5, yeast extract - 5, Na₂HPO₄ - 2.7 and citric acid - 1.15. The inoculum was a 48-hour culture of acetic acid bacteria grown in a medium containing yeast extract and beer wort (6° Balling) in a 1:1 ratio with 2 wt. % of glucose, 1 vol. % of ethanol.

To obtain BC films of regular shape and equal diameter (0.5 cm), cellulose-producing microorganisms were cultured for 7 days under stationary conditions in a 24-well plate at 28°C.

Cellulose was separated and periodically washed with 0.5-1% aqueous NaOH solution while boiling until removal of cells. Then, the cellulose film was washed from NaOH solution with distilled water, 0.5% acetic acid solution, and again with distilled water until neutral pH. The resulting cellulose was stored as a gel film in distilled water at 5°C. Membranes were subsequently dried to determine their morphological and physicochemical properties. Biomass of BC samples was determined after preliminary drying in a dry heat thermostat at 80°C up to constant sample weight.

Obtaining microcrystals using mild acid hydrolysis in glycerol. To obtain cellulose with a high degree of crystallinity, dried cotton fibers were subjected to acid hydrolysis with an excess of 9% sulfuric acid solution in glycerol. Then, the reaction mixture was heated in a water bath at 90°C for 3 hours.

After cooling, the mixture was centrifuged to remove the hydrolysis solution. The resulting precipitate was repeatedly redispersed in water and centrifuged to remove residual acid and glycerol. Finally, cellulose crystals were characterized.

Obtained samples of cellulose were investigated by scanning electron microscopy (SEM), thermogravimetric analysis (TGA), and infrared (IR) spectroscopy.

Characterization of cellulose samples by SEM. Samples of cellulose were precoated with a thin layer of a platinum-palladium alloy (Pt/Pd 80/20) and examined using a scanning electron microscope SUPRA 55VP-31-04 (Zeiss, Oberkochen, Germany). Image analysis of SEM micrographs was performed using Image J software (version 1.8.0, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA).

Determination of the IR spectrum. The Fourier transform IR spectra of the polymers were measured using an FT/IR6200 spectrometer (Jasco, Easton, MD, USA). The spectra were obtained with a resolution of no higher than 4 cm⁻¹ (4-point apodization function) after more than 50 scans in the range of 4000-400 cm⁻¹.

TGA. Cellulose materials of various origins were analyzed by the thermogravimetric method by measuring the rate of weight change. In addition, the samples were analyzed by TGA to determine the amount of water. Setaram Set-sys 92-12 (Setaram, Lyon, France) was used in the range of 50-9,000°C at a heating rate of 100°C min⁻¹.

Statistical analysis. Statistical comparison was performed using an unpaired test, followed by a one-way analysis of variance (ANOVA) using Dunnett's multiple comparison test. All statistical data of the analysis were carried out using SPSS software package (version 16.0, SPSS Inc., Chicago, USA).

Results and discussion

BC synthesized by acetic acid bacteria can be obtained by superficial cultivation of producer strains. At the first stage, it was necessary to obtain stable and durable BC films. For this, producer strain *Komagataeibacter xylinus* C-3 was grown on HS medium for 7 days. Obtained films of cellulose synthesis are shown in Fig. 2.



Fig. 2. BC gel-film obtained after 7-day static cultivation of producer strain:
A - BC gel-film; B - wet discs of BC; C - dried cellulose films

Samples of BC films obtained using *K. xylinus* strain were examined by SEM. This method is one of the most important methods in the study of bacterial samples. Of special interest is the possibility to record the process of nano-fiber synthesis by bacterial cells.

To obtain better images, a two-stage fixation of proteins and lipids was performed to preserve the structural appearance of fibers and cells. Lipid fixation was carried out using Karnovsky's fixative and osmium tetroxide [30]. During the interaction, osmium dioxide is placed at polar groups in lipid micelles, allowing them to be fixed and further investigated by various microscopic and chromatographic techniques.

Besides lipids, it is also important to fix proteins in cells. For that, the most versatile critical drying method was used. During this process, water molecules in biological tissues are replaced by an inert liquid, whose critical temperature for achieving appropriate pressure is just slightly higher than ambient temperature. In this work, carbon dioxide was used, the critical point of which is 35°C. Thus, water in the cell structure was replaced by liquid CO₂, followed by heating above a critical temperature. As a result, the liquid-gas phase transition of CO₂ occurs without changing density. This helps to avoid surface tension effects, responsible for morphology distortion. The method also uses ethanol to achieve complete mixing with carbon dioxide.

From the images of SEM in Fig. 3, it could be seen that as a result of this two-step fixation, not only the fibrillar structure of the cellulose film was detected, but also, the morphology of bacterial cells was perfectly preserved without any deformation. The images show that bacterial strain is viable and participates in synthesis under created conditions. Each bacterium produces many nano-fibers, surrounding itself with a three-dimensional network.

BC synthesis by *K. xylinus* occurs between outer and cytoplasmic membranes assisted by a cellulose-synthesizing complex that binds to pores of the bacterial surface. During the synthesis, glucose chains created inside the cell are released through tiny pores in the cell membrane. About 30 cellulose molecules are formed into larger units known as elementary fibrils (protofibrils), which are then gathered into microfibrils, later assembling to form cellulose ribbons [31].

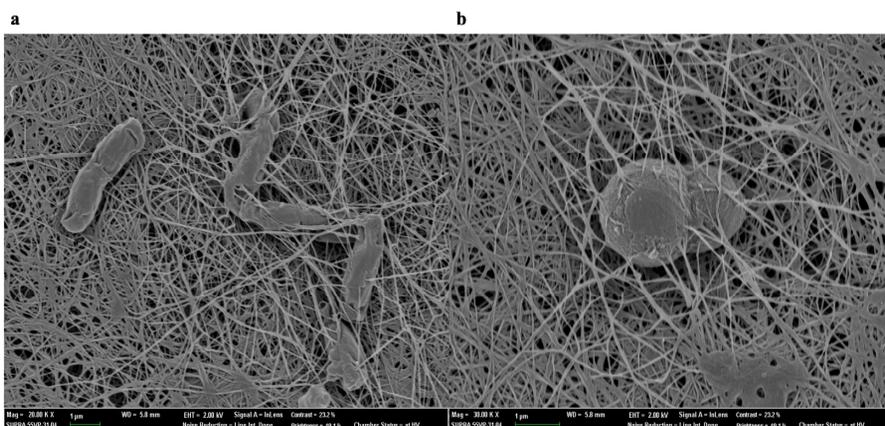


Fig. 3. SEM images of the process of synthesis of cellulose nanofibers by *K. xylinus* strain at 20,000-fold magnification (a), at 30,000-fold magnification (b)

Microfibrils connect by hydrogen bonds, making possible the formation of fibers, flat layers, and film structures. As a result, flat fibers containing cellulose are formed on the surface of the bacterial cell. These fibers, with diameters from 10-20 to 30-40 Å, are built side by side on the horizontal axis.

Cells producing cellulose-like fibers move forward parallelly to microfibrils [32]. Hence, the bacteria will move forward as they secrete cellulose in a jet propulsion manner. As a result, cellulose synthesis forces cells to rotate along their longitudinal axes as they push and twist the cellulose fibers. Since *K. xylinus* is an aerobic bacterium, it tends to move towards the surface of the liquid medium, where the oxygen level is higher [33]. A ligament formed by "zigzag movement" and cell division forms a branch of delamination. As a result, microfibrils crystallize into a bunch of fibers, which form ultrafine reticular structure and thick cellulose mat-film [34]. Cellulose molecules bind to each other through hydrogen bonds near the cell surface.

Thus, during the formation of a gel film, *K. xylinus* cells move in the opposite direction of polymer chain secretion. It is believed that cells of bacteria synthesizing cellulose are immobilizing in a polymer network to maintain the entire population in the space between air and liquid. Therefore, the biosynthesis of cellulose is physiologically expedient and is an important evolutionary mechanism for the survival of cellulose producers.

As a result of mild acidic treatment of cellulosic material, their amorphous shells are destroyed resulting formation of crystalline particles. The treatment was carried out in a glycerol-sulfuric acid system for 3 hours. The resulting product - a mixture of suspended cellulose particles in a liquid phase - could be used independently, for example, to obtain thin films, or can be dried to acquire micronized powder cellulose powder.

The resulting white powder was characterized by SEM to assess the effectiveness of acidizing treatment of cotton fiber. SEM images are shown in Fig. 4.

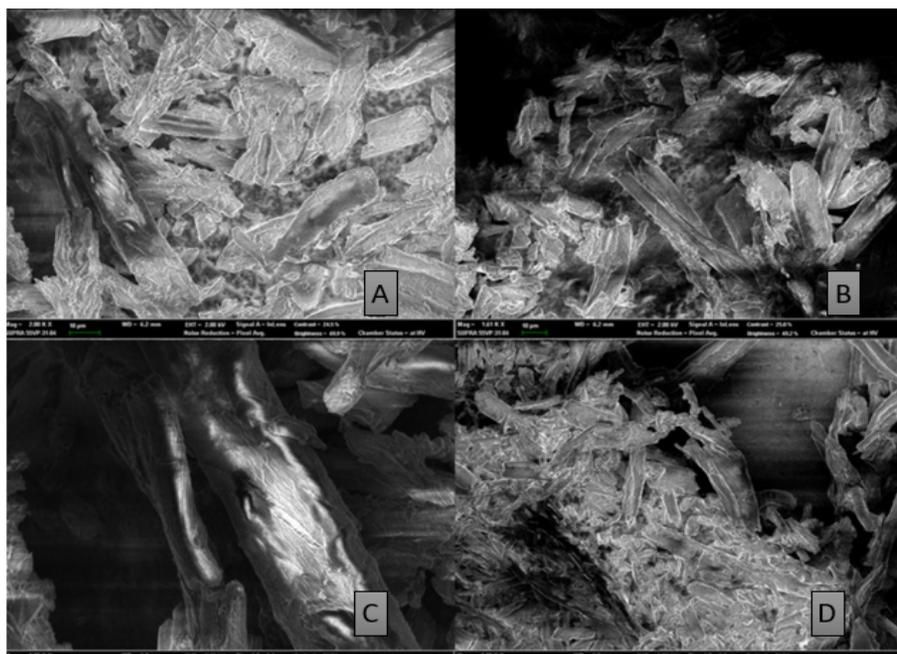


Fig. 4. SEM images of samples obtained by mild acid hydrolysis at 2,000-fold magnification (a), crystal structure at 1,610-fold magnification (b), crystalline and amorphous structures of an individual particle at 5,000-fold magnification (c), at 1,000-fold magnification (d)

As could be seen from the images, in this case, the chemical processing of cotton fibers led to obtaining particles with heterogeneous size distribution and morphology (Fig. 4a). In images 4b and 4c, we observe that the particles demonstrate predominantly crystalline structure, however, in many particles, their highly crystalline core seems to be surrounded by an amorphous shell preserved even after treatment with sulfuric acid. This indicates that highly crystalline cotton fiber requires more severe processing conditions to remove the amorphous phase. Thus, to obtain nanocrystalline particles, it is necessary to change the parameters of acid hydrolysis (an increase in acid concentration, temperature, or processing time), or improve the availability of crystalline regions by introducing structural defects using mechanical activation. Therefore, mild acid treatment based on glycerol-acid mixtures for treating cotton fibers is more suitable for obtaining microcrystalline cellulose.

For our research, it was interesting to carry out a comparative analysis of IR spectroscopy results between chemically synthesized cellulose (microcrystals obtained by the method of soft glycerol hydrolysis) and BC.

Comparing the spectra of obtained compounds (Fig. 5), several conclusions could be drawn. First of all, the purity and ordering of biological and chemical samples could be estimated using IR spectra. In both cases, the spectrum does not have vibrations at 1740 cm^{-1} and 1600 cm^{-1} , corresponding to hemicellulose and lignin impurities, respectively. The presence of such impurities, as a rule, is especially frequent for celluloses isolated from natural plant raw materials. It

happens since, in plant materials, cellulose is traditionally accompanied by lignin and hemicellulose, which are relatively difficult impurities to remove. Cotton is a chemically pure cellulosic raw material. As could be seen from the spectrum, microcrystal samples obtained from cotton do not require additional purification from this type of contamination.

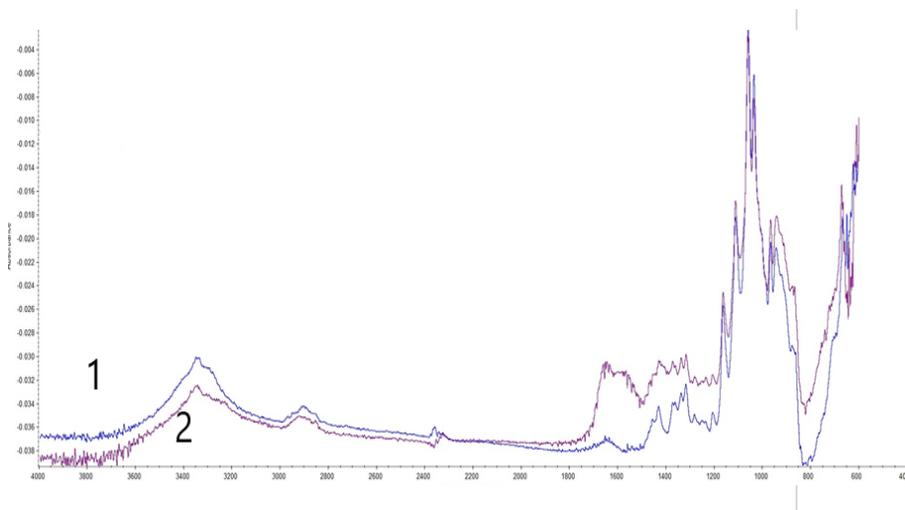


Fig. 5. Comparison of spectra of chemical crystalline (1) and bacterial (2) celluloses

In general, evaluating the spectra, it is obvious that in the case of the biological sample, peaks are generally more pronounced. Exceptions could be found in regions of $3200\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ and $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$, which characterize vibrations of methine and methylene groups, as well as stretching vibrations of hydroxyl groups. These peaks are always well-pronounced in cotton-originated celluloses, hereby they are more pronounced for chemical cellulose isolated from cotton fiber. For the rest, chemically synthesized cellulose generally has a more diffuse spectrum, which may correspond to its less ordered structure and the presence of a neglectable amount of impurities.

Structure ordering could be 2 types: inter- and intramolecular. The first one is determined by the interaction between molecules and the conformation of polymer chains. The second one is responsible for the interposition of units in the chain and the conformation of hydroxyl and pyranose groups [35]. To characterize intermolecular three-dimensional ordering, as a rule, X-ray diffraction methods are applied. IR spectroscopy, in turn, makes it possible to draw conclusions about intramolecular interactions. According to [35], absorbance in ranges of $1200\text{--}1400$ and $800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ indicates rotation of CH_2OH groups in crystal regions and, thus, makes it possible to estimate intramolecular ordering. These peaks are well pronounced in spectra of both samples, meaning high crystallinity and structure ordering. However, absorbance at these frequencies is more intense for biological cellulose, indicating the most ordered structure here. The structure of chemical microcrystals is also quite crystalline but contains more

amorphous regions. This result is in accordance with SEM data, which has confirmed that a partially preserved amorphous shell is still present in the chemically extracted sample.

Additional information about the structure could be obtained by evaluating vibrations between 1700 and 1650 cm^{-1} . They indicate deformation vibrations in H-O-H bond and, therefore, correspond to the presence of bound water in the sample structure. This peak is more visible for BC, which contains a greater amount of water even after drying. This feature is provided by its fibrous, nanostructured morphology.

Integral graphs of TGA from Fig. 6, allowed us to carry out a comparative analysis of different cellulosic materials.

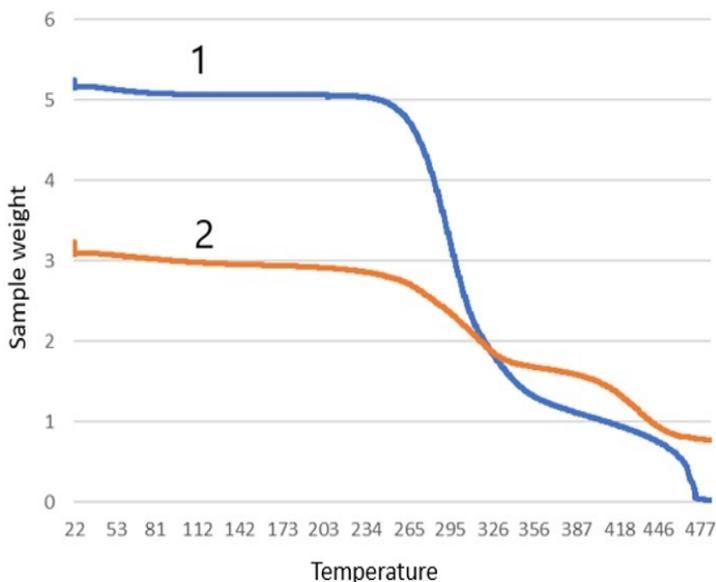


Fig. 6. Thermogravimetry spectra for samples of chemical (1) and bacterial cellulose (2)

Thereby, it was found that weight loss associated with dehydration was longer for an extremely hydrophilic fibrillar BC sample than for crystalline cellulose.

The location of the main TGA parameters, given in Table 2, in general, is quite close for both samples. Both samples are thermally stable, and the IDT (initial decomposition temperature) is high enough for cellulosic materials.

In $235\text{-}330^\circ\text{C}$ zone, we can observe that stage of oxidative pyrolysis begins for both materials. Temperatures of maximum decomposition rate were determined using differential TGA plots. Two pyrolysis regions were observed for BC, which, remembering IR spectroscopy data, could be caused by the presence of three-dimensional ordering - the necessity to destroy intermolecular bonds responsible for the formation of ordered fibrillar structure.

Table 2

Comparative analysis of TGA spectra for biological and chemical celluloses

Parameter	Description	Values for chemical cellulose	Values for biological cellulose
IDT (onset)	Initial decomposition temperature, at which the material begins to disintegrate. This parameter is an indicator of the thermal stability of the material	260°C	235°C
MRDT	Maximum rate of decomposition temperature	298°C	312°C, 431°C
D _{1/2}	Temperature at which 50% of material is decomposed	307°C	400.5°C
FR	Final residue - the amount of material at the end of heating, indirectly characterizes the composition of test sample	0 g, 0%	0.75 g, 23.5 %

Half-decomposition temperatures and final residue weight describe the final stage of the pyrolysis process. The absence of any residue during pyrolysis may indicate a lack of thermostable impurities, however, 23.5% of BC residual mass, altogether with other data and characteristics of synthesis, permits us to suggest that this material, as in [36], undergoes carbonization with the formation of stable graphitized films.

Higher values inherent in chemical cellulose are suitable for use in functional composites, engineering, and lithography, while BC could be involved in medical applications, such as developing wound healing dressings or capsules for targeted drug delivery.

Conclusion

As a result of the studies, we obtained samples of chemically pure, crystalline, micro-, and nanostructured cellulose of various modifications using two approaches - biological (bacterial synthesis to obtain nanostructured films) and chemical (glycerol hydrolysis of cotton fiber to obtain crystalline powder). It was demonstrated that mild acidic hydrolysis in glycerol promoted the dispersion of cotton fiber with the formation of microcrystals surrounded by a partially preserved amorphous shell.

Comparative analysis of the samples shows that both are stable, and do not contain lignin and hemicellulose, as well as any heat-resistant impurities, moreover, both samples have a crystalline structure. The BC sample has a higher degree of crystallinity and chemical purity, and during pyrolysis in air, it is getting carbonized.

The study showed that chemical fixation of lipids and proteins with the use of critical drying was required to obtain qualitative information on the structure of bacterial cells and cellulose nanofibers of biological origin.

References

1. Klemm D, Heublein B, Fink HP, Bohn A. Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie International Edition*. 2005;44:3358-3393. doi: 10.1002/anie.200460587

2. Habibi Y, Lucia LA, Rojas OJ. Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications. *Chem Rev.* 2010;110(6):3479-3500. doi:10.1021/cr900339w
3. Lin N, Dufresne A. Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect. *European Polymer Journal.* 2014;59:302-325. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2014.07.025
4. Sjoström E. Wood Chemistry: Fundamentals and Applications. California: Academic Press Inc; 1993. 293 p. doi: 10.1016/C2009-0-03289-9
5. Moon RJ, Martini A, Nairn J, Simonsen J, Youngblood J. Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews.* 2011;40:3941. doi: 10.1039/c0cs00108b
6. Orts WJ, Godbout L, Marchessault RH, Revol JF. Enhanced ordering of liquid crystalline suspensions of cellulose microfibrils: a small angle neutron scattering study. *Macromolecules.* 1998;31:5717-5725. doi: 10.1021/ma9711452
7. Iguchi M, Yamanaka S, Budhiono A. Bacterial cellulose - a masterpiece of nature's arts. *Journal of Materials Science.* 2005;35:261-270. doi: 10.1023/A:1004775229149
8. Avcioglu NH. Bacterial cellulose: recent progress in production and industrial applications. *World J Microbiol Biotechnol.* 2022;38(5):86. doi: 10.1007/s11274-022-03271-y
9. Portela R, Leal CR, Almeida PL, Sobral RG. Bacterial cellulose: a versatile biopolymer for wound dressing applications. *Microbial Biotechnology.* 2019;12:586-610. doi: 10.1111/1751-7915.13392
10. Fernandes SN, Geng Y, Vignolini S, Glover BJ, Trindade AC, Canejo JP, et al. Structural color and iridescence in transparent sheared cellulosic films. *Macromol Chem Phys.* 2013;214:25-32. doi: 10.1002/Macp.201200351
11. Fernandes SN, Almeida PL, Monge N, Aguirre LE, Reis D, de Oliveira CL, Neto AM, Pieranski P, Godinho MH. Cellulose nanocrystals: Mind the Microgap in iridescent cellulose nanocrystal films. *Advanced Materials.* 2017;29:2. doi: 10.1002/adma.201770008
12. Qiao K, Zheng Y, Guo S, Tan J, Chen X, Li J, Xu D, Wang J. Hydrophilic nanofiber of bacterial cellulose guided the changes in the micro-structure and mechanical properties of NF-BC/PVA Composites Hydrogels. *Composites Science and Technology.* 2015;118:47-54. doi: 10.1016/j.compscitech.2015.08.004
13. Okiyama A, Shirae H, Kano H, Yamanaka S. Bacterial cellulose I. Two-stage fermentation process for cellulose production by *Acetobacter Aceti.* *Food Hydrocolloids.* 1992;6:471-477. doi: 10.1016/s0268-005x(09)80032-5
14. Gelin K, Bodin A, Gatenholm P, Mihranyan A, Edwards K, Strømme M. Characterization of water in bacterial cellulose using dielectric spectroscopy and electron microscopy. *Polymer.* 2007;48:7623-7631. doi: 10.1016/j.polymer.2007.10.039
15. Wang J, Wan YZ, Luo HL, Gao C, Huang Y. Immobilization of gelatin on bacterial cellulose nanofibers surface via crosslinking technique. *Materials Science and Engineering C, Biomimetic Materials, Sensors and Systems.* 2012;32:536-541. doi: 10.1016/j.jmse.2011.12.006
16. Costa AFS, Almeida FCG, Vinhas GM, Sarubbo LA. Production of Bacterial Cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* Using Corn Steep Liquor As Nutrient Sources. *Front Microbiol.* 2017;8:2027. doi: 10.3389/fmicb.2017.02027
17. Hsieh YL. Chemical structure and properties of cotton. Cotton. USA: Woodhead Publishing; 2007. 1 p. doi:10.1533/9781845692483.1.3
18. Klemm D, Kramer F, Moritz S, Lindström T, Ankerfors M, Gray D, Dorris A. Nanocelluloses: A new family of nature-based materials. *Angewandte Chemie International Edition.* 2011;50:5438-5466. doi: 10.1002/anie.201001273
19. Trache D, Hussin MH, Haafiz MK, Thakur VK. Recent progress in cellulose nanocrystals: Sources and production. *Nanoscale.* 2017;9:1763-1786. doi: 10.1039/c6nr09494e
20. Liu C, Li B, Du H, Lv D, Zhang Y, Yu G. Properties of nanocellulose isolated from Corn cob residue using sulfuric acid, formic acid, oxidative and mechanical methods. *Carbohydrate Polymers.* 2016;151:716-724. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.06.025
21. Yang X, Han F, Xu C, Jiang, S, Huang L, Liu L. Effects of preparation methods on the morphology and properties of nanocellulose (NC) extracted from Corn Husk. *Industrial Crops and Products.* 2017;109:241-247. doi: 10.1016/j.indcrop.2017.08.032

22. Kasyapi N, Chaudhary V, Bhowmick AK. Bionanowhiskers from jute: Preparation and characterization. *Carbohydrate Polymers*. 2013;92:1116-1123. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.10.021
23. Le Normand M, Moriana R, Ek M. Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from spruce bark in a biorefinery perspective. *Carbohydrate Polymers*. 2014;111:979-987. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.04.092
24. Deepa B, Abraham E, Pothan L. Biodegradable nanocomposite films based on sodium alginate and cellulose Nanofibrils. *Materials*. 2016;9:50. doi: 10.3390/ma9010050
25. Mtibe A, Mandlevu Y, Liganiso LZ, Anandjiwala RD. Extraction of cellulose nanowhiskers from flax fibres and their reinforcing effect on poly(furfuryl) alcohol. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*. 2015;9:309-317. doi: 10.1166/jbmb.2015.1531
26. Mueller S, Weder C, Foster EJ. Isolation of cellulose nanocrystals from pseudostems of banana plants. *RSC Adv*. 2014;4:907-915. doi: 10.1039/c3ra46390g
27. Naz S, Ali JS, Zia M. Nanocellulose Isolation Characterization and Applications: A journey from non-remedial to biomedical claims. *Bio-Design and Manufacturing*. 2019;2:187-212. doi: 10.1007/s42242-019-00049-4
28. Gorgieva S, Trček J. Bacterial Cellulose: Production, Modification and Perspectives in Biomedical Applications. *Nanomaterials (Basel)*. 2019;9(10):1352. doi: 10.3390/nano9101352
29. Zhao H, Xia J, Wang J, Yan X, Wang C, Lei T, Xian M, Zhang H. Production of bacterial cellulose using polysaccharide fermentation wastewater as inexpensive nutrient sources. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2018;32:350-356. doi: 10.1080/13102818.2017.1418673
30. Riemersma JC. Osmium tetroxide fixation of lipids: Nature of the reaction products. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1963;11:436-442. doi: 10.1177/11.3.436
31. Lynd LR, Weimer PJ, van Zyl WH, Pretorius IS. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2002;66(3):506-577. doi: 10.1128/MMBR.66.3.506-577.2002
32. Tang W, Jia S, Jia Y, Yang H. The influence of fermentation conditions and post-treatment methods on porosity of bacterial cellulose membrane. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2009;26:125-131. doi: 10.1007/s11274-009-0151-y
33. Ryngajło M, Kubiak K, Jędrzejczak-Krzepkowska M, Jacek P, Bielecki S. Comparative genomics of the *Komagataeibacter* strains - Efficient bionanocellulose producers. *MicrobiologyOpen*. 2019;8:e731. doi: 10.1002/mbo3.731
34. Keshk SM. Bacterial Cellulose Production and its Industrial Applications. *J Bioprocess Biotech*. 2014;4:150. doi: 10.4172/2155-9821.1000150
35. Mukhamadeeva RM, Zhbankov RG, Sofin VF, Marchenko GN. Nizkochastotnaya IR-spektroskopiya pri issledovanii cellyulozy i nitratov cellyulozy [Low-frequency IR spectroscopy in the study of cellulose and cellulose nitrates]. *Uspekhi khimii = Advanced chemistry*. 1993;62:351-364. doi: 10.1070/RC1993v062n04ABEH000020. In Russian, English summary
36. Yoshino K, Matsuoka R, Nogami K, Yamanaka S, Watanabe K, Takahashi M, Honma M. Graphite film prepared by pyrolysis of bacterial cellulose. *Journal of Applied Physics*. 1990;68:1720-1725. doi: 10.1063/1.346600

Information about the authors:

Vassilyeva Natalia V, PhD Student, Researcher, Institute of combustion problems (Almaty, Kazakhstan).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-1554-9621>

E-mail: [watersonist@mail.ru](mailto:watsonist@mail.ru)

Savitskaya Irina S, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Department of Biotechnology, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-3194-9046>

E-mail: irasava_2006@mail.ru

Zhantlessova Sirina D, PhD Student, Department of Biophysics, biomedicine and neuroscience, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-6604-8056>

E-mail: sirina.zhantlessova@mail.ru

Mansurov Zulkhair A, Dr. Sci. (Chem.), Professor, Department of Chemical Physics and Materials Science, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan); Scientific supervisor, Institute of combustion problems (Almaty, Kazakhstan).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-8956-216X>

E-mail: ZMansurov@kaznu.kz

Smagulova Gaukhar T, PhD, Head of the Laboratory of Functional Nanomaterials, Institute of combustion problems (Almaty, Kazakhstan).

E-mail: smagulova.gauhar@inbox.ru

The Authors declare no conflict of interest.

Информация об авторах:

Васильева Наталья Владимировна, PhD студент, научный сотрудник Института проблем горения (Алматы, Казахстан).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-1554-9621>

E-mail: watersonist@mail.ru

Савицкая Ирина Станиславовна, доктор биологических наук, профессор кафедры биотехнологии, Казахский Национальный университет им. Аль-Фараби (Алматы, Казахстан).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-3194-9046>

E-mail: irasava_2006@mail.ru

Жантлессова Сирина Дуйсеновна, PhD студент кафедры биофизики, биомедицины и нейронауки, Казахский Национальный университет им. Аль-Фараби (Алматы, Казахстан).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-6604-8056>

E-mail: sirina.zhantlessova@mail.ru

Мансуров Зулхаир Аймухаметович, доктор химических наук, профессор кафедры химической физики и материаловедения, Казахский Национальный университет им. Аль-Фараби (Алматы, Казахстан); Научный руководитель Института проблем горения (Алматы, Казахстан).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-8956-216X>

E-mail: ZMansurov@kaznu.kz

Смагулова Гаухар Толбаевна, PhD, заведующая лабораторией функциональных наноматериалов, Институт проблем горения (Алматы, Казахстан).

E-mail: smagulova.gauhar@inbox.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*The article was submitted 22.05.2022;
approved after reviewing 07.08.2022; accepted for publication 03.10.2022.*

*Статья поступила в редакцию 22.05.2022;
одобрена после рецензирования 07.08.2022; принята к публикации 03.10.2022.*

БОТАНИКА

Научная статья
УДК 582.291
doi: 10.17223/19988591/58/4

Анатомо-морфологические и физиологические особенности талломов цианолишайника *Peltigera praetextata* (Flörke ex Sommerf.) Zopf разных онтогенетических состояний

Вера Ивановна Андросова¹, Павел Алексеевич Виролайнен²

¹ Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия,
vera.androsova28@gmail.com

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия,
s.pasha98@yandex.ru

Аннотация. На основе концепции дискретного описания онтогенеза растений, адаптированной для лишайников, выделено 4 периода и 12 онтогенетических состояний цианолишайника *Peltigera praetextata* в среднетаёжных сообществах: латентный (*sp*), прегенеративный (*pr*, *prt*, *j*, *im1*, *im2*, *im3*, *v1*, *v2*), генеративный (*g*), постгенеративный (*ss*, *s*). Для талломов каждой стадии определены морфологические, анатомические и некоторые физиологические особенности. Наибольшая изменчивость указанных параметров характерна для ранних стадий онтогенеза. Среди изученных структур таллома наибольшая изменчивость в ряду онтогенетических состояний регистрировалась для длины ризин, ширины жилок и толщины сердцевинного слоя, а наибольшим постоянством характеризовалась доля альгального слоя в талломе. Изученные физиологические характеристики талломов *P. praetextata* отличались у разных онтогенетических состояний и имели максимальные значения у генеративных талломов, для которых зарегистрировано нормальное соотношение фотосинтетических пигментов, максимальное водонасыщение и максимальная водоудерживающая способность. Полученные данные подтвердили обоснованность выделенных онтогенетических стадий.

Ключевые слова: онтогенез, лишайник, фотосинтетические пигменты, водоудерживающая способность, специфическая масса таллома

Благодарности: авторы выражают благодарность старшему научному сотруднику лаборатории биотехнологии растений КарНЦ РАН (г. Петрозаводск) Игнатенко Р.В. за предоставленную возможность сбора образцов на заложенных им постоянных пробных площадях в ГПЗ «Кивач».

Для цитирования: Андросова В.И., Виролайнен П.А. Анатомо-морфологические и физиологические особенности талломов цианолишайника *Peltigera praetextata* (Flörke ex Sommerf.) Zopf разных онтогенетических состояний // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 58. С. 71–95. doi: 10.17223/19988591/58/4

Anatomical, Morphological, and Physiological Features of Cyanolichen *Peltigera praetextata* (Flörke ex Sommerf.) Zopf Thalli in Different Ontogenetic States

Vera I. Androsova¹, Pavel A. Virolainen²

¹ *Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russian Federation, vera.androsova28@gmail.com*

² *St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation, s.pasha98@yandex.ru*

Summary. The goal of this study is to describe the cyanolichen *Peltigera praetextata* ontogenesis stages and reveal some of their morphological, anatomical, and physiological features.

This paper analyzes 300 *P. praetextata* thalli taken in 2019 from aspen trunks in the aspen-spruce communities of the middle taiga territory in Kivach Nature Reserve (62°15'15.9"N, 33°58'746.1"E) from permanent sample plots. The authors determined the ontogenetic state of each thallus based on morphology and anatomy data using the concept of a discrete approach to the description of ontogenesis (Suetina, 2001). They registered the following thalli parameters: length, width, presence and length of rhizines, presence and width of veins, presence of phyllidia and apothecia, number of notches and lobes, shape, edge curl, and surface tomentum. They studied the anatomical parameters (thallus total thickness, tomentum thickness, cortical layer, algal layer and medulla thickness, algae cell size) using sections of thalli samples in all ontogenetic states from the apical, medial, and basal parts in triplicate. They measured the content of photosynthetic pigments spectrophotometrically with preparation of alcoholic extracts. To assess the parameters of the water regime of thalli having different ontogenetic states, the authors calculated a specific thallus mass (STM) and water holding capacity (WHC). They made a statistical data measurement using one-way ANOVA and regression analysis. They also calculated the coefficient of variation (CV) to assess the variability of the features under study.

The study identified four periods and 12 ontogenetic states of *P. praetextata*: latent (*sp*), pre-generative (*pr*, *prt*, *j*, *im1*, *im2*, *im3*, *v1*, *v2*), generative (*g*), and post-generative (*ss*, *s*). The values of the morphological and anatomical parameters of the thalli increase during their development. The early ontogenesis stages demonstrate the highest variability of the parameters. The highest variability of the thallus structures under study within the ontogenetic states is registered for the rhizine length, vein width, and medulla thickness, while the highest constancy is typical of the share of the algal layer in the thallus that varies within a very limited range (22–32%) and reaches the minimum values in the post-generative period. The mycobiont increases in volume through a medulla growth. The physiological characteristics of the *P. praetextata* thalli differ in various ontogenetic states, while the generative thalli characterized by a normal ratio of photosynthetic pigments, maximum water saturation, and maximum water holding capacity have the maximum values. Thus, at early development stages, the thalli demonstrate a lower ability to retain moisture and may represent a critical stage in a lichen life cycle. On the one hand, the revealed wide variability of the morphological and anatomical parameters of young thalli testifies to their high adaptability, but the physiological parameters of water saturation indicate the vulnerability of these stages. These parameters confirm the validity of the ontogenetic stages identified.

The paper contains 5 Figures, 5 Tables and 55 References.

Keywords: ontogenesis, lichen, photosynthetic pigments, water holding capacity, specific thallus mass

Acknowledgments: the authors are grateful to Ignatenko R.V. (Laboratory of Plant Biotechnology, Karelian Research Center of Russian Academy of Sciences) for the opportunity to collect samples on the permanent sample plots established by him in the Kivach Nature Reserve.

For citation: Androsova VI, Virolainen PA. Anatomical, Morphological, and Physiological Features of Cyanolichen *Peltigera praetextata* (Flörke ex Sommerf.) Zopf Thalli in Different Ontogenetic States. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;58:71-95. doi: 10.17223/19988591/58/4

Введение

Цианолишайники в настоящее время являются популярным объектом большинства направлений исследований в лишенологии. Они представляют собой группу лишайников (13–14%) [1], которые содержат цианобактерии в качестве основного фотобионта в талломе или дополнительного – в специальных структурах (цефалодиях) на его поверхности и вносят значительный вклад в азотный баланс различных экосистем, фиксируя азот от 1,5 до более чем 17 кг·га⁻¹·год⁻¹ [2–5]. Структурные и физиологические особенности определяют чувствительность этой группы лишайников к изменениям условий местообитания, вызванным как природными, так и антропогенными факторами [6–11]. Так, например, нитрогеназная активность цианолишайников чутко реагирует на изменения среды, в том числе климатические [12–13]. Существенный вклад в понимание причин уязвимости лишайников могут внести исследования хода их онтогенеза, а также структурных и физиологических показателей талломов, находящихся на разных онтогенетических стадиях. Кроме того, эти знания необходимы и для активно развивающихся в современной лишенологии популяционных исследований – онтогенетические характеристики являются необходимой основой для анализа структуры популяций и прогнозирования их состояния.

Peltigera praetextata (Flörke ex Sommerf.) Zopf – пельтигера окаймленная, относится к цианобионтным лишайникам семейства *Peltigeraceae* [14]. Вид широко распространен в бореальных сообществах и поселяется поверх мхов, на камнях, основаниях деревьев, почве и валеже [15]. Это крупный листоватый лишайник, фотобионтом которого являются цианобактерии рода *Nostoc*, расположенные в альгальном слое таллома. Таким образом, цианобактериальный компонент в талломе этого вида несёт двойную нагрузку, обеспечивая себя и микобионта продуктами фотосинтеза, а также осуществляя процесс азотфиксации. Вид *P. praetextata* является объектом разных исследований, согласно недавним из которых этот лишайник рекомендован как индикатор генотоксичности загрязнителей воздуха [16]. Кроме того, изучались также его фотосинтетическая активность [17–18], нитрогеназная активность [19], параметры водного режима талломов [20], устойчивость к загрязнению [21]. Следует отметить, что стадия онтогенеза талломов не учитывалась в исследованиях и сравнения между разными возрастными состояниями не проводились. Однако в ряде работ исследо-

ватели отмечают необходимость учитывать возрастную стадию таллома для лучшего понимания принципов взаимодействия компонентов лишайниковой ассоциации, формирования популяционной структуры и правильной оценки состояния популяции [22–24]. Выделение онтогенетических стадий и изучение физиологических параметров с привязкой к ним особенно важно для модульных организмов, поскольку это позволяет полностью охарактеризовать развитие лишайниковой ассоциации, ведь её онтогенетическое развитие включает в себя постоянное поддержание сложного динамического равновесия в системе модулей. Определение параметров без привязки к стадиям может привести к получению различных результатов для одного и того же вида [25–26]. Распространение вида *P. praetextata*, морфология таллома и чувствительность к условиям обитания делают его удобным объектом мониторинговых исследований влияния изменений параметров окружающей среды на организм на всех уровнях его организации. Исследования хода онтогенеза, изменения в течение времени структурно-физиологических особенностей талломов могут внести существенный вклад и в понимание уязвимости этого компонента экосистем на причинно-следственном уровне.

Цель настоящего исследования – описание этапов онтогенеза цианолишайника *Peltigera praetextata* и выявление их некоторых структурных и физиологических особенностей.

Материалы и методики исследования

Талломы *P. praetextata* для исследования собраны со стволов осин в схожих экологических условиях смешанных осиново-еловых сообществ средней тайги на территории государственного природного заповедника «Кивач» (62°15'15,9"N, 33°58'746,1"E) в 2019 г., на постоянных пробных площадях [27] размером 1 га, на которых выполнены полные геоботанические описания сообществ по традиционной методике [28].

В лабораторных условиях образцы изучались с помощью бинокля «Микромед-МС2» (Россия), при этом регистрировались следующие признаки талломов: длина, ширина, наличие и длина ризин, наличие и ширина жилок, наличие филлидий и апотециев, число выемок и лопастей, форма, курчавость края, развитие войлока на поверхности. Для талломов фиксировались максимальные размеры изучаемого параметра. Анатомические параметры отдельных стадий (общая толщина таллома, толщина войлока, толщина корового слоя, толщина альгального слоя, толщина сердцевины, размеры клеток водорослей) изучались с помощью приготовления срезов и микроскопа «Axio Scope A1» (Германия). Срезы выполнялись с образцов талломов всех онтогенетических состояний с апикальной, медиальной и базальной частей в трёхкратной повторности.

На основании данных морфологии и анатомии устанавливалась принадлежность талломов к определённым онтогенетическим состояниям в соответствии с концепцией дискретного описания онтогенеза растений Работнова–Уранова, адаптированной Ю.Т. Суетиной для лишайников [29].

Самые ранние стадии онтогенеза (прототаллус, протероталлус, ювенильный таллом) не изучались; их описание дано согласно литературным данным, общим для лишайников [30–31], а также результатам, полученным при культивировании этого вида в лабораторных условиях [32]. Анализ выполнен на основе описания 300 талломов *P. praetextata*, произраставших на основаниях стволов осин. Минимальный размер анализируемого таллома составил 0,03×0,03 см. Поскольку определение видовой принадлежности талломов небольших размеров ранних онтогенетических стадий вызывает затруднение вследствие несформированности важных морфологических признаков, молодые талломы отбирались среди зрелых из моновидовой «куртины» *P. praetextata*.

Содержание фотосинтетических пигментов измерялось спектрофотометрическим методом («СФ-2000», Россия) с приготовлением спиртовых вытяжек. Концентрация и содержание хлорофилла *a* и каротиноидов рассчитывались по формуле, представленной в методике Винтерманса и Де Мотса [33].

Оценка параметров водного режима талломов разных онтогенетических состояний проводилась гравиметрическим методом согласно известной методике [34] с использованием электронных весов «ОНАУС, Discovery» (Швейцария). Рассчитывались следующие параметры водного режима: специфическая масса таллома (specific thallus mass, STM) и водоудерживающая способность (water holding capacity, WHC).

В ходе исследования проведены описания морфологических параметров 300 талломов, для которых проведено около 4 000 измерений анатомических параметров, 117 измерений содержания пигментов и 102 измерения параметров водного режима. Все измерения сделаны в трёхкратной повторности. Статистический анализ данных проведён с использованием однофакторного дисперсионного (ОДА) и регрессионного анализа [35] в среде Microsoft Office Excel 2010. Данные на рисунках и в таблицах приведены в виде средних арифметических со стандартными ошибками. Для оценки варьирования изучаемых признаков рассчитывался коэффициент вариации (CV).

Результаты исследования и обсуждение

Морфологические особенности онтогенетических состояний лишайника *P. praetextata*. В ходе исследования выделено и описано 4 периода и 12 онтогенетических состояний вида *P. praetextata*: латентный (*sp*), прегенеративный (*pr*, *prt*, *j*, *im1*, *im2*, *im3*, *v1*, *v2*), генеративный (*g*), постгенеративный (*ss*, *s*), представленных в табл. 1.

Попадая в благоприятные условия, споры *P. praetextata* прорастают, образуя прототаллус (*pr*). Согласно данным исследователей, осуществивших синтез таллома *P. praetextata* в лабораторных условиях [36], прорастание гиф начинается с обоих концов веретеновидных спор. В присутствии цианобионта гифы начинают ветвиться и формировать мицелий, что приводит к образованию рыхлой ассоциации мицелия и цианобактерии. Ассоциации

постепенно становятся шаровидными и приобретают соредиеподобный вид (soredia-like stage) – клетки цианобионта заключены в гифы гриба. Далее от этих структур отходят радиальные гифы, формируя подобие паутиной сети (arachnoidal stage). Сходные процессы наблюдались исследователями при развитии других листоватых лишайников [37–38]. В следующей фазе развития (через 5–6 мес) соседние соредиеподобные структуры сливаются с образованием недифференцированного скопления, размер которого зависит от количества слившихся структур [36]. Эта масса развивается в зачаточный таллом, который имеет накипную жизненную форму и соответствует ювенильной стадии (*j*). Для листоватого цианолишайника *Lobaria scrobiculata* (Scop.) P. Gaertn., из того же семейства, что и *P. praetextata*, на этой стадии онтогенеза показана уже дифференциация анатомических слоёв в талломе – хорошо развиты кортекс, альгальный слой, сформированный клетками *Nostoc* sp., и сердцевина [38].

Таблица 1 [Table 1]

Онтогенетические состояния цианобионтного лишайника *Peltigera praetextata*
[Ontogenetic states of the cyanobiont lichen *Peltigera praetextata*]

Период [Period]	Онтогенетические состояния и их индексы [Ontogenetic states and their indexes]	Признаки [Features]
Латентный [Latent]	*Спора гриба (<i>sp</i>) [*Ascospore]	Спора четырёхклеточная, веретеновидная, бесцветная, (29–38–58(–65) × 2,5–5 мкм [The spore is 4-celled, fusiform, colorless, (29–38–58 (–65) × 2.5–5 μm]
Прегенеративный [Pregenerative]	*Прототаллюс (<i>pr</i>) [*Protothallus]	Образование из спор гиф мицелия [Hyphae formation from ascospore]
	*Протероталлюс (<i>prt</i>) [*Proterothallus]	Обвивание грибными гифами клеток синезелёной водоросли, образование зачаточного слоевища [Hyphae entwinnements of blue-green algae cells, forming an embryonic thallus]
	*Ювенильный таллом (<i>j</i>) [*Juvenile]	Округлый, выпуклый, каплевидной формы накипной таллом с дифференцированными анатомическими слоями [Rounded, convex, teardrop-shaped crustose thallus with differentiated anatomical layers]
	Имматурное 1 (<i>im1</i>) [Immature 1]	Листоватый таллом в форме округлой пластинки; к субстрату прикрепляется базальной частью, иногда заметен войлок [Foliose thallus in the form of rounded plate; attached to the substrate by the basal part, sometimes tomentum is noticeable]
	Имматурное 2 (<i>im2</i>) [Immature 2]	Таллом округлой формы, с 1–3 выемками; края слегка курчавые. На нижней поверхности ясно видна одна жилка, от которой отходят 1–2 простые ризины [Round-shaped thallus with 1–3 notches; slightly curly edges. One vein is clearly visible on the lower surface, from which 1–2 simple rhizines extend]

Период [Period]	Онтогенетические состояния и их индексы [Ontogenetic states and their indexes]	Признаки [Features]
	Имматурное 3 (<i>im3</i>) [Immature 3]	Появляются курчавые зачаточные лопасти. Жилки видны достаточно хорошо; на них формируются ризины [Curly rudimentary lobes appear. The veins are clearly visible; rhizines are formed on them]
	Виргинильное 1 (<i>v1</i>) [Virginal 1]	Таллом имеет характерный зрелый облик, хорошо сформированные лопасти с курчавым краем, развитую сеть жилок и простые, слегка ветвящиеся косицеобразные ризины. Войлок развит на апикальных частях таллома, часто истончается и пропадает к базальной части. Таллом стерильный, без репродуктивных структур [Thallus has a mature appearance, well-formed lobes with a curly edge, a developed network of veins and simple, slightly branching braid-like rhizines. The tomentum is developed on the apical parts of the thallus, often becomes thinner and disappears towards the basal part. Thallus sterile, without reproductive structures]
	Виргинильное 2 (<i>v2</i>) [Virginal 2]	Таллом с филлидиями. Филлидии вертикально ориентированы, образуют группы и гребни в местах повреждений таллома и по краям лопастей. Сами сплюснутые; в особо крупных скоплениях формируют кораллоподобные структуры. Состояние <i>v2</i> может не наблюдаться, талломы могут не формировать филлидии [Thallus with phyllidia. Phyllidia are vertically oriented; they form groups and ridges at the sites of thallus damage and along the edges of lobes. Phyllidia are flattened, in especially large clusters they form coral-like structures. State <i>v2</i> may not be observed, thallus may not form phyllidia]
Генеративный [Generative]	Генеративное (<i>g</i>) [Generative]	Таллом с седлообразными апотециями, развивающимися на концах лопастей. На талломе могут быть и филлидии [Thallus with saddle-shaped apothecia developing at the ends of lobes. There may be phyllidia on the thallus]
Постгенеративный [Postgenerative]	Субсенильное (<i>ss</i>) [Subsenile]	Частично разрушенное слоевище, у которого молодых лопастей по сравнению со старой частью таллома не более 30%, появляются некрозы [Partially destroyed thallus, young lobes in comparison with the old part of the thallus are no more than 30%, necrosis appear]
	Сенильное (<i>s</i>) [Senile]	Распад крупного таллома, наличие большого количества некротических образований; полное отсутствие молодых лопастей [The decay of a large thallus, presence of a large necrotic formations; complete absence of young lobes]

Примечание. * Описание состояний дано согласно литературным данным [30–32].

[Note. *Description of the states is given according to the data from literature].

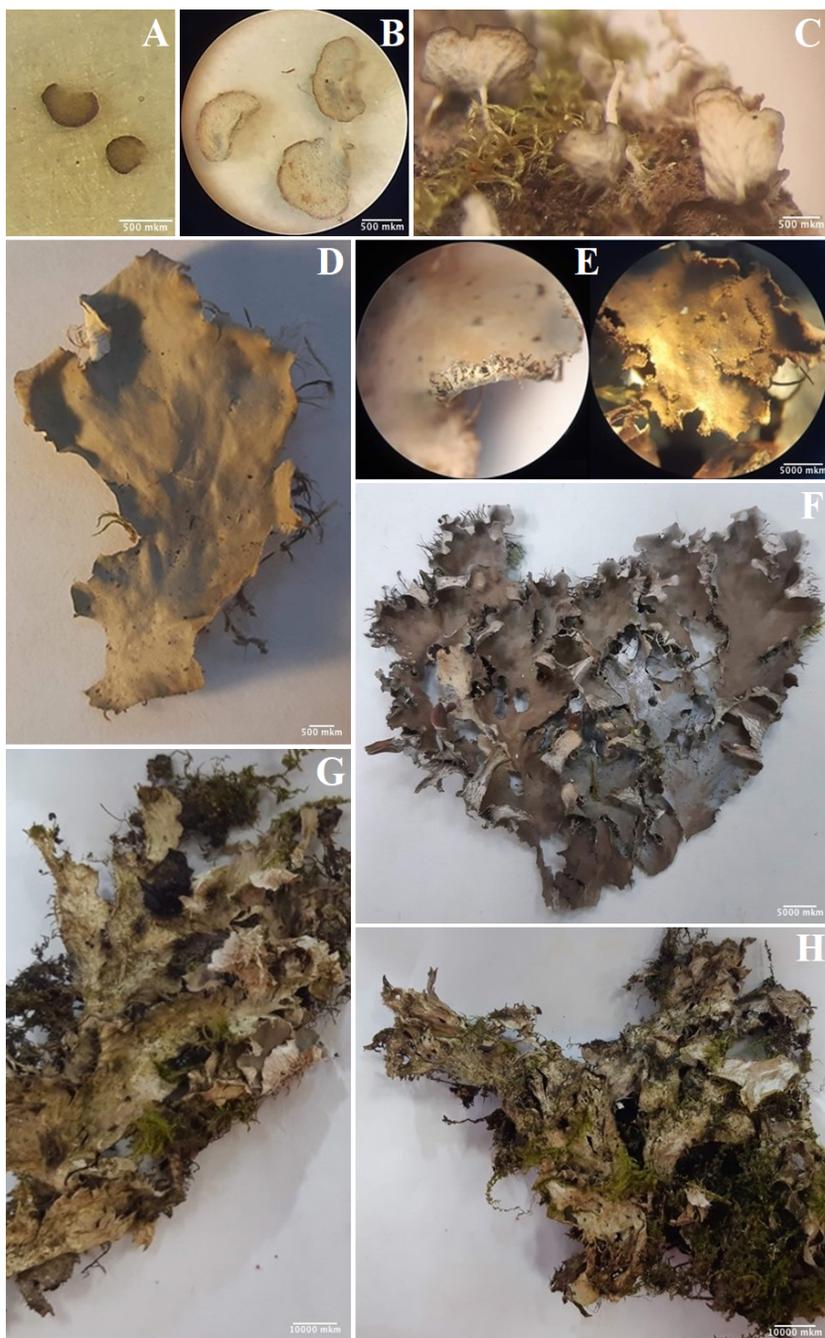


Рис. 1. Талломы *Peltigera praetextata* разных онтогенетических состояний: A – im1 (x56); B – im2 (x56); C – im3 (x32); D – v1; E – v2 (x16); F – g; G – ss; H – s (фото П.А. Виролайнена)

[Fig. 1. Thalli of *Peltigera praetextata* at different ontogenetic states: A – im1 (x56); B – im2 (x56); C – im3 (x32); D – v1; E – v2 (x16); F – g; G – ss; H – s. Photo by Pavel Virolainen]

Дальнейший этап онтогенеза связан с формированием листоватого таллома. Изученные имматурные талломы (*im1*) имели форму округлой пластинки, по площади не превышающей $25 \cdot 10^{-4} \text{ см}^2$ и прикрепляющейся к субстрату базальной частью (рис. 1, *A*). В онтогенетическом состоянии имматурное 2 (*im2*) на листоватом слоевище площадью до $92 \cdot 10^{-4} \text{ см}^2$ появляются выемки (от 1 до 3) – будущие зачатки лопастей, края которых слегка курчавые. Гифы сердцевинного слоя формируют уплотнённые тяжи – становится ясно видна жилка, от которой отходят 1–2 ризины белого цвета (рис. 1, *B*). Талломы онтогенетического состояния имматурное 3 (*im3*) характеризуются наличием зачаточных курчавых лопастей и в среднем имели площадь $21 \cdot 10^{-3} \text{ см}^2$. На нижней поверхности активно развивается сердцевинный слой: всё яснее проявляются жилки, на которых формируются простые ризины (рис. 1, *C*). Таллом приобретает зрелый облик в онтогенетическом состоянии виргинильное 1 (*v1*), характеризующаяся наличием сформированных лопастей с курчавым краем, развитого войлочного покрова на апикальных частях таллома, часто истончающегося и пропадающего к базальной части, хорошо различимой сети жилок, большого количества простых, слегка ветвящихся косицеобразных ризин [39]. Средняя площадь таллома состояния *v1* в изученной выборке – $0,448 \text{ см}^2$. Структуры размножения на этой стадии развития таллома отсутствуют (рис. 1, *D*).

Из онтогенетического состояния виргинильное 1 (*v1*) таллом может перейти в состояние виргинильное 2 (*v2*), образуя филлидии – структуры вегетативного размножения (рис. 1, *E*) или сразу в генеративное (*g*) состояние (рис. 1, *F*), формируя на концах лопастей таллома седловидные плодовые тела – апотеции. Это наблюдалось, например, при культивировании вида *Peltigera didactyla* (With.) J.R. Laundon – около 60% талломов сформировало соредии, а остальные сразу перешли в генеративную стадию, сформировав апотеции [40].

В изученной выборке все образцы генеративных талломов *P. praetextata* имели филлидии. Средние значения длины и ширины филлидий *P. praetextata* составили $0,028 \pm 0,003$ и $0,039 \pm 0,002$ см, соответственно. Согласно литературным данным, в лабораторных условиях талломы *P. praetextata* формировали филлидии через 20,5 мес после ресинтеза, однако при этом перехода в стадию *g* за 3 года культивации достичь не удалось [36]. Филлидии, вероятнее всего, могут также образовываться на талломе уже после формирования плодовых тел.

При формировании плодовых тел на талломе *P. praetextata* первоначально на краю лопасти формируется замкнутый апотечий (рис. 2, *A*), под которым вырастает структура, возвышающая его над талломом – ножка (рис. 2, *B*). Последовательное увеличение количества сумок со спорами вызывает постепенное раскрытие апотечия (рис. 2, *C*, *D*). Сформированный апотечий *P. praetextata* широко открыт, имеет седлообразную форму (рис. 2, *E*) [30, 41]. Известно также, что *P. didactyla* в естественных условиях формирует апотеции через 6–7 месяцев после развития таллома из соредий [40].



Рис. 2. Основные этапы развития апотеция на талломе *Peltigera praetextata*, увеличение $\times 16$ (пояснения даны в тексте) (фото П.А. Виrolайнена)

[Fig. 2. The main stages in the development of apothecia on the thallus of *Peltigera praetextata*, magnification $\times 16$ (explanations are given in the text). Photo by Pavel Virolainen]

Для талломов субсенильной стадии (*ss*) отмечено появление некрозов, составляющих до 20–30% поверхности таллома. Новые лопасти на талломе этой стадии формируются редко (см. рис. 1, *G*).

Сенильные талломы (*s*) *P. praetextata* крупные по размерам (площадь в среднем 93 см²), имеют большую площадь некрозов, достигающую иногда 70%, а также участки с уже разрушенным талломом (см. рис. 1, *H*).

Несколько талломов среди изученных характеризовались очень большим количеством филлидий по краям лопастей, а также в разрывах и трещинах корового слоя. Вероятнее всего, именно такие талломы могут перейти в состояние *ss* сразу из *v2*, минуя генеративное состояние.

Начиная с виргинильной стадии и до сенильной, у талломов наблюдается постепенное пигментирование сердцевинного слоя и его образований (жилок и ризин) от апикальной (краевой, более молодой) части в направлении центральной (базальной, более зрелой) зоны: нижняя поверхность таллома буреет, ризины постепенно от кончика к основанию обретают серый и тёмно-серый цвет, жилки темнеют до тёмно-коричневого цвета. Однако пигментацию слоевища нельзя отнести к признакам, маркирующим онтогенетическое состояние, так как этот процесс, вероятнее всего, зависит не от стадии развития, а от условий микроместообитания. Известно, что меланизация корового слоя таллома происходит, главным образом, в ответ на ультрафиолетовое воздействие. Меланины являются активными участниками редокс-метаболизма и могут накапливаться во всех частях таллома лишайника [42, 43].

Согласно полученным результатам, в изученном последовательном морфологическом ряду выявлено увеличение линейных размеров и площади талломов *P. praetextata* от ранних стадий развития к более поздним (табл. 2).

Значения изученных морфологических параметров таллома на начальных стадиях, на которых происходит формирование листоватого слоевища и закладка морфоструктур (*im1*, *im2*, *im3*), варьировали незначительно (CV 30–40%). Наиболее сильное варьирование значений параметров таллома и его структур (CV 60–90%) отмечается для состояния *v1*. Так, длина и ширина *v1*-талломов в пределах изученной выборки варьируют от 0,17 \times 0,13 до 4,5 \times 4,5 см (CV = 71%), длина ризин – 0,015–1,1 см (CV = 97%), ширина жилок – 0,001–0,1 см (CV = 97%), длина лопастей – 0,045–3,9 см (CV =

61%), ширина лопастей – от 0,02 до 1,5 см (CV = 60%). Высокое варьирование значений связано с активными ростовыми процессами и развитием структур таллома на этой стадии [23], а также на раннее развитие таллома большое влияние оказывают микроклиматические факторы [38].

Таблица 2 [Table 2]

Средние значения некоторых морфологических параметров талломов *Peltigera praetextata* разных онтогенетических состояний
 [Mean values of some morphological parameters of *Peltigera praetextata* thalli of different ontogenetic states]

Онтогенетическое состояние [Ontogenetic state]	Длина таллома, см [Thallus length, cm]	Ширина таллома, см [Thallus width, cm]	Длина лопастей, см [Length of lobes, cm]	Ширина лопастей, см [Width of lobes, cm]	Длина ризин, см [Length of rhizines, cm]	Ширина жилок, см [Width of veins, cm]
<i>im1</i>	0,050 ± 0,006	0,050 ± 0,005	–	–	–	–
<i>im2</i>	0,099 ± 0,003	0,093 ± 0,005	–	–	0,037 ± 0,005	0,005 ± 0,000
<i>im3</i>	0,142 ± 0,007	0,148 ± 0,010	–	–	0,052 ± 0,011	0,007 ± 0,000
<i>v1</i>	0,80 ± 0,16	0,56 ± 0,12	1,87 ± 0,35	0,87 ± 0,16	0,187 ± 0,036	0,02 ± 0,00
<i>v2</i>	3,41 ± 0,25	2,36 ± 0,20	2,95 ± 0,22	1,34 ± 0,12	0,48 ± 0,03	0,05 ± 0,00
<i>g</i>	7,74 ± 0,44	6,42 ± 0,45	5,97 ± 0,30	1,96 ± 0,12	0,60 ± 0,02	0,07 ± 0,00
<i>ss</i>	6,77 ± 1,41	6,60 ± 1,99	5,57 ± 0,23	2,20 ± 0,42	0,60 ± 0,05	0,08 ± 0,02
<i>s</i>	10,53 ± 0,61	8,83 ± 2,76	6,57 ± 0,35	1,73 ± 0,15	0,65 ± 0,00	0,09 ± 0,00

Примечание. Здесь и далее *im1* – имматурное 1, *im2* – имматурное 2, *im3* – имматурное 3, *v1* – виргинильное 1, *v2* – виргинальное 2, *g* – генеративное, *ss* – субсенильное, *s* – сенильное состояние.

[Note (hereafter). *im1* – immature 1, *im2* – immature 2, *im3* – immature 3, *v1* – virginal 1, *v2* – virginal 2, *g* – generative, *ss* – subsenile, *s* – senile].

В дальнейшем (состояния *v2*, *g*) коэффициент вариации каждого параметра достигает минимальных значений, что, вероятнее всего, связано с замедлением процессов роста и развития таллома. Для параметров талломов стадии *g* коэффициенты вариации не превышают уже 20–50%: длина ризин варьировала от 0,325 до 1,1 см (CV = 26%), ширина жилок – от 0,03 до 0,1 см (CV = 29%), длина лопастей – 1,4–16 см (CV = 47%), ширина лопастей – 0,5–7,2 см (CV = 55%). Генеративное состояние характеризуется завершением развития таллома, процессы роста замедляются, и размеры морфоструктур варьируют в небольших пределах.

Похожие закономерности выявлены и для цианолишайника *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. – активное увеличение линейных размеров таллома происходит в виргинильной стадии, а максимальные значения достигаются в генеративном состоянии [24].

Анатомические особенности онтогенетических состояний лишайника *P. praetextata*. В изученном онтогенетическом ряду выявлено изменение значений анатомических параметров талломов *P. praetextata* (табл. 3).

Значения большинства изученных параметров увеличиваются в ряду от талломов имматурных состояний до генеративных. Значимые различия в значениях общей толщины, толщины корового и толщины сердцевинного слоя зарегистрированы между имматурными, виргинильными и генеративными талломами (ОДА, $p < 0,05$).

Толщина войлока варьировала сильно (CV = 91%): в апикальной зоне (состояния *v1*, *v2*, *g*, *ss*) он присутствует всегда и развит хорошо, а на медиальной и базальной зонах таллома часто отсутствует.

Таблица 3 [Table 3]

Средние значения некоторых анатомических параметров талломов
Peltigera praetextata разных онтогенетических состояний
[Mean values of some anatomical parameters of *Peltigera praetextata* thalli
of different ontogenetic states]

Онтогенетическое состояние [Ontogenetic state]	Общая толщина таллома, мкм [Total thallus thickness, μm]	Толщина войлока, мкм [Tomentum thickness, μm]	Толщина корового слоя, мкм [Cortex thickness, μm]	Толщина альгального слоя, мкм [Algal layer thickness, μm]	Размер клеток фотобионта, мкм [Photobiont cell size, μm]	Толщина сердцевины, мкм [Medulla thickness, μm]
<i>im1</i>	167,07 \pm 5,87	12,26 \pm 3,44	45,14 \pm 1,25	51,88 \pm 2,02	8,72 \pm 0,73	49,41 \pm 2,74
<i>im2</i>	165,66 \pm 6,54	18,17 \pm 3,39	38,62 \pm 1,40	48,20 \pm 1,52	10,64 \pm 0,34	66,68 \pm 3,15
<i>im3</i>	211,79 \pm 6,03	11,23 \pm 2,76	43,10 \pm 0,95	61,79 \pm 2,76	10,54 \pm 0,31	91,86 \pm 3,30
<i>v1</i>	247,10 \pm 6,36	24,30 \pm 3,65	46,58 \pm 0,87	64,83 \pm 1,31	12,69 \pm 0,18	142,70 \pm 5,86
<i>v2</i>	282,09 \pm 5,14	26,05 \pm 3,81	57,54 \pm 1,83	75,41 \pm 2,10	12,93 \pm 0,17	179,13 \pm 5,14
<i>g</i>	329,71 \pm 6,96	51,09 \pm 4,53	57,56 \pm 1,42	70,08 \pm 1,86	12,18 \pm 0,22	199,04 \pm 6,32
<i>ss</i>	253,49 \pm 4,35	7,59 \pm 1,67	51,00 \pm 1,28	31,19 \pm 2,71	7,67 \pm 0,52	176,45 \pm 4,81
<i>s</i>	219,83 \pm 4,69	2,96 \pm 1,09	44,77 \pm 0,76	1,72 \pm 0,98	1,05 \pm 0,35	167,56 \pm 4,94

Согласно полученным данным, для талломов *im1* характерно неравномерное распределением гиф микобионта и клеток фотобионта в талломе: места обильного скопления клеток водоросли чередуются с рыхлыми и тонкими участками. Клетки водоросли характеризуются мелкими размерами (см. табл. 3). В талломах состояния *im2* наблюдается более равномерное распределение гиф гриба и «разглаживание» слоя фотобионта, его выравнивание, клетки водорослей увеличиваются в размере. На стадии *im3* альгальный слой таллома становится единым, равномерным и непрерывным. Анатомическое строение талломов в онтогенетическом состоянии *v1* имеет характерные особенности зрелого таллома. Сенильные талломы характеризуются значительным снижением толщины альгального слоя, его непрерывность нарушается, и он сохраняется небольшими участками.

От имматурной до генеративной стадии онтогенеза наибольшее увеличение толщины зарегистрировано для сердцевины таллома (ОДА, $p < 0,01$), наименьшими изменениями размеров в изученном онтогенетическом ряду характеризуется альгальный слой (рис. 3). Достоверных различий в толщине альгального слоя между онтогенетическими состояниями не выявлено (ОДА, $p > 0,05$). В изученном онтогенетическом ряду от состояния *im1* до *g* доля альгального слоя в талломе варьирует в очень небольших пределах (22–32%), снижаясь до минимальных значений в постгенеративном периоде. Таким образом, толщина слоя цианобионта в талломе лишайника остается постоянной на протяжении всего онтогенеза, начиная деградировать в сенильной стадии. Микобионт наращивает объем за счёт увеличения сердцевины.

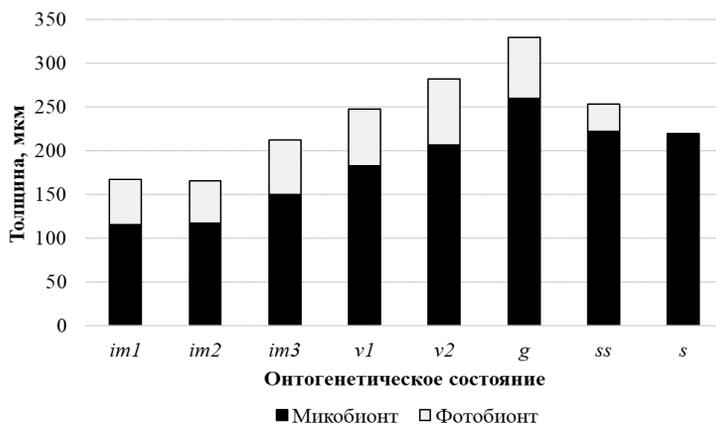


Рис. 3. Соотношение толщины микобионта (чёрный цвет) и фотобионта (светло-серый цвет) в талломах *Peltigera praetextata* разных онтогенетических состояний

[Fig. 3. The ratio of mycobiont (black) and photobiont (gray) thickness in *Peltigera praetextata* thalli of different ontogenetic states: on the X-axis – Ontogenetic state; on the Y-axis – Thickness of the layer (µm)]

Полученные результаты согласуются с известными данными, толщина альгального слоя в талломе – один из наименее варьирующих и стабильных среди других анатомических показателей при развитии лишайника [44]: клетки водорослей в зрелых частях таллома продолжительно функционируют с незначительной степенью деления и обновления популяции, сохраняя фотосинтетическую активность в течение многих лет. Предполагается, что в основе механизма, подавляющего деление клеток водорослей, лежит действие антимиотических агентов, продуцируемых микобионтом [45], а также конкуренцией за фиксированный азот и органический углерод между симбионтами таллома лишайника. Так, для хлоробионтного лишайника *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. характерно варьирование доли альгального слоя в талломе в пределах 31–43% [46], для цефалодиевого хлоробионтного лишайника *Lobaria pulmonaria* – 11–19% [47]. В исследованиях отмечено, что несмотря на закономерный рост общей толщины таллома от стерильной к сенильной группе, доля альгального слоя остаётся относительно постоянной и достоверно не отличается. Варьирование доли фотобионта в талломе связано с процессами роста и развития лишайника в ходе онтогенеза, а широкие диапазоны изменчивости позволяют симбиотической ассоциации успешно существовать в различных условиях [48].

Физиологические особенности онтогенетических состояний лишайника *P. praetextata*. По мере развития таллома лишайника, изменения морфологических и анатомических характеристик изменяются и его физиологические параметры. Одним из параметров состояния фотосинтетического аппарата является содержание фотосинтетических пигментов. Фотосинтетические пигменты цианобактерий-фотобионтов лишайников представлены хлорофиллом *a*, каротиноидами и билиновыми пигментами [5]. Согласно полученным результатам анализа содержания фотосинтети-

ческих пигментов (хлорофилла *a* и каротиноидов) в талломах *P. praetextata* разных онтогенетических стадий (табл. 4), наиболее высокое содержание хлорофилла *a* обнаружено для виргинильных талломов, а каротиноидов – для генеративных (ОДА, $p < 0,01$). Для сенильных талломов *P. praetextata* зарегистрировано самое низкое содержание проанализированных пигментов. При этом у генеративных талломов фиксировалось наиболее характерное для лишайников соотношение пигментов (2,7), зарегистрированное и другими исследователями [49].

Таблица 4 [Table 4]

Содержание фотосинтетических пигментов в талломах *Peltigera praetextata* разных онтогенетических стадий
[The photosynthetic pigments content in *Peltigera praetextata* thalli of different ontogenetic stages]

Стадия онтогенеза [Ontogenetic stage]	Содержание хлорофилла <i>a</i> , мг · г ⁻¹ сух. массы [Chlorophyll <i>a</i> content, mg/g ⁻¹ of dry weight]	Содержание каротиноидов, мг · г ⁻¹ сух. массы [Carotenoids content, mg/g ⁻¹ of dry weight]	Соотношение Хл <i>a</i> /кар [Chlorophyll <i>a</i> /carotenoids ratio]
v	0,212 ± 0,011	0,027 ± 0,012	7,4
g	0,136 ± 0,011	0,049 ± 0,012	2,7
ss	0,060 ± 0,005	0,008 ± 0,003	7,6

Полученные данные по содержанию фотосинтетических пигментов в целом сопоставимы с данными других исследователей [50], однако в имеющихся на сегодняшний день источниках не приводятся значения этих показателей для разных стадий онтогенеза талломов лишайников.

Влажность – ведущий фактор для поддержания жизнедеятельности лишайников как пойкилогидрических организмов. Преодоление стрессов, связанных с недостатком или отсутствием влаги в местообитании, осуществляется с помощью состояния криптобиоза, в которое переходят лишайники при оводнённости таллома в 5–10% [51]. Цианолишайникам для выхода из этого состояния и восстановления активности процессов жизнедеятельности требуется наличие в среде капельно-жидкой воды [52].

Водный режим цианолишайника *P. praetextata* в ходе исследования оценивался следующими параметрами: максимальное водонасыщение таллома, специфическая масса таллома (STM), водоудерживающая способность (WNC) на единицу площади таллома (табл. 5). Эти параметры определяют возможность таллома удерживать воду и, таким образом, находиться в физиологически активном состоянии.

Значения специфической массы таллома (STM) в исследованной выборке талломов варьируют от 52,87 до 225,00 мг сух. массы · см⁻². Согласно результатам однофакторного анализа, значения специфической массы таллома (STM) имеют наибольшие значения у талломов генеративного состояния (ОДА, $p < 0,001$).

Максимальное водонасыщение талломов варьировало от 151,5 до 495,4% от абс. сух. массы, и в среднем таллом *P. praetextata* впитывает воды в 3,5 раза больше своей сухой массы. Наибольшее максимальное водонасыщение зарегистрировано для генеративных талломов (ОДА, $p < 0,001$), составляющее в среднем 397,1% (рис. 4, А).

Таблица 5 [Table 5]

Средние значения исследованных параметров водного режима талломов *Peltigera praetextata* разных онтогенетических состояний
[Mean values of the studied water regime parameters of *Peltigera praetextata* thalli of different ontogenetic states]

Параметры [Parameters]	Онтогенетическое состояние [Ontogenetic state]				
	v1	v2	g	ss	s
Общая толщина таллома, мкм [Total thallus thickness, μm]	247,10 ± 6,36	282,09 ± 5,14	329,71 ± 6,96	253,49 ± 4,35	219,83 ± 4,69
Площадь таллома, cm^2 [Thallus area, cm^2]	3,79 ± 1,39	10,13 ± 4,00	26,98 ± 8,15	15,42 ± 1,35	14,28 ± 3,68
STM, мг сух. массы · cm^{-2} [STM, mg dry weight · cm^{-2}]	5,91 ± 0,50	7,97 ± 0,62	12,36 ± 1,01	10,25 ± 1,12	10,50 ± 1,41
Максимальное водонасыщение, % [Maximum water saturation, %]	361 ± 21	329 ± 18	397 ± 17	375 ± 7	376 ± 12
WHC, мг H_2O · cm^{-2} [WHC, mg H_2O · cm^{-2}]	15,09 ± 1,22	18,46 ± 2,41	37,15 ± 4,28	28,12 ± 2,52	28,67 ± 2,93

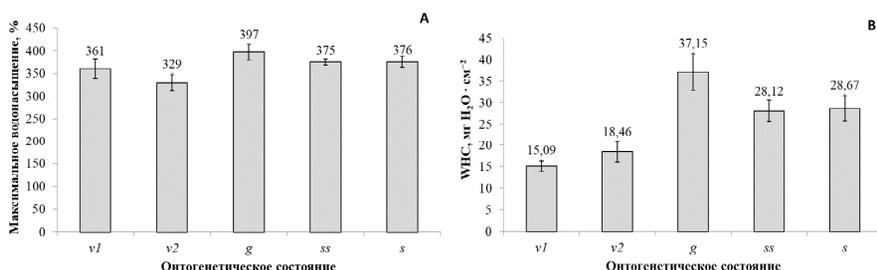


Рис. 4. Средние значения максимального водонасыщения (A) и водоудерживающей способности (B) талломов *Peltigera praetextata* разных онтогенетических состояний
[Fig. 4. Mean values of maximum water saturation (A) and water-holding capacity (B) of *Peltigera praetextata* thalli of different ontogenetic states: on the X-axis – Ontogenetic state; on the Y-axis A – Maximum water saturation (%), B – Water holding capacity (mg H_2O · cm^{-2})]

Водоудерживающая способность (WHC) на единицу площади таллома *P. praetextata* в изученной выборке варьировала от 4,09 до 58,71 мг H_2O · cm^{-2} . Согласно полученным результатам, наименьшей водоудерживающей способностью обладают виргинильные талломы, а максимальных значений показатель достигает у генеративных талломов (рис. 4, B). По мере старения талломов на сенильной стадии водоудерживающая способность снижается (ОДА, $p < 0,001$).

Согласно полученным результатам, водоудерживающая способность является функцией удельной поверхности талломов (STM) (рис. 5). С увеличением удельной поверхности увеличивается и водоудерживающая способность талломов, что подтверждают и результаты других исследователей [34, 53].

Полученные в ходе исследования данные во многом согласуются с данными, полученными для других видов лишайников.

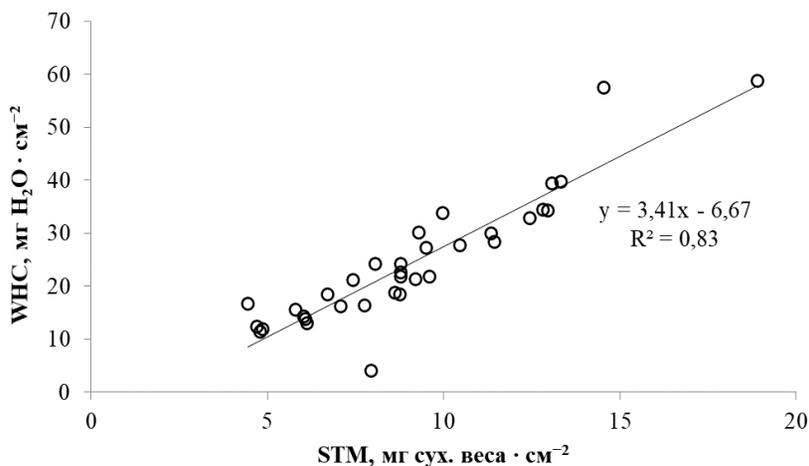


Рис. 5. Водоудерживающая способность (WHC) талломов *Peltigera praetextata* с разными значениями их специфической массы таллома (STM)

[Fig. 5. Water holding capacity (WHC) of *Peltigera praetextata* thalli with different values of their specific thallus mass (STM): on the X-axis – Specific thallus mass (mg dry weight · cm⁻²); on the Y-axis – Water holding capacity (mg H₂O · cm⁻²)

Так, в ходе исследований водного режима отдельных состояний онтогенеза хлоробионтного (фотобионт – зеленая водоросль) листоватого лишайника *Hypogymnia physodes* [54] и цефалодиевого хлоробионтного (фотобионт – зеленая водоросль, цианобактерии в специальных структурах – цефалодиях) листоватого лишайника *Lobaria pulmonaria* [55] также зарегистрировано увеличение показателя STM с увеличением размеров и возраста талломов. Однако значения этого показателя у исследованных талломов *P. praetextata* в 1,5–2 раза ниже, чем у вышеуказанных видов. Значения водоудерживающей способности талломов вида *P. praetextata* в 5–6 раз меньше, чем у широко распространённого вида *Hypogymnia physodes*. Такие низкие по сравнению с хлоробионтными лишайниками значения исследованных параметров водного режима, необходимость наличия капельно-жидкой воды в среде для восстановления метаболических функций у цианолишайников при выходе из состояния криптобиоза во многом объясняют приуроченность *P. praetextata* к влажным местообитаниям с моховым покровом и уязвимость к изменениям условий местообитания.

Заключение

Лишайники, представляющие собой неотъемлемый компонент растительных сообществ, известны своей уязвимостью к изменениям условий среды. Это подтверждается большим числом исследований экологии и физиологии этих организмов. Исследования хода онтогенеза, а также структурных и физиологических показателей талломов, находящихся на разных онтогенетических стадиях, могут внести существенный вклад в понимание

причины чувствительности этого компонента экосистем на более глубоком, причинно-следственном уровне.

Онтогенез цианолишайника *P. praetextata* представлен следующими основными этапами: зачаток слоевища, накипной дифференцированный таллом, листоватое слоевище (формируется на *im1*), на котором развиваются жилки, ризины (*im2*) и зачаточные лопасти с курчавым краем (*im3*), достигая зрелого облика (*v1*). Затем на талломе формируются филлидии (*v2*) и/или апотеции (*g*). Старение таллома (*ss, s*) сопровождается увеличением площади некрозов.

Значения морфологических (длина, ширина таллома и лопастей, линейная площадь таллома, длина ризин, ширина жилок) и анатомических параметров талломов (толщина общая, корового, альгального слоёв, сердцевинны) увеличиваются по мере его развития. Наибольшая изменчивость изученных признаков характерна для ранних стадий онтогенеза. Среди изученных структур таллома наибольшая изменчивость в ряду онтогенетических состояний регистрировалась для длины ризин, ширины жилок и толщины сердцевинного слоя, а наибольшим постоянством отличалась доля альгального слоя в талломе.

Изученные физиологические характеристики талломов *P. praetextata* отличались у разных онтогенетических состояний и имели максимальные значения у генеративных талломов, для которых зарегистрированы нормальное соотношение фотосинтетических пигментов, максимальное водонасыщение и максимальная водоудерживающая способность. Таким образом, талломы ранних стадий развития обладают меньшей возможностью сохранять влагу, и могут представлять критическую стадию в жизненном цикле лишайника. Выявленное широкое варьирование морфолого-анатомических показателей молодых талломов, с одной стороны, говорит об их высокой приспособляемости, однако физиологические показатели водонасыщения свидетельствуют об уязвимости как раз этих стадий. Кроме того, полученные данные изученных параметров подтвердили обоснованность выделенных онтогенетических стадий.

Исследование онтогенеза и морфогенеза цианобионтного лишайника *P. praetextata* проведено впервые, и полученные данные могут стать основой для дальнейшего изучения особенностей анатомии и морфологии цианолишайников, а также для изучения популяционной структуры этого вида в сообществах.

Список источников

1. Henskens F.L., Green T.G.A., Wilkins A. Cyanolichens can have both cyanobacteria and green algae in a common layer as major contributors to photosynthesis // *Annals of Botany*. 2012. Vol. 110, № 3. PP. 555–563. doi: 10.1093/aob/mcs108
2. Forman R.T.T. Canopy lichens with blue-green algae – nitrogen source in a Colombian rainforest // *Ecology*. 1975. № 56. PP. 1176–1184. doi: 10.2307/1936157
3. Green T.G.A., Horstmann T., Bonnett H., Wilkins A., Silvester W. Nitrogen fixation by members of the *Stictaceae* (*Lichenes*) of New Zealand // *New Phytologist*. 1980. Vol. 84, № 2. PP. 339–348. doi: 10.1111/j.1469-8137.1980.tb04434.x

4. Antoine M.E. An ecophysiological approach to quantifying nitrogen fixation by *Lobaria oregana* // Bryologist. 2004. Vol. 107, № 1. PP. 82–87. doi: 10.1639/0007-2745(2004)107[82:AEATQN]2.0.CO;2
5. Головки Т.К., Дымова О.В., Табаленкова Г.Н., Пыстина Т.Н. Фотосинтетические пигменты и азот в талломах лишайников бореальной флоры // Теоретическая и прикладная экология. 2015. № 4. С. 38–44. doi: 10.25750/1995-4301-2015-4-038-044
6. Lesica P., McCune B., Cooper S.V., Hong W.S. Differences in lichen and bryophyte communities between old-growth and managed second-growth forests in the Swan Valley, Montana // Canadian Journal of Botany. 1991. Vol. 69, № 8. PP. 1745–1755. doi: 10.1139/b91-222
7. Nash III T.H. Lichen biology. Cambridge University Press, 1996. 303 p.
8. Mikhailova I., Trubina M., Vorobeichik E., Scheidegger C. Influence of environmental factors on the local-scale distribution of cyanobacterial lichens: case study in the North Urals, Russia // Folia Cryptogamica Estonica. 2005. № 41. PP. 45–54.
9. Ellis C.J., Coppins B.J. Contrasting functional traits maintain lichen epiphyte diversity in response to climate and autogenic succession // Journal of Biogeography. 2006. Vol. 33, № 9. PP. 1643–1656. doi: 10.1111/j.1365-2699.2006.01522.x
10. Fedrowitz K., Kuusinen M., Snäll T. Metapopulation dynamics and future persistence of epiphytic cyanolichens in a European boreal forest ecosystem // Journal of Applied Ecology. 2012. Vol. 49, № 2. PP. 493–502. doi: 10.1111/j.1365-2664.2012.02113.x
11. Rikkinen J. Cyanolichens // Biodiversity and Conservation. 2015. № 24. PP. 973–993. doi: 10.1007/s10531-015-0906-8
12. Belnap J. Factors influencing nitrogen fixation and nitrogen release in biological soil crusts // Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management / Belnap J., Lange O.L., editors. Berlin: Springer-Verlag, 2001. PP. 241–261. doi: 10.1007/978-3-642-56475-8_19
13. Liu Y.-R., Delgado-Baquerizo M., Trivedi P., He J.-Z., Wang J.-T., Singh B.K. Identity of biocrust species and microbial communities drive the response of soil multifunctionality to simulated global change // Soil Biology and Biochemistry. 2017. Vol. 107. PP. 208–217. doi: 10.1016/j.soilbio.2016.12.003
14. Wijayawardene N.N., Hyde K.D., Al-Ani L.K.T., Tedersoo L., Haelewaters D., Rajeshkumar K.C. et al. Outline of fungi and fungus-like taxa // Mycosphere. 2020. Vol. 11, № 1. PP. 1060–1456. doi: 10.5943/mycosphere/11/1/8
15. Vitikainen O. *Peltigeraceae* // Nordic Lichen Flora. Vol. 3. Ahti T., Jørgensen P.M., Krisninnson H., Moberg R., Söchting U., Thor G., editors. Uddevalla, 2007. PP. 113–131.
16. Cansaran-Duman D., Altunkaynak E., Aslan A., Büyük İ., Aras S. Application of molecular markers to detect DNA damage caused by environmental pollutants in lichen species // Genetics and Molecular Research. 2015. № 14. PP. 4637–4650. doi: 10.4238/2015.May.4.23
17. Leisner J.M.R., Bilger W., Czygan F.-C., Llinge O.L. Light exposure and the composition of lipophilous carotenoids in cyanobacterial lichens // Journal of Plant Physiology. 1994. Vol. 143, № 4-5. PP. 514–519. doi: 10.1016/S0176-1617(11)81815-8
18. Solhaug K.A., Xie L., Gauslaa Y. Unequal allocation of excitation energy between photosystem II and I reduces cyanolichen photosynthesis in blue light // Plant and Cell Physiology. 2014. Vol. 55, № 8. PP. 1404–1414. doi: 10.1093/pcp/pcu065
19. Cassar N., Bellenger J.-P., Jackson R.B., Karr J.D., Barnett B. N₂ fixation estimates in real-time by cavity ring-down laser absorption spectroscopy // Oecologia. 2012. № 168. PP. 335–342. doi: 10.1007/s00442-011-2105-y
20. Nardini A., Marchetto A., Tretiach M. Water relation parameters of six *Peltigera* species correlate with their habitat preferences // Fungal Ecology. 2013. Vol. 6, № 5. PP. 397–407. doi: 10.1016/j.funeco.2013.05.004
21. Paoli L., Guttová A., Sorbo S., Grassi A., Lackovičová A., Basile A., Senko D., Loppi S. Vitality of the cyanolichen *Peltigera praetextata* exposed around a cement plant (SW Slovakia): A comparison with green algal lichens // Biologia. 2016. Vol. 71, № 3. PP. 272–280. doi: 10.1515/biolog-2016-0059

22. Михайлова И.Н. Анализ субпопуляционных структур эпифитных лишайников (на примере *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.) // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Биология. 2005. № 1. С. 124–134.
23. Суетина Ю.Г., Глотов Н.В. Онтогенез и морфогенез кустистого лишайника *Usnea florida* (L.) Weber ex F. H. Wigg. // Онтогенез. 2010. Т. 41. № 1. С. 32–40. doi: 10.1134/S1062360410010030
24. Игнатенко Р.В., Тарасова В.Н., Марковская Е.Ф. Онтогенез лишайника *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. в растительных сообществах бореальной зоны // Онтогенез. 2020. Т. 51, № 2. С. 132–142. doi: 10.31857/S0475145020020044
25. Гранович А.И., Островский А.Н., Добровольский А.А. Морфопроект и жизненные циклы организмов // Журнал общей биологии. 2010. Т. 71, № 6. С. 514–522.
26. Spribille T. Relative symbiont input and the lichen symbiotic outcome // Current Opinion in Plant Biology. 2018. Vol. 44. PP. 57–63. doi: 10.1016/j.pbi.2018.02.007
27. Игнатенко Р.В. Экология лишайника *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. в растительных сообществах Карелии : дис. ... канд. биол. наук. СПб. : Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, 2017. 220 с.
28. Андреева Е.Н., Баккал И.Ю., Горшков В.В., Лянгузова И.В., Мазная Е.А., Нешатаев В.Ю., Нешатаева В.Ю., Ставрова Н.И., Ярмишко В.Т., Ярмишко М.А. Методы изучения лесных сообществ. СПб. : Изд-во СПбГУ, 2002. 240 с.
29. Суетина Ю.Г. Онтогенез и популяционная структура *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. в различных экологических условиях // Экология. 2001. № 3. С. 203–208.
30. Окснер А.Н. Определитель лишайников СССР. Морфология, систематика и географическое распространение. 2-е изд. Л. : Наука, 1974. 283 с.
31. Суетина Ю.Г., Глотов Н.В. Популяционно-онтогенетические исследования эпифитных лишайников // Теоретические проблемы экологии и эволюции: Шестые Любимцевские чтения, 11-й Всероссийский популяционный семинар и Всероссийский семинар «Гомеостатические механизмы биологических систем» с общей темой «Проблемы популяционной экологии» (Тольятти, 6–10 апреля 2015 г.). Тольятти : Касандра, 2015. С. 288–292.
32. Stocker-Wörgötter E. Thallus formation of two cyanobacterial lichens: *Peltigera didactyla* and *Peltigera praetextata*, under laboratory conditions // Bulletin de la Société Botanique de France, Lettres Botaniques. 1991. Vol. 138, № 3. PP. 179–187. doi: 10.1080/01811797.1991.10824920
33. Wintermans J.F.G.M., De Mots A. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their phenophytins in ethanol // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biophysics including Photosynthesis. 1965. Vol. 109. PP. 448–453. doi: 10.1016/0926-6585(65)90170-6
34. Gauslaa Y., Coxson D.S. Interspecific and intraspecific variations in water storage in epiphytic old forest foliose lichens // Botany. 2011. Vol. 89. PP. 787–798. doi: 10.1139/b11-070
35. Ивантер Э.В., Коросов А.В. Введение в количественную биологию : учеб. пособие. Петрозаводск : Изд-во ПетрГУ, 2011. 302 с.
36. Stocker-Wörgötter E., Türk R. Artificial resynthesis of thalli of the cyanobacterial lichen *Peltigera praetextata* under laboratory conditions // The Lichenologist. 1991. Vol. 23, № 2. PP. 127–138. doi: 10.1017/S0024282991000294
37. Schuster G., Ott S., Jahns H.M. Artificial cultures of lichens in the natural environment // The Lichenologist. 1985. Vol. 17, № 3. PP. 247–253. doi: 10.1017/S0024282985000317
38. Hilmo O., Ott S. Juvenile development of the cyanolichen *Lobaria scrobiculata* and the green algal lichen *Platismatia glauca* and *Platismatia norvegica* in a boreal *Picea abies* forest // Plant Biology. 2002. Vol. 4. PP. 273–280. doi: 10.1055/s-2002-25734
39. Толпышева Т.Ю., Шишконокова Е.А. Лишайники природного парка «Нумто». Краткий определитель. БУ ХМАО-Югры «Природный парк «Нумто», 2018. 187 с.
40. Stocker-Wörgötter E., Türk R. Artificial cultures of the cyanobacterial lichen *Peltigera didactyla* (*Peltigeraceae*) in the natural environment // Plant Systematics and Evolution. 1989. Vol. 165. PP. 39–48. doi: 10.1007/BF00936033

41. Bellemère A., Letrouit-Galinou M.A. Asci, Ascospores, and Ascomata // CRC Handbook of Lichenology. Vol. 1. Boca Raton: CRC Press, Inc., 1988. PP. 161–179.
42. Beckett R.P., Solhaug K.A., Gauslaa Y., Minibayeva F.V. Improved photoprotection in melanized lichens is a result of fungal solar radiation screening rather than photobiont acclimation // The Lichenologist. 2019. Vol. 51, № 5. PP. 483–491. doi: 10.1017/S0024282919000276
43. Rassabina A.E., Gurjanov O.P., Beckett R.P., Minibayeva F.V. Melanin from the Lichens *Cetraria islandica* and *Pseudevernia furfuracea*: Structural Features and Physicochemical Properties // Biochemistry (Moscow). 2020. Vol. 85, № 5. PP. 623–628. doi: 10.1134/S0006297920050119
44. Hill D.J. Lobe growth in lichen thalli // Symbiosis. 1992. № 12. PP. 43–55.
45. Sucharita B., Malleshwar D., Manoharachary C., Mulaikrishna K. Extraction of lecanoric acid from *Parmelia andina* Mull. Arg. & its effect on mitosis in *Allium crepa* L. root tips // Current Science. 1983. № 52. PP. 21–22.
46. Sonina A.V., Androsova V.I., Tsunskaya A.A., Suroeva L.E. Comparative study of structural and ecophysiological features of lichens of different ecological groups in rocky forest communities of northernmost boreal zone (Karelia, Russia) // Czech Polar Reports. 2018. Vol. 8, № 2. PP. 186–197. doi: 10.5817/CPR2018-2-15
47. Андросова В.И., Чирва О.В. Структурно-функциональные особенности талломов *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. разных онтогенетических стадий // Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты: Годичное собрание ОФР : науч. конф. и школа для мол. уч., 18–24 сент. 2017 г., Судак : сб. мат. докл. М. : Центр содействия научной, образовательной и просветительской деятельности «Соцветие», 2017. С. 93.
48. Сони́на А.В., Марковская Е.Ф., Кособрюхов А.А. Функциональные адаптации фотосинтетического аппарата эпилитных лишайников к условиям побережий Белого и Баренцева морей // Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных изменений : тезисы докладов Всероссийской научной конференции с международным участием и школы для молодых ученых (21–26 сентября 2015 г.). Петрозаводск : КарНЦ РАН, 2015. С. 502.
49. Golovko T., Dymova O., Zakhozhiy I., Dalke I., Kokovkina E. Photosynthetic physiology and pigments in *Lobaria pulmonaria* lichen // Photosynthetic pigments – chemical structure, biological function and ecology. Syktyvkar : Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2014. PP. 384–395.
50. Табаленкова Г.Н., Дымова О.В., Головки Т.К. Цианопрокариоты как компонент лишайников рода *Peltigera* // Цианопрокариоты/цианобактерии: систематика, экология, распространение : материалы докладов II Международной научной школы-конференции, 16–21 сентября 2019 г., Сыктывкар, Россия. Сыктывкар : ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, 2019. С. 259–263. doi: 10.31857/S0006813620010093
51. Слонов Л.Х., Слонов Т.Л., Ханов З.М. Эколого-физиологические особенности лишайников горной системы центральной части Северного Кавказа. Нальчик : Эльбрус, 2009. 155 с.
52. Honegger R. Water relations in lichens // Fungi in the Environment. Cambridge: Cambridge University Press, 2006. P. 185–200.
53. Gauslaa Y., Arsenault A. The cyanolichens *Erioderma pedicellatum* and *Coccocarpia palmicola* need much more than a dewfall to fill their water holding capacity // Flora. 2020. Vol. 269. doi: 10.1016/j.flora.2020.151648
54. Андросова В.И., Суроева Л.Е. Структурно-функциональные особенности доминантного вида лишайника *Hypogymnia physodes* в лесных сообществах Карелии // Ботаника в современном мире : труды XIV съезда Русского ботанического общества и конференции «Ботаника в современном мире» (г. Махачкала, 18–23 июня 2018 г.). Т. 3: Споровые растения. Микология. Структурная ботаника. Физиология и биохимия растений. Эмбриология растений. Махачкала : АЛЕФ, 2018. С. 11–13.
55. Андросова В.И., Чирва О.В., Игнатенко Р.В. Параметры водного режима талломов лишайника лобария легочная (*Lobaria pulmonaria*) лесных сообществ южной Каре-

лии // Экология и эволюция: новые горизонты: материалы международного симпозиума, посвященного 100-летию академика С. С. Шварца (1–5 апреля, 2019, г. Екатеринбург). Екатеринбург : Гуманитарный университет, 2019. С. 215–217.

References

1. Henskens FL, Green TGA, Wilkins A. Cyanolichens can have both cyanobacteria and green algae in a common layer as major contributors to photosynthesis. *Annals of Botany*. 2012;110(3):555-563. doi: 10.1093/aob/mcs108
2. Forman RTT. Canopy lichens with blue-green algae – nitrogen source in a Colombian rainforest. *Ecology*. 1975;56:1176-1184. doi: 10.2307/1936157
3. Green TGA, Horstmann T, Bonnett H, Wilkins A, Silvester W. Nitrogen fixation by members of the *Stictaceae* (*Lichenes*) of New Zealand. *New Phytologist*. 1980;84(2):339-348. doi: 10.1111/j.1469-8137.1980.tb04434.x
4. Antoine M.E. An ecophysiological approach to quantifying nitrogen fixation by *Lobaria oregana*. *Bryologist*. 2004;107(1):82-87. doi: 10.1639/0007-2745(2004)107[82:AEA TQN]2.0.CO;2
5. Golovko TK, Dymova OV, Tabalenkova GN, Pystina TN. Photosynthetic pigments in the thalli of lichens of boreal flora // *Theoretical and Applied Ecology*. 2015;4:38-44. doi: 10.25750/1995-4301-2015-4-038-044 In Russian, English Summary
6. Lesica P, McCune B, Cooper SV, Hong WS. Differences in lichen and bryophyte communities between old-growth and managed second-growth forests in the Swan Valley, Montana. *Canadian Journal of Botany*. 1991;69(8):1745-1755. doi: 10.1139/b91-222
7. Nash III TH. Lichen biology. Cambridge University Press, 1996. 303 p.
8. Mikhailova I, Trubina M, Vorobeichik E, Scheidegger C. Influence of environmental factors on the local-scale distribution of cyanobacterial lichens: case study in the North Urals, Russia. *Folia Cryptogamica Estonica*. 2005;41:45-54.
9. Ellis CJ, Coppins BJ. Contrasting functional traits maintain lichen epiphyte diversity in response to climate and autogenic succession. *Journal of Biogeography*. 2006;33(9):1643-1656. doi: 10.1111/j.1365-2699.2006.01522.x
10. Fedrowitz K, Kuusinen M, Snäll T. Metapopulation dynamics and future persistence of epiphytic cyanolichens in a European boreal forest ecosystem. *Journal of Applied Ecology*. 2012;49(2):493-502. doi: 10.1111/j.1365-2664.2012.02113.x
11. Rikkinen J. Cyanolichens. *Biodiversity and Conservation*. 2015;24:973-993. doi: 10.1007/s10531-015-0906-8
12. Belnap J. Factors influencing nitrogen fixation and nitrogen release in biological soil crusts. In: *Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management*. Belnap J, Lange OL, editors. Berlin: Springer-Verlag, 2001. pp. 241-261. doi: 10.1007/978-3-642-56475-8_19
13. Liu Y-R, Delgado-Baquerizo M, Trivedi P, He J-Z, Wang J-T, Singh BK. Identity of biocrust species and microbial communities drive the response of soil multifunctionality to simulated global change. *Soil Biology and Biochemistry*. 2017;107:208-217. doi: 10.1016/j.soilbio.2016.12.003
14. Wijayawardene NN, Hyde KD, Al-Ani LKT, Tedersoo L, Haelewaters D, Rajeshkumar KC et al. Outline of fungi and fungus-like taxa. *Mycosphere*. 2020;11(1):1060-1456. doi: 10.5943/mycosphere/11/1/8
15. Vitikainen O. *Peltigeraceae*. In: *Nordic Lichen Flora*. Vol. 3. Ahti T, Jørgensen PM, Krisninson H, Moberg R, Söchting U, Thor G, editors. Uddevalla; 2007. pp. 113–131.
16. Cansaran-Duman D, Altunkaynak E, Aslan A, Büyük İ, Aras S. Application of molecular markers to detect DNA damage caused by environmental pollutants in lichen species. *Genetics and Molecular Research*. 2015;14:4637-4650. doi: 10.4238/2015.May.4.23
17. Leisner JMR, Bilger W, Czygan F-C, Llange OL. Light exposure and the composition of lipophilous carotenoids in cyanobacterial lichens. *Journal of Plant Physiology*. 1994;143(4-5):514-519. doi: 10.1016/S0176-1617(11)81815-8

18. Solhaug KA, Xie L, Gauslaa Y. Unequal allocation of excitation energy between photosystem II and I reduces cyanolichen photosynthesis in blue light. *Plant and Cell Physiology*. 2014;55(8):1404-1414. doi: 10.1093/pcp/pcu065
19. Cassar N, Bellenger J-P, Jackson RB, Karr JD, Barnett B. N₂ fixation estimates in real-time by cavity ring-down laser absorption spectroscopy. *Oecologia*. 2012;168:335-342. doi: 10.1007/s00442-011-2105-y
20. Nardini A, Marchetto A, Tretiach M. Water relation parameters of six *Peltigera* species correlate with their habitat preferences. *Fungal Ecology*. 2013;6(5):397-407. doi: 10.1016/j.funeco.2013.05.004
21. Paoli L, Guttová A, Sorbo S, Grassi A, Lackovičová A, Basile A, Senko D, Loppi S. Vitality of the cyanolichen *Peltigera praetextata* exposed around a cement plant (SW Slovakia): A comparison with green algal lichens. *Biologia*. 2016;71(3):272-280. doi: 10.1515/biolog-2016-0059
22. Mikhailova IN. Analiz subpopulyatsionnykh struktur epifitnykh lishaynikov (na primere *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.) [Analysis of subpopulation structures of epiphytic lichens (on the example of *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm.)]. *Vestnik of Lobachevsky University of Nizhni Novgorod*. 2005;1:124-134. In Russian
23. Suetina YG, Glotov NV. Ontogeny and morphogenesis of the fruticose lichen *Usnea florida* (L.) Weber ex F.H. Wigg. *Russian Journal of Developmental Biology*. 2010;41:24-31. doi: 10.1134/S1062360410010030
24. Ignatenko RV, Tarasova VN, Markovskaya EF. *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. lichen ontogenesis in plant communities of the boreal zone. *Russian Journal of Developmental Biology*. 2020;51(2):132-142. doi: 10.31857/S0475145020020044. In Russian, English Summary
25. Granovitch AI, Ostrovsky AN, Dobrovolsky AA. Morphoprocess and life cycles of organisms. *Zhurnal Obshchei Biologii – Journal of General Biology*. 2010;71(6):514-522. In Russian, English Summary
26. Spribille T. Relative symbiont input and the lichen symbiotic outcome. *Current Opinion in Plant Biology*. 2018;44:57-63. doi: 10.1016/j.pbi.2018.02.007
27. Ignatenko RV. *Ekologiya lishaynika Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. v rastitel'nykh soobshchestvakh Karelii. Dis. ... kand. biol. nauk. [Ecology of the lichen *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. in plant communities of Karelia. CandSci. Dissertation, Ecology (in Biology)] St. Petersburg: Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences; 2017. 220 p. In Russian
28. Andreeva EN, Bakkal IYu, Gorshkov VV, Lyanguzova IV, Maznaya EA, Neshataev VYu, Neshataeva VYu, Stavrova NI, Yarmishko VT, Yarmishko MA. *Metody izucheniya lesnykh soobshchestv* [Methods for studying forest communities]. St. Petersburg: Saint Petersburg State University Publ.; 2002. 240 p. In Russian
29. Suetina YG. Ontogenez i populyatsionnaya struktura *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. v razlichnykh ekologicheskikh usloviyakh [Ontogenesis and population structure of *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. in various environmental conditions]. *Russian Journal of Ecology*. 2001;3:203-208. In Russian
30. Oxner AN. Opredelitel' lishaynikov SSSR. Morfologiya, sistematika i geograficheskoe rasprostranenie [Key to lichens of the USSR. Morphology, taxonomy and geographical distribution]. 2nd ed. Leningrad: Nauka; 1974. 283 p. In Russian
31. Suetina YG, Glotov NV. Population ontogenetic studies of epiphytic lichens. In: *Teoreticheskie problemy ekologii i evolyutsii: Shestye Lyubishchevskie chteniya, 11-y Vserossiyskiy populyatsionnyy seminar i Vserossiyskiy seminar "Gomeosticheskie mekhanizmy biologicheskikh sistem" s obshchey temoy "Problemy populyatsionnoy ekologii" (Tolyatti, 6–10 aprelya 2015 g.)* [Theoretical problems of ecology and evolution: the Sixth Lyubishchev's Readings, the 11th All-Russian Population Seminar and the All-Russian Seminar "Homeostatic Mechanisms of Biological Systems" with the general theme "Problems of Population Ecology" (Tolyatti, Russia, 6-10 April, 2015)]. Rozenberg GS, editor. Tolyatti: Kassandra Publ.; 2015. pp. 288-292. In Russian

32. Stocker-Wörgötter E. Thallus formation of two cyanobacterial lichens: *Peltigera didactyla* and *Peltigera praetextata*, under laboratory conditions. *Bulletin de la Société Botanique de France, Lettres Botaniques*. 1991;138(3):179-187. doi: 10.1080/01811797.1991.10824920
33. Wintermans JFGM, De Motts A. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their phenophytins in ethanol. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biophysics including Photosynthesis*. 1965;109:448-453. doi: 10.1016/0926-6585(65)90170-6
34. Gauslaa Y, Coxson DS. Interspecific and intraspecific variations in water storage in epiphytic old forest foliose lichens. *Botany*. 2011;89:787-798. doi: 10.1139/b11-070
35. Ivanter EV, Korosov AV. Vvedenie v kolichestvennyu biologiyu [Introduction to Quantitative Biology]. Petrozavodsk: Petrozavodsk State University Publ.; 2011. 302 p. In Russian
36. Stocker-Wörgötter E, Türk R. Artificial resynthesis of thalli of the cyanobacterial lichen *Peltigera praetextata* under laboratory conditions. *The Lichenologist*. 1991;23(2):127-138. doi: 10.1017/S0024282991000294
37. Schuster G, Ott S, Jahns HM. Artificial cultures of lichens in the natural environment. *The Lichenologist*. 1985;17(3):247-253. doi: 10.1017/S0024282985000317
38. Hilmo O, Ott S. Juvenile development of the cyanolichen *Lobaria scrobiculata* and the green algal lichens *Platismatia glauca* and *Platismatia norvegica* in a boreal *Picea abies* forest. *Plant Biology*. 2002;4:273-280. doi: 10.1055/s-2002-25734
39. Tolpysheva TYu, Shishkonakova EA. Lishayniki prirodnogo parka "Numto". Kratkiy opredelitel' [Lichens of the Nature Park "Numto". A short key]. "Prirodnyy park "Numto" Publ.; 2018. 187 p. In Russian
40. Stocker-Wörgötter E, Türk R. Artificial cultures of the cyanobacterial lichen *Peltigera didactyla* (*Peltigeraceae*) in the natural environment. *Plant Systematics and Evolution*. 1989;165:39-48. doi: 10.1007/BF00936033
41. Bellemère A, Letrouit-Galinou MA. Asci, Ascospores, and Ascomata. In: *CRC Handbook of Lichenology: Volume 1*. Boca Raton: CRC Press, Inc.; 1988. pp. 161-179.
42. Beckett RP, Solhaug KA, Gauslaa Y, Minibayeva FV. Improved photoprotection in melanized lichens is a result of fungal solar radiation screening rather than photobiont acclimation. *The Lichenologist*. 2019;51(5):483-491. doi: 10.1017/S0024282919000276
43. Rassabina AE, Gurjanov OP, Beckett RP, Minibayeva FV. Melanin from the Lichens *Cetraria islandica* and *Pseudevernia furfuracea*: Structural Features and Physicochemical Properties. *Biochemistry (Moscow)*. 2020;85(5):623-628. doi: 10.1134/S0006297920050119
44. Hill DJ. Lobe growth in lichen thalli. *Symbiosis*. 1992;12:43-55.
45. Sucharita B, Malleshwar D, Manoharachary C, Mulaikrishna K. Extraction of lecanoric acid from *Parmelia andina* Mull. Arg. & its effect on mitosis in *Allium crepa* L. root tips. *Current Science*. 1983;52:21-22.
46. Sonina AV, Androsova VI, Tsunskaya AA, Suroeva LE. Comparative study of structural and ecophysiological features of lichens of different ecological groups in rocky forest communities of northernmost boreal zone (Karelia, Russia). *Czech Polar Reports*. 2018;8(2):186-197. doi: 10.5817/CPR2018-2-15
47. Androsova VI, Chirva OV. Strukturno-funktsional'nye osobennosti tallomov *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. raznykh ontogeneticheskikh stadiy [Structural and functional features of *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. thalli of different ontogenetic stages]. In: *Ekspерimental'naya biologiya rasteniy: fundamental'nye i prikladnye aspekty: Godichnoe sobranie OFR, nauch. konf. i shkola dlya mol. uch., 18-24 sent. 2017 g., Sudak: sb. mat. dokl.* [Experimental plant biology: fundamental and applied aspects: Annual meeting of the Society of Plant Physiologists, scientific conference and school for young scientists, 18-24 September, 2017, Sudak: collection of reports]. Kuznetsov VV, editor. Moscow: ANO "Tsentr sodeystviya nauchnoy, obrazovatel'noy i prosvetitel'skoy deyatelnosti "Sotsvetie" Publ.; 2017. p. 93. In Russian
48. Sonina AV, Markovskaya EF, Kosobryukhov AA. Funktsional'nye adaptatsii fotosinteticheskogo apparata epilinykh lishaynikov k usloviyam poberezhnyy Belogo i Barentseva morey [Functional adaptations of photosynthetic apparatus of epilithic lichens to condi-

- tions of the White and Barents Seas coasts]. In: *Rasteniya v usloviyakh global'nykh i lokal'nykh prirodno-klimaticheskikh i antropogennykh izmeneniy. Tezisy dokladov Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem i shkoly dlya molodykh uchennykh (21-26 sentyabrya 2015 g.)* [Plants under the conditions of global and local natural-climatic and anthropogenic changes. Abstracts of the All-Russian Scientific Conference with International Participation and School for Young Scientists (21-26 September, 2015)]. Titov AF, editor. Petrozavodsk: Karelian Research Centre of Russian Academy of Sciences Publ.; 2015. p. 502. In Russian
49. Golovko T, Dymova O, Zakhozhiy I, Dalke I, Kokovkina E. Photosynthetic physiology and pigments in *Lobaria pulmonaria* lichen. In: *Photosynthetic pigments - chemical structure, biological function and ecology*. Golovko TK, Gruszeski WI, Prasad MNV, Strzalka K, editors. Syktyvkar: Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 2014. pp. 384-395.
 50. Tabalenkova GN, Dymova OV, Golovko TK. Cyanoprokaryota as a component of lichens of the genus *Peltigera*. In: *Cyanoprokaryota/Cyanobacteria: systematic, ecology, distribution: Proceedings of the 2nd International scientific Conference, September 16-21, 2019, Syktyvkar, Russia*. Patova EN, editor. Syktyvkar: Institute of Biology, Komi Scientific Center, UB RAS; 2019. pp. 259-263. doi: 10.31857/S0006813620010093. In Russian, English Summary
 51. Slonov LH, Slonov TL, Khanov ZM. Ekologo-fiziologicheskie osobennosti lishaynikov gornoy sistemy Tsentral'noy chasti Severnogo Kavkaza [Ecological and physiological features of lichens in the mountain system of the Central part of the North Caucasus]. Nalchik: El'brus Publ.; 2009. 155 p. In Russian
 52. Honegger R. Water relations in lichens. *Fungi in the Environment*. Cambridge: Cambridge University Press; 2006. pp. 185-200.
 53. Gauslaa Y, Arsenault A. The cyanolichens *Erioderma pedicellatum* and *Coccocarpia palmicola* need much more than a dewfall to fill their water holding capacity. *Flora*. 2020;269. doi: 10.1016/j.flora.2020.151648
 54. Androsova VI, Suroeva LE. Structural and functional characteristics of the dominant lichen species *Hypogymnia physodes* in forest communities of Karelia Republic. In: *Botanika v sovremennom mire. Trudy XIV S'ezda Russkogo botanicheskogo obshchestva i konferentsii "Botanika v sovremennom mire" (g. Makhachkala, 18-23 iyunya 2018 g.)*. T. 3: Sporovye rasteniya. Mikologiya. Strukturnaya botanika. Fiziologiya i biokhimiya rasteniy. *Embriologiya rasteniy* [Botany in the modern world. Proceedings of the XIV Congress of the Russian Botanical Society and the conference "Botany in the Modern World" (Makhachkala, 18-23 June, 2018). Vol. 3: Spore plants. Mycology. Structural botany. Physiology and biochemistry of plants. Embryology of plants]. Budantsev LA, editor. Makhachkala: ALEF Publ.; 2018. pp. 11-13. In Russian, English Summary
 55. Androsova VI, Chirva OV, Ignatenko RV. Parameters of water regime of *Lobaria pulmonaria* in boreal forests of southern Karelia. In: *Ecology and Evolution: New Challenges: Proceedings of the International Symposium dedicated to the celebration of 100th anniversary of RAS Academician S. S. Shwartz (April 1-5, 2019, Ekaterinburg, Russia)*. Ekaterinburg: Liberal Arts University - University for Humanities; 2019. pp. 215-217. In Russian, English Summary

Информация об авторах:

Андросова Вера Ивановна – канд. биол. наук, доцент кафедры ботаники и физиологии растений, Институт биологии, экологии и агротехнологий, Петрозаводский государственный университет (Петрозаводск, Россия).

E-mail: vera.androsova28@gmail.com

Виротайнен Павел Алексеевич – магистр магистерской программы «Биология», кафедра генетики и биотехнологии, биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург, Россия).

E-mail: s.pasha98@yandex.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Vera I. Androsova, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of Botany and Plant Physiology, Institute of Biology, Ecology and Agrotechnologies, Petrozavodsk State University (Petrozavodsk, Russian Federation).

E-mail: vera.androsova28@gmail.com

Pavel A. Virolainen, 2nd year master's student, Department of Genetics and Biotechnology, St. Petersburg State University (St. Petersburg, Russian Federation).

E-mail: s.pasha98@yandex.ru

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 18.02.2022;
одобрена после рецензирования 11.08.2022; принята к публикации 03.10.2022.*

*The article was submitted 18.02.2022;
approved after reviewing 11.08.2022; accepted for publication 03.10.2022.*

Original article

UDC 582.57:581.331:502

doi: 10.17223/19988591/58/5

Andromonoecy and Floral Protandry of *Oenanthe aquatica* (Apiaceae)

Vladimir N. Godin^{1,2}, Tatyana V. Arkhipova³, Maria A. Vetlova⁴,
Natalia G. Kuranova⁵

^{1, 3, 4, 5} *Moscow Pedagogical State University, Moscow, Russian Federation*

² *Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation*

^{1, 2} <https://orcid.org/0000-0002-2825-0437>, godinvn@yandex.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-8845-7918>, tata50509@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-3719-1536>, mashoktime@mail.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-2203-1268>, nkuranova@inbox.ru

Summary. The paper studies the synflorescence structure and flowering biology of the biennial monocarpic wetland plant *Oenanthe aquatica*. This species has a set of adaptations to prevent self-pollination, including generation of a pseudanthium, andromonoecy, intra- and interfloral protandry, and a specific sequence of flowering within its umbels. The synflorescence of *O. aquatica* is a panicle of umbels. The size of perfect and male flowers consistently decreases as the order of synflorescence axes grows. The size-related differences between perfect and staminate flowers on axes of the same branching order consist only in the length of their calyx abaxial teeth, corolla diameter, width of abaxial petals, length and width of anthers, and length and height of stylopodium. We have identified two arrangements of staminate flowers in *O. aquatica*: male flowers are located at the periphery or in the center of the umbellets. The share of staminate flowers in umbels increases as an axis order grows. The female phase of flowers on axes of one order occurs simultaneously within entire synflorescences with the male phase of flowers on axes of the next order, which might mean geitonogamy. Perfect flowers live for five to seven days, while staminate flowers function for no more than one day.

The article contains 4 Figures, 2 Tables, 32 References.

Keywords: *Oenanthe aquatica*, synflorescence structure, andromonoecy, flowering sequence, protandry

Funding: The work is carried out in the framework of the State assignment of the Central Siberian Botanical Garden SB RAS № AAAA–A21–121011290026–9

For citation: Godin VN, Arkhipova TV, Vetlova MA, Kuranova NG. Andromonoecy and Floral Protandry of *Oenanthe aquatica* (Apiaceae). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;58:96-112. doi: 10.17223/19988591/58/5

Научная статья

УДК 582.57:581.331:502

doi: 10.17223/19988591/58/5

Андромоноэция и протандрия у *Oenanthe aquatica* (Apiaceae)

Владимир Николаевич Годин^{1,2}, Татьяна Валентиновна Архипова³,
Мария Александровна Ветлова⁴, Наталия Геннадиевна Куранова⁵

^{1, 3, 4, 5} Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия

² Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия

^{1, 2} <https://orcid.org/0000-0002-2825-0437>, godinvn@yandex.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-8845-7918>, tata50509@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-3719-1536>, mashoktime@mail.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-2203-1268>, nkuranova@inbox.ru

Аннотация. Изучена структура синфлоресценции и биология цветения двухлетнего монокарпического водно-болотного растения *Oenanthe aquatica*. Этот вид обладает комплексом приспособлений для предотвращения самоопыления: образование псевданциев, андромоноэция, внутри- и межцветковая протандрия, а также специфическая последовательность цветения зонтиков синфлоресценции. Синфлоресценция *O. aquatica* представляет собой метелку из зонтиков. Размер обоеполых и тычиночных цветков последовательно уменьшается с увеличением порядка осей синфлоресценции. Размерные различия между обоеполыми и тычиночными цветками на оси одного и того же порядка ветвления проявляются только в длине абаксиальных зубцов чашечки, диаметре венчика, ширине абаксиальных лепестков, длине и ширине пыльников, длине и высоте стилоподия. Нами выявлено два варианта расположения тычиночных цветков у *O. aquatica*: по периферии зонтиков или в центре зонтиков. Доля тычиночных цветков в зонтиках увеличивается с увеличением порядка осей. Женская фаза цветения обоеполых цветков на осях одного порядка происходит одновременно с мужской фазой их цветения на осях следующего порядка, что не исключает гейтоногамии. Обоеполые цветки живут от пяти до семи дней, а тычиночные цветки функционируют не более одного дня.

Ключевые слова: *Oenanthe aquatica*; структура синфлоресценции; андромоноэция; последовательность цветения; протандрия

Для цитирования: Godin VN, Arkhipova TV, Vetlova MA, Kuranova NG. *Andromonoecy and Floral Protandry of Oenanthe aquatica* (Apiaceae) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 58. С. 96–112. doi: 10.17223/19988591/58/5

Introduction

The role of synflorescences in plant life consists of three main aspects: attracting pollinators, providing efficient pollination, and maintaining a breeding system [1–3]. A synflorescence is a compound inflorescence, composed of a terminal inflorescence and one or more lateral ones, or a group of inflorescences in a globose or subumbellate arrangement. In Apiaceae, the synflorescence typically consist of compact umbellets aggregated into the umbels. Many species of the Apioideae are self-compatible [4, 5], having the mechanisms to prevent or significantly decrease the risk of self-pollination, both within an individual

flower and within a synflorescence. Such adaptations can be both structural (formation of pseudanthium, different types of flowers) and anthecological (dichogamy, a specific flowering sequence in a synflorescence) [3, 6–12].

In order to attract pollinators, umbellets and umbels in Apiaceae acquire the appearance of a pseudanthium. According to H. F. Froebe and G. Ulrich [13], Apioidae has three different ways of increasing in size of the petals of marginal umbel flowers. Thus, the corolla of the inner flowers is polysymmetric but the corolla of many outer ones becomes monosymmetric.

Synflorescences of many Apioidae include different types of flowers. The most common case is andromonoecy, the presence of perfect and staminate flowers in the same inflorescences [6, 7, 11, 14–16]. According to the surveys of T. Schmitz and R. Claßen-Bockhoff [17], there are at least four types of the arrangement for perfect and staminate flowers in Apioidae:

- The *Anthriscus sylvestris* type: perfect flowers occupy a marginal position in umbellets, where the terminal flower is absent.

- The *Chaerophyllum bulbosum* type is similar to the previous, but there is a terminal perfect flower in umbellets.

- The *Oenanthe silaifolia* type: perfect flowers are only in inner umbellets. In *Echinophora spinosa*-type, the perfect flower is the only terminal flower in the umbellets.

Intrafloral protandry in Apioidae has long been known [6, 18, 19]. In the protandrous flowers, the anthers mature and open earlier than when the stigmas are ready to receive pollen. With a pronounced intrafloral protandry, the transfer of pollen within a flower is possible, but perception of pollen grains by stigma is not. However, not all Apioidae show such pronounced protandry. In some species, the male and female phases within the umbellets and umbels are hardly separated, and within and among umbel orders only partly synchronized. Thus, phase overlaps occur [6, 12].

In many Apioidae, the protandry occurs not only in the individual flowers, but also in entire umbels. In this case, the female stage occurs only when the stamens withered (and often fall off) not only in individual flowers, but also in all flowers of this umbel [6, 18]. The autogamy in such species is completely excluded but the geitonogamy, i.e., the transfer of pollen within one plant, is possible. Geitonogamy can occur if the anthers and stigmas of the nearest flowers come into contact (with a weak protandry), or if the pollen from flowers of an umbel falls on the stigmas of another umbel [6].

The protandry in Apioidae can be pronounced not only in individual umbels, but also in entire synflorescences [3, 12, 18, 20]. It is achieved due to the exact synchronization of the flowering in the umbels within the axes of the same branching order. As much as the lateral branches are synchronized, multicycle dichogamy is transferred to the whole plant. The opening of flowers, the passage and change of the male and female stages is carried out in all umbels on the axes of the same branching order strictly coordinated and simultaneously. Thus, there is a synchronous flowering of umbels on axes of the same order in the entire synflorescence. As a result, each individual appears sequentially and several

times (depending on the degree of branching of the axis system) either in the male or female phase. The bisexual individuals become functionally dioecious and their protandry is an effective means of ensuring strictly cross-pollination between plants in different flowering phases. This flowering sequence is called duodichogamy [21, 22]. The presence of perfect and staminate flowers in Apioideae, in combination with their protandry and a fairly clear distinction between flowering phases in umbels on axes of different branching orders have adaptive value. When staminate flowers open in umbels on axes of higher branching orders, their pollen cannot pollinate flowers in umbels on axes of the previous branching order since the female phase is already completed. Consequently, only xenogamy and outbreeding can be carried out due to the pollen of staminate flowers.

The object of our study is the fineleaf water dropwort (*Oenanthe aquatica* L.), a biennial or perennial, monocarpic or oligocarpic wetland plant with semi-rosette axes. This species has a European-West Asian distribution [23, 24]. *O. aquatica* forms either exclusively perfect flowers, perfect and staminate flowers, or rarely pistillate flowers [6, 20, 25]. Its perfect flowers are protandrous, and during the female phase of umbels on axes of the n -order coincides with the male stage of umbels on axes of the next order [6, 20]. The inconsistency of information about its sexual polymorphism and flowering biology determined the aim of our work to identify the anthecological traits of *Oenanthe aquatica* in the Moscow region. To achieve this goal, we were solving the following tasks:

1. To examine the sexual polymorphism in the synflorescences of fineleaf water dropwort.
2. To identify the structure of umbellets and umbels as well as the architecture of its synflorescence.
3. To study the pollination biology, the flowering sequence of umbellets and umbels in a synflorescence of this species.

Materials and methods

Plant materials. Our observations on the synflorescence architecture and flowering biology in *O. aquatica* have been carried out in 2018–21 in the Moscow region (near the village Pavlovskaya Sloboda, Krasnogorsky district, Russian Federation). The populations of *O. aquatica* was studied in three different sites: swampy meadow (site 1), black alder sparse wetland forest (site 2), floodplain meadow (site 3).

Diagrams of the umbels and the synflorescence in *O. aquatica* were drawn up. Within its main axis, three zones have been distinguished following W. Troll [26]: the zone of inhibition, the flowering zone, and terminal internode below the terminal umbel (Fig. 1).

Analysis of morphological traits. The materials for the morphology of perfect and staminate flowers in umbels on axes of different orders was carried out during the entire flowering period of *O. aquatica* from late July to early August 2021.

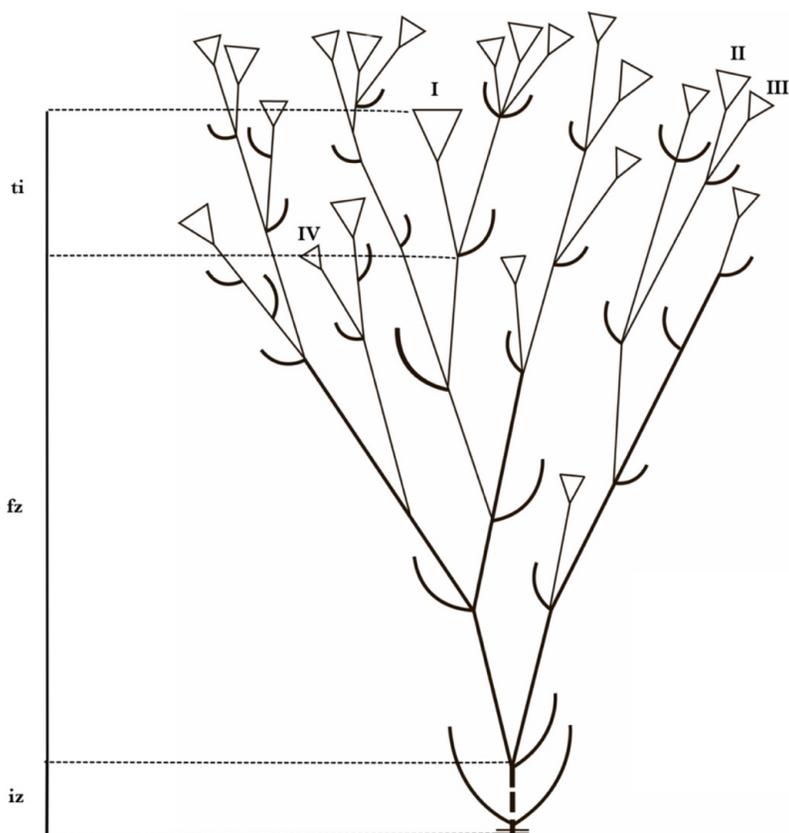


Fig. 1. Structural and functional zones of monocarpic axes in *O. aquatica*.
 Symbols: iz – zone of inhibition, fz – flowering zone, ti – main inflorescence.
 I – a terminal umbel, II – an umbel on axis of order II, III – an umbel on axis of order III,
 IV – an umbel on axis of order IV

As perfect flowers are characterized by marked protandry (separation of the time of functioning of male and female generative structures within a single flower), it was necessary to collect and fix flowers from the same umbel in different phases of blossoming. For that, the first collection of flowers from any umbel was carried out during its male phase when the stamens function in the flowers. The second collection of flowers from the same umbel was carried out in the female phase when the stamens are already completely absent in the flowers and the female generative organs reach their definitive size. Flowers in different flowering phases of umbels were fixed in 70 % ethanol. From each umbel, 50 flowers were collected in different flowering phases. The same was done with flowers in umbels on axes of different orders (I–IV) within each plant. As a result, flowers from 20 plants in the population were included in our analysis.

In all three sites, from late July to early August in 2021, when the vast majority of flowers and umbels had faded on different individuals, we studied the ratio of plants with different degrees branching. For that, the flowers and umbels at

least in 100 flowering plants have been examined along a transect of 1 m wide. counted. In each plant, the number of umbels on axes of II–IV branching orders was counted. In each site, 10 plants were randomly selected from the transect, differing in the degree branching, to study the parameters of umbels. Eight traits were estimated in each umbel: the umbel diameter, the length of all rays of the umbels, the number of umbellets in the umbels, the diameters of each umbellet, the lengths of pedicels of all flowers of umbellets, the total number of flowers in each umbellet, and the proportion of staminate flowers. Furthermore, the obtained data was averaged depending on the position of the umbels in synflorescence and the degree of branching of the axis system of plants to obtain a generalized characteristic of umbels and umbellets in *O. aquatica*.

The morphological traits of 100 perfect flowers in terminal umbels, 200 perfect flowers in umbels on axes of the second and third order and 300 staminate flowers in the umbels on axes of the second, third, and fourth orders of branching per 20 different individuals were analyzed. The following morphological traits of the *O. aquatica* flowers were measured: length and width of abaxial calyx teeth, length and width of adaxial calyx teeth, the corolla diameter, length and width of abaxial petals, length and width of transversal petals, length and width of adaxial petals, the stamen length, length and width of anthers, length and height of abaxial stylopodium, the ovary length, the style length, and the stigma diameter. The measurements were carried out using a Biomed MS-1 stereoscopic microscope with an eyepiece micrometer at a magnification of 20 or 40, depending on the value of the measured characters.

Morphology and fertility of pollen grains of perfect and staminate flowers in umbels on axes of different orders have been studied. For this, the same fixed material was used as in the study of the size of flowers separately for each type of flower and the position of the umbel in the synflorescence of a plant. Using a Biomed-5 microscope at a magnification of 16x10, the lengths of polar axis and equatorial diameter of pollen grains were measured. In total, we studied pollen of 100 perfect flowers in terminal umbels, 200 perfect flowers in umbels on axes of the second and third order of branching and 300 staminate flowers in umbels on axes of the second, third, and fourth orders of branching in 20 different individuals. Subsequently, the obtained data were averaged over flower types and their positions in umbels on axes of different orders. To determine the degree of pollen fertility, temporary preparations were stained with acetocarmine and the numbers of fertile and sterile pollen grains was counted in 20 fields of view at a magnification of 16x10.

Flowering biology. Flowering biology of *O. aquatica* has been examined while the mass blooming. Five plants of *O. aquatica* were labeled prior to their flowering in the budding phase of the flowers in the terminal umbel. The following algorithm was used to study the flowering sequence of both individual flowers and umbellets and umbels and the entire synflorescence. From the beginning of the opening of the first flowers, the flowering phase was noted every day, depending on their sexual status and the location in umbellets of the terminal umbel. The same was done to examine the flowering in umbels on axes of higher orders. In the perfect flowers, the developmental phases were noted from the buds to the postanthetic

phase. In staminate flowers, the developmental phases were noted until the end of the male stage when stamens dry out and fall off. The duration of the staminate phase was determined from the moment of the opening of the anthers of the very first stamens to the appearance of dried stamens. The readiness of stigma for receiving pollen was determined using Robinsohn's method with incubation in a weak solution of potassium permanganate [27]: immature stigmas are not stained by this reagent whereas the mature ones are stained brown.

Statistical analysis. All obtained morphometric data was processed by the variation statistics methods using parameters such as the mean (M) and its standard error (m) [28]. Comparison of the arithmetic means of perfect and staminate flowers was carried out using the Student's t-test. Analysis was carried out by Microsoft Excel for Mac (version 16.63.1).

Results

Flower morphology. Perfect flowers are actinomorphic (the inner flowers in umbellets) or zygomorphic (the outer flowers in umbellets), epigynous. The perianth and androecium are pentamerous. Calyx teeth are lanceolate, finely pointed, retained and enlarged as the fruit ripens. The abaxial teeth are larger than the adaxial ones (Table 1). The petals are white, free, flat, obovate, deeply notched at the apex, and have an inwardly curved segment. The petals of the outer and part of the inner flowers in umbellets differ in size: there is an increase in the entire abaxial petals and the adjoining halves of two adjacent transversal petals.

Five stamens are alternating with the petals. Anthers with two pollen locules are attached dorsally to the filament, oblong, open longitudinally. The filaments thin, long, of the same length in all stamens.

Pollen grains are 3-tricolporate, mostly ellipsoidal, rounded-triangular in outline from the pole. The lengths of polar axes vary from 27.2 to 27.4 μm ; their equatorial diameter varies from 14.3 to 14.6 μm . Pollen grains have a high fertility (94.1–95.6%).

Gynoecium is syncarpous, ovary is inferior, bilocular. Styles are two, free, sticking up. The stylopodia are conical, develop in the upper part of the carpels at the base of the styles and function as nectaries. Abaxial and adaxial stylopodia differ in size. The former is larger ($t > 4.158$, $p < 0.000$).

No differences between perfect and staminate flowers in the structure of perianth, androecium and pollen grains were found. In staminate flowers, the ovaries are completely absent and their stylopodia are much smaller than in perfect ones. However, the two sexual types of flowers differ in a number of parameters of the perianth, androecium, and gynoecium.

Differences in size and arrangement between perfect and staminate flowers. Perfect flowers are formed in umbels on axes of orders I–III, while only staminate flowers produce in umbels on axes of order IV. The sizes of perfect flowers parts depend on their position in the synflorescence (Table 1), however, the differences are not always significant. Instead, the size of pollen and their fertility do not depend on the location of perfect flowers on axes of different orders. However, the most significant changes in the size of perfect flowers are observed between umbels on axes of II and III orders.

Table 1

**Morphological parameters of perfect (n = 300) and staminate (n = 300) flowers
in umbels on axes of different order in *Oenanthe aquatic***

Signs	Flower	Terminal umbel	Umbels on axes II order	Umbels on axes III order	Umbels on axes IV order
Length of abaxial teeth of calyx, mm	p	1.1±0.08	0.9±0.08	0.8±0.02	–
	s	–	0.7±0.06	0.6±0.07	0.6±0.02
Width of abaxial teeth of calyx, mm	p	0.3±0.01	0.2±0.02	0.2±0.03	–
	s	–	0.2±0.01	0.2±0.01	0.1±0.01
Length of adaxial teeth of calyx, mm	p	0.6±0.02	0.6±0.02	0.5±0.05	–
	s	–	0.5±0.03	0.4±0.04	0.3±0.03
Width of adaxial teeth of calyx, mm	p	0.1±0.01	0.1±0.01	0.1±0.01	–
	s	–	0.1±0.01	0.1±0.01	0.1±0.01
Diameter of corolla, mm	p	3.5±0.11	3.4±0.15	2.9±0.12	–
	s	–	3.0±0.12	2.9±0.09	2.6±0.09
Length of abaxial petals, mm	p	1.7±0.13	1.6±0.08	1.5±0.03	–
	s	–	1.5±0.07	1.4±0.12	1.2±0.07
Width of abaxial petals, mm	p	1.6±0.15	1.4±0.07	1.4±0.04	–
	s	–	1.2±0.08	1.1±0.09	1.1±0.09
Length of transversal petals, mm	p	1.5±0.14	1.4±0.09	1.3±0.05	–
	s	–	1.3±0.08	1.2±0.10	1.1±0.03
Width of transversal petals, mm	p	1.4±0.06	1.4±0.12	1.2±0.06	–
	s	–	1.1±0.10	1.0±0.07	0.9±0.03
Length of adaxial petals, mm	p	1.2±0.08	1.1±0.03	1.0±0.06	–
	s	–	1.0±0.03	1.0±0.03	1.0±0.03
Width of adaxial petals, mm	p	1.2±0.05	0.9±0.04	0.9±0.03	–
	s	–	0.9±0.04	0.9±0.07	0.8±0.06
Stamen length, mm	p	1.7±0.06	1.5±0.10	1.2±0.10	–
	s	–	1.2±0.11	1.0±0.03	0.9±0.02
Anther length, mm	p	0.7±0.01	0.5±0.01	0.4±0.01	–
	s	–	0.4±0.01	0.4±0.01	0.4±0.01
Anther width, mm	p	0.4±0.01	0.4±0.01	0.4±0.01	–
	s	–	0.4±0.01	0.3±0.01	0.2±0.02
Length of polar axis of pollen grains, μm	p	27.2±0.16	27.3±0.12	27.1±0.16	–
	s	–	27.1±0.18	27.3±0.12	27.3±0.12
Equatorial diameter of pollen grains, μm	p	14.6±0.18	14.4±0.20	14.3±0.19	–
	s	–	14.5±0.19	14.6±0.18	14.7±0.16
Pollen fertility, %	p	95.6±2.4	94.9±1.9	94.1±2.2	–
	s	–	95.8±2.1	95.1±2.0	96.1±1.8
Abaxial stylopodium length, mm	p	0.5±0.01	0.5±0.02	0.4±0.02	–
	s	–	0.4±0.02	0.4±0.01	0.4±0.02
Abaxial stylopodium height, mm	p	0.8±0.03	0.8±0.02	0.6±0.02	–
	s	–	0.7±0.02	0.6±0.01	0.6±0.02
Ovary length, mm	p	1.1±0.02	1.1±0.05	0.5±0.01	–
Style length, mm	p	1.0±0.02	1.0±0.01	0.3±0.03	–
Stigma diameter, mm	p	0.2±0.01	0.2±0.01	0.1±0.01	–

Notes. The data are presented in the format $M \pm m$, where M is the arithmetic mean of the feature, m is its error. Flower types: p – perfect, t – staminate flowers. The sign “–” means the absence of such flowers in umbels.

Staminate flowers are formed in umbels on axes of II–IV branching orders. The sizes of staminate flowers and their parts also depend on the position in the synflorescence (Table 1). However, the size differences of staminate flowers on axes of different orders differs from that considered in perfect flowers. Significant differences between staminate flowers on axes of II and III orders were not revealed for any of the studied traits. There is a decrease in the size of parts of flowers between umbels on axes of II and III branching orders. Staminate flowers on axes of III and IV orders differ significantly in width of adaxial teeth of the calyx, diameter of flower, width of transversal petals, length of stamens, as well as length and width of anthers. Other size parameters of staminate flowers also decrease with an increase in the order of axis branching, however, these differences are not statistically significant.

Our studies show that there are slight differences in the size of flowers and their parts between perfect and staminate flowers located in the same umbel. In umbels on the axes of II order, the following studied parameters of perfect flowers are significantly greater than those of staminate flowers: length of the calyx abaxial teeth, corolla diameter, width of abaxial petals, length and width of anthers, length and height of stylopodium (Table 1). On axes of the third order, the values of a small part of the morphological features of perfect flowers are statistically greater than the similar parameters of staminate flowers: the length of the abaxial and adaxial teeth of the calyx, the width of the abaxial petals, and the width of the anthers. The parameters of pollen grains and pollen fertility do not significantly differ in perfect and staminate flowers.

Synflorescence structure. All studied plant individuals were biennials with orthotropic semirosette monocarpic axes. In *O. aquatica* the flowering axis system is subdivided into three structural and functional zones (Fig. 1): 1) the zone of inhibition (axillary buds here do not generate axes, *sensu* W. Troll [26]) includes six to 10 internodes of the basal part of the axis; 2) flowering zone consists of three to six metamers, with vegetative-generative reiterated axes; 3) the main inflorescence.

The main axis ends with the main inflorescence, a terminal umbel. Lateral vegetative-generative axes of the second order develop in the axils of alternate leaves. They also have a zone of inhibition and end with umbels, thus, they are paracladia of the first order (*sensu* W. Troll [26]). In *O. aquatica* the terminal umbels are usually not dominant and over-topped by axes of higher order.

Two kinds of the synflorescence branching are clearly distinguished in *O. aquatica*. In some plants, the umbels are located on axes of I, II, and III branching orders. Paracladia of the first order in such plants are racemes of umbels. In more branched plants, umbels are formed on axes of I, II, III, and IV branching orders (Table 2). In this case, paracladia of the first order are represented by panicles of umbels. In both variants, the synflorescence can be classified as a panicle of umbels. Different environments affect, however, the incidence of plants with different degrees of synflorescence branching (Fig. 2). In the light sites 1 and 3, the plants with umbels on axes of I–IV branching orders predominate, whereas, the plants with a lesser branching (umbels only on axes of I–III orders) are more common under the forest canopy (site 2).

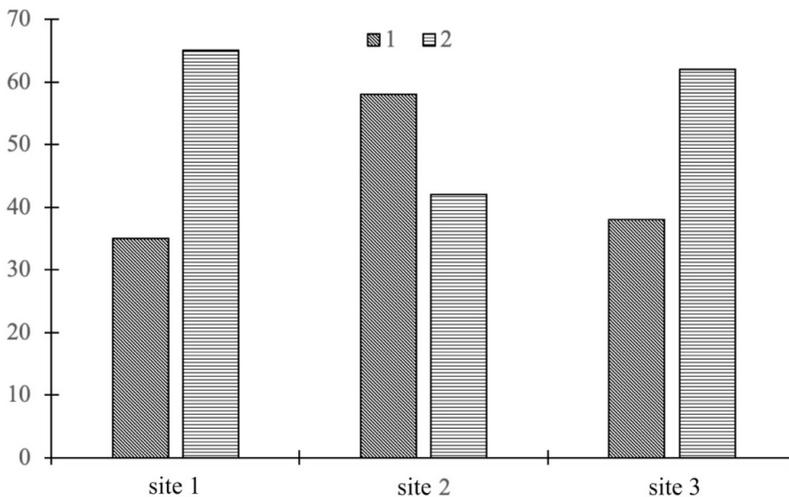


Fig. 2. Incidences of *Oenanthe aquatica* plants with different degree of branching of synflorescences in the plants from the studied sites.

Legend: The X axis, the studied sites of the population (site 1, 2, and 3); the Y axis, the proportion (in %) of plants with umbels on axes of different orders; 1 – plants with umbels on axes of I–III orders, 2 – plants with umbels on axes of I–IV orders.

Table 2

Quantitative parameters (n=20) of umbellets and umbels on axes of different orders in *Oenanthe aquatica*

Sign	Min–max	M±m
Plants with umbels on axes of I–III orders		
Terminal umbels		
Umbel diameter, cm	5.0–5.8	5.4±0.32
Length of rays of umbels, cm	1.3–2.3	1.8±0.21
Number of umbels, pcs.	1	1
Number of umbellets in umbels, pcs.	5–8	6.5±1.13
Diameter of umbellets, cm	1.3–1.5	1.4±0.04
Pedicle length, cm	0.1–0.6	0.34±0.06
Number of flowers in umbellets, pcs.	16–25	20.5±1.82
Portion of staminate flowers in umbellets, %	0	0
Umbels on axes II order		
Umbel diameter, cm	4.4–5.3	4.9±0.22
Length of rays of umbels, cm	1.3–2.5	1.8±1.13
Number of umbels, pcs.	4–9	6.6±0.52
Number of umbellets in umbels, pcs.	10–12	11.0±0.41
Diameter of umbellets, cm	0.7–1.3	1.0±0.12
Pedicle length, cm	0.1–0.4	0.28±0.05
Number of flowers in umbellets, pcs.	12–26	19.9±1.73
Portion of staminate flowers in umbellets, %	0–52.6	15.1±6.51
Umbels on axes III order		
Umbel diameter, cm	2.1–3.2	2.6±0.22
Length of the rays of umbels, cm	0.6–1.2	0.9±0.11
Number of umbels, pcs.	5–18	11.8±1.62
Number of umbellets in an umbel, pcs.	9–12	10.8±0.64

Sign	Min-max	M±m
Diameter of umbellets, cm	0.5–0.8	0.6±0.04
Pediceal length, cm	0.1–0.3	0.18±0.03
Number of flowers in umbellets, pcs.	8–23	14.5±1.71
Portion of staminate flowers in umbellets, %	100	100
Plants with umbels on axes of I–IV orders		
Terminal umbels		
Umbel diameter, cm	5.5–9.0	8.0±0.71
Length of the rays of umbels, cm	1.6–4.5	3.2±0.32
Number of umbels, pcs.	1	1
Number of umbellets in umbels, pcs.	4–8	6.3±0.72
Diameter of umbellets, cm	1.2–1.7	1.4±0.06
Pediceal length, cm	0.2–0.7	0.4±0.06
Number of flowers in umbellets, pcs.	13–35	23.0±2.61
Portion of staminate flowers in umbellets, %	0	0
Umbels on axes II order		
Umbel diameter, cm	7.0–10.0	8.9±0.41
Length of the rays of umbels, cm	1.8–4.3	3.2±0.22
Number of umbels, pcs.	6–10	8.1±0.51
Number of umbellets in an umbel, pcs.	12–16	14.2±0.62
Diameter of a umbellet, cm	0.8–1.8	1.4±0.11
Pediceal length, cm	0.1–0.5	0.3±0.04
Number of flowers in umbellets, pcs.	16–35	26.2±2.01
Portion of staminate flowers in umbellets, %	0.0–38.2	7.1±4.74
Umbels on axes III order		
Umbel diameter, cm	5.4–7.5	6.3±0.41
Length of the rays of umbels, cm	1.3–3.3	2.3±0.22
Number of umbels, pcs.	9–30	21.5±2.61
Number of umbellets in umbels, pcs.	12–18	14.5±0.82
Diameter of umbellets, cm	0.7–1.4	1.1±0.06
Pediceal length, cm	0.1–0.5	0.3±0.05
Number of flowers in umbellets, pcs.	16–33	24.3±1.82
Portion of staminate flowers in umbellets, %	0.0–100.0	71.5±12.13
Umbels on axes IV order		
Umbel diameter, cm	1.1–4.0	2.6±0.52
Length of the rays of umbels, cm	0.3–1.8	0.9±0.11
Number of umbels, pcs.	1–40	18.1±4.42
Number of umbellets in umbels, pcs.	4–14	9.8±1.71
Diameter of umbellets, cm	0.3–1.0	0.6±0.06
Pediceal length, cm	0.1–0.4	0.2±0.02
Number of flowers in umbellets, pcs.	2–23	12.7±2.03
Portion of staminate flowers in umbellets, %	100	100

Notes. min-max is minimum and maximum values of the feature, M is arithmetic mean value of the feature, m is its error.

Quantitative parameters of umbels change with an increase in the order of the axis on plants with umbels on axes of I–III branching orders (Table 2). Dimensional parameters from terminal umbels to umbels on axes of the III order generally decrease. Quantitative parameters behave differently. In the same row, there is a consistent increase in the number of staminate flowers, the proportion of which in umbels on axes of order III reaches 100%.

The quantitative parameters of umbels decrease with an increase in the order of axis on plants with umbels on axes of I–IV branching orders. Some exceptions are found only in the umbels on axes of the second order, which are not statistically different in size from terminal umbels. The most significant differences are observed between umbels on axes of II and III, III and IV branching orders, respectively. With increasing branch order the number of perfect flowers declines and the proportion of male flowers increases leading to completely male umbels in the highest branch order.

There are two positions of staminate flowers in umbellets (Fig. 3): male flowers are located at the periphery of the umbellets or they are located in the centre of the umbellets. Sometimes, umbellets with both arrangements of staminate flowers are found as part of one umbel.

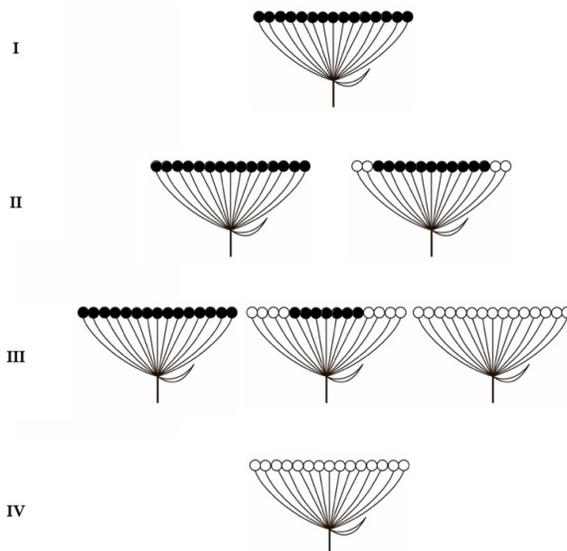


Fig. 3. Distribution of the floral sexual types within the umbellets located on the axes of different orders in the synflorescences of *O. aquatica*.

Symbols: umbellets on axes of I, II, III and IV orders. Black circles are perfect flowers, white circles are staminate flowers

Sequence of flower opening within the umbels. The perfect flowers of *O. aquatica* are characterized by a pronounced protandry, when the anthers mature and exhibit much earlier than the stigmas become receptive. In perfect flowers, the duration of the female phase is longer than the male phase. The female phase lasts from two to three days, while the male one is only one day. The perfect flowers function from five to seven days. The lifespan of the staminate flowers is one day (Fig. 4). In this case, the lifespan of a flower is determined by its position in an umbellet.

The opening of flowers within umbellets and umbels occurs in a certain sequence. Blossom begins with peripheral staminate flowers of marginal umbellets. The next day, peripheral staminate flowers open in almost all umbellets of umbel.

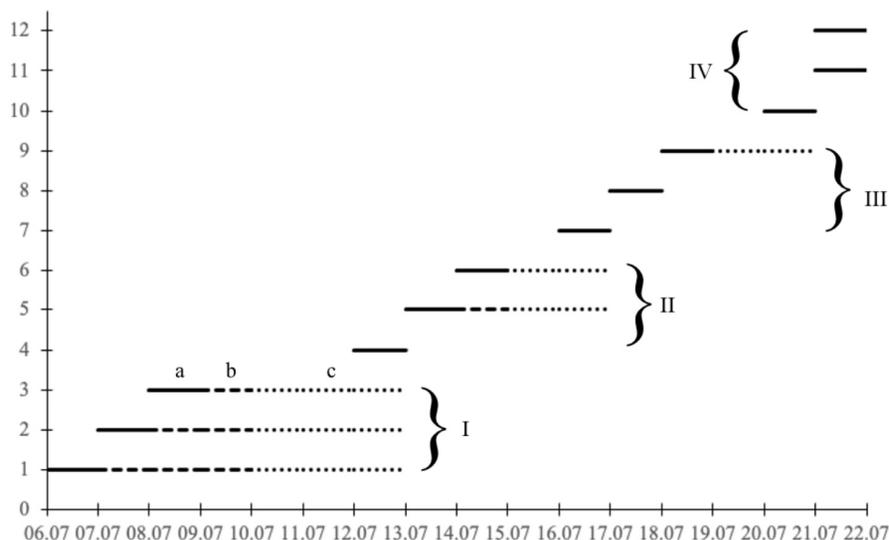


Fig. 4. Flowering time (in 2021) in umbellets and umbels on axes of different orders. Marginal perfect (1), median perfect (2) and central perfect flowers (3) of umbellets on the main axis (I), marginal staminate (4), median perfect (5) and central perfect (6) on axes II order, marginal staminate (7), median staminate (8) and central perfect (9) flowers on axes of order III, marginal (10), median (11) and central (12) staminate flowers on axes of order IV. I – a terminal umbel, II – an umbel on axis of order II, III – an umbel on axis of order III, IV – an umbel on axis of order IV. a – male phase, b – sterile phase, c – female phase

Thus, in marginal umbellets, the male stage as a whole usually takes about four days. At the beginning of flowering of the middle and central perfect flowers of the central umbellets, the perfect flowers of the peripheral umbellets are already in the sterile phase, when their androecium has completely finished to function. On the fifth day, the marginal and central perfect flowers shift simultaneously to the female phase. Similar processes take place in all umbellets of an umbel; flowering sequence is acropetal (starting from the proximal branches). Therefore, such an umbel is entirely in the female stage since the stigmas of the perfect flowers are already ripe to receive pollen. The lifespan of flowers and the sterile phase in perfect flowers shorten toward the center of the umbel. The female phase occurs synchronously not only in all perfect flowers in umbellets, but in all perfect flowers of an umbel (Fig. 4). Therefore, from now on, all flowers in the umbel are in the female phase and can capture pollen for pollination and seed setting.

The opening of flowers in umbellets and umbels on axes of higher orders occurs in a similar way (Fig. 4). The staminate phase in umbellets and umbels on axes of the second order coincides with the female phase in umbellets of the terminal umbel (Fig. 4). In turn, the female phase in umbellets and umbels on axes of the second order coincides with the male phase in umbellets and umbels on axes of the third order. Similarly, flowers bloom on axes of III and IV orders.

Discussion

Our studies discovered a set of adaptations in *O. aquatica* that can reduce the probability of self-pollination and promote cross-pollination. Such adaptations include the presence of two sexual types of flowers, intrafloral and interfloral protandry, and a specific sequence of flowering of umbels in synflorescence. Thus, these adaptations involve four different architectural levels, i.e. the flower, umbellet, umbel and umbel order.

We confirmed the information [6, 25] that this species, like many other Apiaceae, is characterized by the andromonoecy. We found that the perfect flowers in *O. aquatica* differ from staminate flowers in structural traits. In many Apiaceae, staminate flowers are located in the center of umbellets [6, 12]. That is why they are typically much smaller than marginal perfect flowers. However, in *O. aquatica*, the staminate flowers in umbels occupy the same position as the perfect flowers, marginal in umbellets. The spatial arrangement of staminate flowers determines the almost complete absence of their size differences from perfect flowers. Such spatial arrangement of perfect and staminate flowers is extremely rare among other Apiaceae [3, 6, 12]. According to a few surveys [3, 6], in the genus *Oenanthe* as well as in *Pleurospermum austriacum* male flowers are outers and perfect ones are inners. In many other andromonoecious Apiaceae, there is a size gradient [3, 6–8, 12] within umbellets from larger marginal to central staminate flowers, which is most likely due to a gradient in the availability of plastic substances. Marginal flowers in umbellets get more plastic substances than central flowers.

The presence of petals of various sizes in many flowers in umbellets is the manifestation for the zygomorphy of *O. aquatica* flowers. The zygomorphy of *O. aquatica* flowers is also displayed by spatial arrangement of five stamens and two carpels and the differences in the parameters of the adaxial and abaxial stylopodia. Many Apiaceae have zygomorphic flowers, which is not always associated with enlarged petals at marginal flowers in umbels, but precisely because of the spatial arrangement of parts of the androecium and gynoecium, through which only one plane of symmetry can be drawn [30, 31].

Five patterns floral protandry in temperate Apioideae (“*Libanotis intermedia*”, “*Chaerophyllum prescottii*”, “*Seseli ledebourii*”, “*Laser trilobum*”, and “*Peucedanum lubimenkoanum*”) have been described by A.N. Ponomarev [18]. These five patterns differ in the flowering sequence of umbellets and umbels in the synflorescences. We showed that in *O. aquatica*, the female phase on axes of one order occurs simultaneously with the male phase of flowers on axes of the next order. These are features characteristic of the flowering model “*Chaerophyllum prescottii*” appear. Consequently, even within the entire synflorescence, there is a coincidence of the male and female stages on axes of different orders (Fig. 4), which should not exclude the transfer of pollen between these flowers and the existence of seed setting as a result of geitonogamous pollination.

The presence of staminate flowers in the synflorescence as part of umbels on axes of a high branching order is used to increase the probability of xenogamy [22, 32]. Typically, staminate flowers consist (in whole or in part) of umbels on

axes of sufficiently high branching orders (sometimes starting from the second). This trait in Apiaceae, in combination with interfloral protandry and the differentiation of flowering phases in umbels on axes of different branching orders, acquires an adaptive value [3, 12, 22, 31]. When staminate flowers in umbels open along axes of higher orders, their pollen cannot pollinate flowers on axes of the previous order, so the female phase is already over. Therefore, only cross-pollination can be carried out due to the pollen. In *O. aquatica*, the synchrony of flowering of umbels on axes of the same order, in combination with intrafloral and interfloral protandry, is an advantageous adaptation.

References

1. Barrett SCH. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-selfing paradigm and beyond. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2003;358(1434):991-1004. doi: 10.1098/rstb.2003.1301
2. Harder LD., Jordan CY, Gross WE, Routley MB. Beyond floricentrism: The pollination function of inflorescences. *Plant Species Biology*. 2004;19(3):137-148. doi: 10.1111/j.1442-1984.2004.00110.x
3. Reuther K, Claßen-Bockhoff R. Diversity behind uniformity – inflorescence architecture and flowering sequence in Apiaceae-Apioideae. *Plant Diversity and Evolution*. 2010;128(1-2):181-220. doi: 10.1127/1869-6155/2010/0128-0009
4. Keighery GJ. Reproductive strategies of Western Australian Apiaceae. *Plant Systematics and Evolution*. 1982;140(4):243-250. doi: 10.1007/BF02418895
5. Lindsey AH. Floral phenology patterns and breeding systems in *Thaspium* and *Zizia* (Apiaceae). *Systematic Botany*. 1982;7(1):1-12. doi: 10.2307/2418648
6. Knuth P. Handbuch der Blütenbiologie. Bd II, T. I. Leipzig: Verlag von Wilhelm Engelmann;1898. 696 S. In German
7. Bell CR. Breeding systems and floral biology of the Umbelliferae, or evidence for specialization in unspecialized flowers. In: *The Biology and Chemistry of the Umbelliferae*. Heywood VH, editor. 1971:93-108.
8. Webb CJ. Andromonoecism, protandry, and sexual selection in Umbelliferae. *New Zealand Journal of Botany*. 1981;19(4):335-338. doi: 10.1080/0028825X.1981.10426389
9. Kusnetzova TV. Angiosperm inflorescences and different types of their structural organization. *Flora*. 1988;181(1-2):1-17. doi: 10.1016/S0367-2530(17)30344-4
10. Lloyd DG, Webb CJ. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. I. Dichogamy. *New Zealand Journal of Botany*. 1986;24(1):135-162. doi: 10.1080/0028825X.1986.10409725
11. Schlessman MA. Major events in the evolution of sexual systems in Apiales: ancestral andromonoecy abandoned. *Plant Diversity and Evolution*. 2010;128(1-2):233-245. doi: 10.1127/1869-6155/2010/0128-0011
12. Godin VN, Perkova TV. Flowering biology and sexual polymorphism in the Apiaceae species (Moscow region). *Botanicheskiy Zhurnal = Botanical Journal*. 2017;102(1):35-47. doi: 10.1134/S0006813617010033 In Russian, English Summary
13. Froebe HA, Ulrich G. Pseudanthien bei Umbelliferen. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*. 1978;54(2):175-206. In German, English Summary
14. Godin VN. Analysis of sexual polymorphism of the plant from subclass Rosidae in Siberia. *Contemporary Problems of Ecology*. 2012;5(3):337-342. doi: 10.1134/S1995425512030067
15. Godin VN. Sexual forms and their ecological correlates of flowering plants in Siberia. *Russian Journal of Ecology*. 2017;48(5):433-439. doi: 10.1134/S1067413617050058
16. Godin VN, Dozorova SV, Arkhipova TV. Andromonoecy of *Aegopodium podagraria* (Apiaceae) in Moscow region. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2019;45:47-68. doi: 10.17223/19988591/45/3 In Russian, English Summary

17. Schmitz T, Claßen-Bockhoff R. Patterns of sex distribution in andromonoecious Apiaceae-Apioideae. In: *15. Internationales Symposium Biodiversität & Evolutionsbiologie*. Bochum, 2001. 90. In German
18. Ponomarev AN. Concerning protandry in Umbelliferae. *Doklady Akademii Nauk SSSR*. 1960;135(3):750-752.
19. Koul P, Sharma N, Koul AK. Pollination biology of Apiaceae. *Current Science*. 1993;65(3):219-222.
20. Demyanova EI. In addition to the study of anthecology and sexual polymorphism in Apiaceae of forest-steppe Zauralie. I. About proterandry in Apiaceae. *Bulletin of Perm University. Biology*. 2000;2:53-57. In Russian, English Summary
21. Cruden RW. Temporal dioecism: systematic breadth, associated traits, and temporal patterns. *Botanical Gazette*. 1988;149(1):1-15. doi: 10.1086/337684
22. Endress PK. Structural and temporal modes of heterodichogamy and similar patterns across angiosperms. *Botanical Journal of the Linnean Society* 2020;193(1):5-18. doi: 10.1093/botlinnean/boaa001
23. Plunkett GM, Pimenov MG, Reduron JP, Kljukov EV, van Wyk BE, Ostroumova TA, Henwood MJ, Tilney PM, Spalik K, Watson MF, Lee BY, Pu FD, Webb CJ, Hart JM, Mitchell AD, Muckensturm B. Apiaceae. In: Kadereit J, Bittrich V, editors. *Flowering Plants. Eudicots. The Families and Genera of Vascular Plants*. Vol. 15. Springer, Cham; 2018. pp. 9-206. doi: 10.1007/978-3-319-93605-5_2
24. Petrova SE, Barykina RP. Plasticity of *Oenanthe aquatica* (L.) Poir. life form in the semi-water conditions. *Byulleten Moskovskogo Obshchestva Ispytatelei Prirody. Otdel Biologicheskii*. 2010;115(5):43-49 In Russian, English Summary
25. Hegi G. *Illustrierte Flora von Mittel-Europa*. Bd. 5, T. 1. Munchen: J. F. Lehmann Verlag; 1926. 1562 S. In German
26. Troll W. Die Infloreszenzen: Typologie und Stellung im Aufbau des Vegetationskörpers. Vol. I. Stuttgart: Fischer Verlag; 1964. 615 S. In German
27. Robinsohn I. Die Färbungsreaktion der Narbe, Stigmatochromie, als morpho-biologische Blütenuntersuchungsmethode. *Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften in Wien mathematisch-naturwissenschaftlichen Klasse*. 1924;133:181-211. In German
28. Sokal RR, Rohlf FJ. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. New York: W. H. Freeman and Co; 2012. 937 p.
29. Schulz A. Beiträge zur Kenntnis der Bestäubungseinrichtungen und Geschlechtsverteilung bei den Pflanzen. *Bibliotheca Botanica*. 1890;3(17):1-224. In German
30. Nuraliev MS, Sokoloff DD, Karpunina PV, Oskolski AA. Patterns of Diversity of Floral Symmetry in Angiosperms: A Case Study of the Order Apiales. *Symmetry*. 2019;11(4):473. doi: 10.3390/sym11040473
31. Ajani Y, Bull-Hereñu K, Claßen-Bockhoff R. Patterns of flower development in Apiaceae-Apioideae. *Flora*. 2016;221:38-45. doi: 10.1016/j.flora.2016.02.004
32. Sun S, Verdú M. Evolutionary correlation of heterodichogamy and floral longevity. *Evolutionary Ecology*. 2016;30(6):1023-1030. doi: 10.1007/s10682-016-9865-0

Information about the authors:

Vladimir N. Godin, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Department of Botany, Institute of Biology and Chemistry, Moscow State Pedagogical University (Moscow, Russian Federation); Leading Researcher, Laboratory of Population Biology and Biomorphology, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russian Federation).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2825-0437>

E-mail: godinvn@yandex.ru

Tatyana V. Arkhipova, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Department of Botany, Institute of Biology and Chemistry, Moscow State Pedagogical University (Moscow, Russian Federation).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-8845-7918>

E-mail: tata50509@mail.ru

Maria A. Vetlova, Student, Department of Botany, Institute of Biology and Chemistry, Moscow State Pedagogical University (Moscow, Russian Federation).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3719-1536>

E-mail: mashoktime@mail.ru

Natalia G. Kuranova, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Department of Botany, Institute of Biology and Chemistry, Moscow State Pedagogical University (Moscow, Russian Federation).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2203-1268>

E-mail: nkuranova@inbox.ru

The Authors declare no conflict of interest.

Информация об авторах:

Годин Владимир Николаевич – д-р биол. наук, профессор кафедры ботаники Института биологии и химии, Московский педагогический государственный университет (Москва, Россия); ведущий научный сотрудник лаборатории популяционной биологии и биоморфологии, Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (Новосибирск, Россия).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2825-0437>

E-mail: godinvn@yandex.ru

Архипова Татьяна Валентиновна – канд. с.-х. наук, доцент кафедры ботаники Института биологии и химии, Московский педагогический государственный университет (Москва, Россия).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-8845-7918>

E-mail: tata50509@mail.ru

Ветлова Мария Александровна – студентка, кафедра ботаники Института биологии и химии, Московский педагогический государственный университет (Москва, Россия).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3719-1536>

E-mail: mashoktime@mail.ru

Куранова Наталия Геннадиевна – канд. биол. наук, доцент кафедры ботаники Института биологии и химии, Московский педагогический государственный университет (Москва, Россия).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2203-1268>

E-mail: nkuranova@inbox.ru

*The article was submitted 25.03.2022;
approved after reviewing 31.07.2022; accepted for publication 03.10.2022.*

*Статья поступила в редакцию 25.03.2022;
одобрена после рецензирования 31.07.2022; принята к публикации 03.10.2022.*

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

Научная статья

УДК 575.222.7:577.2

doi: 10.17223/19988591/58/6

Особенности мужского мейоза на примере четырех сортов овса посевного (*Avena sativa* L.), возделываемых в условиях Центральной Якутии

Лидия Владимировна Петрова¹, Юрий Владимирович Сидорчук²

¹ *Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова, Якутск, Россия, pelidia@yandex.ru*

² *Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, sidorch@bionet.nsc.ru*

Аннотация. Проведена оценка особенностей протекания мужского мейоза – цитологического процесса, лежащего в основе формирования гамет и в значительной степени определяющего дальнейшее формирование полноценного семени, в сложных агроклиматических условиях Центральной Якутии на примере четырех сортов овса посевного ($2n=6x=42$). Установлено, что для большинства микроспороцитов у всех четырех исследуемых сортов овса посевного цитологическая картина мейоза соответствовала консервативному сценарию, характерному для однодольных растений. Показано, что отклонения от общей цитологической картины мейоза однодольных выявлялись с различной частотой только в части микроспороцитов на стадии первого деления мейоза. Представлена цитологическая картина выявленных отклонений мужского мейоза среди исследуемых сортов овса посевного. Наиболее часто среди всех выявленных отклонений среди анализируемых сортов овса посевного был представлен пикноз ядер. Обнаружено, что такие отклонения, как цитомиксис, образование мостов и появление неориентированных бивалентов, встречались с различной частотой у всех сортов овса, тогда как несинхронное деление, отставание бивалентов и деструктивный цитомиксис встречались лишь в единичных случаях у отдельных сортов. Установлено, что выявленные нарушения мейоза не оказывали существенного влияния на снижение фертильности пыльцы.

Ключевые слова: овес посевной, *Avena sativa*, цитологический анализ, мейоз, микроспорогенез, цитомиксис

Источник финансирования: исследования проведены в ходе выполнения государственного задания № FWRS-2021-0006.

Для цитирования: Петрова Л.В., Сидорчук Ю.В. Особенности мужского мейоза на примере четырех сортов овса посевного (*Avena sativa* L.), возделываемых в условиях Центральной Якутии // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 58. С. 113–127. doi: 10.17223/19988591/58/6

Original article

doi: 10.17223/19988591/58/6

Male Meiosis Peculiarities of Four Oat (*Avena sativa* L.) Varieties Cultivated in Central Yakutia

Lidia V. Petrova¹, Yuriy V. Sidorchuk²

¹ M.G. Safronov Yakut Scientific Research Institute of Agriculture, Yakutsk, Russian Federation, pelidia@yandex.ru

² The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Novosibirsk, Russian Federation, sidorch@bionet.nsc.ru

Summary. Extreme environmental factors decrease seed setting and form unseeded or thinning panicles. Since meiosis underlies formation of gametes, it largely determines further processes associated with pollination, fertilization and development of a full-fledged seed. In this regard, studies meant to identify the peculiarities of male meiosis for plants cultivated in the severe natural and climatic conditions of Central Yakutia are relevant and of particular interest. The goal of this study was to identify the characteristics of male meiosis in oat (*Avena sativa* L.) varieties adapted to local conditions. We should emphasize that no studies of meiosis in common oats under the conditions of Central Yakutia have been performed earlier.

We used four varieties of common oats (Pokrovsky, Vilensky, Pokrovsky 9, and Khibiny 2) as study material. All the varieties under analysis were hexaploids ($2n = 6x = 42$). The studies were conducted in 2020 at the Pokrovsky Department of Yakut Research Institute of Agriculture, in Khangalassky ulus of the Republic of Sakha (Yakutia) located in the middle taiga zone. The weather and climatic conditions during the growing season were characterized by an insufficient provision of soil with productive moisture at the early phases of grain and forage crop growth and development. To analyze meiosis, we used oat spikelets sampled when they were emerging into the tube. The spikelets were fixed on June 25-27, 2020 in duplicate using Carnoy's solution. We analyzed microsporogenesis and pollen fertility on the temporary squashed preparations of meiocytes using the generally accepted method with 4% acetocarmine staining. The results were statistically processed using Statistica 7.0 (StatSoft, Inc., USA). The samples were compared through one-way ANOVA.

The general cytological picture of meiosis in the oat varieties under study mostly corresponded to the conservative scenario typical of monocotyledonous plants. However, all the oat varieties showed some deviations from the general meiosis pattern. One of such deviations was cytomixis – chromatin migration as part of nuclei between microsporocytes through one or several cytotoxic channels (Fig. 1, 2). As a rule, the phenomenon of cytomixis in microsporocytes was observed at middle prophase I at the pachytene stage (Fig. 1). Nuclei migration was also observed at late prophase I, for example, at the diplotene stage. Chromatin movement between two adjacent microsporocytes clearly correlated with the formation of micronuclei and cytoplasts. Quite often, this process was also accompanied by nuclei pycnosis (Fig. 2). We should note that rarely we observed massive destructive cytomixis in microsporocytes and tapetum cells. When studying common oat cultivars, we also found microsporocytes with separately lying bivalents that were not included in the metaphase plate (Fig. 2), as well as chromosomal bridges (Fig. 2) at the anaphase-telophase I stage. The proportion of microsporocytes with meiotic deviations in all the four cultivars was small (Fig. 3) and varied from 2.99 to 3.23% (Table 1). We found no consequences of the revealed deviations at the tetrad stage. Probably, either most deviations were compensated for by intracellular mechanisms or defective

microsporocytes were excluded from the microsporogenesis and eliminated. Besides, these deviations of meiosis did not significantly decrease pollen fertility (Table 1). The results indicate that the observed deviations of meiosis do not significantly contribute to seed formation in such an important grain fodder crop as common oats in the climatic conditions of Central Yakutia.

The article contains 3 Figures, 2 Tables, 27 References.

Keywords: common oat, *Avena sativa*, cytological analysis, meiosis, microsporogenesis, cytomixis

Funding: The research was carried out in the course of fulfilling the state assignment № FWRS-2021-0006.

For citation: Petrova LV, Sidorchuk YuV. Male Meiosis Peculiarities of Four Oat (*Avena sativa* L.) Varieties Cultivated in Central Yakutia. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;58:113-127. doi: 10.17223/19988591/58/6

Введение

Основой развития земледелия в экстремальных условиях Якутии являются зернофуражные культуры как наиболее приспособленные к условиям местного климата. Климатические особенности этого региона характеризуются коротким вегетационным периодом, недостаточным количеством тепла и влаги в критические фазы вегетации растений, а также близким залеганием многолетней мерзлоты. Из ограниченного набора сельскохозяйственных культур, возделываемых в зоне многолетней мерзлоты на кормовые цели, именно овес является ведущей зернофуражной культурой. Привлекательность этой культуры для развития животноводства в республике обуславливается тем, что имеющиеся площади естественных кормовых угодий малопродуктивны и их использование в качестве кормовой базы весьма ограничено. Решение этой проблемы может быть достигнуто за счет увеличения посевных площадей сортов овса, максимально адаптированных к сложным агроклиматическим условиям возделывания сельскохозяйственных культур в данном регионе [1].

В условиях Центральной Якутии возделываемые сорта овса, в том числе местной селекции, относящиеся к виду *Avena sativa* L., максимально приспособлены к резко континентальному климату, устойчивы к весенней засухе и раннему наступлению заморозков. В связи с приоритетным направлением выращивания овса не только кормового, но и зернового направления использования проблема формирования полноценного семени в этих условиях приобретает особое значение.

Исходя из многолетнего опыта возделывания сортов овса в условиях Центральной Якутии [2], следует отметить, что в некоторые годы наблюдается сильное израстание растений, связанное с формированием дополнительных вегетативных побегов (подгонов), что в значительной степени осложняет уборку и снижает качество зерна у этой культуры. Условия засушливых лет приводят к снижению завязываемости семян и формированию череззерницы или изреженности метелки. Недостаток влаги в период

начала формирования метелки и закладки генеративных органов оказывает негативное воздействие на протекание мейоза, формирование гамет и начало образования полноценной зерновки у овса посевного. Именно в основе формирования зерновки, обусловленной нормальным развитием мужского и женского гаметофитов, заложены потенциальная продуктивность и образование будущих урожаев этой культуры.

Влияние различных факторов внешней среды, в особенности экстремальных, на нормальное протекание мейоза у различных видов растений привлекало внимание многих исследователей [3–7]. Попытки выявления особенностей мейоза у культивируемых сортов, а также у растений в природных популяциях овса в различных климатических условиях предпринимались многими исследовательскими группами [9–12]. Выявлены корреляции между частотами аномалий на различных стадиях мейоза и фертильностью пыльцы среди 12 сортов *Avena sativa* L. местной селекции, культивируемых в южных районах Бразилии [9]. Под воздействием теплового стресса отмечено возрастание мейотических аномалий при формировании микроспороцитов среди исследуемых четырех сортов пшеницы, что коррелировало со значительным снижением завязываемости семян [13]. Воздействие низких температур на развитие мужских генеративных органов у растений, в том числе и на протекание микроспорогенеза, рассмотрено в обзоре [14].

Поскольку процесс мейоза лежит в основе формирования гамет, от него в значительной степени зависят дальнейшие процессы, связанные с опылением, оплодотворением и развитием полноценного семени. В связи с этим исследования, направленные на выявление особенностей мужского мейоза при выращивании растений в сложных природно-климатических условиях Центральной Якутии, являются актуальными и представляют особый интерес. Целью данного исследования послужило выявление особенностей протекания мейоза в пыльниках овса посевного на примере возделываемых в этих условиях четырех сортов овса посевного. Следует подчеркнуть, что ранее исследования особенностей протекания мейоза у овса посевного в сложных агроклиматических условиях Центральной Якутии не проводились.

Материалы и методика исследования

Материалом для исследований послужили четыре сорта овса посевного: Покровский, Виленский, Покровский 9 и Хибини 2, адаптированные к местным условиям Центральной Якутии [2]. Исследуемые сорта включены в Государственный реестр селекционных достижений по Восточно-Сибирскому региону. Все анализируемые сорта относятся к гексаплоидам ($2n=6x=42$).

Исследования проведены в 2020 г. в Покровском подразделении Якутского НИИ сельского хозяйства в условиях Хангаласского улуса Республики Саха (Якутия), расположенного в зоне средней тайги. Учетная площадь питомников конкурсного сортоиспытания 25 м^2 в четырехкратной повторности с рандомизированным методом размещения.

Метеорологические условия 2020 г. в Хангаласском районе Республики Саха (Якутия) по данным метеостанции г. Покровска, по сумме активных температур выше 10 °С составило 1 706,3 °С против 1 565,3 °С средней многолетней нормы, осадков за данный период выпало в 1,5 раза меньше нормы (78,9 мм против 121,0 мм). В целом гидротермический коэффициент составил за 2020 г. 0,46, что ниже нормы почти в 2 раза (ГТК средней многолетней нормы 0,7), поэтому 2020 г. по метеоданным характеризуется как засушливый, а местами сухой, теплый в дневное время суток и прохладный в ночное время суток.

Погодно-климатические условия в вегетационный период 2020 г. характеризовались недостаточным обеспечением почвы продуктивной влагой в ранние фазы роста и развития зерновых и зернофуражных культур. Весенний период 2020 г. характеризовался теплой, относительно солнечной погодой со средней температурой воздуха в мае +8,0 °С, что на 2,6 °С было выше среднемноголетней нормы и небольшим количеством осадков (11,1 мм при норме 20 мм). К моменту фиксации метелок овса для проведения цитологического анализа (последняя декада июня) сохранялась теплая погода (со среднемесячной температурой +20,1 °С, что выше нормы на 3,8 °С и сохранением дефицита осадков – 36 мм при среднемноголетнем показателе в 43 мм).

Для анализа мейоза использовали колоски *Avena sativa* L., собранные в фазе выхода в трубку. Фиксацию проводили 25–27 июня 2020 г. Колоски собирали с 10–12 растений каждого образца в двукратной повторности и помещали в упрощенный фиксатор Карнуа (3 части 96%-ного этанола и 1 часть ледяной уксусной кислоты). Продолжительность фиксации – одни сутки. После фиксации растительный материал дважды промывали 70%-ным этанолом в течение 2–3 ч и хранили в 70%-ном этаноле при 4 °С.

Анализ микроспорогенеза проводили на временных давленных препаратах мейоцитов по общепринятой методике с окрашиванием 4%-ным ацетокармином [15] (Паушева, 1988). Анализировали пыльники 3–5 цветков с растения. Для приготовления препаратов использовали по три пыльника, взятые из каждого цветка. Зафиксированные пыльники помещали на предметное стекло, разрезали их скальпелем поперек и после этого сверху наносили каплю ацетокармина. Окрашивание проводили в течение 5–15 мин и после этого с помощью препаровальных игл из пыльников выдавливали мейоциты. Оболочки пыльников удаляли, мейоциты в капле ацетокармина покрывали сверху покровным стеклом и исследовали на микроскопе Axsioskop 2 plus при увеличении 100×. Микрофотографии делали с помощью фотонасадки AxioCam ERc 5s (Zeiss). Фертильность пыльцы оценивали по соотношению окрашенных и неокрашенных 4%-ным ацетокармином пыльцевых зерен по общепринятой методике [15]. Статистическую обработку результатов проводили при помощи программ Statistica 7.0 («StatSoft. Inc.», США) и Microsoft Excel 2010. Выборки сравнивали методом однофакторного дисперсного анализа (ANOVA).

Результаты и обсуждение

Общая цитологическая картина мейоза для всех четырех исследуемых сортов овса в подавляющем большинстве микроспороцитов соответствовала консервативному сценарию (данные не представлены), характерному для однодольных растений [16]. Это касалось не только цикла ядра и хромосом, но также динамики микротрубочкового цитоскелета и мембран. Однако в части микроспороцитов у всех сортов овса были отмечены некоторые отклонения от общей картины протекания мейоза.

На рис. 1 представлена цитологическая картина отклонений от нормального протекания мейоза (стадия профазы первого деления) у исследуемых сортов овса, связанная с цитомиксисом – перемещением хроматина в составе ядер между клетками по цитомиктическим каналам.

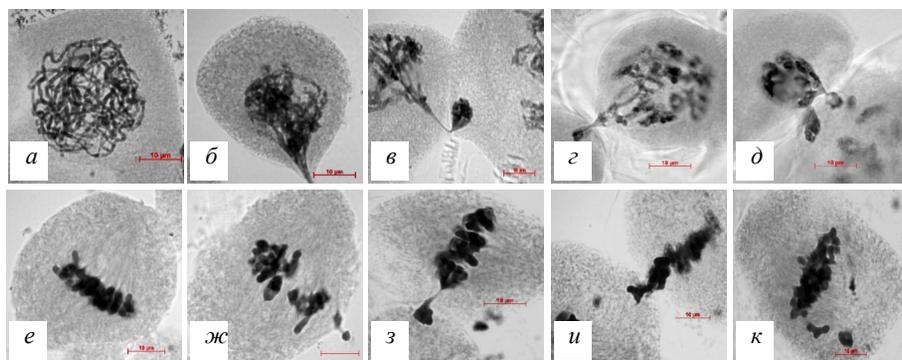


Рис. 1. Цитомиксис в первом делении мейоза у *A. sativa*:

a – средняя профазы I (пахитена) в норме; *б–д* – цитомиксис на стадии средней-поздней профазы I; *e* – метафаза I в норме; *ж–и* – цитомиксис на стадии метафазы I; *к* – отдельно лежащие хромосомы на стадии метафазы I. Масштабная линейка – 10 мкм

[Fig. 1. Cytomixis in the first meiotic division in *A. sativa*:

a – middle prophase I (pachytene) in the normal cells; *b – e* – cytomixis at the stage of middle-late prophase I; *f* – metaphase I in the normal cells; *g – i* – cytomixis at the stage of metaphase I, *j* – separately lying chromosomes at the stage of metaphase I. Scale bar – 10 μm]

Профаза первого деления мейоза является самой длительной стадией мейоза. В норме на этой стадии происходит реорганизация хромосом с формированием зиготенного букета и последующей конденсацией хроматина в средней (рис. 1, *a–в*) и поздней профазе (рис. 1, *з, д*), завершающейся образованием бивалентов. Как правило, явление цитомиксиса в микроспороцитах исследуемых видов овса наблюдалось уже в средней профазе I на стадии пахитены (рис. 1, *б, в*). Начался процесс с вытягивания ядра в сторону цитомиктического канала (рис. 1, *б*). Затем часть ядра вместе с содержащимся в нём хроматином проникала в цитомиктический канал и, соответственно, в соседнюю клетку, формируя в ней микроядро (рис. 1, *в*). Миграцию ядер можно было наблюдать и в поздней профазе I, например, на стадии диплотены (рис. 1, *з*). В результате цитомиксиса клетки оказывались соединены между собой тонким хроматиновым мостом (рис. 1, *в, з*).

Интенсивность перемещения ядер между соседними клетками, т.е. количество мигрирующего хроматина, могла быть очень разной. Чаще всего перемещение происходило по одному цитомиктическому каналу (рис. 1, б-г), но иногда ядра могли перемещаться по двум (рис. 1, д) и более каналам одновременно (рис. 2, а-в).

В норме после дезинтеграции ядерной оболочки наблюдалось построение метафазной пластинки и биполярного веретена деления, состоящего из интерзональных и кинетохорных микротрубочковых пучков (см. рис. 1, е). Интересно отметить, что в незначительной доле клеток цитомиксис обнаруживался на стадии метафазы 1, когда ядерная оболочка уже отсутствует (см. рис. 1, ж-и). В некоторых случаях на стадии метафазы 1 выявлялись клетки, в цитоплазме которых вне зоны метафазной пластинки лежали биваленты, хромосомы или их фрагменты (см. рис. 1, к). Можно предположить, что это последствия цитомиксиса, однако доказать это довольно трудно.

Перемещение хроматина между двумя соседними микроспороцитами по одному или нескольким цитомиктическим каналам четко коррелировало с картиной образования микроядер (рис. 2, а, б).

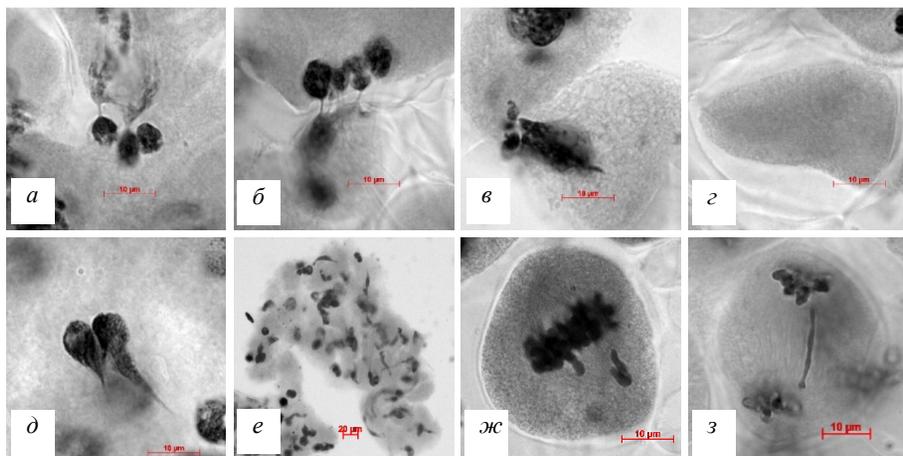


Рис. 2. Нарушения в первом делении мейоза в микроспороцитах и клетках тапетума *A. sativa*: а, б – миграция ядер одновременно по нескольким цитомиктическим каналам на стадии средней-поздней профазы 1, образование микроядер; в – пикноз ядра и цитомиксис на стадии средней-поздней профазы 1; г – цитопласт; д – цитомиксис в клетках тапетума; е – пикноз и массовый цитомиксис в микроспороцитах и клетках тапетума; ж – отставание хромосом в метафазе 1; з – хромосомный мост в поздней анафазе 1. Масштабная линейка – 10 мкм (а-д, ж, з); 20 мкм (е)
 [Fig. 2. Disturbances in the first division of meiosis in microsporocytes and tapetum cells of *A. sativa*. а, b – simultaneous migration of nuclei along several cytomictic channels at the stage of middle-late prophase 1, formation of micronuclei; c – pycnosis of the nucleus and cytomixis at the stage of middle-late prophase 1; d – cytoplasm; e – cytomixis in tapetum cells; f – pycnosis and mass cytomixis in microsporocytes and tapetum cells; g – lagging chromosomes in metaphase 1; h – chromosomal bridge in late anaphase 1. Scale bar - 10 μm (a-e, g, h); 20 μm (e)]

Довольно часто этот процесс также сопровождался уплотнением внутренней структуры ядра – пикнозом ядер (рис. 2, в). Если ядро полностью перемещалось в соседнюю клетку, то можно было наблюдать образование безъядерных микроспороцитов – цитопластов (рис. 2, з). В некоторых пыльниках в цитомиксис могли быть вовлечены ядра клеток тапетума (рис. 2, д), а сам процесс мог приобретать массовый характер, хотя и крайне редко (рис. 2, е).

Среди незначительных отклонений от нормального течения мейоза у исследуемых сортов овса посевного помимо цитомиксиса в мейозе обнаруживались микроспороциты, в цитоплазме которых на стадии метафазы 1 присутствовали отдельно лежащие хромосомы (биваленты или униваленты), не включённые в состав метафазной пластинки (рис. 2, ж). Также встречались клетки, в которых на стадиях анафазы-телофазы мейоза формировались хромосомные мосты (рис. 2, з) и наблюдалось отставание хромосом при расхождении.

Более детальный анализ частот встречаемости выявленных типов нарушений в мейозе овса посевного в зависимости от сортовой принадлежности представлен на гистограмме (рис. 3). Из рисунка видно, что из всех типов нарушений наиболее часто среди всех четырех сортов был представлен пикноз ядер. Такие типы отклонений, как цитомиксис, образование мостов и появление неориентированных бивалентов, встречались с различной частотой также у всех проанализированных сортов, тогда как несинхронное деление, отставание бивалентов и деструктивный цитомиксис были выявлены только в единичных случаях среди отдельных сортов (см. рис. 3).

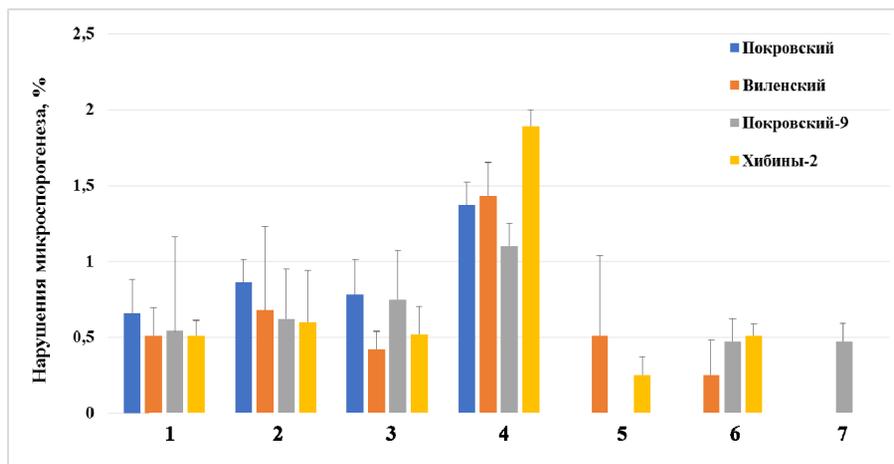


Рис. 3. Гистограмма типов нарушений в микроспороцитах у сортов *A. sativa* L.: 1 – хромосомные мосты; 2 – неориентированные биваленты; 3 – цитомиксис; 4 – пикноз ядер; 5 – отставание бивалентов; 6 – асинхронное деление; 7 – деструктивный цитомиксис

[Fig. 3. Histogram of abnormalities in microsporocytes of *A. sativa* L. varieties. Designations: 1 – chromosomal bridges; 2 – undirected bivalents; 3 – cytomixis; 4 – pycnosis of nuclei; 5 – lagging bivalents; 6 – asynchronous division; 7 – destructive cytomixis]

Следует отметить, что на стадии тетрад никаких последствий выявленных нарушений обнаружено не было. Это свидетельствует о том, что большая часть нарушений либо была скомпенсирована внутриклеточными механизмами, либо дефектные микроспороциты исключались из процесса микроспорогенеза и элимировались. Более того, как показали результаты анализа фертильности пыльцы, выявленные нарушения мейоза не оказывали существенного влияния на снижение этого показателя (табл. 1).

Как показали результаты анализа уровня отклонений от нормального течения микроспорогенеза, доля микроспороцитов с нарушениями мейоза среди всех четырех сортов была небольшой и варьировала в пределах от 2,99 до 3,23% (см. табл. 1). По результатам однофакторного дисперсионного анализа (разложение дисперсии ANOVA), представленным в табл. 1, разница между средними по общему уровню нарушений в мейозе у исследуемых сортов овса посевного не выявлена (НСР, оценка при 5%-ном уровне значимости). Вариабельность по фертильности пыльцы для исследуемых сортов овса составила от 70,7% (Хибины 2) до 81,7% (Виленский). Существенная разница между средними по этому признаку выявлена только для сорта Виленский, тогда как для трех других сортов различия по фертильности пыльцы были незначимы (см. табл. 1).

Таблица 1 [Table 1]

Уровень нарушений в мейозе и фертильность пыльцы у сортов овса посевного (*A. sativa* L.), возделываемых в условиях Центральной Якутии
 [Level of disturbances in meiosis and pollen fertility in varieties of common oat (*A. sativa* L.) cultivated in Central Yakutia]

Сорт	Количество исследованных		% МКП с нарушениями	Количество исследованных		Фертильность, %
	растений	клеток		растений	пыльцевых зерен	
Покровский	11	1 049	3,23	20	1 896	73,2
Виленский	9	860	2,99	20	2 190	81,7
Покровский 9	12	839	3,10	20	2 278	71,2
Хибины 2	13	859	3,19	20	2 167	70,7
НСР ₀₅			1,28			2,56

В табл. 2 представлены результаты оценки вклада выявленных типов отклонений от нормального течения мейоза (доля МКП с нарушениями) в общее варьирование признака среди исследуемых сортов овса посевного. По результатам однофакторного дисперсионного анализа (разложение дисперсии ANOVA) вклад доли МКП с нарушениями в общее варьирование признака был значим на высоком уровне ($p < 0,01$). Доля вклада этого фактора в общее варьирование составила 63%, тогда как варьирование с учетом других неучтенных факторов было оценено как 37% (см. табл. 2).

Одной из важнейших характеристик при селекционной проработке исходного растительного материала и отборе перспективных форм, максимально адаптированных к местным условиям возделывания, является оценка особенностей протекания мейоза при формировании мужского га-

метофита с учетом почвенно-климатических условий конкретного региона. В основе формирования жизнеспособных гамет лежит нормальное протекание двух последовательных стадий мейотического деления, цитологические события которых контролируются большим количеством генов, действующих от премейотического до постмейотического митоза [3]. Несмотря на консервативность и относительную стабильность протекания мейоза у высших растений [17], в этих генах с течением времени накапливаются различные мутации [5]. Подобного рода мутации могут приводить не только к различным аномалиям и снижению фертильности, но и вызывать полную мужскую стерильность [3, 18].

Таблица 2 [Table 1]

Результаты однофакторного дисперсионного анализа по типам нарушений в мейозе у сортов овса посевного (*A. sativa* L.), возделываемых в условиях Центральной Якутии
[Results of One Way ANOVA by types of meiotic disturbances in common oat varieties (*A. sativa* L.) cultivated in Central Yakutia]

Источник изменчивости	Сумма квадратов	Степени свободы	Средние квадраты (дисперсий)	F _{факт.}	Доля влияния, %
Общая	3,782	27	0,223	–	100
Фактор	2,383	6	0,397	5,9*	63,0
Случайные факторы	1,399	21	0,067	–	37,0

* $p < 0,01$.

Влияние холодового стресса на развитие мужской репродуктивной сферы подробно рассмотрено в обзорах [19, 20]. Авторы приводят данные о влиянии холодового стресса на развитие тапетума, протекание микроспоро- и микрогаметогенеза, на процессы рекомбинации и цитокinesis в ходе мейотического деления мейоцитов, а также рассматривают молекулярные механизмы, контролируемые у растений ответные реакции на низкие температуры. Воздействие факторов внешней среды, в том числе низких температур, на процессы рекомбинации и цитогенеза у растений подчеркивается в обзоре [21]. Хедли с соавт. [22] рассматривают уязвимость фаз полового размножения растений к воздействию температурных стрессов, подчеркивая одновременно пластичность и адаптационные возможности растительных организмов.

Различные типы аномалий как в ходе первого, так и второго делений мейоза были выявлены по результатам сравнительного анализа микроспорогенеза среди 12 сортов аргентинской селекции у двух видов овса (*A. sativa* и *A. strigosa*) [10]. Авторами установлено, что для обоих видов большая часть аномалий выявлялась в первом делении мейоза и включала образование терминальных хиазм и унивалентов, а также преждевременное расхождение бивалентов к полюсам в метафазе I и образование мостов в анафазе I. Несмотря на то, что частота образования аномальных тетрад для пяти сортов *A. sativa* варьировала от 1,55 до 6,60%, а для семи сортов

A. strigosa – от 0,83 до 3,71%, частота образования стерильных пыльцевых зерен была достаточно низкой – от одного до шести процентов. Полученные результаты свидетельствовали о низкой корреляции между выявленными аномалиями мейоза и фертильностью пыльцы у всех из 12 исследованных сортов овса [12]. Аналогичные результаты были получены для нескольких сортов овса бразильской [9] и аргентинской селекции [8].

Наблюдаемые нами перемещения хроматина между мейоцитами у исследуемых четырех сортов овса якутской селекции не являются уникальными – это явление описано исследователями более ста лет назад и выявлено к настоящему времени у более чем 400 видов высших растений, принадлежащих к 84 семействам [23]. Цитомиксис обнаруживается в пределах одного вида у форм разного уровня ploидности, причем частота цитомиксиса в мужском мейозе может пропорционально увеличиваться при увеличении уровня ploидности [24, 25]. Несмотря на то, что цитомиксис достаточно широко распространен в природе и присущ не только растениями, но иногда встречается и в тканях животных [26], он все еще остается загадочным клеточным процессом, нацеленным на возможное увеличение генетического разнообразия будущих гамет у растений.

Выявление аномалий мейоза и идентификация мутаций, их обуславливающих, представляет большой интерес и огромное значение с точки зрения использования таких мутаций в селекционно-генетических программах по созданию исходного селекционного материала для дальнейшего улучшения хозяйственно ценных признаков у той или иной культуры. Прекрасным примером практического применения таких мутаций является создание MiMe-генотипов у риса, у которых путем скрещиваний в одном гибридном геноме были объединены три мейотические мутации, приводившие к замене мейоза на митоз [27]. Образование клональных диплоидных гамет (апомиксис) у такой важной сельскохозяйственной культуры, как рис, по мнению авторов, вселяет надежды на использование данного подхода и для других экономически важных культур. Таким образом, выявление и исследование особенностей мейотического деления у важных сельскохозяйственных культур, в том числе и овса, имеет не только большое практическое значение, но и нацелено на создание теоретической базы для селекции и семеноводства.

Заключение

По результатам анализа микроспорогенеза выявлена цитологическая картина нарушений мейоза у овса посевного в условиях возделывания Центральной Якутии. На примере четырех сортов овса посевного (Покровский, Виленский, Покровский 9 и Хибинь 2), возделываемых в суровых агроклиматических условиях Центральной Якутии, продемонстрирована цитологическая картина отклонений от нормы (нарушений) нормального протекания мейоза с представлением их частотных характеристик. Цитологическая картина отклонений, наблюдаемых в мейоцитах в ходе мейоза

у всех проанализированных сортов овса, включала цитомиксис с образованием микроядер, цитопластов и пикноз ядер. Также наблюдалось появление неориентированных бивалентов в метафазе, отставание хромосом и образование мостов при их расхождении к полюсам в первом делении мейоза. Следует отметить, что в некоторых случаях в микроспороцитах и клетках тапетума можно было наблюдать массовый деструктивный цитомиксис. Полученные результаты свидетельствуют о том, что наблюдаемые отклонения не вносят существенного вклада в процесс формирования семян у этой важной зернофуражной культуры.

Список источников

1. Охлопкова П.П., Степанова А.И., Сивцева В.И., Иванов А.А., Павлова С.А. Основные направления исследований в растениеводстве Якутии // Вестник ДВО. 2016. № 2. С. 71–76.
2. Петрова Л.В. Селекция овса в условиях Якутии. Новосибирск, 2018. 135 с.
3. Pagliarini M.S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility // Genetics and Molecular Biology. 2000. Vol. 23, № 4. PP. 997–1002. <https://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572000000400045>
4. Kumar P., Singhal V.K. Chromosome number, male meiosis and pollen fertility in selected angiosperms of the cold deserts of Lahaul-Spiti and adjoining areas (Himachal Pradesh, India) // Plant Systematic and Evolution. 2011. Vol. 297. PP. 71–297.
5. Xiwen Cai, Steven S. Xu. Meiosis-Driven Genome Variation in Plants // Current Genomics. 2007. Vol. 8. PP. 151–161. doi: 10.2174/138920207780833847
6. Bomblies K., Higgins J.D., Yant L. Meiosis evolves: adaptation to external and internal environments // New Phytologist. 2015. Vol. 208. PP. 306–323. doi: 10.1111/nph.13499
7. Fuchs L.K., Jenkins G., Phillips D.W. Anthropogenic Impacts on Meiosis in Plants // Front. Plant Sci. 2018. Vol. 9. P. 1429. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01429>
8. Guillin E., Poggio L., Naranjo C.A. Meiotic irregularities in Argentinian hexaploid oats // Cytologia. 1995. Vol. 60. PP. 211–215.
9. Baptista-Giacomelli F.R., Pagliarini M.S., Almeida J.L. Meiotic behavior in several Brazilian oat cultivars (*Avena sativa* L.) // Cytologia. 2000. Vol. 65. PP. 371–378.
10. Suaki R.M., Pagliarini M.S., Cecatto U. Microsporogenesis in Brazilian varieties of *Avena sativa* and *Avena strigosa* under Agronomic Forage Selection // Cytologia. 2003. Vol. 68, № 3. PP. 295–302.
11. Sheidai M., Koobaz P., Zehzad B. Meiotic studies of some *Avena* species and populations in Iran // Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran. 2003. Vol. 14, № 2. PP. 121–131.
12. Assia A., Amirouche R., Amirouche N. Cytotaxonomic investigation and meiotic behavior of natural populations of genus *Avena* in Algeria // Euphytica. 2019. Vol. 215. Article № 158. <https://doi.org/10.1007/s10681-019-2490-6>
13. Omidi M., Siahpoosh M.R., Mamghani R., Modarresi M. The Influence of Terminal Heat Stress on Meiosis Abnormalities in Pollen Mother Cells of Wheat // Cytologia. 2014. Vol. 79, № 1. PP. 49–58.
14. Liu B., Mo W.J., Zhang D., De Storme N., Geelen D. Cold Influences Male Reproductive Development in Plants: A Hazard to Fertility, but a Window for Evolution // Plant Cell Physiol. 2019. Vol. 60, № 1. PP. 7–18. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcy209>
15. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М. : Агропромиздат, 1988. 271 с.
16. Дубовец Н.И., Сычева Е.А., Дробот Н.И., Бондаревич Е.Б., Соловей Л.А., Халецкий С.П. Характеристика исходного материала по комплексу признаков для селекции овса посевного *Avena sativa* L. методом отдаленной гибридизации // Молекулярная и прикладная генетика. 2017. Т. 23. С. 40–49.

17. Симановский С.А., Богданов Ю.Ф. Генетический контроль мейоза у растений // Генетика. 2018. Т. 54, № 4. С. 397–411. doi: 10.7868/S0016675818040021
18. Scheridan W.F., Golubeva E.A., Abrhamova L.I., Golubovskaya I.N. The *mac1* Mutation Alters the Developmental Fate of the Hypodermal Cells and Their Cellular Progeny in the Maize Anther // Genetics. 1999. Vol. 153. PP. 993–994.
19. De Storme N., Geelen D. The impact of environmental stress on male reproductive development in plants: biological processes and molecular mechanisms // Plant, Cell and Environment. 2014. Vol. 37. PP. 1–18. doi: 10.1111/pce.12142
20. Liu B., Mo W.-J., Zhang D., De Storme N., Geelen D. Cold Influences Male Reproductive Development in Plants: A Hazard to Fertility, but a Window for Evolution // Plant Cell Physiol. 2019. Vol. 60, № 1. PP. 7–18. doi:10.1093/pcp/pcy209
21. Wang Y., Copenhaver G.P. Meiotic Recombination: Mixing It Up in Plants // Annu. Rev. Plant Biol. 2018. Vol. 69, № 13. PP. 1–13. doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040431
22. Hedhly A., Hormaza J.I., Herrero M. Global warming and sexual plant reproduction // Trends in Plant Science. 2008. Vol. 14, № 1. PP. 30–36. doi: 10.1016/j.tplants.2008.11.001
23. Mursalimov S.R., Sidorchuk Y.V., Deineko E.V. New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants // Planta. 2013. V. 238, № 3. PP. 415–423. doi: 10.1007/s00425-013-1914-0
24. Mursalimov S., Sidorchuk Y., Demidov D., Meister A., Deineko E. A rise of ploidy level influences the rate of cytomixis in tobacco male meiosis // Protoplasma. 2016. Vol. 253. PP. 1583–1588. doi: 10.1007/s00709-015-0907-1.
25. Sidorchuk Yu.V., Novikovskaya A.A., Deineko E.V. Cytomixis in the cereal (Gramineae) microsporogenesis // Protoplasma. 2016. Vol. 253. PP. 291–298. doi: 10.1007/s00709-015-0807-4.
26. Mandal A., Datta A.K., Gupta S., Paul R., Saha A., Grosh B.K., Brattacharya A., Iqbal M. Cytomixis – a unique phenomenon in animal and plant // Protoplasma. 2013. Vol. 250. PP. 985–996. doi:10.1007/s00709-013-0493-z
27. Mieulet D., Jolivet S., Rivard M., Cromer L., Vernet A., Mayonove P., Pereira L., Droc G., Courtois B., Guiderdoni E., Mercier R. Turning rice meiosis into mitosis // Cell Res. 2016. Vol. 26, № 11. PP. 1242–1254. doi: 10.1038/cr.2016.117

References

1. Okhlopkova PP, Stepanova AI, Sivtseva VI, Ivanov AA, Pavlova SA. The main directions of research in plant growing in Yakutia // FEB Bulletin. 2016. No. 2. p. 71-76.
2. Petrova LV. Seleksiya ovsa v usloviyakh Yakutii : monografiya / FGBNU «Yakutskiy nauchno-issledovatel'skiy institut sel'skogo khozyaystva im. M.G. Safronova»: Novosibirsk, 2018. 135 s.
3. Pagliarini MS. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility // Genetics and Molecular Biology. 2000. Vol. 23. No. 4. pp. 997-1002. <https://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572000000400045>
4. Kumar P, Singhal VK. Chromosome number, male meiosis and pollen fertility in selected angiosperms of the cold deserts of Lahaul-Spiti and adjoining areas (Himachal Pradesh, India) // Plant Systematic and Evolution. 2011. Vol. 297. pp. 71-297.
5. Xiwen Cai and Steven SXu. Meiosis-Driven Genome Variation in Plants // Current Genomics. 2007. Vol. 8. pp. 151–161. doi: 10.2174/138920207780833847
6. Bomblies K, Higgins JD, Yant L. Meiosis evolves: adaptation to external and internal environments // New Phytologist. 2015. Vol. 208. pp. 306-323. doi: 10.1111/nph.13499
7. Fuchs LK, Jenkins G, Phillips DW. Anthropogenic Impacts on Meiosis in Plants // Front. Plant Sci. 2018. Vol. 9. p. 1429. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01429>
8. Guillin E, Poggio L and Naranjo CA. Meiotic irregularities in Argentinian hexaploid oats // Cytologia. 1995. Vol. 60. pp. 211–215.
9. Baptista-Giacomelli FR, Pagliarini MS, Almeida JL. Meiotic behavior in several Brazilian oat cultivars (*Avena sativa* L.) // Cytologia. 2000. Vol. 65. pp. 371-378.

10. Suaki RM, Pagliarini MS, Cecatto U. Microsporogenesis in Brazilian varieties of *Avena sativa* and *Avena strigosa* under Agronomic Forage Selection // *Cytologia*. 2003. Vol. 68. No. 3. pp. 295-302.
11. Sheidai M, Koobaz P, Zehzad B. Meiotic studies of some *Avena* species and populations in Iran // *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran*. 2003. Vol. 14. No. 2. pp. 121-131.
12. Assia A, Amirouche R, Amirouche N. Cytotaxonomic investigation and meiotic behavior of natural populations of genus *Avena* in Algeria // *Euphytica*. 2019. Vol. 215. article No. 158. <https://doi.org/10.1007/s10681-019-2490-6>
13. Omidi M, Siahpoosh MR, Mamghani R, Modarresi M. The Influence of Terminal Heat Stress on Meiosis Abnormalities in Pollen Mother Cells of Wheat // *Cytologia*. 2014. Vol. 79. No. 1. pp. 49-58.
14. Liu B, Mo WJ, Zhang D, De Storme N, Geelen D. Cold Influences Male Reproductive Development in Plants: A Hazard to Fertility, but a Window for Evolution // *Plant Cell Physiol*. 2019. V. 60. No. 1. pp. 7-18. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcy209>
15. Pausheva ZP. Praktikum po tsitologii rasteniy. M. Agropromizdat, 1988. 271 s.
16. Dubovets NI, Sycheva EA, Drobot NI, Bondarevich EB, Solovey LA, Khaletskiy SP. Kharakteristika iskhodnogo materiala po kompleksu prznakov dlya selektsii ovsa posevnogo *Avena sativa* L. metodom otdalennoy gibrizatsii // *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika*. 2017. Vol. 23. pp. 40-49.
17. Simanovsky SA, Bogdanov YuF. Genetic Control of Meiosis in Plants // *Genetica*. 2018. V. 54. No. 4. pp. 397-411. doi: 10.7868/S0016675818040021
18. Scheridan WF, Golubeva EA, Ahrhamova LI, Golubovskaya IN. The *mac1* Mutation Alters the Developmental Fate of the Hypodermal Cells and Their Cellular Progeny in the Maize Anther // *Genetics*. 1999. Vol. 153. pp. 993-994.
19. De Storme N, Geelen D. The impact of environmental stress on male reproductive development in plants: biological processes and molecular mechanisms // *Plant, Cell and Environment*. 2014. Vol. 37. pp. 1-18. doi: 10.1111/pce.12142
20. Liu B, Mo W-J, Zhang D, De Storme N, Geelen D. Cold Influences Male Reproductive Development in Plants: A Hazard to Fertility, but a Window for Evolution // *Plant Cell Physiol*. 2019. V. 60. No. 1. pp. 7-18. doi: 10.1093/pcp/pcy209
21. Wang Y., Copenhaver G.P. Meiotic Recombination: Mixing It Up in Plants // *Annu. Rev. Plant Biol*. 2018. Vol. 69. No. 13. pp. 1-13. doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040431
22. Hedhly A, Hormaza JI, Herrero M. Global warming and sexual plant reproduction // *Trends in Plant Science*. 2008. Vol. 14. No. 1. pp. 30-36. doi: 10.1016/j.tplants.2008.11.001
23. Mursalimov SR, Sidorchuk YV, Deineko EV. New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants // *Planta*. 2013. Vol. 238. No. 3. pp. 415-23. doi: 10.1007/s00425-013-1914-0
24. Mursalimov S, Sidorchuk Y, Demidov D, Meister A, Deineko E. A rise of ploidy level influences the rate of cytomixis in tobacco male meiosis // *Protoplasma*. 2016. Vol. 253. pp. 1583–1588. doi: 10.1007/s00709-015-0907-1
25. Sidorchuk YuV, Novikovskaya AA, Deineko EV. Cytomixis in the cereal (Gramineae) microsporogenesis // *Protoplasma*. 2016. Vol. 253. pp. 291-298. doi: 10.1007/s00709-015-0807-4
26. Mandal A, Datta AK, Gupta S, Paul R, Saha A, Grosh BK, Brattacharya A, Iqbal M. Cytomixis – a unique phenomenon in animal and plant // *Protoplasma*. 2013. Vol. 250. pp. 985-996. doi: 10.1007/s00709-013-0493-z
27. Mieulet D, Jolivet S, Rivard M, Cromer L, Vernet A, Mayonove P, Pereira L, Droc G, Courtois B, Guiderdoni E, Mercier R. Turning rice meiosis into mitosis // *Cell Res*. 2016. Vol. 26. No. 11. pp. 1242-1254. doi: 10.1038/cr.2016.117

Информация об авторах:

Петрова Лидия Владимировна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник группы селекции и семеноводства зерновых культур, Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова (Якутск, Россия).

E-mail: pelidia@yandex.ru

Сидорчук Юрий Владимирович – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории биоинженерии растений, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (Новосибирск, Россия).

E-mail: sidorch@bionet.nsc.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Lidia V. Petrova, Ph.D., Senior Researcher, Group of Breeding and Seed Production of Grain Crops, M.G. Safronov Yakut Scientific Research Institute of Agriculture (Yakutsk, Russian Federation).

E-mail: pelidia@yandex.ru

Yuriy V. Sidorchuk, Ph.D., Researcher, Laboratory of Plant Bioengineering, Institute of Cytology and Genetics (Novosibirsk, Russian Federation).

E-mail: sidorch@bionet.nsc.ru

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 16.05.2021;
одобрена после рецензирования 15.07.2022; принята к публикации 03.10.2022.*

*The article was submitted 16.05.2021;
approved after reviewing 15.07.2022; accepted for publication 03.10.2022.*

Научная статья

УДК 576.8

doi: 10.17223/19988591/58/7

Распространение дирофилярий (*Spirurida*, *Onchocercidae*) в природных популяциях малярийных комаров (*Diptera*, *Culicidae*) Томского Приобья

Валентина Сергеевна Фёдорова¹, Владимир Александрович Бурлак²,
Глеб Николаевич Артемов³

^{1, 2, 3} Национальный исследовательский Томский государственный университет,
Томск, Россия

¹ klimovavs42@gmail.com

² flywings@mail.ru

³ glebartemov@mail.tsu.ru

Аннотация. Исследовали распространение и соотношение видов паразитических нематод *Dirofilaria repens* и *D. immitis* – возбудителей подкожной и легочной форм дирофиляриоза животных и человека в популяциях малярийных комаров Томской области. В период 2018–2020 гг. было сделано 64 выборки комаров в 36 населенных пунктах из 16 районов области. Зараженные микрофиляриями самки малярийных комаров обнаружены в 44 выборках (68,8%) из 21 населенного пункта (58,3%), в том числе – самом северном (г. Стрежевой, 60°44' с.ш.). Дирофиляриоз в Томской области переходит в разряд повсеместно встречающихся гельминтозов. Средняя экстенсивность инвазии по области составила 2,1±0,2%. В популяциях малярийных комаров, населяющих правый берег Оби, зараженность в 3,7 раза превышала таковую в популяциях левобережья. Экстенсивность и число оборотов инвазии снижались с юга на север, однако локальные климатические условия могли нарушать эту закономерность. В качестве переносчиков зафиксированы два вида малярийных комаров (*An. daciae* и *An. beklemishevi*) из четырех отмеченных в Томской области. Южнее 57° с.ш. найдены пары *Anopheles daciae*–*D. repens*, и только один случай микстового заражения (*D. repens* + *D. immitis*) *An. daciae* в с. Зырянское. Севернее 57° с.ш. параллели встречались *An. daciae*, *An. messeae* и *An. beklemishevi*, инвазированные преимущественно *D. repens*. В Колпашевской агломерации описаны случаи заражения *An. messeae* микрофиляриями *D. immitis*, а также микстовых инвазий видов *An. daciae* и *An. beklemishevi*. Все случаи заражения комаров *D. immitis* отмечены на правом берегу Оби. Зараженность малярийных комаров *An. messeae* и *An. daciae* была достоверно выше, чем наиболее распространенного *An. beklemishevi*. Наиболее северная точка поймки инфективной самки (*An. beklemishevi*–*D. repens*) расположена на 59-й параллели в д. Большая Грива на р. Васюган. У 6,5% зараженных комаров обнаружена суперинвазия – повторное заражение дирофиляриями. Малярийные комары играют ведущую роль в поддержании и распространении очагов дирофиляриоза в Томской области.

Ключевые слова: дирофиляриоз, малярийные комары, *Dirofilaria repens*, *Dirofilaria immitis*, Томская область

Источник финансирования: работа выполнена при поддержке гранта РФ № 20-74-10040 и программы развития Томского государственного университета (Приоритет-2030).

Благодарности: авторы выражают благодарность аспирантам Евгении Соболевой, Химене Калдерон и Светлане Алексеевой за помощь в обработке материала и проведении анализов.

Для цитирования: Фёдорова В.С., Бурлак В.А., Артемов Г.Н. Распространение диروفиларий (Spirurida, Onchocercidae) в природных популяциях малярийных комаров (Diptera, Culicidae) Томского Приобья // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 58. С. 128–152. doi: 10.17223/19988591/58/7

Original article

doi: 10.17223/19988591/58/7

Spread of *Dirofilariae* (Spirurida, Onchocercidae) in the Natural Populations of Malaria Mosquitos (Diptera, Culicidae) in Tomsk Ob River Region

Valentina S. Fedorova¹, Vladimir A. Burlak², Gleb N. Artemov³

^{1, 2, 3} National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

¹ klimovavs42@gmail.com

² flywings@mail.ru

³ glebartemov@mail.tsu.ru

Summary. *Dirofilariasis* is a dangerous transmissible disease of carnivores and humans caused by two species of parasitic nematodes – *Dirofilaria repens* Railliet et Henry and *D. immitis* Leidy. The intermediate hosts of *Dirofilariae* are blood-sucking mosquitoes. Both species are typical of the mild climate of southern Europe, but in recent decades the parasites have spread to the north and northeast due to the global climate change. They have been registered in Western Siberia since 1989, and *dirofilariasis* cases in both animals and humans cause concern. To assess prospects for the spread of *dirofilariasis* and develop strategies to combat this disease, one has to determine the main mosquito vectors. Malaria mosquitoes are the significant *dirofilariasis* vectors in Europe, but there is a shortage of information on potential *dirofilariasis* vectors in Siberia. This paper is meant to estimate how extensive the invasion of different species of the malaria mosquitoes *D. repens* and *D. immitis* is in the territory of Tomsk Region due to the global climate change.

64 samples of mosquitoes from 36 localities of Tomsk Region were taken during the summer seasons of 2018 to 2020. Mosquitos were caught in stables, dissected to determine invasion via light microscopy. The species of malaria mosquitoes and *dirofilariae* were identified through an ITS2 PCR-RFLP analysis (Artemov et al., 2021) and COI site-specific PCR (Rishniw et al., 1998), respectively.

In total, the authors analyzed 7,591 female malaria mosquitoes and 233 female non-malaria mosquitoes, where 159 and 1 of them were infected with *dirofilariae*, respectively. They registered invasion in 44 samples from 21 localities, including the northernmost one – Strezhevoy town (60°44'N, see Figure 1). *Dirofilariasis* is a common helminthiasis in Tomsk Region. The average invasion extensiveness is 2.1+0.2% in the region. In the natural populations of malaria mosquitoes on the right bank of the River Ob, the invasion extensiveness is 3.7 times higher vs. the left bank of the Ob, despite the high transport accessibility of this bank (see Figure 2). Invasion extensiveness decreases from the south to the north, but the local conditions might disrupt this trend (see Table 3). Three species of malaria mosquitoes – *Anopheles daciae*, *An. mes-*

seae and *An. beklemishevi* (but not *An. claviger*) – are dirofilariasis vectors in Tomsk Region (see Table 1). South of 57° N, only *D. repens* and one mixed invasion case were found in *An. daciae* being the dominant species in this area. However, all the three species mainly invaded with *D. repens* were detected as vectors north of 57° N. One case of *An. messeae* invasion with the nematode *D. immitis* and mixed invasions of *An. daciae* and *An. beklemishevi* were found in Kolpashevo agglomeration. All the invasions with *D. immitis* (including mixed ones) were observed on the right bank of the Ob (see Table 2). The extensiveness of *An. messeae* and *An. daciae* invasion were significantly higher vs. *An. beklemishevi*, despite its domination north of 57° N. The northernmost location where an infective female of *An. beklemishevi* invaded with *D. repens* was found in Bolshaya Griva village at 59° N. Approximately 6.5% of the infected mosquitos had superinvasion – re-invasion with dirofilariiae (see Figure 3). Thus, malaria mosquitos play a significant role in the circulation and, probably, the spread of dirofilariasis in Tomsk Region.

Conclusion: 1. Dirofilariiae are widespread within Tomsk Region. The northernmost border of the *Dirofilaria repens* spread is 60° 44' and that of *D. immitis* – 58° 32' N. The northernmost border of the *D. repens* transmission is 59° N. 2. The contribution made by malaria mosquitos to the spread of dirofilariasis in Tomsk Region is as high as that of other blood-sucking mosquitos. 3. *Anopheles daciae*, *An. messeae* and *An. beklemishevi* are the vectors of *Dirofilaria repens* and *D. immitis*. *Anopheles beklemishevi* get infected less often than the two remaining species. 4. The invasion extensiveness of malaria mosquitos is higher on the right bank of the River Ob. 5. Mixed invasions and superinvasions of malaria mosquitos with dirofilariiae are frequent phenomena for Tomsk Region.

The article contains 4 Figures, 3 Tables, 55 References.

Keywords: dirofilariasis, malaria mosquitos, *Dirofilaria repens*, *Dirofilaria immitis*, Tomsk oblast

Fundings: This work was supported by Russian Science Foundation (Grant No 20-74-10040) and by the Tomsk State University Development Program (Priority-2030).

Acknowledgments: The authors wish to thanks PhD students of the laboratory: Eugenia Soboleva, Ximena Kalderon and Svetlana Alekseeva for sorting, dissecting, fixation and analysis of mosquitos.

For citation: Fedorova VS, Burlak VA, Artemov GN. Spread of Dirofilariiae (Spirurida, Onchocercidae) in the Natural Populations of Malaria Mosquitos (Diptera, Culicidae) in Tomsk Ob River Region. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;58:128-152. doi: 10.17223/19988591/58/7

Введение

Современный этап развития биосферы характеризуется потеплением климата, влияющим на формирование экосистем, и провоцирует изменение границ ареалов живых организмов [1, 2]. Не являются исключением и паразитические виды, часть из которых относится к возбудителям заболеваний человека и животных и их переносчикам [3–6].

Паразитические нематоды *Dirofilaria repens* (Railliet et Henry 1891) и *D. immitis* (Leidy, 1956) семейства Onchocercidae (Nematoda, Spirurida) – инвазивные виды для Западной Сибири. Они относятся к группе возбудителей «вновь возникающих» и «забытых» заболеваний. Дирофилярии –

гетероксенные биогельминты, в имагинальной фазе паразитирующие у собак, кошек, других представителей отряда Carnivora и человека. *D. immitis* вызывает легочный (сердечный), а *D. repens* – подкожный (глазной) дирофиляриоз человека и собак, что стало в последние десятилетия серьезной медицинской и ветеринарной проблемой в России [7]. По международным оценкам, Россия – одна из наименее благополучных стран в отношении дирофиляриоза человека [8, 9]. В Западной Сибири это заболевание регистрируется с 1989 г. в Алтайском крае, спустя 10 лет – в Кургане, Новосибирске и Омске, а еще через 10–15 лет – в Ханты-Мансийске, Приобье, Красноярске, Томске и Колпашеве [10–16].

Расселение дирофилярий связано с промежуточным хозяином. При укусе зараженного животного комаром микрофилярии проникают в пищеварительный тракт и мальпигиевы сосуды переносчика, дважды линяют, мигрируют в хоботок и через укус заражают следующее животное или человека. Возможность инвазии экспериментально подтверждена для 70 с лишним представителей сем. Culicidae – pp. *Anopheles*, *Aedes*, *Coquillettidae*, *Culex*, *Culiseta*, *Uranotaenia*. В природных условиях разнообразии комаров, способных выдержать развитие паразита до инвазивной стадии, значительно меньше. Эффективность передачи дирофиляриоза определяется размером хозяина, продолжительностью его жизни, наличием внутренних механических, биохимических и физиологических механизмов элиминации паразита, избирательностью при выборе прокормителя и (или) времени нападения – признакам, которые делают переносчиков на основных и второстепенных [17]. Поэтому необходимо выявление и детальное изучение векторных видов на исследуемой территории.

Адаптация к местным условиям у дирофилярий формируется на личиночной стадии, так как микрофилярии подвержены воздействию внешней среды и ее изменениям в связи с эктотермностью промежуточного хозяина. Определяющий фактор адаптации – температура: ареал распространения дирофилярий связывают с изотермой июля +14 °С [4]. Для вызревания микрофиляриям необходимо набрать сумму эффективных температур в 130 градусо-суток [18]. Температура и гостальное влияние отмечены как модифицирующие темпы развития и вирулентность паразита [19]. Сравнительно невысокая продолжительность жизни взрослых дирофилярий – от двух до семи лет [17, 20] – обеспечивает виду быструю смену поколений и высокую пластичность в изменчивой среде.

Малярийные комары *Anopheles* подгруппы *Maculipennis* известны как эффективные переносчики дирофилярий в умеренном поясе Северного полушария [17, 21]. Многие виды этой подгруппы синантропны – в сельской местности и в частном секторе городов используют постройки человека в качестве дневок летом, а также – укрытий зимой. Это делает их одной из наиболее проблемных групп переносчиков. Подгруппа включает 11 видов [22, 23] и среди них по крайней мере шесть – *An. atroparvus*, *An. maculipennis*, *An. sacharovi*, *An. messeae* и *An. daciae* [24–27], а также *An. beklemishevi* [28] способны переносить дирофилярий. В Томской области

обитают четыре вида малярийных комаров, три из которых – *An. beklemishevi*, *An. messeae* и *An. daciae* – представители подгруппы *Maculipennis* и один, *An. claviger*, – группы *claviger* [28, 29]. Недавнее появление надежных молекулярно-генетических маркеров [30, 31] позволило однозначно определять видовую принадлежность криптического вида *An. daciae*, что открыло возможность изучения не только путей его экспансии из Европы в Сибирь, но и трансмиссивного потенциала.

Целью данного исследования было изучение распределения паразитических нематод *D. repens* и *D. immitis* в природных популяциях малярийных комаров Томской области, а также оценка риска распространения дирофиляриоза в свете потепления климата.

Материалы и методики исследования

Были сделаны 64 выборки кровососущих комаров в 36 населенных пунктах Томской области в течение сезонов 2018–2020 гг.: г. Томск (11.08.20), с. Коларово (21.07.18, 30.08.18, 11.09.18, 30.05.19, 11.06.19, 21.06.19, 11.07.19, 31.07.19, 09.08.19, 19.08.19, 03.09.19, 10.06.20, 29.06.20, 14.07.20, 11.08.20, 29.08.20), с. Яр (02.07.19, 16.08.19), с. Курлек (14.08.19), с. Тегульдэт (15.06.19, 07.07.19, 21.05.20), с. Черный Яр (21.05.20), с. Зырянское (21.05.20), с. Белый Яр (23.06.19, 28.05.20), с. Степановка (28.05.20), с. Клюквинка (28.05.20), с. Бугры (04.06.20), с. Кирзавод (04.06.20), с. М. Нестерово (04.06.20, 17.07.20), с. Новоселово (23.06.19, 02.07.20), с. Волково (22.07.19), с. Тогур (22.07.19, 02.07.20), с. Пасека (04.06.20), с. Чажемто (04.06.20), с. Инкино (17.07.20), с. Б. Саровка (02.07.20), с. Бакчар (17.08.19, 18.06.20), с. Чаинск (23.07.18), с. Подгорное (18.06.20), с. Молчаново (18.06.20), с. Кривошеино (11.06.20), с. Батурино (25.06.20), с. Первомайское (25.06.20), с. Б. Грива (16.07.20), с. Новоюгино (16.07.20), с. Каргасок (16.07.20), г. Стрежевой (23.07.20, 24.07.20), с. Александровское (24.07.20), с. Кожевниково (27.08.20), с. Новопокровка (27.08.20), с. Сафроновка (27.08.20), с. Трубачево (27.08.20). 62 выборки были собраны в местах дневок малярийных комаров – в стайках для скота частных хозяйств. Комаров собирали с потолка и стен с помощью химической стеклянной пробирки и помещали в садок. Две выборки из г. Томска и г. Стрежевого сделали вблизи частной застройки энтомологическим сачком в вечернее время. Комаров перевозили в живом виде в лабораторию для анализа и, если требовалось, хранили ночь при температуре +4 °С.

Комаров диссектировали на предметном стекле в капле фосфатного буфера, выделяли кишечник и мальпигиевы сосуды, накрывали покровным стеклом и исследовали под микроскопом Primo Star plus (Carl Zeiss, Германия), используя объективы 5×, 10× и 40× для выявления микрофилярий, определения интенсивности инвазии и физиологического состояния паразита. Случаи заражения документировали с помощью фото- и видеосъемки используя микроскоп AxioImager A1, цифровую камеру MRc5 и программное обеспечение AxioVision 4.8.1 (Carl Zeiss, Германия). Останки

зараженных самок и смывы с предметных стекол, содержащие нематод, фиксировали отдельно в 96% этаноле.

Для определения видов нематод и комаров фиксированный материал высушивали и гомогенизировали в STE-буфере [32]. Для постановки ПЦР использовали универсальные праймеры, специфичные к району внутреннего транскрибируемого спейсера рибосомальных генов (ITS2) *D. repens*, *D. immitis* и других паразитических нематод, а также праймеры, комплементарные к гену COI митохондриальной ДНК *D. repens* и *D. immitis* [33]. Видовую принадлежность зараженных самок *An. daciae*, *An. messeae* и *An. beklemishevi* устанавливали с помощью ПЦР-ПДРФ анализа ITS2 комара. Фрагмент ITS2 амплифицировали, используя праймеры к 5,8S и 28S рДНК [30], рестрикцию проводили эндонуклеазой рестрикции Rsa I [31] согласно предложенным протоколам. Видовую диагностику немалярийных комаров не проводили.

Экстенсивность инвазии комаров в выборке рассчитывается как отношение числа зараженных особей к общему числу проанализированных, в процентах. При анализе многолетней динамики температуры в Томской области использовали архивы сайта «Погода и климат» (<http://www.pogodaiklimat.ru/>) за 1976–2020 гг. Число оборотов инвазии (ОИ) рассчитывается как отношение суммы эффективных температур за сезон (СЭТ) к 130 единицам развития дирофилярий (ЕРД) [34]. Статистическая значимость различий определялась с помощью критерия хи-квадрат в случаях, когда происходило сравнение ожидаемых и наблюдаемых частот особей, и t-критерия Стьюдента – для сравнения независимых выборок.

Результаты исследования

В течение трех сезонов 2018–2020 гг. обследованы все 16 районов Томской области и сделано 64 выборки кровососущих комаров в 36 населенных пунктах (рис. 1).

Всего была вскрыта 7 591 самка, 159 из которых оказались инвазированы ($2,1 \pm 0,2\%$). Зараженные самки обнаружены в 44 выборках из 64 ($68,8 \pm 5,8\%$) в 21 населенном пункте из 36 ($58,3 \pm 8,2\%$) и в 12 районах Томской области из 16. Экстенсивность инвазии (ЭИ) варьировала от 0 до $8,3\%$ (с. Тогур, Колпашевского района, 22.07.19). Однако если исключить из подсчета диапаузирующих самок, которые в передаче инвазии не участвуют, то ЭИ достигала $12,4\%$ (с. Коларово, Томского района, 31.08.18). Средняя ЭИ была выше для Тегульдетского района ($3,8 \pm 1,3\%$, см. рис. 1). В Молчановском, Шегарском, Первомайском и Бакчарском районах инвазий не было обнаружено. Самки немалярийных кровососущих комаров в небольшом количестве попадались попутно в стайках и ни в одном случае не были заражены дирофиляриями. В г. Томске и г. Стрежевом выборки немалярийных комаров были взяты вне стаяк с целью сравнения уровня зараженности малярийных и немалярийных комаров. Выборка немалярийных комаров из г. Стрежевого 23.07.20 ($n = 98$) оказалась свободной от дирофилярий, тогда как выборка из г. Томска (ул. Мостовая) 11.08.20 ($n = 92$) обнаружила небольшое заражение $1,1 \pm 1,1\%$.

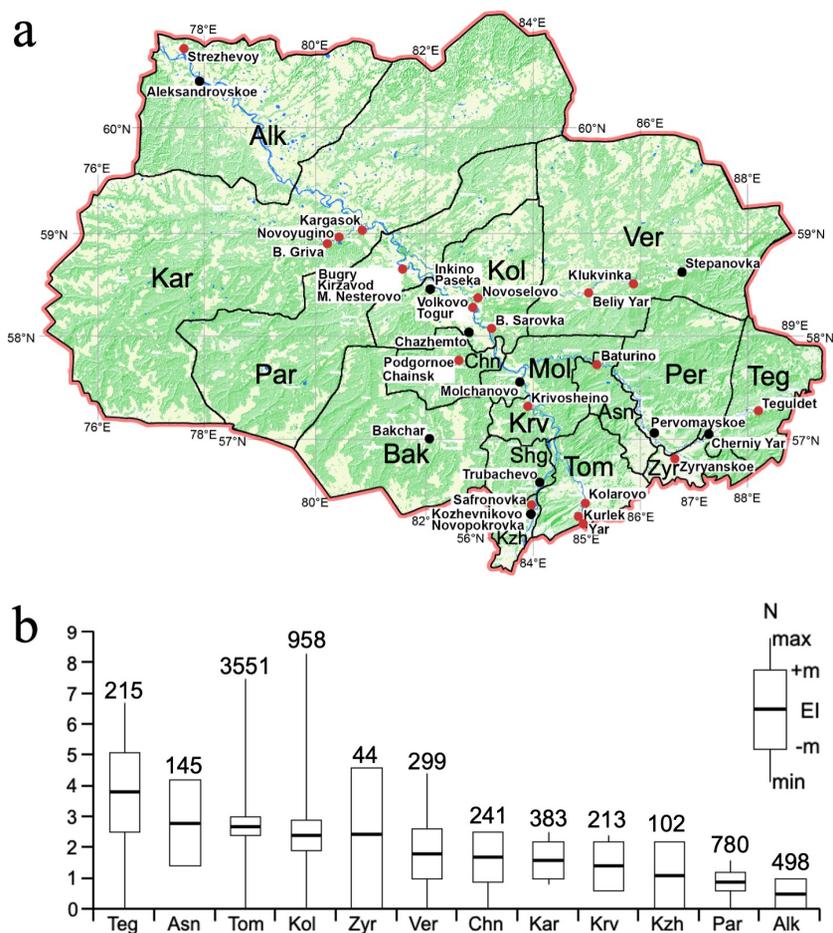


Рис. 1. Географическое распространение дирофиляриоза (а) и экстенсивность инвазии кровососущих комаров в Томской области (b) (по оси абсцисс – «Районы», по оси ординат – «Экстенсивность инвазии, %»). Районы Томской области: Teg – Тегульдетский, Asn – Асиновский, Том – Томский, Kol – Колпашевский, Zyr – Зырянский, Ver – Верхнекетский, Chn – Чаинский, Kar – Каргасокский, Krv – Кривошеинский, Kzh – Кожевниковский, Par – Парабельский, Alk – Александровский. Населенные пункты, в которых были обнаружены зараженные комары, обозначены точками красного цвета, иначе – точками черного цвета.

EI – экстенсивность инвазии (доля зараженных особей в выборке); $\pm m$ – ошибка доли; max, min – максимальная и минимальная экстенсивности инвазии, соответственно. N – число проанализированных комаров. В Бакчарском (Bak), Первомайском (Per), Молчановском (Mol) и Шегарском (Shg) районах инвазии не обнаружено

[Fig. 1. Geographic distribution of dirofilariasis (a) and invasion extensiveness of blood-sucking mosquitoes in Tomsk oblast (b) (on the X-axis: "Regions", on the Y-axis – "Extensiveness of invasion, %"). Tomsk oblast regions: Teg – Teguldetskiy, Asn – Asinovskiy, Tom – Tomskiy, Kol – Kolpashevskiy, Zyr – Zyryanskiy, Ver – Verhneketskiy, Chn – Chainskiy, Kar – Kargasokskiy, Krv – Krivosheinskiy, Kzh – Kozhevnikovskiy, Par – Parabelskiy, Alk – Aleksandrovskiy. Localities, where infected mosquitoes were collected, indicated by the red dots, otherwise – by the black dots. EI – extensiveness of invasion (proportion of infected individuals in a sample); $\pm m$ – proportion error; max, min – relatively maximal and minimal extensiveness of invasion in the samples from the locality. N – total number of mosquitoes were analysed. There are no invasions of mosquitoes have been detected in Bakchar (Bak), Pervomayskiy (Per), Molchanovskiy (Mol) and Shegarskiy (Shg) regions]

Популяции, собранные на правом берегу Оби, имели заражение в 3,7 раза выше, чем на левом берегу (рис. 2).

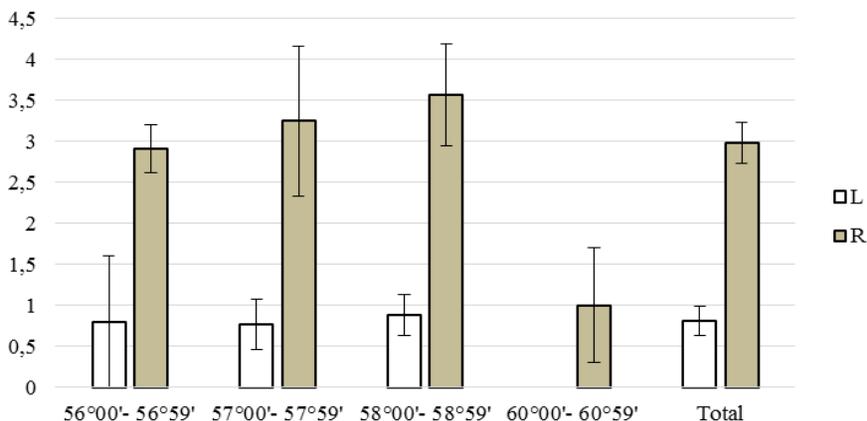


Рис. 2. Экстенсивность инвазии малярийных комаров диروفилариями на правом (R) и левом (L) берегах Оби в Томской области (по оси абсцисс: «Географические координаты (широта)»; по оси ординат: «Экстенсивность инвазии, %»)

Fig. 1. Extensiveness of invasion of malaria mosquitoes by dirofilariasis on the right (R) and the left (L) Ob River banks in Tomsk oblast. (On the X-axis: "Geographical coordinates (latitude)", on the Y-axis: "Extensiveness of invasion, %")

Южнее 59-й параллели по обоим берегам Оби ЭИ имела тенденцию к увеличению с юга на север, хотя и в различной степени. Севернее 59-й параллели было изучено только две популяции, расположенные на разных берегах Оби – с. Александровское и г. Стрежевой, и хотя выборки были достаточны для обнаружения ЭИ ниже 1%, закономерность подтвердилась и в этом случае – зараженные комары обнаружены только в г. Стрежевом, на правом берегу Оби.

В популяциях южнее 57° с.ш., где доминировали малярийные комары *An. daciae*, среди зараженных комаров выявлялись только представители этого вида в с. Зырянское, с. Коларово (2,9±0,3%), с. Курлек (1,5±1,5%) и с. Яр (2,9±1,4%). Вскрытые самки малярийных комаров севернее 57° с.ш. отнесены к трем видам подгруппы *Maculipennis* – *An. beklemishevi*, *An. messeae* и *An. daciae* (табл. 1).

Как правило, виды имели высокую численность и были представлены в местообитаниях с разной частотой. Соотношение видов изменялось в течение сезона, в основном с преобладанием или значительной долей *An. beklemishevi* в первой половине сезона. Иногда эта закономерность нарушалась, как, например, в с. М. Нестерово, где в июне преобладал *An. messeae*, а в июле – *An. beklemishevi*, что было связано с низкими температурами июня. Два вида (*An. daciae* в с. Коларово и д. Сафроновка и *An. beklemishevi* в д. Б. Грива) отмечены нами в качестве переносчиков, так как их представители были заражены микрофиляриями (L3), локализован-

ными в хоботке. Инфективных *An. messeae* не попало, однако микрофилярии конца второго возраста (L2) встретились в самках с. Новоюгино, п. Каргасок, с. М. Нестерово и с. Б. Саровка. *An. claviger* встречался редко - по одной особи в г. Томске и д. Сафроновке, ни в одном случае заражение не отмечено.

Таблица 1 [Table 1]

Экстенсивность инвазии трех видов малярийных комаров дирофиляриями в местообитаниях севернее 57° с. ш. Томской области
[Extensiveness of invasion of malaria mosquitoes by dирофиляриями in the localities northerner 57° N latitude in Tomsk region]

Населенный пункт, координаты, дата [Localities names, coordinates, date]	N	ЭИ, % [EI, %]	Показатель [Indicator]	Виды малярийных комаров [Malaria mosquitoes species]		
				<i>An. beklemishevi</i>	<i>An. daciae</i>	<i>An. messeae</i>
г. Стрежевой [Strezhevoy t.] (R) 60°44' N, 77°35' E, 23.07.2020	200	1,0±0,7	МК[MM]	59,0±3,5	14,5±2,5	26,5±3,1
			ЭИ [EI]	0,8±0,8	0	1,9±1,9
п. Каргасок [Kargasok v.] (R) 59°03'28" N, 80°52'16" E, 16.07.2020	383	1,6±0,6	МК[MM]	49,1±2,6	18,5±2,0	32,4±2,4
			ЭИ [EI]	1,1±0,8	1,4±1,4	2,4±1,4
с. Малое Нестерово [Maloye Nesterovo v.] (L) 58°39'45" N, 81°34'46" E, 04.06.2020	383	0,5±0,4	МК[MM]	12,3±1,7	14,4±1,8	73,4±2,3
			ЭИ [EI]	0	1,8±1,8	0,4±0,4
с. Малое Нестерово [Maloye Nesterovo v.] (L), 17.07.2020	319	1,6±0,7	МК[MM]	58,0±2,8	16,0±2,1	26,0±2,5
			ЭИ [EI]	1,1±0,8	2,0±1,9	2,4±1,7
с. Белый Яр, с. Клюквинка [Beliy Yar v., Klukvinka v.] (R) 58°32'41" N, 85°52'12" E, 28.05.2020	199	2,5±1,1	МК[MM]	92,5±1,9	5,5±1,6	2,0±1,0
			ЭИ [EI]	2,7±1,2	0	0
г. Колпашево [Kolpashevo t.] (R) 58°21'40" N, 82°50'18" E, 22.07.2019, 02.07.20	609	3,8±0,8	МК[MM]	58,3±2,0	14,1±2,0	27,6±1,8
			ЭИ [EI]	1,7±0,7	4,7±2,3	7,7±2,1
с. Батурино [Baturino v.] (R) 57°45'16" N, 85°10'12" E, 25.06.2020	145	2,8±1,4	МК[MM]	49,7±4,2	2,1±1,2	48,3±4,1
			ЭИ [EI]	1,4±1,4	33,3±27,2	2,9±2,0
с. Подгорное [Podgornoye v.] (L) 57°47' N, 82°39' E, 18.06.2020	177	2,3±1,1	МК[MM]	74,0±3,3	23,7±3,2	2,3±1,1
			ЭИ [EI]	0	7,1±4,0	25,0±21,7
с. Кривошеино [Krivosheino v.] (L) 57°21' N, 83°56' E, 11.06.2020	213	1,4±0,8	МК[MM]	17,8±2,6	6,1±1,6	76,1±2,9
			ЭИ [EI]	0	0	1,85±1,06

Окончание табл. 1 [Table 1 (end)]

Населенный пункт, координаты, дата [Localities names, coordinates, date]	N	ЭИ, % [EI, %]	Показатель [Indicator]	Виды малярийных комаров [Malaria mosquitoes species]		
				<i>An. beklemishevi</i>	<i>An. daciae</i>	<i>An. messeae</i>
с. Тегульдэт [Teguldet v.] (R) 57°18' N, 88°10' E, 15.06.19, 21.05.2020	136	5,9±2,0	МК[MM]	9,6±2,5	19,1±3,4	71,3±3,9
			ЭИ [EI]	0	3,9±3,8	7,2±2,6
с. Зырянское* [Zyryanskoye v.*] (R) 56°50' N, 86°37' E, 21.05.2020	43	2,3±2,3	МК[MM]	18,6±5,9	72,1±6,8	9,3±4,4
			ЭИ [EI]	0	3,2±3,2	0
Правый берег р. Обь [Right Ob River bank]	1331	3,2±0,5	МК[MM]	56,4±1,4	14,0±1,0	29,6±1,3
			ЭИ [EI]	1,7±0,5	3,8±1,4	5,8±1,2
Левый берег р. Обь [Left Ob River bank]	1475	1,4±0,3	МК[MM]	39,9±1,3	15,7±1,0	44,3±1,3
			ЭИ [EI]	0,7±0,3	2,6±1,0	1,5±0,5
Всего [Total]	2813	2,2±0,3	МК[MM]	47,8±0,9	14,9±0,7	37,3±0,9
			ЭИ [EI]	1,3±0,3	3,1±0,8	3,2±0,5

Примечание. N – объем выборки, ЭИ – экстенсивность инвазии (доля зараженных особей в выборке), МК – частота видов малярийных комаров ($f \pm m, \%$), «R» и «L» – указание на расположение населенного пункта на правом или левом берегу Оби соответственно. * Несмотря на то что с. Зырянское расположено южнее 57° с. ш., этот населенный пункт был включен в таблицу ввиду его пограничного положения и относительно высокого видового разнообразия переносчиков.

[Note. N – sample values, EI – the extensiveness of invasion (the proportion of invaded individuals in the sample), MM – частоты видов малярийных комаров ($f \pm m, \%$), "R" and "L" – indicators of the location on the right or left Ob river banks relatively. * Despite of Zyryanskoye v. formally southerner 57° N it was shown, because it borderline position and relatively high vector species diversity].

Склонность к переносу микрофилярий малярийными комарами различалась в популяциях южнее и севернее 57° с.ш. В южной части области, где доминировали *An. daciae* – в выборках из с. Коларово, д. Сафроновка, с. Яр и с. Курлек, они составляли почти 100%. Севернее 57° с.ш., где доля *An. daciae* не превышала 23% (с. Подгорное), а основную часть популяций составили *An. messeae* и *An. beklemishevi*, зараженными оказались, в основном, *An. messeae* ($3,2 \pm 0,5\%$, см. табл. 1). Доля *An. beklemishevi* в «северных» выборках составляла в среднем 45,4%, что больше, чем *An. messeae* (35,9%), тем не менее, ЭИ *An. beklemishevi* ($1,3 \pm 0,2\%$) оказалась в 2,46 раза ниже, чем у *An. messeae* ($\chi^2 = 77,05$; $df = 1$; $p < 0,001$). ЭИ разных видов комаров значимо различалась в зависимости от берега р. Оби. На правом берегу зараженными чаще оказывались *An. messeae* по сравнению с *An. beklemishevi* ($p < 0,01$), а на левом – *An. daciae* по сравнению с *An. beklemishevi* ($\chi^2 = 4,34$; $df = 1$; $p < 0,05$). Как отмечалось выше, ЭИ малярийных комаров в целом изменялась по широте, однако тенденции зараженности в зависимости от индекса доминирования по каждому виду различались. С юга на север доля инвазированных *An. daciae* и *An. messeae* падала, а *An. beklemishevi* – возрастала.

Определение видов дирофилярий в 159 образцах показало, что 152 из них – *D. repens*, в четырех ($2,5 \pm 1,2\%$) обнаружены *D. immitis* (табл. 2).

Таблица 2 [Table 2]

Виды дирофилярий и их промежуточных хозяев – малярийных комаров в местообитаниях севернее и южнее 57° с. ш. в Томской области
[Dirofilaria species and its intermediate hosts northerner and southerner of 57° N latitude in Tomsk region]

Виды малярийных комаров [Malaria mosquitoes species]	Виды дирофилярий [Dirofilaria species]						Итого [Total]	
	<i>D. repens</i>		<i>D. immitis</i>		<i>D. repens</i> + <i>D. immitis</i> *			
	N	<i>f</i> ± <i>m</i> , %	N	<i>f</i> ± <i>m</i> , %	N	<i>f</i> ± <i>m</i> , %	N	<i>f</i> ± <i>m</i> , %
Южнее 57° с.ш. [southerner 57° N]								
<i>An. daciae</i>	91	59,9±4,0	0	0	1	0,7±0,7	92	60,5±4,0
Севернее 57° с.ш. [northerner 57° N]								
<i>An. beklemishevi</i>	14	9,2±2,3	0	0	1	0,7±0,7	15	9,9±2,4
<i>An. daciae</i>	11	7,2±2,1	0	0	1	0,7±0,7	12	7,9±2,2
<i>An. messeae</i>	32	21,1±3,3	1	0,7±0,7	0	0	33	21,7±3,3
Итого [Total]	148	97,4±1,3	1	0,7±0,7	3	2,0±1,1	152	100
Правый берег р. Оби [Right Ob River bank]	20	100	0	0	0	0	20	100
Левый берег р. Оби [Left Ob River bank]	39	90,7±4,4	1	2,3±2,3	3	7,0±3,9	43	100

Примечание. N – число зараженных комаров, *f* – доля комаров определенного вида в общем пуле зараженных *D. repens*, *D. immitis*, либо обоими видами одновременно (микстовая инвазия, *), *m* – ошибка доли.

[Note. N – sample value, *f* – a proportion of mosquitoes of certain species in total number of invaded by *D. repens*, *D. immitis* or by both species simultaneously (mixture invasion, *), *m* – proportion error].

В трех образцах из четырех *D. immitis* обнаружена в составе микстинвазии – одновременном заражении комара двумя видами дирофилярий. Определение оставшихся семи образцов (4,4±1,6%) не дало результата. *D. immitis* в составе микстовых инвазий обнаружены в с. Зырянское (одна особь) и с. Новоселово (две особи). Единственный комар, зараженный *D. immitis*, был пойман в Б. Саровке. Таким образом, наиболее высокая концентрация *D. immitis* выявлена в Колпашевской метапопуляции (13,6±7,3%) севернее 57-й параллели (см. табл. 2). Все особи, зараженные *D. immitis*, регистрировались только на правом берегу Оби. Интенсивность инвазии (ИИ) варьировала от одной до ста и более на самку. В первой половине сезона выявлялись преимущественно личинки L1 (62,5±8,6%; $p < 0,05$), во второй – возросла доля L2 в целом (64,1±6,6%), конца L2 (17,0±5,2%; $p < 0,01$) и L3 (5,7±3,2%). Начальная ИИ L1, как правило, была высокой, но с возрастом снижалась, до конца L2 – начала L3 доживало не более 30–40 особей, до инвазивной стадии – 12–16 особей.

У семи самок малярийного комара (4,4±1,6%) отмечена суперинвазия – повторное заражение в виде личинок на разных стадиях развития в одной особи комара (рис. 3).

Суперинвазия обнаружена у трех видов – *An. beklemishevi* (0,2%), *An. messeae* (0,4%) и *An. daciae* (0,6%). Во всех случаях повторное заражение, судя по размерам микрофилярий, происходило через 1–3 гонотрофиче-

ских цикла. Микстовая инвазия только однажды была связана с повторным заражением (в с. Новоселово), тогда как в остальных образцах являлась результатом передачи смешанного заражения от дефинитивного хозяина.

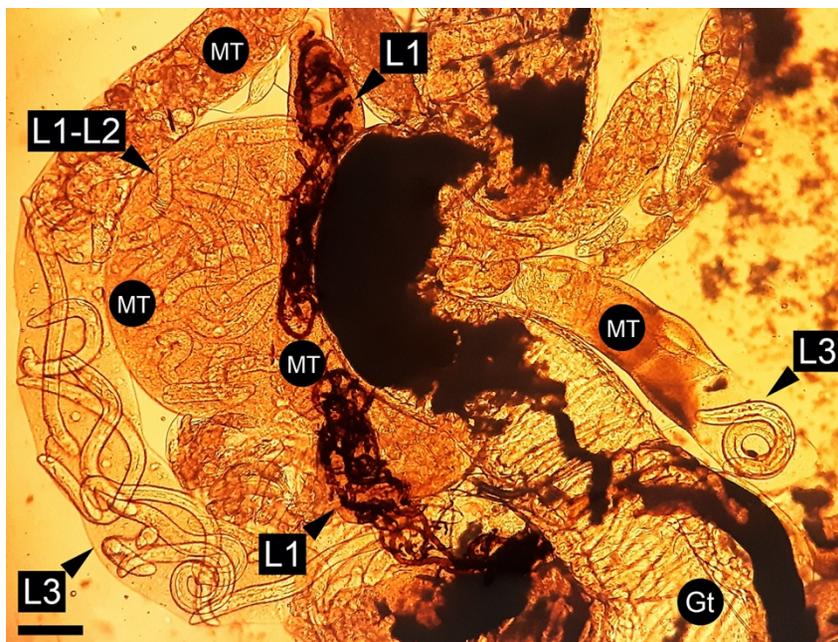


Рис. 3. Суперинвазия микрофиляриями *Dirofilaria repens* самки малярийного комара *Anopheles daciae*, пойманной в с. Коларово 28 августа 2020 г. Gt – задняя кишка, MT – мальпигиевы сосуды, L1 – меланизированные микрофилярии L1; L1-L2 – микрофилярии конца L1 – начала L2; L3 – микрофилярии L3 перед миграцией в хоботок. Масштабная линейка 200 мкм

[Fig. 3. Superinvasion by *Dirofilaria repens* microfilariae of the Malpighian tubules of malaria mosquito *Anopheles daciae* female, collected in Kolarovo v. on August 28, 2020. Gt – gut, MT – Malpighian tubules, L1 – melanized microfilariae on the L1 stage; L1-L2 – microfilariae on the end of L1 stage; L3 – microfilariae on the L3 stage before migration to proboscis. Scale bar 200 μ m]

Инвазия вызывала морфологические изменения мальпигиевых сосудов. Стенки зараженных сосудов у *An. messeae* и *An. daciae* становились прозрачными по мере роста микрофилярий, в 3–4 раза увеличивались в диаметре, неравномерно и по всей длине сосуда. Инвазия *An. beklemishevi* сопровождалась изменением морфологии локальных или дистальных районов сосудов и была не столь выраженной, как у *An. messeae* или *An. daciae*. Кроме того, размеры патологии зависели от числа вселившихся микрофилярий.

Анализ данных динамики температур в 14 местообитаниях комаров в сезоне 2020 г. продемонстрировал уменьшение числа ОИ на 26% с юга (с. Кожевниково – 4,31) на север (г. Стрежевой – 3,19, рис. 4).

Наблюдаемая на рис. 4 зависимость числа ОИ от широты соблюдалась не для всех местообитаний: так, в отдельных «северных» населенных

пунктах оказалось даже теплее, чем в некоторых «южных». Поскольку разница между с. Кожевниково и г. Стрежевым составляет 4,5 широтных градуса, при продвижении с юга на север СЭТ в среднем снижалась на 24,7 ЕРД (или 0,19 ОИ) на один широтный градус.

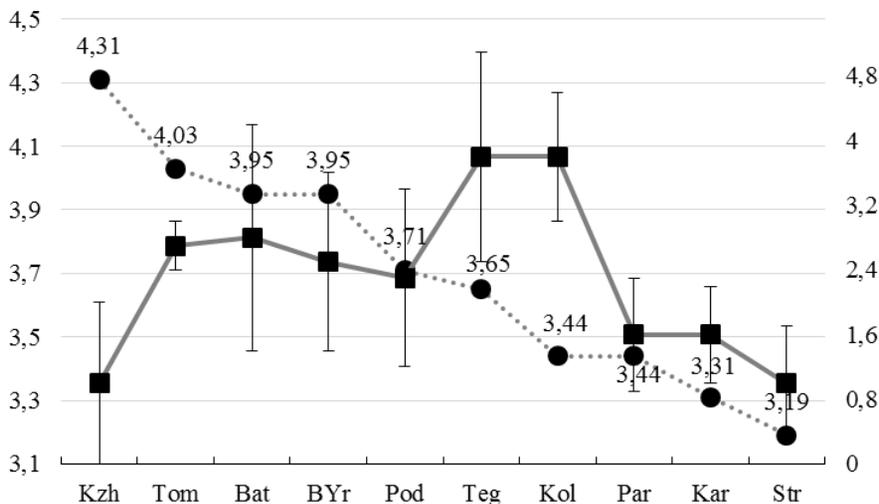


Рис. 4. Изменение числа оборотов инвазии и экстенсивности инвазии с юга на север Томской области (по оси абсцисс: «Выборки», по левой оси ординат: «Число оборотов инвазии», по правой оси ординат: «Экстенсивность инвазии, %»). Снижение числа оборотов инвазии обозначено пунктирной серой линией и маркерами круглой формы, динамика изменения экстенсивности инвазии – сплошной черной линией и четырехугольными маркерами. Kzh – с. Кожевниково, с. Сафроновка и с. Новопокровка; Tom – с. Коларово, с. Яр, с. Курлек; Bat – с. Батурино; BYr – с. Белый Яр, Pod – с. Подгорное; Teg – с. Тегульдет; Kol – г. Колпашево; Par – с. М. Нестерово; Kar – с. Кargasок, с. Новоюгино, д. Б. Грива; Str – г. Стрежевой

[Fig. 4. Change in the number of invasion circle and extensiveness of invasion from south to north of Tomsk oblast (on the X-axis: "Samples", on the left Y-axis: "Number of invasion circles", on the right Y-axis: "Extensiveness of invasion, %"). The decreasing of numbers of invasion circles detected by the dotted gray line with circle markers, the variation of extensiveness of invasion – by the solid black line with square markers. Kzh – Kozhevnikovo v., Safronovka v. and Novopokrovka v.; Tom – Kolarovo v., Yar v., Kurlek v.; Bat – Baturino v.; BYr – Belyi Yar v., Pod – Podgornoye v.; Teg – Teguldet v.; Kol – Kolpashevo v.; Par – M. Nesterovo v.; Kar – Kargasok v., Novoyugino v., B. Griva; Str – Strezhevoy t.]

При изучении взаимосвязи числа ОИ со значением ЭИ было условно выделено три группы местообитаний: 1) правый берег Оби – на р. Томь, р. Чулым, р. Кеть, в которых ЭИ находилась в диапазоне 2,7–3,9% (г. Томск, с. Коларово, с. Яр, Курлек, с. Тегульдет, с. Батурино, с. Белый Яр, г. Колпашево); 2) левый берег Оби севернее 57°47' с.ш. – на р. Чая, р. Парабель и р. Васюган, в которых ЭИ составляла менее 2% (с. Подгорное, с. Кargasок, с. М. Нестерово, г. Стрежевой, с. Кривошеино); 3) берег Оби южнее 57°47' с.ш., где инвазия не была обнаружена (Бакчарский, Шегарский, Первомайский и Молчановский районы).

Исследована динамика СЭТ за последние 45 лет с 1976 по 2020 г. (четыре цикла Швабе) в трех населенных пунктах – г. Томске, г. Колпашеве и

г. Стрежевом, расположенных друг от друга на расстоянии примерно двух широтных градусов (табл. 3).

Таблица 3 [Table 3]

Суммы эффективных температур (СЭТ) и оборотов инвазии (ОИ) для трех населенных пунктов в Томской области за 45 лет наблюдений
[The Sum of effective temperatures (SET) and the number of invasion circles (CI) for three localities in Tomsk oblast for 45 years]

Населенный пункт (широта) [Locality name (latitude)]	Минимальные СЭТ (ОИ) [Minimal SET (CI)]	Максимальные СЭТ (ОИ) [Maximal SET (CI)]	Амплитуда СЭТ (ОИ) [Amplitude of SET (CI)]	Приращение СЭТ на сезон [Increment of SET per season]	Среднее СЭТ (ОИ) [The average SET (CI)]
г. Томск [Tomsk c.] (56°29' N)	224 (1,72)	543 (4,18)	319 (2,46)	1,6	360,2 (2,77)
г. Колпашево [Kolpashevo t.] (58°21' N)	173 (1,33)	514 (3,95)	341 (2,62)	0,7	319,5 (2,46)
г. Стрежевой [Strezhevoy t.] (60°44' N)	114 (0,88)	502 (3,86)	388 (2,98)	1,5	289,6 (2,23)
Изменение показателя на один широтный градус [Parameter change for one latitude degree]	25,9 (0,2)	9,6 (0,07)	16,2 (0,12)	–	16,6 (0,13)

Минимальные, максимальные и средние значения СЭТ уменьшались с юга на север, а амплитуда колебаний СЭТ – с севера на юг. Среднее приращение СЭТ за один сезон в течение сорокапятилетнего периода изменялось от 0,7 °С в г. Колпашево до 1,6 °С в г. Томске (см. табл. 3). Таким образом, динамика потепления в крайней южной и северной точке наблюдения была почти одинаковой, а в г. Колпашево, расположенном между ними, оказалась меньше почти в два раза. Наиболее теплые сезоны выпали на последнее десятилетие (2012 и 2016 гг.), а в г. Томске сезон 2020 г. оказался четвертым среди максимальных показателей СЭТ за всю историю наблюдений.

Обсуждение

Широкое распространение инвазии в популяциях малярийных комаров Томской обл. позволяет заключить, что дирофиляриоз в этом регионе покидает категорию редких гельминтозов. Согласно критериям, описанным в литературе [6], отдельные населенные пункты могут быть отнесены к зоне умеренного риска, где ЭИ составляет 5–10%. Передача паразита подтверждена находками микрофилярий в хоботке комаров вплоть до 59° с.ш. В условиях нарастающего потепления в Томском Приобье дирофиляриоз может перейти в разряд постоянно регистрируемых гельминтозов человека уже в ближайшие несколько лет, как это сейчас происходит в Омском Прииртышье [15].

В Томской области насчитывается 581 населенный пункт, шесть из которых – города областного или районного подчинения. В ходе работы обследовано 6,2% населенных пунктов, где проживает около 80% населения области, в большей половине из них (58,3%) обнаружены переносящие дирофилярий малярийные комары. Если учитывать наши исследования на немалярийных комарах 2017–2020 гг. [29], то вывод о возрастании риска заражения человека дирофиляриозом можно считать вполне обоснованным. При этом малярийные комары оказываются чаще зараженными $2,1 \pm 0,17\%$, чем немалярийные $1,4 \pm 0,21\%$ ($\chi^2 = 8,615$; $df = 1$; $p < 0,01$), что говорит об их преимущественной роли в переносе дирофилярий в Томском Приобье.

Наиболее надежный индикатор передачи дирофилярий – доля самок с микрофиляриями инвазивной стадии L3 (векторная эффективность). Совокупная зараженность сообщества комаров (векторная компетентность) менее информативна, поскольку в ходе развития микрофилярий часть самок промежуточного хозяина погибает, не достигнув инфективной фазы, другая часть нейтрализует паразита посредством иммунной системы или протективных факторов ассоциированного микробиома [34–37]. Поэтому так важно сопровождать ксеномониторинг визуальной оценкой, не ограничиваясь ПЦР-тестом, определяющим наличие ДНК паразита, но не его физиологическое состояние, возраст и другие особенности заражения.

Показатель векторной эффективности в 5,7%, полученный в настоящем исследовании, невелик. Например, для *An. stephensi*, опасного переносчика дирофилярий на Ближнем Востоке и Африке, векторная эффективность составляет не менее 17% [38]. Однако наличие группы микрофилярий конца L2 – начала L3 объемом 17% в наших исследованиях показывает, что этот параметр варьирует в ходе сезона и нуждается в усредненной оценке. Перепады суточных температур в 20–25 °C, а также периоды похолоданий или засухи, типичные для сибирского климата, вынуждают дирофилярий развиваться с перерывами [34], что делает оценку векторной эффективности адекватной только в дни созревания во второй половине лета (после спада численности немалярийных комаров) и может исказить реальную картину циркуляции инвазии в другие периоды.

На обоих берегах Оби показатель ЭИ малярийных комаров проявлял тенденцию к увеличению с юга на север в поясе 56–59° с.ш., однако на правом берегу ЭИ оказалась почти в 3 раза выше (см. рис. 2). Такое распределение инвазии выглядит необычным с позиций общепринятых представлений об экспансии паразита, продвигающегося с юго-запада на северо-восток. Правый берег Оби значительно более заселен – на нем расположены пять из шести городов области. По левому берегу вдоль Оби проходит транспортная магистраль, соединяющая районные центры юга и севера области, включая г. Колпашево. Плотность населенных пунктов вдоль трассы высока, тогда как на правом берегу населенные пункты сильнее изолированы а транспортный поток намного слабее. Исходя из этого, завоз больных собак [4] вряд ли можно считать основным способом миграции

паразита. Расселение дирофилярий могло проходить вдоль притоков Оби на правом (р. Кеть, р. Чулым р. Томь) и левом (р. Чая, р. Парабель, р. Васьган) берегах, в зонах повышенной влажности.

Экспансия дирофилярий во многом обусловлена потеплением климата. Анализ многолетнего распределения СЭТ в трех городах Томской обл. (см. табл. 3) показал его неравномерный характер при нарастании количества тепла за сезон на 0,7–1,6 °С. Среднесезонная СЭТ за цикл Швабе в Томске увеличилась с 328 °С/сезон (2,52 ОИ) в 1976–1985 гг. до 377 °С/сезон (2,9 ОИ) в 2009–2019 гг., или на 13%. Для Колпашева аналогичный показатель – 2%, для Стрежевого – 16%, что говорит о значительно более стабильном климате Колпашева. Построение модели с учетом дискретного характера созревания микрофилярий показало сезонное чередование скорости развития с пиками в 22 и 28 суток [34]. Такая динамика наилучшим образом способствует их адаптации в условиях влажного континентального климата.

Согласно расчетам, потепление в местобитаниях происходит неравномерно, что связано не только с широтой, но и с локальными факторами (см. табл. 3), такими как влажность. Высокая влажность способствует высокой численности комаров на протяжении всего сезона [39]. Заболоченные территории формируют особый микроклимат [40], смягчающий перепады суточных температур и влияющий на развитие микрофилярий в промежуточных хозяевах.

В эндемичных регионах с устоявшимися гельминто-гостальными отношениями *An. maculipennis s.l.* выделяют в качестве первостепенного переносчика наряду с *Ae. caspius*, *Ae. vexans*, *Cx. pipiens s.s.* [17, 19, 41, 42]. В связи со сложностью различения видов-двойников, входящих в подгруппу *Maculipennis*, их редко определяют до вида и отмечают как *An. maculipennis s.l.* Тем не менее показано, что в южной Европе (Португалия, Испания) и Иране переносчиком дирофилярий выступают *An. atroparvus* и *An. maculipennis s.s.*, в южной и средней Европе – *An. messeae* и *An. daciae* [24–27]. В Томской обл. три вида малярийных комаров подгруппы способны переносить дирофилярий, но *An. beklemishevi* примерно вдвое менее активен, в то время как способность к переносу *An. daciae* и *An. messeae* варьирует в местобитаниях, возможно, в зависимости от антропогенной нагрузки или особенностей биотопов (см. табл. 2). О векторной эффективности остальных представителей подгруппы ничего не известно. Поэтому в ходе ксеномониторинга важно проводить определение комаров до вида или глубже (подвид, хромосомная раса).

An. daciae – инвазивный для Томского Приобья вид, за последние 50 лет наблюдений практически полностью вытеснивший *An. messeae* и *An. beklemishevi* в окрестностях г. Томска вследствие глобального потепления климата [44, 45]. Южнее 57-й параллели этот вид заражен, как правило, *D. repens*, но в окрестностях г. Колпашева *An. daciae* переносил *D. immitis* наряду с *An. messeae* и *An. beklemishevi*.

Между 57-й и 58-й параллелями доминировал *An. messeae*, севернее – *An. beklemishevi* [46] (см. табл. 2). *An. daciae* занимал третью позицию со-

гласно индексу доминирования (около 15%), но его зараженность в среднем соответствовала *An. messeae*. ЭИ *An. beklemishevi* была сравнительно высокой только в местообитаниях, где другие виды малярийных комаров присутствовали в небольшой доле (с. Белый Яр и с. Клюквинка). Пониженную заражаемость *An. beklemishevi* в условиях симпатрии сложно объяснить. Причиной могут служить экзотфильность, раннелетний характер развития, невысокая привлекательность собак как прокормителя, а также специфический микробиом [37].

Практически все зарегистрированные случаи дирофиляриоза человека в России являются подкожной или глазной формами, тогда как легочный дирофиляриоз встречается крайне редко [47]. Собаки европейской части РФ на 60–80% заражены *D. immitis* [7, 48, 49], но в образцах крови собак Омска и Томска обнаруживалась только *D. repens* [15, 51]. Малярийные комары европейской части России и Западной Сибири переносили преимущественно *D. repens* [15, 51, 52]. Более 90% обнаруженных нами дирофилярий в малярийных комарах также отнесены к *D. repens*. При этом в мире основным переносчиком *D. immitis* считаются малярийные комары [21].

Вид *D. immitis* в Томске выявлен нами впервые с помощью ПЦР-анализа у *Ae. cantans* 4,7% от общего числа инвазированных самок [29], а в настоящей работе обнаружен у *An. beklemishevi*, *An. messeae* и *An. daciae* Копашевской агломерации в объеме 13,6% зараженных особей (см. табл. 3). *D. immitis* мультигостальна и распространена в Евразии, Южной и Северной Америке и Австралии [8]. Легочные дирофилярии более требовательны к теплу и влажности, чем подкожные, в связи с чем медленнее продвигаются на север [9]. Обнаружение этого вида с такой частотой в Колпашевской агломерации может указывать на зарождение очага.

Проблема смешанной и повторной инвазии интересна с позиций взаимодействия разных возрастных групп видов паразита между собой и с организмом хозяина, поскольку стратегии манипуляций инвазивных и неинвазивных стадий часто противоречат друг другу [53]. Наблюдаемая нами картина суперинвазии (см. рис. 3) позволяет сделать следующие заключения:

- 1) повторное заражение у малярийных комаров происходит довольно часто (6,7% в 2020 г.);
- 2) оно происходит через 1–3 гонотрофических цикла, о чем можно судить по разнице в возрасте микрофилярий;
- 3) микрофилярии не препятствуют вторичному нападению промежуточного хозяина на зараженное животное;
- 4) микрофиляриемия дефинитивного хозяина не препятствует повторному заражению малярийных комаров;
- 5) собаки – один из предпочтительных объектов нападения для малярийных комаров. Следует заметить, что микрофиляриемия собак повышает их привлекательность для комаров pp. *Culex* и *Coquillettidia* [54, 55].

В отношении видов комаров других родов эта тема остается открытой.

Выводы

1. Дирофилярии широко распространены в Томской области. Северная граница распространения *Dirofilaria repens* – 60°44' с.ш., а *D. immitis* – 58°32' с.ш. Северная граница передачи *D. repens* расположена около 59° с.ш.

2. Вклад малярийных комаров в циркуляцию и распространение дирофиляриоза в Томской области не меньше, чем других кровососущих комаров.

3. Три вида малярийных комаров являются переносчиками *Dirofilaria repens* и *D. immitis*. *Anopheles beklemishevi* реже заражается микрофиляриями по сравнению с *An. messeae* и *An. daciae*.

4. Уровень заражения природных популяций малярийных комаров дирофиляриями значимо выше на правом берегу р. Оби по сравнению с левым берегом.

5. Микстовые инвазии и суперинвазии малярийных комаров дирофиляриями нередко встречаются в Томской области.

Список источников

1. Павлов Д.С., Букварева Е.Н. Климаторегулирующие функции наземных экосистем и экологоцентрическая концепция природопользования // Успехи современной биологии. 2011. № 4 (131). С. 324–345.
2. Мусолин Д.Л., Саулич А.Х. Реакции насекомых на современное изменение климата: от физиологии и поведения до смещения ареалов // Энтомологическое обозрение. 2012. № 1 (91). С. 3–35.
3. Захаров В.М., Шефтель Б.И., Дмитриев С.Г. Изменение климата и популяционная динамика: возможные последствия (на примере мелких млекопитающих в центральной Сибири) // Успехи современной биологии. 2011. № 5 (131). С. 435–439.
4. Морозова Л.Ф., Сергиев В.П., Баранова А.М., Ганушкина Л.А., Кондрашин А.В., Супряга В.Г., Степанова Е.В., Максимова М.С., Турбабина Н.А., Тимошенко Е.Д., Морозов Е.Н. Опыт использования ГИС в эпидемиологических исследованиях (на примере малярии и дирофиляриозов) // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2017. № 1. С. 14–19.
5. Харламова Н.Ф., Силантьева М.М. Современное состояние и тенденции изменений климата Кулунды // Известия Алтайского государственного университета. 2011. № 3-2 (71). С. 50–55.
6. Сергиев В.П., Супряга В.Г., Бронштейн А.М., Ганушкина Л.А., Ракова В.М., Морозов Е.Н., Федянина Л.В., Фролова А.А., Морозова Л.Ф., Иванова И.Б., Дарченко Н.Н., Жукова Л.А. Итоги изучения дирофиляриоза человека в России // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2014. № 3. С. 3–9.
7. Беспалова Н.С. Дирофиляриоз в Центральном Черноземье России. Воронеж : ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ, 2019. 119 с.
8. Simón F., Siles-Lucas M., Morchón R., González-Miguel J., Mellado I., Carretón E., Montoya-Alonso J.A. Human and Animal Dirofilariasis: the Emergence of a Zoonotic Mosaic // Clinical Microbiology Reviews. 2012. № 3 (25). PP. 507–544.
9. Capelli G., Genchi C., Baneth G., Bourdeau P., Brianti E., Cardoso L., Danesi P., Fuehrer H.-P., Giannelli A., Ionică A.M., Maia C., Modrý D., Montarsi F., Krücken J., Papadopoulos E., Petric D., Pfeffer M., Savić S., Otranto D., Poppert S., Silaghi C. Recent advances on *Dirofilaria repens* in dogs and humans in Europe // Parasites&Vectors. 2018. № 11. P. 663. doi: 10.1186/s13071-018-3205-x
10. Толкунова И.И., Уласевич Р.А., Яковлева Е.Г. О регистрации случая дирофиляриоза у жительницы г. Новосибирска // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2003. № 1. С. 26.

11. Азарова Н.А., Черкашина Е.Н., Гришина Н.Л., Ивлева Е.П. Дирофиляриоз в Алтайском крае // Инфекция и иммунитет: Новые и возвращающиеся паразитозы. 2012. № 1 (2). С. 351.
12. Камынина Е.А. Дирофиляриоз в Курганской области // Инфекция и иммунитет: Новые и возвращающиеся паразитозы. 2012. № 1 (2). С. 363–364.
13. Обиход С.В., Фомина Е.Б. Офтальмологический случай дирофиляриоза // Поле зрения. Газета для офтальмологов. 2015. № 1. URL: <http://aprilpublish.ru/lekciji/oftalmologicheskij-sluchaj-dirofilyarioza.html> (дата обращения: 01.02.2022).
14. Прохоренков В.И., Гузей Т.Н., Ашмарина Е.М., Толстихина Н.Б., Анисимова Е.Н., Осолков Е.О. Дирофиляриоз: два клинических случая // Клиническая дерматология и венерология. 2015. № 5. С. 32–36.
15. Старостина О.Ю., Летюшев А.Н., Костюченко С.М., Григорова Н.Ю., Коломеец А.Н., Якименко В.В., Дондукова Е.В., Бондарчук К.С. Дирофиляриоз в городе Омске // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2018. № 1. С. 25–28.
16. Полторацкая Н.В., Бурлак В.А., Панкина Т.М., Полторацкая Т.Н., Шихин А.В. О зараженности кровососущих комаров (DIPTERA; CULICIDAE) личинками дирофилярий (SPIRURIDA, ONCHOCERCIDAE) в городе Томске // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2018. № 3. С. 10–15.
17. Sancrini G, Gabrielli S. Vectors of *Dirofilaria nematodes*: biology, behaviour and host parasite relationships *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. Zagreb : Rolando Editore, 2007. PP. 48–58.
18. Ганушкина Л.А., Ракова В.М., Иванова И.Б., Супряга В.Г., Сергиев В.П. Энтомологический мониторинг территории для оценки возможности передачи дирофилярий // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2014. № 3. С. 9–12.
19. Архипова Д.Р. Биология дирофилярий и эпизоотология дирофиляриоза собак в степной зоне юга России : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Н. Новгород, 2003. 20 с.
20. Архипов И.А., Архипова Д.Р. Дирофиляриоз. М., 2004. 194 с.
21. Riahi S.M., Yusuf M.A., Azari-Hamidian S., Solgi R. Prevalence of *Dirofilaria immitis* in mosquitoes (Diptera) – systematic review and meta-analysis // J. Nematology. 2021. № 53. P. e2021-12. doi: 10.21307/jofnem-2021-012 e2021-12
22. Harbach R.E. The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships // Bull. Entomol. Res. 2004. № 6 (94). PP. 537–553.
23. Гордеев М.И., Званцов А.Б., Горячева И.И., Шайкевич А.В., Ежов М.Н. Описание нового вида *Anopheles artemievi* sp. n. (Diptera, Culicidae) // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2005. № 2. С. 4–5.
24. Azari-Hamidian S., Yaghoobi-Ershadi M., Javadian E., Abai M., Mobedi I., Linton Y.M., Harbach R. Distribution and ecology of mosquitoes in a focus of dirofilariasis in northwestern Iran, with the first finding of filarial larvae in naturally infected local mosquitoes // Medical and Veterinary Entomology. 2009. № 23. PP. 111–21.
25. Kronefeld M., Kampen H., Sassnau R., Werner D. Molecular detection of *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* and *Setaria tundra* in mosquitoes from Germany // Parasites&Vectors. 2014. № 7 (30). doi: 10.1186/1756-3305-7-30
26. Tomazatos A., Cadar D., Török E., Maranda I., Horváth C., Keresztes L., Spinu M., Janzen S., Jöst H., Schmidt-Chanasit J., Tannich E., Lühken R. Circulation of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in the Danube Delta Biosphere Reserve, Romania // Parasites&Vectors. 2018. № 11 (392). doi: 10.1186/s13071-018-2980-8
27. Shaikevich E., Bogacheva A., Ganushkina L. *Dirofilaria* and *Wolbachia* in mosquitoes (Diptera: Culicidae) in central European Russia and on the Black Sea coast. Parasite. 2019. №2 (26). doi: 10.1051/parasite/2019002
28. Фёдорова В.С., Бурлак В.А., Артемов Г.Н. Видовой состав нитевидных нематод малярийных комаров Томской области // Концептуальные и прикладные аспекты научных исследований и образования в области зоологии беспозвоночных : сборник

- статей V Международной конференции. Томск, 26–28 октября 2020 г. Томск : Издательство Томского государственного университета, 2020. С. 312–315.
29. Полторацкая Н.В., Панкина Т.М., Бурлак В.А., Федорова В.С., Катохин А.В., Полторацкая Т.Н., Артемов Г.Н., Шихин А.В. О зараженности кровососущих комаров дирофиляриями (*Dirofilaria Railliet et Henry*, 1911) в Томской области // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2021. № 1. С. 21–28.
 30. Ваулин О.В., Карагодин Д.А., Захаров И.К., Баричева Э.М. Динамика видового состава малярийных комаров в сибирских популяциях, выявляемая с помощью рестрикционного анализа // Генетика. 2018. № 7 (54). С. 832–842.
 31. Artemov G.N., Fedorova V.S., Karagodin D.A., Brusentsov I.I., Baricheva E.M., Sharakhov I.V., Gordeev M.I., Sharakhova M.V. New cytogenetic photomap and molecular diagnostics for the cryptic species of the malaria mosquitoes *Anopheles messeae* and *Anopheles daciae* from Eurasia // Insects. 2021. № 9 (12). P. 835. doi: 10.3390/insects12090835
 32. Debrunner-Vossbrinck B.A., Vossbrinck C.R., Vodkin M.H., Novak R.J. Restriction analysis of the ribosomal DNA internal transcribed spacer region of *Culex restuans* and mosquitoes in the *Culex pipiens* complex // Journal of the American Mosquito Control Association-Mosquito News. 1996. № 3 (12). PP. 477–482.
 33. Rishniw M., Barr S.C., Simpson K.W., Frongillo M.F., Franz M., Alpizar J.L.D. Discrimination between six species of canine microfilariae by a single polymerase chain reaction // Veterinary parasitology. 2006. № 3-4 (135). PP. 303–314. doi: 10.1016/j.vetpar.2005.10.013
 34. Бурлак В.А. Прогностические возможности СГ-модели оценки развития дирофилярий в кровососущих комарах // Концептуальные и прикладные аспекты научных исследований и образования в области зоологии беспозвоночных : сборник статей V Международной конференции. Томск, 26–28 октября 2020 г. Томск : Издательство Томского государственного университета, 2020. С. 255–258.
 35. McCrea A.R., Castro P.D.J., Kaplan R.M., Povelones M. Activation of the Toll pathway in *Aedes aegypti* blocks the development of emerging third-stage larvae of drug-resistant *Dirofilaria immitis* // Vet. Parasitol. 2020. № 282. P. 109100. doi: 10.1016/j.vetpar.2020.109100.
 36. Malassigné S., Moro C.V., Luis P. Mosquito Mycobiota: An Overview of Non-Entomopathogenic Fungal Interactions // Pathogens. 2020. № 7 (9). P. 564. doi: 10.3390/pathogens9070564
 37. Бурлак В.А., Федорова В.С., Кириленко К.М., Воробьев Р.С., Коханенко А.А., Артемов Г.Н. Микробиом кишечника комаров-переносчиков дирофилярий // Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания : тезисы докладов Второй Всероссийской научной конференции с международным участием. Иркутск, Байкал, 28 февраля – 6 марта 2022 г. Иркутск : Издательство ИГУ, 2022. С. 123–124.
 38. Solgi R., Sadjjadi S.M., Mohebbi M., Djajid N.D., Raz A., Zakeri S., Zarei Z. Susceptibility of *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) to *Dirofilaria immitis* (Spirurida: Onchocercidae) // Russian Journal of Nematology. 2017. № 2 (25). PP. 121–127.
 39. Лужкова А.Г., Вечер Л.Ф., Мертвцова О.А., Панкова Т.Ф., Фоминых В.Г., Франц Т.Г. Естественные враги гнуса бассейна средней Оби. Томск, 1988. 152 с.
 40. Минаева Т.Ю., Сирин А.А. Биологическое разнообразие болот и изменение климата // Успехи современной биологии. 2011. № 4 (131). С. 393–406.
 41. Bocková E., Iglódyová A., Kočíšová A. Potential mosquito (Diptera: Culicidae) vector of *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis* in urban areas of Eastern Slovakia // Parasitol Res. 2015. № 12 (114). PP. 4487–4492. doi: 10.1007/s00436-015-4692-8
 42. Capelli G., di Regalbono A.F., Simonato G., Cassini R., Cazzin S., Cancrini G., Otranto D., Pietrobelli M. Risk of canine and human exposure to *Dirofilaria immitis* infected mosquitoes in endemic areas of Italy // Parasites & Vectors. 2013. № 6. P. 60. doi: 10.1186/1756-3305-6-60

43. Ferreira C.A.C., de Pinho Mixão V., Novo M.T.L.M., Calado M.M.P., Gonçalves L.A.P., Belo S.M.D., de Almeida A.P.G. First molecular identification of mosquito vectors of *Dirofilaria immitis* in continental Portugal // Parasites&Vectors. 2015. № 8. P. 139. doi: 10.1186/s13071-015-0760-2
44. Новиков Ю.М. Эффекты глобального потепления: направленная динамика пропорций видов *Anopheles* и цитогенетической структуры таксона *Anopheles messeae* Fall. в Западной Сибири // Проблемы эволюционной цитогенетики, селекции и интродукции : материалы научных чтений. Томск, 1997. С. 39–41.
45. Гордеев М.И., Ежов М.Н. Глобальное потепление и изменение хромосомного состава сибирских популяций малярийных комаров // Доклады Академии наук. 2004. № 4 (395). С. 554–557.
46. Соболева Е.С., Фёдорова В.С., Бурлак В.А., Шарахова М.В., Артемов Г.Н. Инверсионный полиморфизм природных популяций *Anopheles beklemishevi* Stegnii et Kabanova в Западной Сибири // Концептуальные и прикладные аспекты научных исследований и образования в области зоологии беспозвоночных : сборник статей V Международной конференции. Томск, 26–28 октября 2020 г. Томск : Издательство Томского государственного университета, 2020. С. 140–143.
47. Tumolskaya N.I., Pozio E., Rakova V.M., Supriaga V.G., Sergiev V.P., Morozov E.N., Morozova L.F., Rezza G., Litvinov S.K. *Dirofilaria immitis* in a child from the Russian Federation // Parasite. 2016. № 23. P. 37. doi: 10.1051/parasite/2016037
48. Ястреб В.Б. Эпизоотическая ситуация по диروفилариозу собак в Московском регионе // Российский паразитологический журнал. 2008. № 3. С. 63–68.
49. Нагорный С.А., Ермакова Л.А., Урянская Т.В., Черникова М.П. Диروفилариоз служебных собак // Вестник Донского гос. аграрного ун-та. 2020. № 4. С. 24–29.
50. Коняев С.В. Распространение *Dirofilaria immitis* в странах бывшего СССР // Современная ветеринарная медицина. 2019. № 5. С. 26–45.
51. Ракова В.М. Молекулярное исследование *Dirofilaria immitis* и *Dirofilaria repens* прямым методом ПЦР в комарах Московской и Нижегородской областей // Сеченовский вестник. 2012. № 4 (10). С. 52–56.
52. Богачева А.С., Шайкевич Е.В., Ракова В.М., Ганушкина Л.А. Фауна кровососущих комаров Нижегородской области, их зараженность диروفилариями и эндосимбиотическими бактериями // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2017. № 1. С. 43–47.
53. Гопко М.В., Михеев В.Н. Паразитические манипуляции фенотипом хозяина: эффекты во внутренней и внешней среде // Журнал общей биологии. 2017. № 6 (78). С. 16–48.
54. Cancrini G., Magi M., Gabrielli S., Arispici M., Tolari F., Dell’Omodarme M., Prati M.C. Natural vectors of dirofilariasis in rural and urban areas of the tuscan region, Central Italy // J. Med. Entomol. 2006. № 3 (43). PP. 574–579.
55. Ionică A.M., Zittra C., Wimmer V., Leitner N., Votýpka J., Modrý D., Daniel Mihalca A., Fuehrer H.-P. Mosquitoes in the Danube Delta: searching for vectors of filarioid helminths and avian malaria // Parasites&Vectors. 2017. № 10. P. 324. doi: 10.1186/s13071-017-2264-8

References

1. Pavlov DS, Bukvareva EN. Climate-regulating functions of terrestrial ecosystems and "environmentally friendly" concept of nature management. Biology Bulletin Reviews. 2011;131(4):324–345. In Russian. English summary.
2. Musolin DL, Saulich AK. Responses of insects to the current climate changes: from physiology and behavior to range shifts. Entomological review. 2012;92(7):3-35. In Russian.
3. Zakharov VM, Sheftel BI, Dmitriev SG. Climate change and population dynamics: possible consequences (with particular references to study of small mammals in central siberia). Biology Bulletin Reviews. 2011;131(5):435–439. In Russian. English summary.
4. Morozova LF, Sergiev VP, Baranova AM, Ganushkina LA, Kondrashin AV, Supriaga VG, Stepanova EV, Maksimova MS, Turbabina NA, Timoshenko ED, Morozov EN. Experi-

- ence with geographic information systems used in epidemiological studies (as an example of malaria and dirofilariasis). *Medical parasitology and parasitic diseases*. 2017;1:14–19. In Russian. English summary.
5. Kharlamova NF, Silant'eva MM. Current state and trends in climate change in the Kulunda. *Izvestiya Altayskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2011;3-2(71):50-55. In Russian. English summary.
 6. Sergiev VP, Supriaga VG, Bronshtein AM, Ganushkina LA, Rakova VM, Morozov EN, Fedianina LV, Frolova AA, Morozova LF, Ivanova IB, Darchenkova NN, Zhukova LA. 2014. Results of studies on human dirofilariasis in Russia. *Medical parasitology and parasitic diseases*. 2014;3:3-9. In Russian. English summary.
 7. Bespalova NS. *Dirofilyarioz v Tsentral'nom Chernozem'e Rossii [Dirofilariasis in the central chernozem region of Russia]*. Voronezh: FGBOU VO Voronezhskiy GAU, 2019. 119 p. In Russian.
 8. Simón F., Siles-Lucas M., Morchón R., González-Miguel J., Mellado I., Carretón E., Montoya-Alonso J. A. Human and Animal Dirofilariasis: the Emergence of a Zoonotic Mosaic. *Clinical Microbiology Reviews*. 2012;25(3): 507-544.
 9. Capelli G, Genchi C, Baneth G, Bourdeau P, Brianti E, Cardoso L, Danesi P, Fuehrer H-P, Giannelli A, Ionică AM, Maia C, Modrý D, Montarsi F, Krücken J, Papadopoulos E, Petric D, Pfeiffer M, Savić S, Otranto D, Poppert S, Silaghi C. Recent advances on *Dirofilaria repens* in dogs and humans in Europe. *Parasites&Vectors*. 2018;11:663. doi:10.1186/s13071-018-3205-x.
 10. Tolkunova II, Ulasevich RA, Yakovleva EG. On the registration of a case of dirofilariasis in a resident of the Novosibirsk city. *Medical parasitology and parasitic diseases*. 2003;1:26. In Russian. English summary.
 11. Azarova NA, Cherkashina EN, Grishina NL, Ivleva EP. *Dirofilyarioz v Altayskom krae [Dirofilariasis in the Altai Territory]*. *Infektsiya i immunitet: Novye i vovrashchayushchiesya parazitozy*. 2012;2(1):351. In Russian.
 12. Kamynina EA. *Dirofilyarioz v Kurganskoj oblasti [Dirofilariasis in the Kurgan region]*. *Infektsiya i immunitet: Novye i vovrashchayushchiesya parazitozy*. 2012;2(1):363-364. In Russian.
 13. Obikhod SV, Fomina EB. *Oftal'mologicheskij sluchay dirofilyarioza [Ophthalmic case of dirofilariasis]*. *Pole zreniya. Gazeta dlya oftal'mologov*. 2015. №1. [Electronic resource]. Available at: <http://aprilpublish.ru/lekciji/oftalmologicheskij-sluchaj-dirofilyarioza.html> (accessed: 01.02.2022). In Russian.
 14. Prokhorenkov VI, Guzey TN, Ashmarina EM, Tolstikhina NB, Anisimova EN, Oskolkov EO. Dirofilariasis: two clinical cases. *Russian Journal of Clinical Dermatology and Venerology*. 2015;5:32-36. doi: 10.17116/klinderma201514532-36
 15. Starostina OYu, Letyushev AN, Kostyuchenko SM, Grigorova NYu, Kolomeets AN, Yakimenko VV, Dondukova EV, Bondarchuk KS. Dirofilariasis in the city of Omsk. *Medical parasitology and parasitic diseases*. 2018;1:25-28. In Russian. English summary.
 16. Poltoratskaya NV, Burlak VA, Pankina TM, Poltoratskaya TN, Shikhin AV. On Dirofilaria (Railliet et Henry, 1911) infection of blood-sucking mosquitoes in Tomsk region. *Medical parasitology and parasitic diseases*. 2018;3:10-15. In Russian. English summary.
 17. Cancrini G, Gabrielli S. Vectors of Dirofilaria nematodes: biology, behaviour and host parasite relationships *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. Genchi C, Rinaldi L, Cringoli G editors. Zagreb: Rolando Editore, 2007: 48-58.
 18. Ganushkina LA, Rakova VM, Ivanova IB, Supryaga VG, Sergiev VP. Entomological monitoring of the territory to assess the possibility of Dirofilaria transmission // *Medical parasitology and parasitic diseases*. 2014;3:9-12. In Russian. English summary.
 19. Arkhipova DR. *Biologiya dirofilyariy i epizootologiya dirofilyarioza sobak v stepnoy zone yuga Rossii [Dirofilaria biology and epizootology of dirofilariasis in dogs in the steppe zone of southern Russia]* [CandSci. Dissertation Abstract, Biology] N. Novgorod, 2003, 20 p. In Russian.
 20. Arkhipov IA, Arkhipova DR. *Dirofilyarioz. [Dirofilariasis]*. M; 2004. 194 p. In Russian.

21. Riahi SM, Yusuf MA, Azari-Hamidian S, Solgi R. Prevalence of *Dirofilaria immitis* in mosquitoes (Diptera) – systematic review and meta-analysis // J. Nematology. 2021;53:e2021-12. doi: 10.21307/jofnem-2021-012 e2021-12
22. Harbach R.E. The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. Bull. Entomol. Res. 2004; 94(6):537–553.
23. Gordeyev MI, Zvantsov AB, Goryacheva II, Shaikevich YeV, Yezhov MN. Description of the new species *Anopheles artemievi* sp.n. (Diptera, Culicidae). Medical parasitology and parasitic diseases. 2005;2:4–5. In Russian. English summary.
24. Azari-Hamidian S, Yaghoobi-Ershadi M, Javadian E, Abai M, Mobedi I, Linton YM, Harbach, R. Distribution and ecology of mosquitoes in a focus of dirofilariasis in northwestern Iran, with the first finding of filarial larvae in naturally infected local mosquitoes. Medical and Veterinary Entomology. 2009;23:111-121.
25. Kronefeld M, Kampen H, Sassnau R, Werner D. Molecular detection of *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* and *Setaria tundra* in mosquitoes from Germany. Parasites&Vectors. 2014;30(7). doi: 10.1186/1756-3305-7-30
26. Tomazatos A, Cadar D, Török E, Maranda I, Horváth C, Keresztes L, Spinu M, Jansen S, Jöst H, Schmidt-Chanasit J, Tannich E, Lühken R. Circulation of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in the Danube Delta Biosphere Reserve, Romania. Parasites & Vectors. 2018;392(11). doi: 10.1186/s13071-018-2980-8
27. Shaikevich E, Bogacheva A, Ganushkina L. *Dirofilaria* and *Wolbachia* in mosquitoes (Diptera: Culicidae) in central European Russia and on the Black Sea coast. Parasite. 2019;26(2). doi: 10.1051/parasite/2019002
28. Fedorova VS, Burlak VA, Artemov GN. Vidovoy sostav nitevidnykh nematod malyariynykh komarov Tomskoy oblasti. [Species composition of nematodes on malaria mosquitoes of the Tomsk region]. In: *Kontseptual'nye i prikladnye aspekty nauchnykh issledovaniy i obrazovaniya v oblasti zoologii bespozvonochnykh*. Materialy nauch. konf. [Conceptual and applied aspects of scientific researches and education in the field of zoology of invertebrates. collection Proc. of the Sci. Conf. (Tomsk, Russia, 26-28 October, 2020)]. Tomsk: Tomsk State University Press, 2020. PP. 312-315. In Russian
29. Poltoratskaya NV, Pankina TM, Burlak VA, Fedorova VS, Katokhin AV, Poltoratskaya TN, Artemov GN, Shikhin AV. On dirofilaria (Railliet et henry, 1911) infection of blood-sucking mosquitoes in Tomsk region. Medical parasitology and parasitic diseases. 2021;1:21-28. In Russian. English summary.
30. Vaulin OV, Karagodin DA, Zakharov IK, Baricheva EM. Dynamics of malaria mosquito species composition in Siberian populations detected by restriction analysis. Russian Journal of Genetics. 2018;(54)7:838-847.
31. Artemov GN, Fedorova VS, Karagodin DA, Brusentsov II, Baricheva EM, Sharakhov IV, Gordeev MI, Sharakhova MV. New cytogenetic photomap and molecular diagnostics for the cryptic species of the malaria mosquitoes *Anopheles messeae* and *Anopheles daciae* from Eurasia. Insects. 2021;12(9):835. doi: 10.3390/insects12090835
32. Debrunner-Vossbrinck BA, Vossbrinck CR, Vodkin MH, Novak RJ. Restriction analysis of the ribosomal DNA internal transcribed spacer region of *Culex restuans* and mosquitoes in the *Culex pipiens* complex //Journal of the American Mosquito Control Association-Mosquito News. 1996;12(3):477-482.
33. Rishniw M, Barr SC, Simpson KW, Frongillo MF, Franz M, Alpizar JLD. Discrimination between six species of canine microfilariae by a single polymerase chain reaction. Veterinary parasitology. 2006;135(3-4):303-14. doi: 10.1016/j.vetpar.2005.10.013
34. Burlak VA. Prognosticheskie vozmozhnosti SG-modeli otsenki razvitiya dirofilyariy v krovososushchikh komarakh. [Predictive possibilities of the SG-model for assessing the development of dirofilaria in blood-sucking mosquitoes]. In: *Kontseptual'nye i prikladnye aspekty nauchnykh issledovaniy i obrazovaniya v oblasti zoologii bespozvonochnykh*. Materialy nauch. konf. [Conceptual and applied aspects of scientific researches and education in the field of zoology of invertebrates. collection Proc. of the Sci. Conf. (Tomsk, Russia, 26-28 October, 2020)]. Tomsk: Tomsk State University Press, 2020. pp. 255-258. In Russian.

35. McCrea AR, Castro PDJ, Kaplan RM, Povelones M. Activation of the Toll pathway in *Aedes aegypti* blocks the development of emerging third-stage larvae of drug-resistant *Dirofilaria immitis*. Vet. Parasitol. 2020;282:109100. doi:10.1016/j.vetpar.2020.109100
36. Malassigné S, Moro CV, Luis P. Mosquito Mycobiota: An Overview of Non-Entomopathogenic Fungal Interactions. Pathogens. 2020;9(7):564. doi: 10.3390/pathogens9070564
37. Burlak VA, Fedorova VS, Kirilenko KM, Vorobyov RS, Kokhanenko AA, Artemov GN. Mikrobiom kishchey komarov-perenoschikov dirofilariy. [Intestinal microbiome of dirofilaria mosquito vectors]. In: *Mekhanizmy adaptatsii mikroorganizmov k razlichnym usloviyam sredy obitaniya*. Materialy nauch. konf. [Mechanisms of microorganisms adaptation to different habitat condition. Proc. of the Sci. Conf. (Irkutsk, Russia, 28 February – 6 March, 2022)]. Irkutsk: Irkutsk State University Publ., 2022. pp. 123-124. In Russian.
38. Solgi R, Sadjjadi SM, Mohebal M, Djadid ND, Raz A, Zakeri S, Zarei Z. Susceptibility of *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) to *Dirofilaria immitis* (Spirurida: Onchocercidae). Russian Journal of Nematology. 2017;25(2):121-127.
39. Luzhkova AG, Vecher LF, Mertvetsova OA, Pankova TF, Fominykh VG, Franz TG. Estestvennye vrugi gnusa basseyna sredney Obi [Natural enemies of the gnat in the middle Ob basin]. Tomsk; 1988. 152 p. In Russian.
40. Minaeva TYu, Sirin AA. Peatland biodiversity and climate change. Biology Bulletin Reviews, 2011. 131(4): 393-406.
41. Bocková E, Iglódyová A, Kočíšová A. Potential mosquito (Diptera:Culicidae) vector of *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis* in urban areas of Eastern Slovakia. Parasitol. Res. 2015;114(12):4487-92. doi: 10.1007/s00436-015-4692-8
42. Capelli G, di Regalbono AF, Simonato G, Cassini R, Cazzin S, Cancrini G, Otranto D, Pietrobelli M. Risk of canine and human exposure to *Dirofilaria immitis* infected mosquitoes in endemic areas of Italy. Parasites&Vectors. 2013;6:60. doi: 10.1186/1756-3305-6-60
43. Ferreira CAC, de Pinho Mixão V, Novo MTLM, Calado MMP, Gonçalves LAP, Belo SMD, de Almeida APG. First molecular identification of mosquito vectors of *Dirofilaria immitis* in continental Portugal. Parasites&Vectors. 2015;8:139. doi: 10.1186/s13071-015-0760-2
44. Novikov YuM. Effekty global'nogo potepeniya: napravlenaya dinamika proporsiy vidov Anopheles i tsitogeneticheskoy struktury taksona *Anopheles messeae* Fall. v Zapadnoy Sibiri [Effects of global warming: directional dynamics of the proportions of Anopheles species and the cytogenetic structure of the taxon *Anopheles messeae* Fall. in Western Siberia]. In: *Problemy evolyutsionnoy tsitogenetiki, seleksii i introduksii*. Materialy nauch. konf. [Problems of evolutionary cytogenetics, selection and introduction. Proc. of the Sci. Conf. (Tomsk, Russia, 2-5 December, 1997)]. Tomsk, 1997, pp. 39-41. In Russian.
45. Gordeev MI, Ejov MN. Global warming and variation in the chromosomal composition of Siberian malaria mosquito populations. Doklady Biological Sciences. 2004;395(1-6): 136-139. In Russian. English summary.
46. Soboleva ES, Fedorova VS, Burlak VA, Sharakhova MV, Artemov GN. Inversionnyy polimorfizm prirodnykh populatsiy *Anopheles beklemishevi* Stegnii et Kabanova v Zapadnoy Sibiri. [Inversion polymorphism of natural populations *Anopheles beklemishevi* Stegnii et kabanova in western]. In: *Kontseptual'nye i prikladnye aspekty nauchnykh issledovaniy i obrazovaniya v oblasti zoologii bespozvonochnykh*. Materialy nauch. konf. [Conceptual and applied aspects of scientific researches and education in the field of zoology of invertebrates. collection Proc. of the Sci. Conf. (Tomsk, Russia, 26-28 October, 2020)]. Tomsk: Tomsk State University Press, 2020. pp. 140-143. In Russian.
47. Tumolskaya NI, Pozio E, Rakova VM, Supriaga VG, Sergiev VP, Morozov EN, Morozova LF, Rezza G, Litvinov SK. *Dirofilaria immitis* in a child from the Russian Federation. 2016;23:37. doi: 10.1051/parasite/2016037
48. Yastreb VB. Epizootic situation of dirofilariasis in dogs in the Moscow region / Russian Journal of Parasitology. 2008;3:63-68. In Russian. English summary.
49. Nagornyy SA, Ermakova LA, Uryanskaya TV, Chernikova MP. Dirofilariasis of service dogs. Vestnik Donskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2020;4:24-29. In Russian.

50. Koniaev SV. Rasprostranenie *Dirofilaria immitis* v stranakh byvshego SSSR [Distribution of *Dirofilaria immitis* in the former USSR countries]. *Sovremennaya veterinarnaya meditsina*. 2019;5:26-45. In Russian.
51. Rakova VM. Molekulyarnoe issledovanie *Dirofilaria immitis* i *Dirofilaria repens* pryamym metodom PTsR v komarakh Moskovskoy i Nizhegorodskoy oblastey [Molecular studies of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* provided with the direct PCR method of mosquitoes research in Moscow and Nizhny Novgorod regions]. *Sechenovskiy vestnik*. 2012;4 (10):52-56. In Russian.
52. Bogacheva AS, Shaikevich EV, Rakova VM, Ganushkina LA. The fauna of bloodsucking mosquitoes in the Nizhny Novgorod region, their infection with *Dirofilaria* and endosymbiotic bacteria. Medical parasitology and parasitic diseases. 2017;1:43-47. In Russian. English summary.
53. Gopko MV, Mikheev VN. Parasitic manipulations of the host phenotype: effects in the internal and external environments. *Biology Bulletin Reviews*. 2017;78(6):16-48. In Russian. English summary.
54. Cancrini G, Magi M, Gabrielli S, Arispici M, Tolari F, Dell'Omodarme M, Prati MC. Natural vectors of dirofilariasis in rural and urban areas of the tuscan region, Central Italy. *J. Med. Entomol.* 2006;43(3):574-579.
55. Ionică AM, Zitra C, Wimmer V, Leitner N, Voťpka J, Modrý D, Daniel Mihalca A, Fiehrer H-P. Mosquitoes in the Danube Delta: searching for vectors of filarioid helminths and avian malaria. *Parasites&Vectors*. 2017;10:324. doi: 10.1186/s13071-017-2264-8.

Информация об авторах:

Фёдорова Валентина Сергеевна – аспирант, м.н.с. лаборатории экологии, генетики и охраны окружающей среды Томского государственного университета (Томск, Россия).
E-mail: klimovavs42@gmail.com

Бурлак Владимир Александрович – канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории экологии, генетики и охраны окружающей среды Томского государственного университета (Томск, Россия).

E-mail: flywings@mail.ru

Артемов Глеб Николаевич – канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории экологии, генетики и охраны окружающей среды Томского государственного университета (Томск, Россия).

E-mail: glebartemov@mail.tsu.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Valentina S. Fedorova – PhD student, Junior Researcher, Laboratory of Ecology, Genetics and Environment Protection of Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation).

E-mail: klimovavs42@gmail.com

Vladimir A. Burlak – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Ecology, Genetics and Environment Protection of Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation).

E-mail: flywings@mail.ru

Gleb N. Artemov – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Ecology, Genetics and Environment Protection of Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation).

E-mail: glebartemov@mail.tsu.ru

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 07.04.2022;
одобрена после рецензирования 15.07.2022; принята к публикации 03.10.2022.*

*The article was submitted 07.04.2022;
approved after reviewing 15.07.2022; accepted for publication 03.10.2022.*

ЭКОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 630*114:630*43

doi: 10.17223/19988591/58/8

Лесоэкологические последствия ландшафтных пожаров в Забайкалье

Михаил Данилович Евдокименко¹,
Леонид Владиленович Кривобоков², Алексей Евгеньевич Петренко³

^{1, 2, 3} *Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия*

¹ <https://orcid.org/0000-0002-2065-236X>, evdokimenko@ksc.krasn.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-4105-6281>, leo_kr@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-3444-5297>, alcorsci@bk.ru

Аннотация. Отмечаются региональные особенности возникновения ландшафтных пожаров. Изучены и классифицированы пироэкологические режимы растительности (благополучный, умеренный, интенсивный, экстремальный) при различной метеоситуации по всем высотно-поясным комплексам (ВПК). Установлены основные параметры для каждого варианта: потенциальные масштабы и длительность пожароопасного состояния в зависимости от ВПК. Ландшафтные пожары возникают при интенсивном и экстремальном режимах, по мере образования на больших территориях состояния пироэкологической монотонности (отсутствие негоримых по естественным причинам участков ландшафта). За последнее время пироэкологические аномалии с ландшафтными пожарами происходили в 2003 и 2015 гг. Обширные ландшафтные пожары в светлохвойных лесах оставляют за собой насаждения, включающие участки поврежденных и погибших деревьев, в зависимости от вида и интенсивности огневого воздействия. Далее в процессе послепожарного лесовозобновления формируется сложная мозаика группово-разновозрастных древостоев, периодически модифицируемая повторными пожарами. При тяжелых поражениях древостоев восстановление их допожарной полноты и запаса растягивается на длительное время, а после повторных пожаров развивается пироэкологическая дигрессия с катагенезом и неизбежной утратой экологического значения насаждений. Иллюстрируется вековая динамика основных таксационных показателей в пироэкологических древостоях. Установлены аналитические зависимости изменений жизнеспособности деревьев после интенсивного низового пожара от их морфологических признаков. Резюмируется негативное влияние ландшафтных пожаров с последующим локальным обезлесением на экологическую ситуацию в регионе.

Ключевые слова: лесные экосистемы, ландшафтные пожары, фитоценозы, дигрессия, обезлесение, сток

Источник финансирования: работа выполнена в рамках фундаментальных научных исследований по программам РАН № 0287-2021-0010, номер НИОКТР 121030900181-4 «Научные основы сохранения ресурсного и экологического потенциала лесов Сибири в условиях кумулятивных антропогенных и природных рисков» и № 0287-2021-0009, номер НИОКТР 121031500336-9 «Функциональ-

но-динамическая индикация биоразнообразия лесов Сибири», а также, частично, при финансовой поддержке РФФИ, Правительства Красноярского края и Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта № 20-44-240008 р_а_Красноярск – сбор полевого геоботанического материала и его обработка.

Для цитирования: Евдокименко М.Д., Кривобоков Л.В., Петренко А.Е. Лесоэкологические последствия ландшафтных пожаров в Забайкалье // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 58. С. 153–180. doi: 10.17223/19988591/58/8

Original article

doi: 10.17223/19988591/58/8

Environmental Consequences of Landscape Fires in Trans-Baikal Forests

Michael D. Evdokimenko¹, Leonid V. Krivobokov², Alexey E. Petrenko³

^{1, 2, 3} *VN Sukachev Institute of Forest SB RAS, Krasnoyarsk, Russia Federation*

¹ <https://orcid.org/0000-0002-2065-236X>, evdokimenko@ksc.krasn.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-4105-6281>, leo_kr@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-3444-5297>, alcorsci@bk.ru

Summary. Landscape fires play the leading role in the modern anthropogenic dynamics of forest ecosystems in south-eastern Siberia. Forest pyrologists consider them the most destructive manifestation of fires – an environmental factor that acts across wide areas to change the state of landscapes. Due to the insufficient knowledge of the nature of pyrogenic forest ecosystems, especially its dynamic aspects in the forest-forming process, obtaining data on the pyrogenic dynamics of forest ecosystems belonging to various ranks is of broad scientific interest. A new aspect of this study is assessing ecosystem transformations under various pyrological regimes that determine the pyrogenic successions of plant communities, the hydrothermal regime of soils, a post-fire runoff, etc. The history of catastrophic landscape fires in the Baikal and Trans-Baikal regions began after the construction of the Trans-Siberian Railway. At that time, a long strip of coastal hemiboreal small-leaved deciduous forests formed along the southern shore of Lake Baikal, in the area of indigenous dark coniferous taiga, as a result of the “selective” impact of a lingering series of fires that followed intense forest harvesting. It happened regardless of the average productivity of the pyrogenic stands being 30–40% lower vs. the potential level. The landscape fires of the 1930–1950s that arose during industrial development, especially in the areas of intense forest harvesting, caused heavy damage to forest ecosystems throughout Transbaikalia. Now, due to a regress in the Russian forest management, landscape fires have turned into an archaic alternative to the ecological progress as of the 1970s and 1980s. Therefore, the relevant goal of this article is to consider the transformation of forest ecosystems after landscape fires.

The emergence and spread of landscape fires were studied during two fire-intensive seasons through the air monitoring of the Trans-Baikal territory. Geographic coordinates: 49–57° N, 99–122° E. Regular pyrological studies of the seasonal dynamics of the forest fire danger implied the use of the method suggested by N.P. Kurbaty (1970) [9]. The permanent trial plots were located on the Malkhansky and Khamar-Daban Mountain Ranges. The route studies covered the Selenga Highlands, as well as the basins of the Rivers Barguzin, Turka, Upper Angara, Muya, and Chara.

Fig. 1 shows the schematic map of the sites. The pyrological regimes of vegetation complexes were established based on research data (see the table). The environmental consequences of landscape fires were studied in the forests of South-Eastern Baikal and Central Transbaikalia. The closest observations of the dynamics of burned (including through prescribed burning) and control stands were performed on permanent sample plots. There the researchers also ensured regular accounting of litterfall using special 1×1m collectors. The grain composition and physical and mechanical properties of the soils were determined via the common methods [21]. The pyrogenic variations of the forest-forming process after landscape fires were observed in different natural districts (Fig. 2).

Pyrological regimes differ in the altitude-belt complexes (ABC) of vegetation and correspond to a wide range of atmospheric moistening. Forest-steppe vegetation prevails in the valleys of large rivers and low mountains in the conditions of extremely insufficient moistening. This vegetation is exposed to an extreme fire regime in the spring and in the early summer. The Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) prevails in sub-taiga-forest-steppe forests. There, an intense regime takes place even in a standard weather situation. The fire maturation of forests in the light-coniferous taiga belt with predominant larches (*Larix sibirica* Ledeb., *Larix gmelini* Rupr.) is approximately two times longer vs. forest-steppe and hemiboreal forests. Accordingly, the pyrological regimes vary from intense to moderate. Dark coniferous forests comprising the Siberian pine (*Pinus sibirica* Du Tour.), fir (*Abies sibirica* Ledeb.) and spruce (*Picea obovata* Ledeb.) are confined to wet belts with a moderate pyrological regime. A safe regime prevails in the subalpine ABC. The general fire danger is determined by ground fires, after which most burned forests retain their vitality at the level of their fire resistance, as well as depending on the actual intensity of fire in this area. Fig. 3 illustrates the typical dynamics of Scots pine stands established based on forest management data. In fact, diverse structural transformations of plant communities are observed after landscape fires – from a moderate fire damage to heavy thinning caused by an intense fire, and even complete death after head fires with probable local deforestation. Fig. 4 shows the comparative dynamics of the population of trees in normal and pyrogenic larch forests. Larch trees have an advantageous position vs. pines, as they are better protected from thermal damage by their thick bark. Besides, the crowns of larch trees are capable of regenerating needles and shoots damaged by fire. The duration of recovery to the pre-fire basal area increases exponentially with age, since forest stands inevitably face a growth decline as they become old. The pyrogenic digression of larch forests in permafrost areas with a burned peat horizon was followed by a tree fall, which was observed during the air monitoring of fires. Later thickets of birch and willow trees formed there. The fire damage to trees (trunks and crown), the ground cover, as well as the hydrothermal regime of soils are most comprehensively studied in the Scots pine forests of Central Transbaikalia where the ground cover and lower forest layers were explored not only at natural fire sites but also through prescribed burning. The integral picture of forest disturbance with landscape fires is complex and diverse. On mountain slopes, the strongest fire was observed when it was moving upwards. The speed and direction of the wind, as well as the daily temperature and humidity rhythm played a significant role in the spread of the fire line. Therefore, extensive landscape fires left behind a chaotic structure of damaged and dead stands. Later, a complex mosaic of uneven-aged stands modified by repeated fires formed during post-fire reforestation. After high-intensity fires, the forest plant communities were locally replaced by steppe ones, while reforestation took entire decades. Successions after fires were different. Extensive fires in the upper taiga ABC used to lower the upper boundary of the forest belt. Meanwhile, situations being destructive for the forest ecosystems of Transbaikalia regularly recurred, which was clearly seen based on the 200-year dynamics of the tree-ring width of the Scots pine in the River Turka valley. The tree diagram in Fig. 5 unambiguously shows a sharp de-

cline in the width of tree rings at the turn of the 19th-20th centuries when the Trans-Siberian Railway was built. One may also identify drought periods in the 1930–1970s. The pyrogenic anomaly of 2015 that covered over 10% of the Baikal region turned out to be extremely dangerous.

The article contains 5 Figures, 1 Table and 58 References.

Keywords: forest ecosystems, landscape fires, plant communities digression, deforestation, drainage

Fundings: The work was carried out within the framework of fundamental scientific research programs of the Russian Academy of Sciences No. 0287-2021-0010, state registration number No. 121030900181-4 “Scientific Foundations of the Conservation of the Resource and Ecological Potential of Siberian Forests under the Conditions of Cumulative Anthropogenic and Natural Risks” and No. 0287-2021-0009, state registration number No. 121031500336-9 “Functional-dynamic Indication of Biodiversity of Siberian Forests”, and, in part, with the financial support of the RFBR, Krasnoyarsk Territory and Krasnoyarsk Regional Fund of Science, project number 20-44-240008 r_a_Krasnoyarsk - collection of field geobotanical material and its processing.

For citation: Evdokimenko MD, Krivobokov LV, Petrenko AE. Forest ecological consequences of landscape fires in Transbaikalia. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;58:153-180. doi: 10.17223/19988591/57/8

Введение

Ландшафтным пожарам принадлежит ведущая роль в современной антропогенной динамике лесных экосистем на юго-востоке Сибири [1–5]. Кроме того, современная пирогенная обстановка на стыке бореальной и умеренной ландшафтных зон Евразии тесно связана с проблемами глобального изменения климата под влиянием увеличения выбросов в атмосферу парниковых газов [6–8]. По определению Н.П. Курбатского [9], к категории ландшафтных относятся растительные пожары, охватившие площадь, занятую двумя и более подтипами растительности. И.С. Мелехов [10] считал их наиболее грандиозным и разрушительным проявлением огненной стихии – экологическим фактором, действующим на большие территории, изменяющим состояние местного ландшафта. Отмечалась недостаточная изученность природы пирогенных лесных экосистем, в особенности динамических ее аспектов в лесообразовательном процессе.

Получение данных о природе ландшафтных пожаров, особенно о пирогенной динамике лесных экосистем разного ранга, представляет широкий научный интерес. Новым аспектом в изучении данного вопроса представляется проведенное нами исследование трансформаций экосистем при различных пирологических режимах, которые детерминируют пирогенные сукцессии фитоценозов, гидротермический режим почв, послепожарный сток и др.

Хозяйственная история ландшафтных пожаров, оказавших катастрофическое воздействие на лесные экосистемы Прибайкалья и Забайкалья, началась вслед за сооружением Транссибирской железной дороги (Транссиба). Тогда вдоль южного берега оз. Байкал на месте коренной темно-

хвойной тайги образовалась протяженная полоса прибрежных гемибореальных мелколиственных лесов – результат «селективного» воздействия на таежные экосистемы затянувшейся череды пожаров, следовавших за интенсивными лесозаготовками [11]. По данным А.В. Побединского [12], пожары в лесах бассейна оз. Байкал на протяжении этого периода возникали примерно вдвое чаще, чем в лесах Приангарья. Средний уровень продуктивности пирогенных древостоев на северном макросклоне Хамар-Дабана на 30–40% ниже от потенциально возможного [13].

Тяжелый урон лесным экосистемам в зоне Транссиба на юго-востоке Сибири нанесли пожары 1930–1950-х гг., возникавшие при их промышленном освоении, особенно в районах концентрированных лесоразработок.

В настоящее время осложняется неблагоприятная экологическая ситуация и в природном комплексе Байкала. Темнохвойные леса на Хамар-Дабане заметно пострадали от засух [14], а огненная стихия в них может обернуться катастрофическими потерями. Это несовместимо с высоким биосферным статусом объекта Всемирного природного наследия. Поэтому рассмотрение трансформаций лесных экосистем ландшафтными пожарами является целью данного исследования.

Материалы и методики исследования

Рекогносцировочные наблюдения за возникновением, распространением и лесоводственными последствиями ландшафтных пожаров осуществлялись в процессе авиапатрулирования территории изучаемого региона. Регулярные полеты, по большей части ежедневные, на протяжении пожароопасных сезонов 1964–1965 гг. выполнялись первым автором статьи, бывшим летчиком-наблюдателем Забайкальской базы авиационной охраны лесов.

Пирологические режимы растительных комплексов установлены по материалам исследований их пожароопасности [15]. Объекты регулярных пирологических наблюдений (площадью 0,3–0,8 га) расположены в различных высотных поясах Малханского хребта и на Хамар-Дабане. Маршрутные исследования выполнены в насаждениях преимущественно подтаежно-лесостепного и светлохвойного таежного высотного пояса комплексов (ВПК) в районе Селенгинского Среднегорья, включая долины основных притоков р. Селенга (Чикой, Хилок, Уда), а также по бассейнам рек Баргузин, Турка и Верхняя Ангара, Муя и Чара. Картограмма объектов исследования представлена на рис. 1.

Опытные участки для исследования сезонной динамики процесса пожарного созревания лесных горючих материалов (ЛГМ) отражают характерные группы типов леса. На каждом из них в течение 5-летнего периода прослежена фактическая пожароопасность по методике Н.П. Курбатского [9]. Условия увлажнения в период исследований варьировали: обычная метеоситуация – 3 года, благоприятная – 1, сильная засушливость также наблюдалась в течение одного сезона.

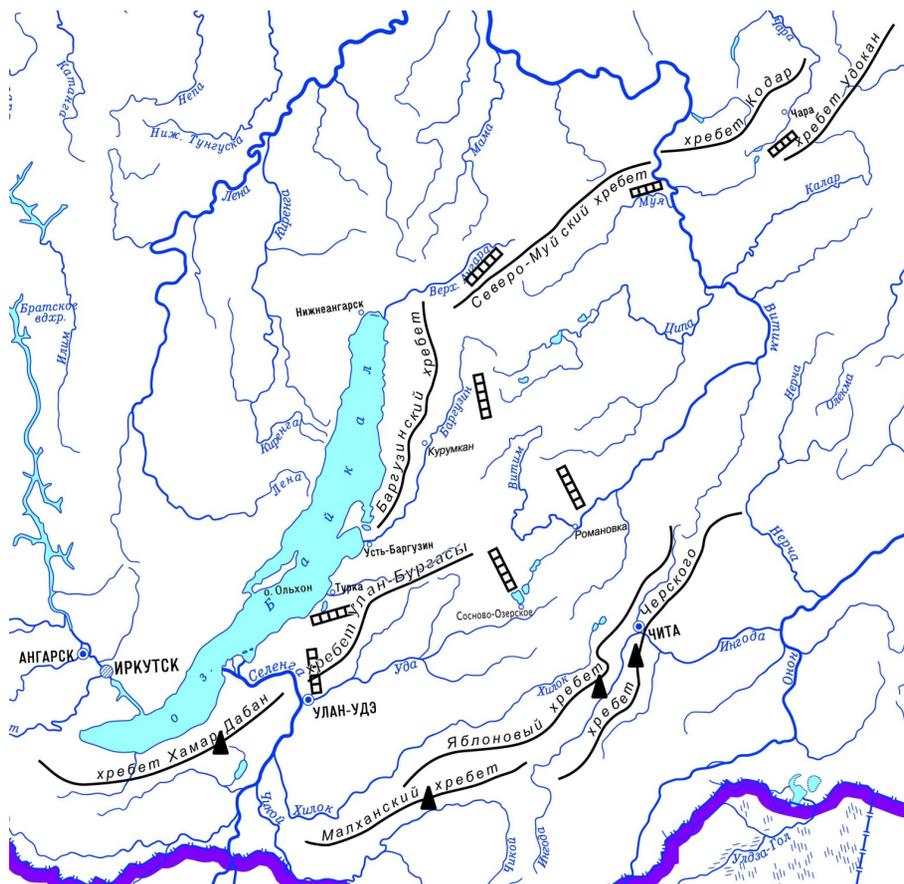


Рис. 1. Схема расположения объектов исследований. Обозначения:
 ▲ – стационарные исследования;  – маршрутные исследования,
 в том числе авиамониторинг

[Fig. 1. The layout of the objects of research. Legend: ▲ – stationary studies;
 – route studies, including monitoring from air]

Лесозокологические последствия огневых воздействий разного вида и интенсивности изучали на ландшафтных пожарищах разной давности, а также на участках с экспериментальными выжиганиями напочвенного покрова и подлеска. Пробные площади были заложены в лесах Юго-Восточного Прибайкалья и Центрального Забайкалья, преимущественно в насаждениях, сохранивших жизнеспособность. Эти объекты представляют собой некоторую современную модель лесов, которая может существовать при умеренном пирологическом режиме на протяжении последующих 60–100 лет. На этих площадях определена интенсивность пожара по высоте нагара (обугливания) на стволах деревьев, степени огневых повреждений крон, полноте прогорания напочвенного покрова и др. На каждой пробной площади определяли таксационные показатели древостоя и состояние нижних ярусов в фитоценозах.

Огневые опыты проведены в определенной последовательности относительно метеоусловий. Сила огневых воздействий определялась продолжительностью сухой погоды. Слабое выжигание проведено через 2 дня после дождя, а затем с интервалами в несколько дней проведены последующие опыты с выжиганиями средней и высокой интенсивности. Каждый опытный участок был заранее окаймлен защитной минерализованной полосой, а в процессе выжиганий обеспечивались соответствующие меры пожарной безопасности. Поджигания напочвенного покрова проводили в центре участков, что позволяло отслеживать процесс, а в дальнейшем – последствия огневых воздействий, в зависимости от направления движения кромки «пожаров»: фронт, фланги, тыл. Конфигурация кромки огня фиксировалась через равные интервалы времени, от начала опытов до их окончания.

Наиболее тщательные наблюдения за динамикой горевших и контрольных фитоценозов проведены на постоянных пробных площадях, где все деревья были пронумерованы. Причем на каждом из них Т-образными метками были зафиксированы точки периодических измерений диаметра ствола. На этих же площадях располагались специальные ящико-опадомеры размером 1×1 м для периодического учета опадающих с полога крон отмерших хвой, шишек и других компонентов [16].

Также были изучены пирогенные вариации жизнеспособности деревьев. Критерием (коэффициентом) жизнеспособности было отношение текущего объемного прироста дерева к среднему приросту, что определялось по модельным деревьям, взятым из разных классов по Крафту от I до V с 4-кратной повторностью. Установлена зависимость снижения коэффициента жизнеспособности деревьев после сильного низового пожара от класса по Крафту и от протяженности кроны по стволу (%) [17]:

$$y = 41,75 + 9,7x_1 - 21,25x_2 - 7,2x_1x_2,$$

где y – снижение коэффициента жизнеспособности дерева, %; x_1 – класс дерева по Крафту; x_2 – протяженность кроны по стволу, %.

Для получения данного уравнения использовали методику Ю.П. Адлера и др. [18]. Использовался вариант 2-факторного эксперимента, с фиксированными кодированными уровнями значений для каждого из факторов. Согласно уравнению, минимальные нарушения жизнеспособности отмечаются у деревьев с хорошо развитыми и высокоподнятыми кронами, занимающих в насаждении господствующее положение.

Пирогенные вариации лесообразовательного процесса наблюдали в разных природных округах, преимущественно на ландшафтных пожарах (рис. 2). Для более основательного анализа вековых аспектов роли пирогенного фактора в лесообразовании использовали материалы прошлых экспедиционных исследований, проведенных лесоводами и географами [11, 12, 19, 20]. В почвенном покрове пробных площадей, заложенных для изучения лесоэкологических последствий ландшафтных пожаров, распространены серогумусные хрящевато-тяжелосуглинистые, а также хрящевато-супесчаные почвы. Гранулометрический состав, физико-

химические свойства почв определены общепринятыми методами [21]. Гидротермический режим почв наблюдали на ландшафтных пожарищах в Прибайкалье и в Центральном Забайкалье (сосняки на хребте Черского). Названия растений даны по International Plant Name Index (IPNI) [22].

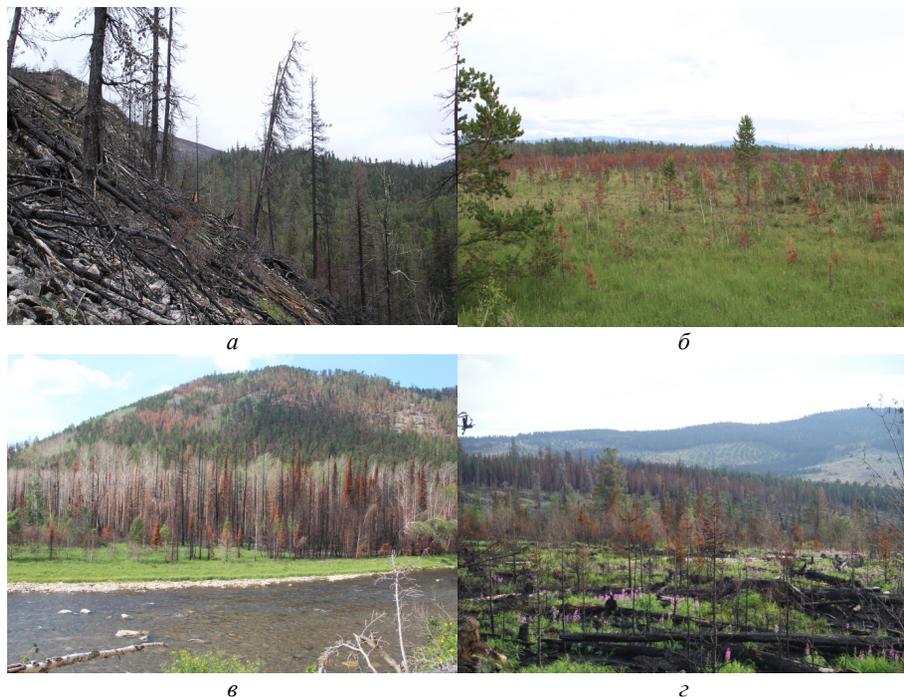


Рис. 2. Современные ландшафтные пожарища в Прибайкалье: *а* – в Баргузинском заповеднике (фото Л.В. Кривобокова); *б* – в долине р. Баргузин (фото А.Е. Петренко); *в* – в долине р. Турка (фото А.Е. Петренко); *г* – на южном макросклоне Хамар-Дабана (фото Л.В. Кривобокова)

[Fig. 2. Modern landscape fires in the Baikal Region: *a* – in the Barguzin Reserve (Photo by L. V. Krivobokov); *b* – in the Barguzin River valley (Photo by A. E. Petrenko); *c* – in the Turka River valley (Photo by A. E. Petrenko); *d* – on the southern slope of the Khamar-Daban range (Photo by L. V. Krivobokov)]

Результаты исследования и обсуждение

Предрасположенность региона к возникновению обширных и длительных лесных пожаров обусловлена специфическими природными предпосылками: засушливый климат на большей части территории, малоснежная зима, сопровождаемая глубокой и длительной весенне-летней засухой с часто повторяющимися сильными ветрами, абсолютное доминирование в лесных массивах пожароопасных типов светлохвойных насаждений [15, 23, 24].

Сообразно широкому высотному диапазону атмосферного увлажнения закономерно дифференцируются пирологические режимы по высотнопоясным комплексам растительности (таблица), характеризующие пожароопасность конкретных категорий, а также лесоэкологические послед-

ствия пожаров. Приведенные нами названия режимов связаны с потенциальной экологической ситуацией после пожаров: благополучный, умеренный, интенсивный, экстремальный. Установлена зависимость пирологических режимов от метеорологических условий с оценками размеров пожароопасной территории, а также вероятной длительности пожароопасного состояния как суммарной за год, так и непрерывной в течение весенне-летнего пожарного максимума. Так, при благополучном режиме пожароопасное состояние возможно лишь фрагментарно (до 10% территории соответствующего ВПК); его суммарная длительность за год не превышает 40 дней, а максимальная непрерывная – до 10 дней. При умеренном варианте эти показатели составляют 11–30% территории, суммарная длительность 41–70, а максимальная непрерывная – 11–20 дней. Интенсивный вариант (31–70%, 71–100 и 21–30 дней, соответственно). При экстремальном режиме наблюдается почти сплошная пожароопасность лесных экосистем – 101–140 и 31–70 дней.

**Пирологические режимы высотно-поясных комплексов
в бассейне Байкала (весенне-летний период)**

[Pyrological regimes of the altitudinal belt complex in the Baikal basin (spring-summer period)]

ВПК (преобладающая растительность) [Altitudinal belt complex (prevailing vegetation)]	Пирологические режимы [Pyrological regimes]		
	Обычные сезоны [Regular seasons]	Засушливые сезоны [Dry seasons]	Влажные сезоны [Wet seasons]
Лугово-степной (горная степь) [Meadow-steppe (mountain steppe)]	Экстремальный [Extreme]	Экстремальный [Extreme]	Интенсивный [Intensive]
Подтаежно-лесостепной (сосняки разнотравные и рододендроновые) [Subboreal-forest-steppe (Pine forests with grass and rhododendron)]	Интенсивный [Intensive]	"	Умеренный [Moderate]
Светлохвойный таежный (сосняки и лиственничники кустарниково-зеленомошные, брусничные и ерниковые) [Light coniferous boreal (Pine and larch forests with subshrubs, moss, cowberry, and dwarf birch)]	"	"	"
Кедровый таежный (кедровники бруснично-зеленомошные) [Siberian pine boreal (Siberian pine forests with cowberry and moss)]	Умеренный [Moderate]	Интенсивный [Intensive]	Благополучный [Prosperous]
Кедрово-пихтовый (кедровники и пихтарники чернично-зеленомошные) [Siberian pine and fir (Siberian pine and fir forests with blueberry and moss)]	"	"	"
Субальпийско-подгольцовый (хвойные редколесья и заросли кедрового стланика) [Subalpine-krummholz (coniferous woodlands and dwarf pine thickets)]	Благополучный [Prosperous]	Умеренный [Moderate]	"

Каждому ВПК свойственны свои доминанты в растительности и особенности видового состава [25–27]. В условиях крайне недостаточного увлажнения по долинам крупных рек и низкогорьям преобладают степные комплексы с лесостепью и подтайгой, которые регулярно подвержены экстремальному режиму. В составе лесов подтаежно-леостепного ВПК доминирует сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.). Здесь при обычной метеоситуации характерен интенсивный режим.

Пожарное созревание насаждений в светлохвойном таежном ВПК более растянуто во времени по сравнению с лесостепью и подтайгой примерно вдвое. Сосняки рододендрово-брусничные приходят в пожароопасное состояние за 3–4 дня, а сосняки зеленомошные – лишь через 6–10 дней сухой погоды. В лиственничниках рододендрово-брусничных и в сходных по характеру напочвенного покрова березняках критическая длительность сухой погоды составляет 4–6 дней. В зоне умеренного увлажнения, на холодных и мерзлотных почвах среднегорий, господствуют таежные лиственничники (*Larix sibirica* Ledeb., *Larix gmelini* (Rupr.) Rupr.). Для пожарного созревания лиственничников багульниковых и зеленомошных необходимо 10–15 дней. Пирологические режимы варьируют по времени и территории от интенсивного до умеренного.

К влажным поясам с умеренным пирологическим режимом приурочены темнохвойные комплексы из кедра (*Pinus sibirica* Du Tour.), пихты (*Abies sibirica* Ledeb.) и ели (*Picea obovata* Ledeb.). Растительность, образующая и окаймляющая верхнюю границу леса с характерным для нее избыточным увлажнением и недостатком тепла, представлена сложными субальпийскими комплексами, в которых при обычной метеоситуации превалирует благополучный режим.

Лиственные породы в ненарушенных пожарами и рубками комплексах представлены преимущественно в виде примеси к насаждениям из перечисленных хвойных доминантов. Это береза (*Betula pendula* Roth., *B. ermanii* subsp. *lanata* (Regel) A. K. Skvortsov) и осина (*Populus tremula* L.). После интенсивных пожаров, сопровождающихся значительным изреживанием и отмиранием коренных хвойных насаждений, эти виды образуют собственные производные сообщества.

С пирологической точки зрения на большей части Селенгинского среднегорья отмечается неблагоприятное сочетание ксерофитной степной растительности и высокопожароопасных лесов, произрастающих в условиях засушливого климата. Годовая норма атмосферных осадков здесь в пределах светлохвойного таежного ВПК составляет 250–350 мм, а в подтайге и лесостепи она еще меньше. Причем на долю снега приходится лишь 5–10% от годовой суммы. Поэтому маломощный снежный покров сходит рано, преимущественно испаряясь в сухой воздушной среде, обычно уже в марте, по мере установления положительных значений дневной температуры воздуха при его весьма низкой влажности. В результате напочвенный слой горючих материалов почти не увлажняется талой водой, особенно на южных склонах, из-за ее скудности или полного отсутствия. Сходная ситуа-

ция прослеживается на территории Центрального и Юго-Восточного Забайкалья [28].

Весной и в начале лета на территории, занимаемой лугово-степным, подтаежно-лесостепным и светлохвойным таежным ВПК, как правило, не бывает осадков, способных устранить или хотя бы ослабить пожароопасность. Испаряемость влаги в это время превышает величину осадков в 5–10 раз [28]. На огромных пространствах при интенсивном, а тем более при экстремальном режиме устанавливается на длительное время специфическая пирологическая монотонность, при которой практически отсутствуют какие-либо естественные препятствия для огня из негоримых участков леса. К тому же озера, реки и относительно влажные гребни горных хребтов разрознены и поэтому не задерживают распространение пожаров. Более того, луга и заросли горючих кустарников (ерников), изобилующие в долинах небольших рек (падей), только усиливают интенсивность горения. При порывах ветра в ерниках огонь легко преодолевает узкие водные преграды, оставшиеся снежники и наледы. Причем хаотически разветвляющиеся по горным падам шлейфы пламени стремительно переходят на таежные массивы в широком высотном диапазоне. Такова спонтанная схема возникновения ландшафтных пожаров, которая наблюдалась при авиамониторинге территории Забайкалья.

Пожароопасность горно-таежных темнохвойных ВПК наступает существенно позже, по мере схода относительно мощного для Байкальского региона снежного покрова. Так, в таежном кедровом и в кедрово-пихтовом ВПК таяние снега растягивается на весь май, а в субальпийско-подгольцовом ВПК, где распространены заросли пожароопасного кедрового стланика, снег сходит лишь к середине июня. К тому же здесь вследствие высокой влажности мощного мохового покрова и подстилки пожарное созревание протекает медленно и регулярно прерывается обильными атмосферными осадками. Однако на определенных участках встречаются лишайниковые парцеллы, представляющие пожарную опасность.

Ландшафтные пожары на территории верхних лесорастительных поясов возникают редко, однако в отдельные годы, во время длительных летне-осенних засух, они приводят к потерям особо важных для Байкальского природного комплекса кедровых лесов, а в субальпийском поясе после выгорания местообитаний с кедровыми, кедрово-пихтовыми и лиственничными редколесьями с кедровым стлаником понижают верхнюю границу леса.

Согласно лесопожарной статистике, общий фон горимости лесов определяется низовыми пожарами, после которых большая часть горевших насаждений сохраняет жизнеспособность в меру их пожароопасности и огнестойкости, а также фактической интенсивности огня на данном участке. На рис. 3 иллюстрируется типичная картина современной динамики сосновых древостоев, установленная по данным лесоустройства [29].

Ландшафтный пожар, распространившись на большую территорию, представляет собой многообразие физических вариаций стихийного горения, оставляющих за собой в лесных массивах морфологически трансфор-

мированные фитоценозы на пожарищах, от умеренных огневых повреждений под пологом древостоев до их ослабления и полного отмирания вследствие интенсивного низового огня. Наиболее негативный сценарий представляет тотальную гибель деревьев после прохождения верхового пожара с вероятным локальным обезлесением.

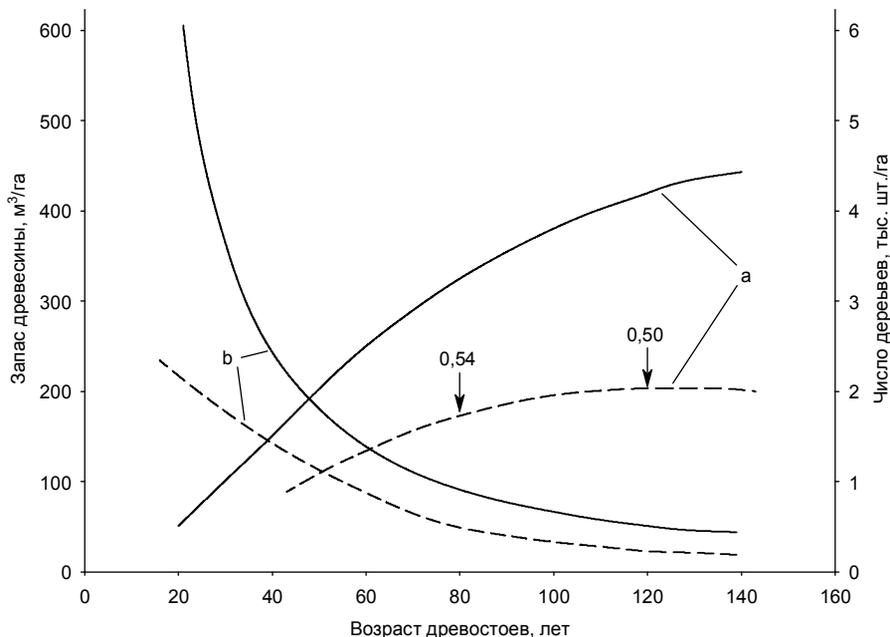


Рис. 3. Возрастная динамика запасов древесины (a) и густоты древостоев (b) в сосняках. Обозначения: сплошные линии – нормальные насаждения; пунктир – пирогенные (модальные) насаждения; 0,54...0,50 – относительная полнота древостоев [Fig. 3. The age dynamics of wood stocks (a) and density of forest stands (b) in pine forests. Designations: solid lines are normal plantations; dotted line - pyrogenic (modal) plantations; 0.54 ... 0.50 is the relative fullness of tree stands]

Механизм пирогенных трансформаций экосистем с сосновыми насаждениями наиболее детально прослежен на юго-восточном мезосклоне Яблонового хребта, где проводились огневые опыты.

Высота нагара на стволах и степень повреждения крон деревьев обусловлены преимущественно их расположением относительно характерных частей кромки огня. Губительные высота и ширина пламени были на фронтальном направлении, совпадающем с направлением ветра, что однозначно прослеживалось по картам огневых опытов. Фронтальный огонь причинял деревьям наибольшие повреждения. Напротив, совершенно не пострадали деревья, оказавшиеся в зоне тыла огня, где невысокое пламя слегка охватывало комлевые части ствола, камбий которых защищен достаточным слоем корки. Средние значения огневых повреждений отмечались на флангах кромки огня [30].

Нагар на стволах был асимметричным. Односторонний (предельный) нагар был заметно выше зоны кольцевого обугливания стволов. Особенно контрастные различия между кольцевым и односторонним нагаром регистрировались на участке со слабым огнем (в 3–4 раза). В зоне действия сильного огня различия между предельным и кольцевым нагаром менее выражены. Прослеживалась тенденция зависимости высоты нагара от диаметра деревьев. На толстых деревьях, особенно в зоне действия слабого и среднего огня, нагар был выше, чем на тонких. Это обстоятельство обусловлено увеличенным количеством опада под крупными деревьями, а также более сильными завихрениями пламени.

Аномальный отпад деревьев, вызванный непосредственными огневыми травмами, отчетливо наблюдался на протяжении первых двух лет после выжиганий. Поскольку все деревья на каждом участке после выжиганий пронумерованы и маркированы Т-образными метками точек измерения диаметра ствола, обеспечивалась корректность повторных измерений через 2, 5 и 10 лет после выжиганий. При выжигании слабой и средней силы губительное действие огня проявлялось в основном локально – там, где были зарегистрированы максимальные значения параметров пламени. На участке с высокой интенсивностью горения обширная зона поврежденного древостоя образовалась по направлению фронта огня. Когда степень термического воздействия на камбий ствола и ветвей, а также на хвою превышала предел пожароустойчивости деревьев, то уже в первые 2 недели после опытов на нижних мутовках наблюдалось массовое пожелтение хвои. Изменение ее окраски в последующем охватывало расположенные выше ветви. По исследованиям Г.И. Гирс [31], летальное повреждение флоэмных тканей происходит после действия температур свыше 55 °С, а побурение хвои от нагретого воздуха отмечается при 50 °С. Изучены постпирогенные вариации жизнеспособности деревьев [17].

После слабых и средних выжиганий усыхают деревья, которые в нормальных условиях могут существовать примерно на 5 лет дольше. Что же касается сильного выжигания, то на этом участке отпад в большей степени отличается от нормального. Средний диаметр деревьев отпада всего на 23% меньше диаметра среднего дерева всего древостоя. Изменилась и пространственная структура отпада. Он был сконцентрирован в зоне движения фронтальной части огня. Спустя 10 лет на этом участке образовалась реди-на, состоящая из крупных деревьев, диаметр которых был больше среднего по древостою.

Среди деревьев, сохранившихся спустя 10 лет после выжиганий, почти нет таких, жизнеспособность которых была бы заметно нарушена огнем, т.е. в такой степени, когда это может отрицательно отразиться на динамике прироста. В данном случае мы не принимаем во внимание влияние на прирост изменившейся лесной среды, полагая, что микроклимат под пологом и влагообеспеченность корневых систем трансформируются после выжиганий на малой площади не так заметно, как на обширных естественных пожарах. По нашим наблюдениям, проведенным в различные сроки

первого вегетационного периода после опытов, полевая влажность на выжженных участках не отличалась от контроля во всех почвенных горизонтах до 1 м от поверхности. Это можно объяснить отсутствием предпосылок для усиления поверхностного стока при небольших размерах выжженных участков и незначительной крутизне местоположения.

Пирогенные вариации отпада и прироста деревьев на обычных пожарищах отличаются от рассмотренной модельной картины. Сообразно выгоревшей площади и интенсивности пожаров расширяются амплитуда и контрастность ценологических повреждений и других нарушений в лесных экосистемах Забайкалья [12, 17, 20, 30]. Одновременно с огневой деструкцией древесных ценозов сгорает напочвенный покров, а также трансформируется лесорастительная среда [32, 33], усугубляется общий дефицит влаги на выгоревших горных склонах [34–36].

Наиболее полная и длительная картина пирогенных нарушений в лесных экосистемах наблюдалась на ландшафтном пожарище в Центральном Забайкалье. Получены комплексные данные о постпирогенной динамике экологической ситуации и лесорастительной среды [34, 35, 37, 38]. Особенно аномальными оказались нарушения в гидротермическом режиме почв, происходящие после интенсивных пожаров. Эти сведения можно рассматривать оригинальными, так как отмечается лишь небольшое число современных публикаций с результатами исследований гидротермического режима почв бореальных лесов Байкальского и соседних регионов [39–42]. Данные по изменению температурного режима почв на пожарищах, несмотря на их широкое распространение, также очень скудны, кроме того, часто они получены дистанционными методами [41, 42].

Повышенный нагрев обгоревшей поверхности почвы в дневное время является особенно очевидным при сопоставлении максимальных температур. В жаркие дни первого послепожарного года значения максимальных температур на пожарище превышали контрольный уровень более чем на 20 °С. Через год контраст был вдвое меньше в жаркие дни, а в обычную погоду сокращался до 3–5 °С. Соответственно изменялась температура верхних горизонтов почвы. Даже в течение второго послепожарного сезона (с мая по сентябрь) разность температур между горевшим и контрольным участками на глубине 10 см составляла 3–5 °С. На глубине 50 см она уменьшалась до 2–3 °С.

Деструкция напочвенного покрова, полное уничтожение огнем нижних ярусов фитоценоза негативно отразились на водном режиме почвы. На фоне общего дефицита увлажнения, связанного с засушливостью климата в регионе, запасы влаги на участках с пожаром были систематически снижены по сравнению с контролем. Восстановление нормальной лесной подстилки, согласно наблюдениям за опадомерами, растягивается в подобной ситуации на 15–20 лет.

Ландшафтные пожары в горах часто вызывают необратимые деструктивные процессы, ведущие к разрушению почвы как природного тела. Пожары средней и высокой интенсивности на горных склонах при частичном

или полном сгорании защитного растительного слоя способствуют резкому снижению водопоглотительной способности лесных подстилок и водопроницаемости почв [43]. Это создает условия для формирования поверхностного стока и усиления эрозионных процессов. На свежих пожарищах в зависимости от интенсивности огня поверхностный сток возрастает в 3–15 раз, а твердый – в десятки и сотни раз, что многократно превосходит последствия концентрированных лесозаготовок [44].

Деревья лиственницы находятся в преимущественном положении по отношению к соснам, поскольку они лучше защищены от термических повреждений толстым слоем коры. Кроме того, кроны лиственниц способны к регенерации хвои и побегов, поврежденных пожаром. Однако при интенсивном и экстремальном пирологических режимах в лиственничниках бывают сильные пожары, при повторении которых развивается дигрессия насаждений. Обобщенную схему пирогенной дигрессии лиственничников иллюстрирует рис. 4, где сопоставлена возрастная динамика числа деревьев и полноты древостоев в пирогенных и в ненарушенных насаждениях, относящихся к третьему классу бонитета [29].

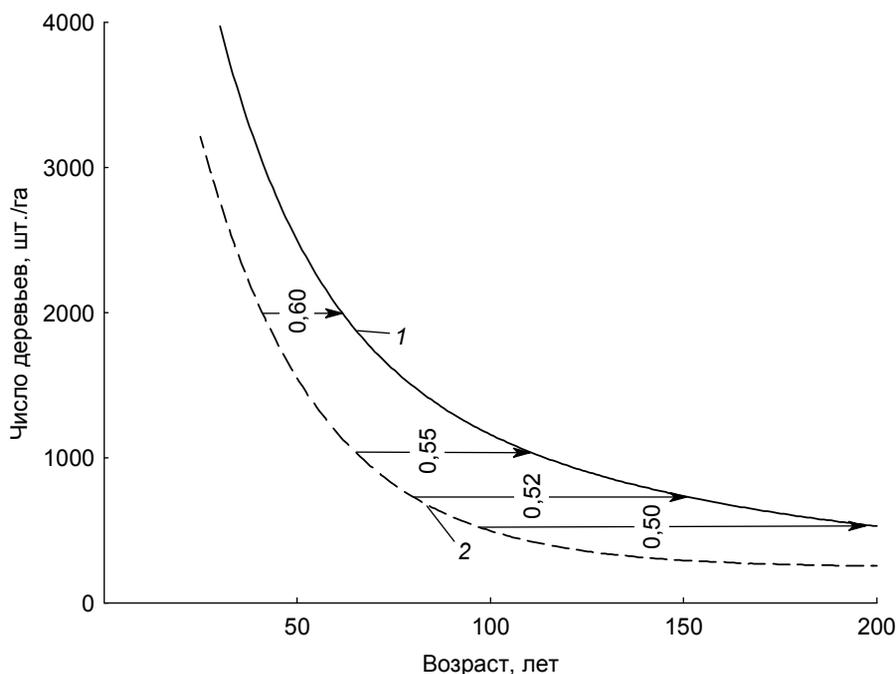


Рис. 4. Возрастная динамика численности деревьев в нормальных (1) и пирогенных (2) лиственничниках. Стрелками обозначены потенциальные интервалы времени, необходимые для восстановления нормальной полноты и густоты; 0,60...0,50 – относительная полнота древостоев соответственно их возрасту
 [Fig. 4. Age dynamics of tree quantity in normal (1) and pyrogenic (2) larch forests. The arrows indicate the potential time intervals necessary for restoration to normal fullness and density; 0,60...0,50 - relative fullness of tree stands, according to their age]

Существенное падение полноты 20–50-летнего древостоя может быть восполнено в течение одного класса возраста (на рис. 4 обозначено стрелками), если сохраняется нормальный темп прироста оставшихся жизнеспособных деревьев, численность которых составляет 2–4 тыс. шт. на 1 га. Временной интервал (i) на восстановление нормальной полноты древостоя в общем виде можно определить по формуле

$$i = a_2 - a_1 + \Delta a,$$

где a_1 – возраст, в котором древостой был поврежден пожаром; a_2 – возраст, соответствующий данной густоте или полноте при естественном (беспожарном) изреживании древостоев; Δa – поправка на естественное изреживание пирогенного древостоя в интервале от a_1 до a_2 .

Длительность периодов восстановления полноты увеличивается с возрастом в геометрической прогрессии, поскольку по мере старения древостоев неизбежно снижается их прирост. Для перестойных насаждений анализируемый процесс имеет лишь гипотетическое значение. Более вероятно появление новых поколений там, где почвенно-экологические условия благоприятствуют возобновлению лиственницы, а в иной обстановке – смена пород или образование пустошей. На многолетней мерзлоте пирогенная дигрессия лиственничников в большей степени усугубляется. При вертолетном мониторинге послепожарных мерзлотных лиственничников в середине лета наблюдалось массовое пожелтение хвои. Более того, в местах с прогоранием мощного торфянистого слоя происходил вывал деревьев, что в дальнейшем приводило к появлению ерниковых зарослей.

Известно, что при одинаковой потенциальной пожароопасности отдельных фаций и урочищ фактическая их горимость зависит от многих факторов. Так, на горных склонах наиболее сильный огонь наблюдается при движении снизу вверх. Большую роль в распространении кромки пожаров играют скорость и направление ветра, а также суточная ритмика температуры и влажности воздуха. Огонь ослабевает к концу дня, а ночью едва тлеет. Отсюда следует неравномерность воздействия долговременных ландшафтных пожаров на лесные массивы. Отмеченные вариации используются лесной охраной при выборе тактических решений для остановки и локализации пожаров.

Обширные ландшафтные пожары в светлохвойных лесах оставляют за собой мозаику из участков поврежденных и погибших насаждений в зависимости от вида и интенсивности огневого воздействия. Далее в процессе послепожарного лесовозобновления формируется сложная структура группово- или куртинно-разновозрастных древостоев, периодически модифицируемая повторными пожарами. В соответствии с известной гипотезой об эволюционно обусловленной пиропитности сосны обыкновенной [45–47], подобная структура древостоев определяется механизмом циклически импульсной пирогенной стабильности лесов. При тяжелых поражениях древостоев восстановление их допожарной полноты и запаса растягивается на длительное время, а после повторных пожаров развивается пирогенная дигрессия с катаценозом и неизбежной утратой экологического

значения насаждений. На сухих местоположениях, особенно в подтаежных и подтаежно-лесостепных светлохвойных лесах на крутых южных склонах катаценоз заканчивается локальным обезлесением.

В лесах подтаежно-лесостепного ВПК пожары слабой и средней интенсивности обычно оказывают слабое влияние на состав и структуру гемибореальных лесов, но отрицательно сказываются на их продуктивности [8, 48]. После таких пожаров происходит умеренное изреживание древостоев, ксерофитизация и остепнение подчиненных ярусов (кустарникового и травяного), нередко снижается бонитет. После пожаров высокой интенсивности лесной фитоценоз сменяется степным. Лесовосстановление растягивается на длительный период, исчисляемый многими десятками лет [46].

В светлохвойном таежном ВПК интенсивность пожара во многом зависит от состояния ЛГМ, т.е. от погодных условий, предшествующих пожару. Запасы ЛГМ в таежных лиственничниках и сосняках обычно значительны вследствие большого межпожарного интервала и замедленного разложения мертвого органического вещества. В засушливые периоды при интенсивном и экстремальном режимах неизбежны пожары средней и высокой интенсивности, которые приводят к гибели значительной части древостоя и подчиненных ярусов растительности, а также к уничтожению органогенных горизонтов почв. Несмотря на то, что сосна и лиственница имеют эволюционные приспособления для выживания от пирогенных воздействий, при прогорании подстилки обычно повреждаются их корни, близкие к поверхности почвы, что приводит к гибели деревьев. Пожары слабой интенсивности, в особенности беглые низовые, обычно не приводят к гибели древостоев. Сукцессии после пожаров разной интенсивности протекают по-разному, а последовательность сукцессионных стадий зависит от фактической нарушенности экосистем. При полном уничтожении фитоценозов огнем на гари развиваются травяные фитоценозы из дерновинных трав (*Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop., *Calamagrostis lansdorffii* (Link) Trin.), которые в течение длительного времени могут переходить в стадии производных (виды рода *Betula* L., *Populus tremula*) либо коренных древостоев, а также на длительные периоды времени замещаться ерниками (*Betula exilis* Sukaczew, *B. divaricata* Ledeb., *B. fruticosa* Pall.). Пожары слабой интенсивности, как правило, не нарушают естественные сукцессионные процессы. Интенсивные обширные пожары в верхних таежных ВПК приводят к снижению верхней границы лесного пояса в горах. Далее гари, особенно по каменистым склонам, могут зарастать кедровым стлаником [49].

В горно-таежном темнохвойном ВПК пожары бывают сравнительно редко, лишь при длительной засухе. Но зато они почти всегда носят губительный характер, так как отличаются интенсивным горением, а темнохвойные породы лесообразователи (*Abies sibirica*, *Pinus sibirica*, *Picea obovata*) не имеют эволюционно сформировавшихся механизмов для защиты от огня. Поэтому они погибают даже при пожарах умеренной интенсивности. Пирогенная сукцессия в темнохвойных лесах протекает сложно и долго, обычно через луговую (дерновинные злаки и осоки, *Chamaenerion an-*

gustifolium) и производную стадии березовых (*Betula pendula*, *B. pubescens* Ehrh.) или осиновых древостоев (*Populus tremula*). На верхней границе леса во влажных климатических фациях темнохвойные леса после пожаров могут замещаться субальпийскими лугами.

Подгольцовый ВПК потенциально подвержен пожарам сильной интенсивности из-за своеобразия состава и структуры фитоценозов, несмотря на высокое атмосферное увлажнение. Там обычно преобладает кедровый стланик (*Pinus pumila* (Pall.) Regel), значительно реже – кустарниковые березы (*Betula divaricata*, *B. rotundifolia* Spach.). Как кедровый стланик, так и доминанты напочвенного покрова, такие как брусника (*Vaccinium vitis-idaea* L.) и кустистые лишайники родов *Cladonia* P. Browne, *Cetraria* Ach., отличаются интенсивным горением вследствие большой концентрации в фитомассе смолистых веществ (циклических углеводов). Поэтому пожары, возможные там даже в короткие периоды без дождей, приводят, как правило, к полному уничтожению такой растительности. Последующее крайне длительное восстановление растительного покрова протекает преимущественно по схеме первичной сукцессии (на скальных невыветренных породах) [50, 51].

Лесные пожары принято считать мощнейшим дестабилизирующим фактором для лесных экосистем [52, 53]. Вслед за пирогенной деструкцией насаждений неизбежно происходит деградация их защитных функций и развитие эрозионных процессов. Вследствие выгорания подстилки, мохового покрова и органического слоя резко снижаются фильтрационная способность почв и их противоэрозионная устойчивость, разрушается структура почвенных агрегатов, происходит заиливание (лессивирование) почв. В результате внутрипочвенный сток заменяется разрушительным поверхностным, показатели которого могут возрасти на целый порядок [54]. Масштабы пирогенной эрозии бывают более внушительными по сравнению с последствиями сплошных концентрированных рубок леса [20].

Органическое вещество, приносимое водотоками с гарей в Прибайкалье, минерализуется довольно медленно по сравнению с негоревшими участками. Следовательно, пожары увеличивают «грязевый» сток. На склонах возможно развитие эрозионных процессов с суммарной величиной эрозии до 4,5 тыс. т/км² [55, 56]. Экспериментально установлено, что противоэрозионная устойчивость почв на гарях в регионе снижается в 15–50 раз. Восстановление данной функции до нормы растягивается на многие десятилетия [57].

Между тем губительные для лесных экосистем Забайкалья ситуации регулярно повторяются, что установлено как по лесопожарной статистике, так и по динамике годовых колец у деревьев. У старых сосен, произрастающих в долине р. Турка, впадающей в оз. Байкал в средней части восточного берега (светлохвойный таежный ВПК, географическая широта местности ~53° с.ш.), на высоте 1,3 м были взяты образцы для исследования динамики ширины годового кольца и построена хронология (рис. 5). Несмотря на то, что местоположение данных деревьев соответствует умеренному действию лимитирующего фактора (атмосферных осадков), об-

щая закономерность снижения радиального прироста в засушливые периоды на дендрограмме полностью воспроизводится. Получена иллюстрация вековой динамики состояний с экстремальной пожароопасностью лесов. Наряду с последними пирогенными аномалиями 2003 и 2015 гг. на графике отчетливо прослеживаются периоды с засушливостью и высокой горимостью лесов в начале 1990-х, во второй половине 1970-х, в середине 1960-х, 1950-х и 1930-х гг. Резкий спад ширины годичного кольца просматривается также на рубеже XIX–XX вв., когда строили Транссиб.

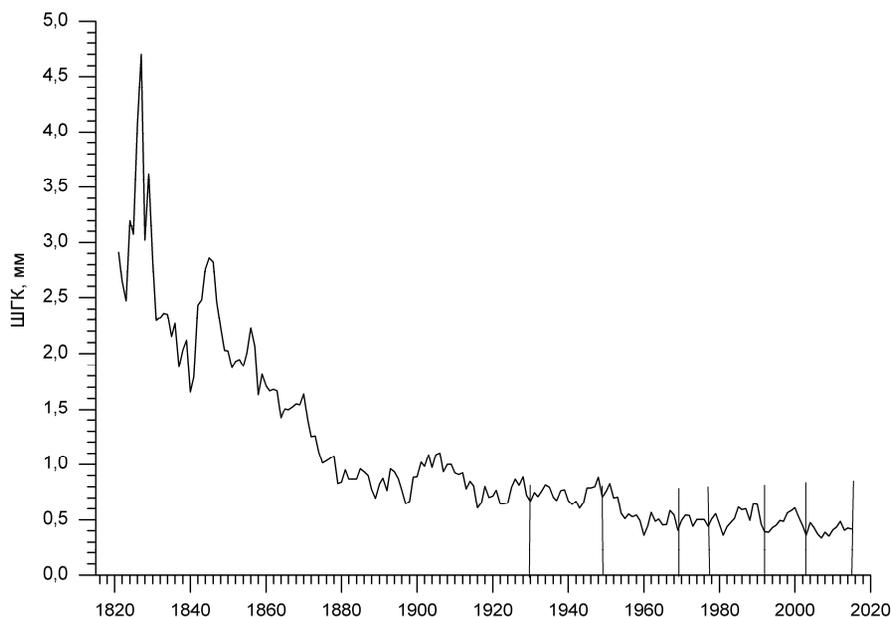


Рис. 5. Вековая динамика ширины годичного кольца (ШГК) у сосновых деревьев в долине р. Турка

[Fig. 5. The age-old dynamics of the width of the annual ring (WAR) in pine trees in the Turka River valley]

Лесопирогенная аномалия 2015 г. оказалась исключительно опасной. По данным дистанционного зондирования, она охватила в регионе (без учета территории Монголии) свыше 2 млн га, т.е. более 10% от общей площади. Это многократно превышает эволюционно обусловленную норму [44]. Картина катастрофических последствий ландшафтных пожаров осложнялась торфяными пожарами, действовавшими на обширных участках южного и восточного побережий Байкала. Там происходило полное выгорание корнеобитаемого субстрата вплоть до минерального грунта с последующим вывалом всего древостоя. На этих горях теперь изобилуют хаотические нагромождения обгорелого валежа разных пород деревьев различной степени разложения, часто затопленных грунтовыми водами, что приводит к вторичному заболачиванию, на десятки и сотни лет замедляет восстановление лесного покрова [3, 58].

Приемлемой естественной альтернативой подобным катаклизмам можно рассматривать пожары от гроз. Они возникают в середине лета при частых и обильных атмосферных осадках, поэтому бывают обычно локальными и непродолжительными. Известные лесоэкологи [45] полагают, что номинальный интервал в периодичности интенсивных воздействий низового огня на лесообразовательный процесс в сосняках и лиственничниках зеленомошных составляет около 40 лет.

Нынешняя ситуация с состоянием лесов как основного компонента в природном комплексе Байкала весьма тревожна, что может усугубить загрязнение прибрежных вод, происходящее в его акватории, деградацию почвенного покрова, особенно в горах, вызвать гомогенизацию растительности и снизить углероддепонирующий потенциал региона.

Заключение

Причинами предрасположенности Забайкалья к возникновению катастрофических ландшафтных пожаров являются специфические природные условия, особенно засушливый климат на большей части территории, наиболее экстремальный в весенне-летний период, с часто повторяющимися сильными ветрами, абсолютное доминирование в низко- и среднегорных лесных массивах пожароопасных типов светлохвойных остепненных насаждений, а также антропогенный фактор – большая часть пожаров возникает при прямом или косвенном воздействии человека.

Влияние и последствия пожаров разной интенсивности зависят от особенностей растительности разных ВПК. В темнохвойно-лесном ВПК пожары приводят к уничтожению коренных темнохвойных древостоев и замене их на длительно производные мелколиственные леса. Лиственничные леса светлохвойно-таежного ВПК на мерзлотных почвах более устойчивы к пирогенному фактору, они восстанавливаются без смены пород, характеризуются интенсивным лесовозобновлением.

Обширные ландшафтные пожары в светлохвойных лесах подтаежно-лесостепного ВПК оставляют за собой насаждения с участками поврежденного и погибшего древостоя. Далее в процессе послепожарного лесовозобновления на гарях среди вариаций уцелевших насаждений (на участках с низовыми пожарами) формируется сложная мозаика группово- или куртинно-разновозрастных древостоев, периодически модифицируемая повторными пожарами. При тяжелых поражениях древостоев и под воздействием повторных пожаров развивается пирогенная дигрессия с катаценозом, остепнением и локальным обезлесением.

После интенсивных пожаров изменяются зольность прогоревшей лесной подстилки и структура содержащихся в почве химических элементов, а также в значительной степени нарушаются физико-химические свойства почв, особенно гидротермический режим, резко возрастает поверхностный (грязевой) сток, увеличиваются масштабы эрозии склоновых почв вследствие уничтожения напочвенного растительного покрова, снижения водо-

проницаемости и водопоглотительной способности почв. Вслед за пирогенной деструкцией лесных экосистем неизбежно происходит деградация защитных функций лесов. Устойчивость почв на горячах снижается, их восстановление растягивается на целые десятилетия. Масштабы пирогенной эрозии бывают более внушительными по сравнению с последствиями концентрированных рубок. Особенно негативными для Байкальского природного комплекса оказались последствия лесопирогенной аномалии 2015 г., охватившей более 10% лесной территории. Грязевый сток с выгоревших площадей может усугубить неблагоприятную ныне экологическую ситуацию на побережье Байкала и в его акватории.

Список источников

1. Валендик Э.Н., Кисилыхов Е.К., Рыжкова В.А., Пономарев Е.И., Данилова И.В. Крупные пожары в таежных ландшафтах Центральной Сибири // География и природные ресурсы. 2014. № 1. С. 52–59.
2. Kharuk V.I., Dvinskaya M.L., Petrov I.A., Im S.T., Ranson K.J. Larch forests of Middle Siberia: long-term trends in fire return intervals // Regional Environmental Change. 2016. Vol. 16, No. 8. PP. 2389–2397. doi:10.1007/s10113-016-0964-9
3. Kukavskaya E.A., Buryak L.V., Shvetsov E.G., Conard S.G., Kalenskaya O.P. The impact of increasing fire frequency on forest transformations in southern Siberia // Forest Ecology and Management. 2016. Vol. 382. PP. 225–235. doi: 10.1016/j.foreco.2016.10.015
4. Ponomarev E.I., Kharuk V.I., Ranson K.J. Wildfires dynamics in Siberian larch forests // Forests. 2016. No. 7 (6). PP. 1–9. doi: 10.3390/f7060125
5. Safronov A.N. Effects of Climatic Warming and Wildfires on Recent Vegetation Changes in the Lake Baikal Basin // Climate. 2020. No. 8 (57). PP. 1–25. doi: 10.3390/cli8040057
6. Vasileva A., Moiseenko K. Methane emissions from 2000 to 2011 wildfires in Northeast Eurasia estimated with MODIS burned area data // Atmospheric Environment. 2013. Vol. 71. PP. 115–121. doi: 10.1016/j.atmosenv.2013.02.001
7. Jolly W.M., Cochrane M.A., Freeborn P.H., Holden Z.A., Brown T.J., Williamson G.J., Bowman D.M. J.S. Climate-induced variations in global wildfire danger from 1979 to 2013 // Nature Communications. 2015. No. 6 (7537). PP. 1–11. doi: 10.1038/ncomms8537
8. Brazhnik K., Hanley Ch., Shugart H.H. Simulating Changes in Fires and Ecology of the 21st Century Eurasian Boreal Forests of Siberia // Forests. 2017. No. 8 (49). PP. 1–27. doi:10.3390/f8020049
9. Курбатский Н.П. Исследование количества и свойств лесных горючих материалов // Вопросы лесной пирологии / под ред. Н.П. Курбатского. Красноярск : ИЛИД СО АН СССР, 1970. С. 5–58.
10. Мелехов И. С. Лесная пирология и ее задачи // Современные вопросы охраны лесов от пожаров и борьбы с ними / под ред. И.С. Мелехова. М. : Лесная промышленность, 1965. С. 5–25.
11. Панарин И.И. Леса Прибайкалья. М. : Наука, 1979. 264 с.
12. Побединский А.В. Сосновые леса Средней Сибири и Забайкалья. М. : Наука, 1965. 268 с.
13. Зиганшин Р. А. Послепожарные насаждения экологического профиля Бабушкин-Таежный на Хамар-Дабане // Пожары в лесных экосистемах Сибири. Красноярск : ИЛ СО РАН, 2008. С. 127–130.
14. Kharuk V.I., Im S.T., Petrov I.A., Golyukov A.S., Ranson K.J., Yagunov M.N. Climate-induced mortality of Siberian pine and fir in the Lake Baikal Watershed, Siberia // Forest Ecology and Management. 2017. Vol. 384. PP. 191–199. doi: 10.1016/j.foreco.2016.10.050

15. Евдокименко М.Д. Потенциальная пожароопасность лесов в бассейне оз. Байкал // Лесоведение. 1991. № 5. С. 14–25.
16. Методы изучения лесных сообществ / Е.Н. Андреева и др. ; под ред. В.Т. Ярмишко, И.В. Лянгузовой. СПб. : НИИХимии СПбГУ, 2002. 240 с.
17. Евдокименко М.Д. Жизнеспособность деревьев после низового пожара // Вопросы лесной пирологии / отв. ред. Н.П. Курбатский. Красноярск : Институт леса и древесины СО АН СССР, 1974. С. 167–196.
18. Адлер Ю.П., Маркова Е.В., Грановский Ю.В. Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий. М. : Наука, 1976. 278 с.
19. Владимиров И.Н., Софронов А.П., Сороковой А.А., Кобылкин Д.В., Фролов А.А. Структура растительного покрова западной части Верхнеангарской котловины // География и природные ресурсы. 2014. № 2. С. 44–53.
20. Поликарпов Н.П., Чебакова Н.М., Назимова Д.И. Климат и горные леса Южной Сибири. Новосибирск : Наука, 1986. 226 с.
21. Soil sampling and methods of analysis / ed. by M.R. Carter, E.G. Gregorich. Boca Raton : CRC press. Publ., 2007. 1205 p.
22. IPNI. International Plant Names Index. Kew: The Royal Botanic Gardens. Harvard University Herbaria & Libraries and Australian National Botanic Gardens Publ., 2020. URL: <http://www.ipni.org> (дата обращения: 14.03.2021).
23. Anenkhonov O., Chytry M. Syntaxonomy of vegetation of the Svyatoi nos peninsula, Lake Baikal. 2. Forests and krummholz in comparison with other regions of Northern Buryatia // Folia Geobotanica. 1998. No. 33. PP. 31–75.
24. Ермаков Н.Б. Разнообразие бореальной растительности Северной Азии. Гемибореальные леса. Классификация и ординация. Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2003. 232 с.
25. Намзалов Б.Б., Богданова К.М., Бардонова Л.К., Митупов Ч.Ц., Гришкина Т.М., Холбоева С.А., Быков И.П. Бурятия: растительный мир. Вып. II. Улан-Удэ : Изд-во Бурятского государственного университета, 1997. 250 с.
26. Петров К.М., Терехина Н.В. Растительность России и сопредельных стран. СПб. : Химиздат, 2013. 328 с.
27. Карта «Зоны и типы поясности растительности России и сопредельных территорий». Масштаб 1:7 500 000. (Карта на 2 листах; пояснительный текст и легенда к карте) / под ред. Г.Н. Огуревой. М. : Изд-во ТОО «ЭКОР», 1999.
28. Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды. Специализированные массивы. URL: <http://meteo.ru/data> (дата обращения: 18.03.2021).
29. Козловский В.Б., Павлов В.М. Ход роста основных лесобразующих пород СССР. М. : Лесная промышленность, 1967. 327 с.
30. Евдокименко М.Д. Роль пирогенного фактора в продуктивности древостоев // Факторы продуктивности леса / отв. ред. И.Н. Елагин. Новосибирск : Наука, 1989. С. 53–90.
31. Гирс Г.И. Физиология ослабленного дерева. Новосибирск : Наука, 1982. 256 с.
32. Barrett K., Baxter R., Kukavskaya E., Balzter H., Shvetsov E., Buryak L. Postfire recruitment failure in Scots pine forests of southern Siberia // Remote Sensing of Environment. 2020. Vol. 237. PP. 1–16. doi: 10.1016/j.rse.2019.111539
33. Holloway J.E., Lewkowicz A.G., Douglas T.A., Li X., Turetsky M.R., Baltzer J.L., Jin H. Impact of wildfire on permafrost landscape: A review of recent advances and future prospects // Permafrost and Periglacial Processes. 2020. Vol. 31, No. 3. PP. 1–12. doi: 10.1002/ppp.2048
34. Евдокименко М.Д. Лесозокологические последствия пожаров в светлохвойных лесах Забайкалья // Экология. 2011. № 3. С. 191–196.
35. Евдокименко М.Д. Пирогенные нарушения гидротермического режима мерзлотных почв в светлохвойных лесах на юго-востоке Сибири // Почвоведение. 2013. № 2. С. 133–143. doi: 10.7868/S0032180X13020044

36. Евдокименко М.Д. Пирогенные нарушения лесорастительной среды в сосняках Забайкалья и их лесоводственные последствия // Лесоведение. 2014. № 1. С. 3–12.
37. Евдокименко М.Д. Микроклимат древостоев и гидротермический режим почв в сосновых лесах Забайкалья после низовых пожаров // Горение и пожары в лесу. Ч. III / отв. ред. В.В. Фуряев. Красноярск : Институт леса и древесины СО АН СССР. 1979. С. 130–140.
38. Евдокименко М.Д. Пирогенные трансформации сосновых лесов в Забайкалье // Лесоведение. 2008. № 4. С. 20–27.
39. Anenkhonov O.A., Korolyuk A.Yu., Sandanov D.V., Liu H., Zverev A.A., Guo D. Soil-moisture conditions indicated by field-layer plants help identify vulnerable forests in the forest-steppe of semi-arid Southern Siberia // Ecological Indicators. 2015. Vol. 57. PP. 196–207. doi: 10.1016/j.ecolind.2015.04.012
40. Kharuk V.I., Ranson K.J., Oskorbin P.A., Im S.T., Dvinskaya M.L. Climate induced birch mortality in Trans-Baikal lake region, Siberia // Forest Ecology and Management. 2013. Vol. 289. PP. 385–392. doi: 10.1016/j.foreco.2012.10.024
41. Juricka D., Novotna J., Houska J., Parilkova J., Hladky J., Pecina V., Cihlarova H., Burnog M., Elbl J., Rosicka Z., Brtnicky M., Kynicky J. Large-scale permafrost degradation as a primary factor in Larix sibirica forest dieback in the Khentii massif, northern Mongolia // Journal of Forestry Research. 2020. Vol. 31, No. 1. PP. 197–208. doi: 10.1007/s11676-018-0866-4
42. Forkel M., Thonicke K., Beer Ch., Cramer W., Bartalev S., Schmullius Ch. Extreme fire events are related to previous-year surface moisture conditions in permafrost-underlain larch forests of Siberia // Environmental Research Letters. 2012. Vol. 7, No. 4. PP. 1–9. doi: 10.1088/1748-9326/7/4/044021
43. Краснощеков Ю.Н., Евдокименко М.Д., Чередникова Ю.С. Влияние пожаров на экосистемы подтаежно-лесостепных сосновых лесов в Юго-Западном Прибайкалье // Сибирский экологический журнал. 2013. № 5. С. 633–643.
44. Евдокименко М.Д., Краснощеков Ю.Н. Лесозоологические последствия пирогенных аномалий в бассейне озера Байкал // Сибирский лесной журнал. 2017. № 4. С. 66–77. doi: 10.15372/SJFS20170406
45. Санников С.Н., Санникова Н.С. Экология естественного возобновления сосны под пологом леса. М. : Наука, 1985. 149 с.
46. Фуряев В.В., Цветков П.А., Фуряев И.В. Пожароустойчивость сосновых лесов Евразии в экстремальные пожарные сезоны // Хвойные бореальной зоны. 2017. Т. XXXV, № 3–4. С. 68–73.
47. Санников С.Н., Санникова Н.С. Эволюционные аспекты пирозоологии светлохвойных видов // Лесоведение. 2009. № 3. С. 3–10.
48. Park S.-B., Knohl A., Lucas-Moffat A.M., Migliavacca M., Gerbig Ch., Vesala T., Peltola O., Mammarella I., Kolle O., Lavric J.V., Prokushkin A., Heimann M. Strong radiative effect induced by clouds and smoke on forest net ecosystem productivity in central Siberia // Agricultural and Forest Meteorology. 2018. Vol. 250–251. PP. 376–387. doi: 10.1016/j.agrformet.2017.09.009
49. Zhao F.J., Shu L.F., Wang M.Y., Liu B., Yang L.J. Influencing factors on early vegetation restoration in burned area of Pinus pumila – Larch forest // Acta Ecologica Sinica. 2012. Vol. 32, No. 2. PP. 57–61. doi:10.1016/j.chnaes.2011.12.006
50. Kharuk V.I., Ranson K.J., Dvinskaya M.L. Wildfires dynamic in the larch dominance zone // Geophysical research letters. 2008. Vol. 35, No. 1. PP. 1–6. doi: 10.1029/2007GL032291
51. Krivobokov L.V., Kharpukhaeva T.M., Mukhortova L.V. Surface fire impact on the floristic composition and structure of larch forest on permafrost to Western Baikal Region (Eastern Siberia, Russia) // Journal of International Scientific Publications: Ecology and Safety. 2013. Vol. 7 (2). PP. 83–96.
52. Sofronov M.A., Volokitina A.V., Kajimoto T., Matsuura Y., Uemura S. Zonal peculiarities of forest vegetation controlled by fires in Northern Siberia // Eurasian Forest Journal Research. 2000. Vol. 1. PP. 51–57.

53. Sofronov M.A., Volokitina A.V. Wildfire ecology in continuous permafrost zone // Permafrost ecosystems. Ecological studies (Analysis and synthesis) // ed. by A. Osawa, O.A. Zyryanova, Y. Matsuura, T. Kajimoto, R.W. Wein. Dordrecht ; Heidelberg ; London ; New York : Springer, 2010. Vol. 209. PP. 59–82. doi: 10.1007/978-1-4020-9693-8_4
54. Yevdokimenko M.D. Fire-induced transformations in the productivity of light coniferous stands of the Trans-Baikal region and Mongolia // Fire in ecosystems of boreal Eurasia. Forestry sciences / ed. by J.G. Goldammer, V.V. Furyaev. Dordrecht: Springer, 1996. Vol. 48. PP. 211–218. doi: 10.1007/978-94-015-8737-2_16
55. Лебедев А.В., Горбатенко В.М., Краснощеков Ю.Н., Решеткова Н.Б., Протопопов Н.В. Средообразующая роль лесов бассейна Байкал. Новосибирск : Наука, 1979. 255 с.
56. Тармаев В.А., Корсунов В.М., Куликов А.И. Линейная эрозия в Байкальском регионе. Улан-Удэ : Изд-во БНЦ СО РАН, 2004. 164 с.
57. Краснощеков Ю.Н. Почвозащитная роль горных лесов бассейна озера Байкал. Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2004. 223 с.
58. Харук В.И., Пономарев Е.И. Пожары и гари сибирской тайги // Наука из первых рук. 2020. № 2 (87). С. 56–71.

References

1. Valendik EN, Kisilyakhov EK, Ryzhkova VA, Ponomarev EI, Danilova IV. Conflagration fires in taiga landscapes of Central Siberia. *Geography and Natural Resources*. 2014;35(1):41-47.
2. Kharuk VI, Dvinskaya ML, Petrov IA., Im ST, Ranson KJ. Larch forests of Middle Siberia: long-term trends in fire return intervals. *Regional Environmental Change*. 2016;16(8):2389-2397. doi:10.1007/s10113-016-0964-9
3. Kukavskaya EA, Buryak LV, Shvetsov EG, Conard SG, Kalenskaya OP. The impact of increasing fire frequency on forest transformations in southern Siberia. *Forest Ecology and Management*. 2016;382:225-235. doi:10.1016/j.foreco.2016.10.015
4. Ponomarev EI, Kharuk VI, Ranson KJ. Wildfires dynamics in Siberian larch forests. *Forests*. 2016;7(6):1-9. doi:10.3390/f7060125
5. Safronov AN. Effects of Climatic Warming and Wildfires on Recent Vegetation Changes in the Lake Baikal Basin. *Climate*. 2020; 8(57):1-25. doi:10.3390/cli8040057
6. Vasileva A, Moiseenko K. Methane emissions from 2000 to 2011 wildfires in Northeast Eurasia estimated with MODIS burned area data. *Atmospheric Environment*. 2013; 71:115-121. doi:10.1016/j.atmosenv.2013.02.001
7. Jolly WM, Cochrane MA, Freeborn PH, Holden ZA, Brown TJ, Williamson GJ, Bowman DMJS. Climate-induced variations in global wildfire danger from 1979 to 2013. *Nature Communications*. 2015;6(7537):1-11. doi:10.1038/ncomms8537
8. Brazhnik K, Hanley Ch, Shugart HH. Simulating Changes in Fires and Ecology of the 21st Century Eurasian Boreal Forests of Siberia. *Forests*. 2017;8(49):1-27. doi: 10.3390/f8020049
9. Kurbatskiy NP. Issledovanie kolichestva i svoystv lesnykh goryuchikh materialov [Study of the quantity and properties of forest combustible materials]. In: *Voprosy lesnoy pirologii* [Issues of forest pyrology]. Kurbatskiy NP, editor. Krasnoyarsk: Institute of forest and wood, the Siberian branch of the USSR Academy of sciences Publ.; 1970. pp. 5-58. In Russian
10. Melekhov IS. Lesnaya pirologiya i ee zadachi [Forest pyrology and its tasks]. In: *Sovremennye voprosy okhrany lesov ot pozharov i bor'by s nimi* [Contemporary issues of forest protection from fires and fighting them]. Melekhov IS, editor. Moscow: Lesnaya promyshlennost' Publ.; 1965. pp. 5-25. In Russian
11. Panarin II. Lesa Pribaykal'ya [Forests of Cisbaikalia]. Moscow: Nauka Publ.; 1979. 264 p. In Russian
12. Pobedinskiy AV. Sosnovye lesa Sredney Sibiri i Zabaykal'ya [Pine forests of Central Siberia and Transbaikalia]. Moscow: Nauka Publ.; 1965. 268 p. In Russian

13. Ziganshin RA. Poslepozharanye nasazhdeniya ekologicheskogo profilya Babushkin–Taezhnyy na Khamar Dabane [Post-fire forest stands of the ecological profile Babushkin–Tayozhnyy on Khamar Daban]. In: Пожары в лесных экосистемах Сибири [Fires in forest ecosystems of Siberia]. Krasnoyarsk: Institute of forest, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences Publ.; 2008. pp. 127-130. In Russian
14. Kharuk VI, Im ST, Petrov IA, Golyukov AS, Ranson KJ, Yagunov MN. Climate-induced mortality of Siberian pine and fir in the Lake Baikal Watershed, Siberia. *Forest Ecology and Management*. 2017;384:191-199. doi:10.1016/j.foreco.2016.10.050
15. Evdokimenko MD. Потенциальная пожароопасность лесов в бассейне оз. Байкал [Potential fire risks of forests in the basin of the lake Baikal]. *Lesovedenie = Russian Journal of Forest Science*. 1991;5:14-25. In Russian
16. Andreeva EN, Bakkal IYu, Gorshkov VV, Lyanguzova IV, Maznaya EA, Neshataev VYu, Neshataeva VYu, Stavrova NI, Yarmishko VT, Yarmishko MA. Metody izucheniya lesnykh soobshchestv [Methods for studying forest communities]. St. Petersburg: St. Petersburg State University Publ.; 2002. 240 p. In Russian
17. Evdokimenko MD. Zhiznesposobnost' derev'ev posle nizovogo pozhara [Trees vitality after ground fire]. In: *Voprosy lesnoy pirologii* [Issues of forest pyrology]. Kurbatskiy NP, editor. Krasnoyarsk: Institute of forest and wood, the Siberian branch of the USSR Academy of sciences Publ.; 1974. pp. 167-196. In Russian
18. Adler YuP, Markova EV, Granovskiy YuV. Planirovanie eksperimenta pri poiske optimal'nykh usloviy [Planning an experiment searching for optimal conditions]. Moscow: Nauka Publ.; 1976. 278 p. In Russian
19. Vladimirov IN, Sofronov AP, Sorokovoi AA, Kobylkin DV, Frolov AA. Structure of vegetation cover in the western part of the Upper-Angara depression. *Geography and Natural Resources*. 2014;35(2):143-151.
20. Polikarpov NP, Chebakova NM, Nazimova DI. Klimat i gornye lesa Yuzhnoy Sibiri [Climate and mountain forests of Southern Siberia]. Novosibirsk: Nauka Publ.; 1986. 226 p. In Russian
21. Soil sampling and methods of analysis. Carter MR, Gregorich EG, editors. Boca Raton: CRC press. Publ.; 2007. 1205 p.
22. IPNI. International Plant Names Index. Kew: The Royal Botanic Gardens, Harvard University Herbaria & Libraries and Australian National Botanic Gardens Publ.; 2020. Available at: <http://www.ipni.org> (accessed: 14.03.2021).
23. Anenkhonov O, Chytry M. Syntaxonomy of vegetation of the Svyatoi nos peninsula, Lake Baikal. 2. Forests and krummholz in comparison with other regions of Northern Buryatia. *Folia Geobotanica*. 1998;33:31-75.
24. Ermakov NB. Raznoobrazie boreal'noy rastitel'nosti Severnoy Azii. Gemiboreal'nye lesa. Klassifikatsiya i ordinatsiya [Diversity of the boreal vegetation of North Asia. Hemiboreal forests. Classification and ordination]. Novosibirsk: Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences Publ.; 2003. 232 p. In Russian
25. Namzalov BB, Bogdanova KM, Bardonova LK, Mitupov ChTs, Grishkina TM, Kholboeva SA, Bykov IP. Buryatiya: rastitel'nyy mir. Vypusk II [Buryatia: flora. Issue 2]. Ulan-Ude: Buryat State University Publ.; 1997. 250 p. In Russian
26. Petrov KM, Terekhina NV. Rastitel'nost' Rossii i sopredel'nykh stran [Vegetation of Russia and neighboring countries]. St. Petersburg.: Khimizdat Publ.; 2013. 328 p. In Russian
27. Zony i tipy poynasnosti rastitel'nosti Rossii i sopredel'nykh territoriy [Zones and types of zonality of vegetation in Russia and adjacent territories]. Map. Scale 1:7 500 000. Ogureeva GN, editor. Moscow: EKOR Publ.; 1999. In Russian
28. Federal'naya sluzhba po gidrometeorologii i monitoringu okruzhayushchey sredy. Spetsializirovannyye massivy [Federal Service for Hydrometeorology and Environmental Monitoring. Specialized arrays.]. Available at: <http://meteo.ru/data> (accessed: 18.03.2021).
29. Kozlovskiy VB, Pavlov VM. Khod rosta osnovnykh lesoobrazuyushchikh porod SSSR [The stand development of the main forest-forming species of the USSR]. Moscow: Lesnaya promyshlennost' Publ.; 1967. 327 p. In Russian

30. Evdokimenko MD. Rol' pirogenogo faktora v produktivnosti drevostoev [The role of the pyrogenic factor in the productivity of forest stands]. In: *Faktory produktivnosti lesa [Forest Productivity Factors]*. Elagin IN, editor. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1989. pp. 53-90. In Russian
31. Girs GI. Fiziologiya oslablennogo dereva [Physiology of a weakened tree]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1982. 256 p. In Russian
32. Barrett K, Baxter R, Kukavskaya E, Baltzer H, Shvetsov E, Buryak L. Postfire recruitment failure in Scots pine forests of southern Siberia. *Remote Sensing of Environment*. 2020;237: 1-16. doi:10.1016/j.rse.2019.111539
33. Holloway JE, Lewkowicz AG, Douglas TA, Li X, Turetsky MR, Baltzer JL, Jin H. Impact of wildfire on permafrost landscape: A review of recent advances and future prospects. *Permafrost and Periglacial Processes*. 2020;31(3):1-12. doi:10.1002/ppp.2048
34. Yevdokimenko MD. Forest-ecological consequences of fires in light conifer forests of Transbaikalia. *Russian Journal of Ecology*. 2011;42(3):205-210.
35. Evdokimenko MD. Pyrogenic disturbances of the hydrothermic regime of cryogenic soils under light coniferous forests in Southeastern Siberia. *Eurasian Soil Science*. 2013;46(2):117-126. doi:10.1134/S106422931302004X
36. Evdokimenko MD. Pirogennyye narusheniya lesorastitel'noy sredy v sosnyakakh Zabaykal'ya i ikh lesovodstvennyye posledstviya [Fire-induced disturbance of forest growth habitata of pines in Transbaikal and the consequences for silviculture]. *Lesovedenie = Russian Journal of Forest Science*. 2014;1:3-12. In Russian, English Summary
37. Evdokimenko MD. Mikroklimat drevostoev i gidrotermicheskiy rezhim pochv v sosnovykh lesakh Zabaykal'ya posle nizovykh pozharov [Microclimate of forest stands and hydrothermal regime of soils in pine forests of Transbaikalia after ground fires]. In: *Gorenie i pozhary v lesu. Ch. III. [Combustion and fires in the forest. Part 3]*. Furyaev VV, editor. Krasnoyarsk: Institute of forest and wood, the Siberian branch of the USSR Academy of sciences Publ.; 1979. pp. 130-140. In Russian
38. Evdokimenko MD. Pirogennyye transformatsii sosnovykh lesov v Zabaykal'e [Pyrogenic Transformations of Pine Forests in Transbaikalia]. *Lesovedenie = Russian Journal of Forest Science*. 2008;4:20-27. In Russian, English Summary
39. Anenkhonov OA, Korolyuk AYu, Sandanov DV, Liu H, Zverev AA, Guo D. Soil-moisture conditions indicated by field-layer plants help identify vulnerable forests in the forest-steppe of semi-arid Southern Siberia. *Ecological Indicators*. 2015;57:196-207. doi:10.1016/j.ecolind.2015.04.012
40. Kharuk VI, Ranson KJ, Oskorbin PA, Im ST, Dvinskaya ML. Climate induced birch mortality in Trans-Baikal lake region, Siberia. *Forest Ecology and Management*. 2013;289:385-392. doi:10.1016/j.foreco.2012.10.024
41. Juricka D, Novotna J, Houska J, Parilkova J, Hladky J, Pecina V, Cihlarova H, Burnog M, Elbl J, Rosicka Z, Brtnicky M, Kynicky J. Large-scale permafrost degradation as a primary factor in Larix sibirica forest dieback in the Khentii massif, northern Mongolia. *Journal of Forestry Research*. 2020;31(1):197-208. doi:10.1007/s11676-018-0866-4
42. Forkel M, Thonicke K, Beer Ch, Cramer W, Bartalev S, Schullius Ch. Extreme fire events are related to previous-year surface moisture conditions in permafrost-underlain larch forests of Siberia. *Environmental Research Letters*. 2012;7(4):1-9. doi:10.1088/1748-9326/7/4/044021
43. Krasnoshchekov YN, Evdokimenko MD, Cherednikova YS. Effect of fires on the ecosystems of subtaiga forest-steppe forests in the Southwestern Baikal region. *Contemporary Problems of Ecology*. 2013;20(5):477-485.
44. Evdokimenko MD, Krasnoshchekov YuN. Forest environmental consequences of pyrogenous anomalies in the basin of Baikal lake. *Sibirskij Lesnoj Zurnal = Siberian Journal of Forest Science*. 2017;4:66-77. doi:10.15372/SJFS20170406 In Russian, English Summary
45. Sannikov SN, Sannikova NS. Ekologiya estestvennogo vozobnovleniya sosny pod pologom lesa [Ecology of natural regeneration of pine under the forest canopy]. Moscow: Nauka Publ.; 1985. 149 p. In Russian

46. Fryaev VV, Tsvetkov PA, Fryaev IV. Pozharoustoychivost' sosnovykh lesov Evrazii v ekstremal'nye pozharnye sezony [Flammability of pine forests of Eurasia in extreme fire seasons]. *Khvoynye boreal'noy zony = Conifers of the boreal area*. 2017;35(3-4):68-73 In Russian, English Summary
47. Sannikov SN, Sannikov NS. Evolyutsionnye aspekty piroekologii svetlokhvoynykh vidov [Evolutionary Aspects of Pyroecology of Light Coniferous Species]. *Lesovedenie = Russian Journal of Forest Science*. 2009;3:3-10. In Russian, English Summary
48. Park S-B, Knohl A, Lucas-Moffat AM, Migliavacca M, Gerbig Ch, Vesala T, Peltola O, Mammarella I, Kolle O, Lavric JV, Prokushkin A, Heimann M. Strong radiative effect induced by clouds and smoke on forest net ecosystem productivity in central Siberia. *Agricultural and Forest Meteorology*. 2018;250-251:376-387. doi: 10.1016/j.agrformet.2017.09.009
49. Zhao FJ, Shu LF, Wang MY, Liu B, Yang LJ. Influencing factors on early vegetation restoration in burned area of Pinus pumila – Larch forest. *Acta Ecologica Sinica*. 2012;32(2):57-61. doi:10.1016/j.chnaes.2011.12.006
50. Kharuk VI, Ranson KJ, Dvinskaya ML. Wildfires dynamic in the larch dominance zone. *Geophysical research letters*. 2008;35(1):1-6. doi:10.1029/2007GL032291
51. Krivobokov LV, Kharpukhaeva TM, Mukhortova LV. Surface fire impact on the floristic composition and structure of larch forest on permafrost to Western Baikal Region (Eastern Siberia, Russia). *Journal of International Scientific Publications: Ecology and Safety*. 2013;7(2):83-96.
52. Sofronov MA, Volokitina AV, Kajimoto T, Matsuura Y, Uemura S. Zonal peculiarities of forest vegetation controlled by fires in Northern Siberia. *Eurasian Forest Journal Research*. 2000;1:51-57.
53. Sofronov MA, Volokitina AV. Wildfire ecology in continuous permafrost zone. In: *Permafrost ecosystems. Ecological studies (Analysis and synthesis)*. Vol. 209. Osawa A, Zyryanova OA, Matsuura Y, Kajimoto T, Wein RW, editors. Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer; 2010. pp. 59-82. doi:10.1007/978-1-4020-9693-8_4
54. Yevdokimenko MD. Fire-induced transformations in the productivity of light coniferous stands of the Trans-Baikal region and Mongolia. In: *Fire in ecosystems of boreal Eurasia. Forestry sciences*. Vol. 48. Goldammer JG, Furyaev VV, editors. Dordrecht: Springer; 1996. pp. 211-218. doi:10.1007/978-94-015-8737-2_16
55. Lebedev AV, Gorbatenko VM, Krasnoshchekov YuN, Reshetkova NB, Protopopov NV. Sredobrazuyushchaya rol' lesov basseyna Baykal [Environment-forming role of forests in the Baikal basin]. Novosibirsk: Nauka Publ.; 1979. 255 p. In Russian
56. Tarmaev VA, Korsunov VM, Kulikov AI. Lineynaya eroziya v Baykal'skom regione [Linear erosion in the Baikal region]. Ulan-Ude: Buryat Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences Publ.; 2004. 164 p. In Russian
57. Krasnoshchekov YuN. Pochvozashchitnaya rol' gornykh lesov basseyna ozera Baykal [Soil protection role of mountain forests in the Baikal basin]. Novosibirsk: Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences Publ.; 2004. 223 p. In Russian
58. Kharuk VI, Ponomarev EI. Wildfires and Burns of Siberian Taiga. *Science First Hand*. 2020;2(87):44-59.

Информация об авторах:

Евдокименко Михаил Данилович – канд. с.-х. наук, с.н.с. лаборатории лесоведения и почвоведения Института леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук – обособленного подразделения ФИЦ КНЦ СО РАН (660036, г. Красноярск, Россия, ул. Академгородок, 50/28)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2065-236X>

E-mail: evdokimenko@ksc.krasn.ru

Кривобоков Леонид Владиленович – канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории фитоценологии и лесного ресурсоведения Института леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделе-

ния Российской академии наук – обособленного подразделения ФИЦ КНЦ СО РАН (660036, г. Красноярск, Россия, ул. Академгородок, 50/28).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4105-6281>

E-mail: leo_kr@mail.ru

Петренко Алексей Евгеньевич – канд. биол. наук, н.с. лаборатории лесоведения и почвоведения Института леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук – обособленного подразделения ФИЦ КНЦ СО РАН (660036, г. Красноярск, Россия, ул. Академгородок, 50/28).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3444-5297>

E-mail: alcorsci@bk.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Michael D. Evdokimenko, Cand. Sci. (Agric.), Senior Researcher, Laboratory of Forestry and Soil Science, VN Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 50/28 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2065-236X>

E-mail: evdokimenko@ksc.krasn.ru

Leonid V. Krivobokov, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Phytocenology and Forest Resources Science, VN Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 50/28 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4105-6281>

E-mail: leo_kr@mail.ru

Alexey E. Petrenko, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Forestry and Soil Science, VN Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 50/28 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3444-5297>

E-mail: alcorsci@bk.ru

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 15.04.2022;
одобрена после рецензирования 11.08.2022; принята к публикации 03.10.2022.*

*The article was submitted 15.04.2022;
approved after reviewing 11.08.2022; accepted for publication 03.10.2022.*