

ВЕСТНИК ТОМСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

БИОЛОГИЯ

Tomsk State University Journal of Biology

Научный журнал

2015

№ 1 (29)

Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС 77-29499
от 27 сентября 2007 г.

Журнал «Вестник Томского государственного университета. Биология»
входит в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов
и изданий, в которых должны быть опубликованы
основные научные результаты диссертаций
на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук»
Высшей аттестационной комиссии



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. К публикации принимаются статьи на русском и английском языках. Средний срок публикации 3–6 месяцев. Журнал выходит ежеквартально. Публикации в журнале осуществляются на некоммерческой основе. Все опубликованные материалы находятся в свободном доступе.

Включен в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук»

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.

Внесен в Ulrich's Periodicals Directory.

Индексируется: eLIBRARY.RU; CYBERLENINKA; Google Scholar; Open Academic Journal Index; Zoological Record Online (Thomson Reuters).

Адрес редакции: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36, Национальный исследовательский Томский государственный университет, Биологический институт; сайт: www.journal.tsu/biology.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Кулижский С.П. – гл. редактор (Томский государственный университет, Томск, Россия). E-mail: kylizhskiy@yandex.ru

Акимова Е.Е. – отв. секретарь (Томский государственный университет, Томск, Россия). E-mail: biotsu@rambler.ru, biotsu@mail.ru

Воробьев Д.С. (Томский государственный университет, Томск); **Дюкарев А.Г.** (Институт мониторинга и климатических систем РАН, Томск); **Зверев А.А.** (Томский государственный университет, Томск); **Кривец С.А.** (Институт мониторинга и климатических систем РАН, Томск); **Сазонов А.Э.** (Сибирский государственный медицинский университет, Томск); **Степанов В.А.** (НИИ медицинской генетики Томского НЦ СО РАМН, Томск); **Штерншис М.В.** (Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Ананьева Н.Б. (Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия); **Афтанас Л.И.** (НИИ физиологии и экспериментальной медицины СО РАМН, Новосибирск, Россия); **Бобровский М.В.** (Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пушкино, Россия); **Васильева Е.Д.** (Зоомузей МГУ, Москва, Россия); **Дюбуа А.** (Национальный музей естественной истории, Париж, Франция); **Зеллер Б.** (Национальный институт агрономических исследований, Нанси, Франция); **Кингма Г.** (Маастрихтский университет, Маастрихт, Нидерланды); **Кузнецов Вл.В.** (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия); **Кушк П.** (Центр исследования окружающей среды им. Гельмгольца, Лейпциг, Германия); **Лупашин В.В.** (Университет Арканзаса Медицинских наук, Арканзас, США); **Покровский О.С.** (Национальный центр научных исследований, Тулуза, Франция); **Смирнова О.В.** (Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов РАН, Москва, Россия); **Соколова Ю.Я.** (Университет Луизианы, Батон Руж, Луизиана, США); **Хебда Р.** (Виктория, Британская Колумбия, Канада); **Чжанг Д.** (Синц-зянский Институт экологии и географии КАН, Урумчи, Китай); **Шарахов И.В.** (Политехнический университет Вирджинии, Вирджиния, США)

Издательство: Издательский дом ТГУ

Редактор К.Г. Шилько; корректор А.Н. Воробьева; редактор-переводчик М.Б. Кузьменко; оригинал-макет А.И. Лелюор; дизайн обложки Л.В. Кривцова

Подписано в печать 17.12.2014. Формат 70х108^{1/16}. Усл. печ. л. 15,7. Тираж 500 экз. Заказы № 718, 719.

Журнал отпечатан на полиграфическом оборудовании Издательского Дома Томского государственного университета. 634050, Ленина, 36, Томск, Россия

Тел. 8+(382-2)-53-15-28

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

The scientific journal “*Tomsk State University Journal of Biology*” publishes the results of the completed original researches (theoretical and experimental manuscripts) in different fields of contemporary biology which have not been published previously in this or any other edition. It includes descriptions of conceptually novel methods of research, review articles on particular topics and overviews.

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

Term of publication: 3-6 months

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

Abstracting and Indexing: eLIBRARY.RU; CYBERLENINKA; Google Scholar; Open Academic Journal Index; Zoological Record Online (Thomson Reuters); Ulrich's Periodicals Directory

Contact the Journal

Tomsk State University, Biological Institute, 36 Lenina St., 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

EDITORIAL COUNCIL

Executive secretary - Elena E Akimova, Cand. Sci. (Biol.), Tomsk State University (Tomsk, Russia) biojournaltsu@gmail.com, biotsu@mail.ru

Vorobiev DS (Tomsk State University, Tomsk, Russia), **Dukarev AG** (Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems, SB RAS, Tomsk, Russia), **Zverev AA** (Tomsk State University, Tomsk, Russia), **Krivets SA** (Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems, SB RAS, Tomsk, Russia), **Sazonov AE** (Siberian State Medical University, Tomsk, Russia), **Stepanov VA** (The Research Institute of Medical Genetics SB RAMS, Tomsk, Russia), **Shternshis MV** (Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia)

EDITORIAL BOARD [Russian Alphabet wise]

Ananjeva NB Zoological Institute, RAS (St. Petersburg, Russia); **Aftanas LI** State Research Institute of Physiology, SB RAMS (Novosibirsk, Russia); **Bobrovsky MV** Institute of Physical Chemical and Biological Problems of Soil Science, RAS (Pyschino, Russia); **Vasil'eva ED** Zoological Museum, Moscow State University (Moscow, Russia); **Dubois A** National Museum of Natural History in Paris (Paris, France); **Zeller B** The French National Institute for Agricultural Research (Nancy, France); **Kingma H** Maastricht University (Maastricht area, Netherlands); **Kuznetsov VIV** Timiryazev Institute of Plant Physiology, RAS (Moscow, Russia); **Kuschik P** Helmholtz Centre for Environmental Research - UFZ (Leipzig, Germany); **Lupashin VV** University of Arkansas for Medical Sciences (Arkansas, USA); **Pokrovsky OS** National Centre for Scientific Research (Toulouse, France); **Smirnova OV** Center of Ecology and Productivity of Forests, RAS (Moscow, Russia); **Sokolova Yuliya (Julia) Y** Louisiana State University (Baton Rouge, Louisiana, USA); **Hebda RJ** Royal British Columbia Museum (Victoria, BC, Canada); **Zhang D** Xinjiang Institute of Ecology and Geography, CAS (Urumqi, China); **Sharakhov IV** Virginia Polytechnic Institute and State University (Blacksburg, Virginia, USA)

PUBLISHER:

Tomsk State University Publishing House (Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation)

Editor KG Shilko; proofreader AN Vorobieva; editor-translator MB Kuzmenko; camera-ready copy AI Leloyur; cover design LV Krivtsova.

Passed for printing 17.12.2014. Format 70x108^{1/16}. Conventional printed sheets 15,7. Circulation - 500 copies. Orders N 718, 719.

36 Lenina Prospekt, Tomsk 634050, Russian Federation. Тел. +7 (382-2)-53-15-28

СОДЕРЖАНИЕ

АГРОХИМИЯ И ПОЧВОВЕДЕНИЕ

- Васильченко Н.И., Звягин Г.А.** Проявление агрогенной трансформации в почвах сухостепной зоны Республики Казахстан 6
Лада Н.Ю., Смоленцев Б.А. Фитолитный анализ генезиса стратозема светлогумусового (на примере приозерной территории озера Баган) ... 16

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

- Ерошенко Д.В., Коробов В.П.** Сравнительный анализ формирования и разрушения биопленок PIA-отрицательных бактерий *Staphylococcus epidermidis* под действием гидролитических факторов 28
Храмов В.М., Калмантаев Т.А., Садикова Г.Т., Перелыгин В.В., Похиленко В.Д. Антимикробный комплекс пептидной природы *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 37

БОТАНИКА

- Лацинский Н.Н.** Редкие кустарниковые сообщества лесного пояса заповедника «Кузнецкий Алатау» 56
Чепинога В.В. Растения-неофиты в гидрофильной флоре Байкальской Сибири.... 68
Шурупова М.Н., Гуреева И.И., Некратова Н.А. Особенности размножения редких видов *Saussurea* (Asteraceae) на Кузнецком Алатау 86

ЗООЛОГИЯ

- Зуев И.В., Зуева А.В.** Оценка эффективности мечения рыб флуоресцентными красителями на различной полимерной основе 103
Ляпков С.М., Волонцевич Р.В. Формирование географической изменчивости размеров и репродуктивных характеристик самок остромордой лягушки *Rana arvalis* Nilsson, 1842 113

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

- Кузнецов В.В., Евдокимов А.А., Нетесова Н.А.** Олигонуклеотидные ингибиторы Dnm1: Проникновение и ингибирование роста клеток Hela и Caski 155

ЭКОЛОГИЯ

- Гашкова Л.П., Синюткина А.А.** Оценка трансформации осушенного верхового болота (на примере участка Бакчарского болотного массива)..... 164

CONTENTS

AGROCHEMISTRY & SOIL SCIENCE

- Vasil'chenko NI, Zvyagin GA.** Agrogenic transformation of soils in the dry steppe zone of the Republic of Kazakhstan 6
- Lada NY, Smolentsev BA.** Phytolith analysis of light-humus stratozem genesis (the case of the Bagan lakeside territory) 16

BIOTECHNOLOGY & MICROBIOLOGY

- Eroshenko DV, Korobov VP.** Comparative analysis of PIA-negative *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation and destruction under hydrolytic factors 28
- Khramov VM, Kalmantaev TA, Sadikova GT, Perelygin VV, Pokhilenko VD.** Antimicrobial complex *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 of peptide nature 37

BOTANY

- Lashchinskiy NN.** Rare shrub communities of the forest belt in Kuznetskiy Alatau Nature Reserve 56
- Chepinoga VV.** Neophyte plant species in hydrophilous flora of Baikal Siberia 68
- Shurupova MN, Gureeva II, Nekratova NA.** Reproduction features of rare *Saussurea species* (Asteraceae) in the Kuznetsk Alatau mountains 86

ZOOLOGY

- Zuev IV, Zueva AV.** Evaluation of polymer-based fluorescent dyes for fish tagging 103
- Lyapkov SM, Volontsevich RV.** Development of geographic variation of body size and reproductive characteristics in *Rana arvalis* females 113

CELL BIOLOGY & GENETICS

- Kuznetsov VV, Evdokimov AA, Netesova NA.** Oligonucleotide inhibitors of Dnmt1: penetration and Hela and Caski cells growth inhibition 155

ECOLOGY

- Gashkova L, Sinyutkina AA.** Estimation of drained oligotrophic bog transformation (the example of the Bakchar bog area) 164

АГРОХИМИЯ И ПОЧВОВЕДЕНИЕ

УДК 631.452

doi: 10.17223/19988591/29/1

Н.И. Васильченко¹, Г.А. Звягин²

¹ Научно-производственный центр земельного кадастра, г. Астана, Респ. Казахстан

² Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина, г. Астана, Респ. Казахстан

Проявление агрогенной трансформации в почвах сухостепной зоны Республики Казахстан

Представлены данные агрохимических и физических свойств темно-каштановых почв Северного Казахстана с учетом их длительного использования в земледелии. Выявлены изменения физических и агрохимических свойств почв в зависимости от способа их обработки и интенсивности антропогенного воздействия, при котором происходит снижение гумуса, общего азота и валового фосфора, а также ухудшение равновесной плотности темно-каштановых почв.

Ключевые слова: плодородие; агрогенная трансформация; агроистощение; деградационные процессы; антропогенез.

Введение

Состояние земельных ресурсов, особенно темно-каштановых почв, вызывает большую тревогу. Деградация почв в настоящее время является одной из важнейших социально-экономических проблем, которая создает угрозу экологической, экономической и национальной безопасности Республики Казахстан. По данным качественной характеристики земель в Республике Казахстан числится более 90 млн га эродированных и эрозионно-опасных земель, из них фактически эродированных – 29,3 млн га, в том числе пашни – 1,8 млн га [1]. В районах интенсивной хозяйственной деятельности не осталось значительных по площади участков темно-каштановых почв, сохранивших свое естественное плодородие. Сохраняется довольно большая вероятность проявления водной эрозии и дефляции сельскохозяйственных угодий на темно-каштановых почвах Акмолинской, Костанайской, Северо-Казахстанской, Павлодарской и Карагандинской областях, т.е. в основных зерносеющих регионах Казахстана.

Агрогенные факторы существенным образом преобразовывают верхний пахотный слой с частичной утратой зональной специфики, что подтверждается более низким и пространственно выровненным по сравнению с целинными почвами содержанием гумуса [2].

Пахотный слой – это та часть почвенного профиля, которая первой непосредственно принимает на себя всю силу воздействия происходящих во внешней среде изменений и которая наиболее активно изменяется адекватно новым условиям ландшафта, отражая особенности современного естественно-антропогенного или культурного почвообразования [3].

Среди антропогенных факторов наибольшим распространением и разнообразием отличаются воздействия, связанные с системой обработки почв в земледелии. Темно-каштановые почвы подвергаются существенным изменениям уже в самом начале вовлечения их в агропроизводство. Сам факт замены естественной растительности культурными однолетними растениями с неглубокой корневой системой и коротким периодом вегетации является первым звеном длинной цепи взаимосвязанных изменений гумусового состояния и физико-химических свойств этих почв. При окультуривании темно-каштановых почв в 2–3 раза снижается объем поступающей в почву биомассы: надземная масса в основном отчуждается, а корневая масса существенно снижается в отличие от целинных условий [4].

Антропогенное воздействие на почвы относится к одному из самых быстрых и мощных факторов эволюции почвенного покрова, которые изменяют химические, физические и морфологические показатели почв. Такие изменения позволяют оценить тенденцию почвенных процессов. Однако точка зрения о высокой интенсивности агрогенных трансформаций разделяется далеко не всеми исследователями. В частности, по проблеме агрогенного преобразования темно-каштановых почв сухостепной зоны Северного Казахстана до настоящего времени нет единого мнения в понимании ряда вопросов [5, 6]. На сегодняшний день недостаточно хорошо изучен механизм изменений данных почв при длительном сельскохозяйственном использовании во времени под влиянием богарного земледелия. Поэтому проблему трансформации агрохимических, физико-химических и физических свойств темно-каштановых почв, происходящей в результате изменений антропогенных воздействий, нельзя считать полностью систематизированной и изученной в аспекте полнопрофильного комплексного исследования почв.

Целью исследований являлось изучение влияния минимальных обработок на физико-химические свойства темно-каштановых почв тяжелого механического состава.

Материалы и методики исследования

Агрогенная трансформация почв сухостепной зоны Республики Казахстан охарактеризована по результатам мониторинга земель в рамках программы 019 «Формирование сведений государственного земельного кадастра», проведенных в Акмолинской области на пахотных угодьях темно-каштановых почв. В ходе работы было проанализировано 50 стационарных экологических площадок (СЭП), выполненных Республиканским государственным предприятием на правах хозяйственного ведения «Научно-производственного центра

земельного кадастра» (РГП «НПЦзем»), из них выбрано 10 площадок, расположенных в Егиндыкольском, Астраханском, Аршалынском, Коргалжынском и Целиноградском районах (табл. 1).

Таблица 1 [Table 1]

Схематическое расположение СЭП
[Schematic layout of permanent ecological plots]

Номер площадки [Plot number]	Место расположения [Location]	Координаты [Coordinates]
18	Малиновский с/о, Целиноградский район [Malinovskiy rural district Tselinogradskiy region]	N 51°05.398' E 070°53.579'
63	Оразакский с/о, Целиноградский район [Orazakskiy rural district Tselinogradskiy region]	N 51°01.313' E 070°48.162'
13	Воздвиженский с/о, Целиноградский район [Vozdvizhenskiy rural district Tselinogradskiy region]	N 51°10.955' E 071°03.946'
40	Узынкольский с/о, Астраханский район [Uzynkol'skiy rural district Astrakhanskiy region]	N 51°19.643' E 069°20.400'
54	Бесбидайкинский с/о, Астраханский район [Besbidaikskiy rural district Astrakhanskiy region]	N 51°11.319' E 069°28.388'
58	Коржинкольский с/о, Егиндыкольский район [Korzhinkol'skiy rural district Egindykol'skiy region]	N 51°08.551' E 069°04.730'
69	Ижевский с/о, Аршалынский район [Izhevskiy rural district Arshalynskiy region]	N 50°50.970' E 072°04.813'
86	Михайловский с/о, Аршалынский район [Mikhaylovskiy rural district Arshalynskiy region]	N 50°57.584' E 072°24.774'
19	Сабындинский с/о, Коргалжынский район [Sabyndinskiy rural district Korgalzhynskiy region]	N 50°56.678' E 070°21.712'
62	Коммунарский с/о, Коргалжынский район [Kommunarskiy rural district Korgalzhynskiy region]	N 50°50.291' E 069°43.710'

На каждой площадке было заложено по пять опорных разрезов, местоположение которых определялось методом конверта, проведено их морфологическое описание и отобраны образцы в слоях 0–10 и 10–25 см в пределах пахотного горизонта.

Каждая стационарная экологическая площадка занимала один (единный) элемент рельефа – водораздельное плато, характеризующееся одинаковыми мезо- и микрорельефом, почвообразующей породой, представленной четвертичными желто-бурыми карбонатными глинами.

Описание почвенных профилей и отбор образцов проводили в середине – конце сентября.

Исследуемая территория представлена преобладающими почвенными доминантами сухостепной зоны – темно-каштановыми карбонатными среднелесными легкоглинистыми и тяжелосуглинистыми почвами.

Анализы проводились в почвенной лаборатории Астанинского филиала РГП «НПЦзем» по следующим видам и методам [7]: гумус по Тюрину в модификации Симаква; содержание общего азота по Кьельдалю; содержание валового фосфора по Гинзбургу; плотность сложения почв по Качинскому.

Результаты исследований и обсуждение

Важнейшими показателями агрогенной трансформации пахотного горизонта темно-каштановых почв являются агрохимические, физико-химические и физические свойства. Результаты проведенного сравнительного анализа полученного в ходе исследования материала (2011–2013 гг.) и исходных данных (2003–2006 гг.) представлены в табл. 2.

Таблица 2 [Table 2]

Показатели плодородия пахотного слоя темно-каштановых почв [Fertility parameters of the arable layer of dark chestnut soils]

Анализируемые показатели [Analyzed parameters]	Почвенные данные на СЭП 2003–2006 гг. и 2011–2013 гг. [Soil data on permanent ecological plots for 2003–2006 and 2011–2013]									
	18	63	13	40	54	58	69	86	19	62
Содержание гумуса в слое 0–10 см, % [Humus content in the layer 0–10 cm, %]	$\frac{2,41}{2,38}$	$\frac{2,32}{2,28}$	$\frac{2,59}{2,58}$	$\frac{2,98}{2,98}$	$\frac{2,49}{2,48}$	$\frac{1,93}{1,93}$	$\frac{2,59}{2,46}$	$\frac{2,73}{2,66}$	$\frac{2,48}{2,44}$	$\frac{2,48}{2,46}$
Содержание гумуса в слое 10–25 см, % [Humus content in the layer 10–25 cm, %]	$\frac{2,32}{2,17}$	$\frac{2,11}{1,98}$	$\frac{2,43}{1,94}$	$\frac{2,90}{2,71}$	$\frac{2,39}{2,08}$	$\frac{1,89}{1,54}$	$\frac{2,52}{2,05}$	$\frac{2,59}{2,24}$	$\frac{2,30}{1,91}$	$\frac{2,32}{2,14}$
Общий азот в слое 0–10 см, % [Total nitrogen in the layer 0–10 cm, %]	$\frac{0,17}{0,15}$	$\frac{0,16}{0,16}$	$\frac{0,17}{0,16}$	$\frac{0,17}{0,17}$	$\frac{0,16}{0,16}$	$\frac{0,19}{0,18}$	$\frac{0,18}{0,18}$	$\frac{0,17}{0,17}$	$\frac{0,21}{0,19}$	$\frac{0,16}{0,16}$
Общий азот в слое 10–25 см, % [Total nitrogen in the layer 10–25 cm, %]	$\frac{0,16}{0,15}$	$\frac{0,15}{0,14}$	$\frac{0,16}{0,14}$	$\frac{0,17}{0,16}$	$\frac{0,15}{0,14}$	$\frac{0,17}{0,15}$	$\frac{0,17}{0,16}$	$\frac{0,17}{0,16}$	$\frac{0,19}{0,18}$	$\frac{0,16}{0,14}$
Валовой фосфор в слое 0–10 см, % [Total phosphorus in the layer 0–10 cm, %]	$\frac{0,16}{0,16}$	$\frac{0,17}{0,16}$	$\frac{0,19}{0,16}$	$\frac{0,15}{0,14}$	$\frac{0,13}{0,12}$	$\frac{0,15}{0,15}$	$\frac{0,18}{0,17}$	$\frac{0,16}{0,16}$	$\frac{0,19}{0,19}$	$\frac{0,15}{0,15}$
Валовой фосфор в слое 10–25 см, % [Total phosphorus in the layer 10–25 cm, %]	$\frac{0,15}{0,14}$	$\frac{0,15}{0,14}$	$\frac{0,17}{0,15}$	$\frac{0,15}{0,14}$	$\frac{0,13}{0,12}$	$\frac{0,15}{0,14}$	$\frac{0,16}{0,14}$	$\frac{0,15}{0,15}$	$\frac{0,18}{0,17}$	$\frac{0,14}{0,13}$
Плотность сложения почвы в слое 0–10 см, г/см ³ [Density of soil consistency in the layer 0–10 cm, g/cm ³]	$\frac{1,16}{1,20}$	$\frac{1,08}{1,10}$	$\frac{1,02}{0,98}$	$\frac{1,00}{0,96}$	$\frac{1,10}{1,00}$	$\frac{1,02}{1,08}$	$\frac{1,08}{1,12}$	$\frac{1,12}{1,10}$	$\frac{1,11}{1,18}$	$\frac{1,16}{1,10}$
Плотность сложения почвы в слое 10–25 см, г/см ³ [Density of soil consistency in the layer 10–25 cm, g/cm ³]	$\frac{1,22}{1,29}$	$\frac{1,16}{1,34}$	$\frac{1,20}{1,43}$	$\frac{1,18}{1,41}$	$\frac{1,20}{1,37}$	$\frac{1,26}{1,44}$	$\frac{1,17}{1,43}$	$\frac{1,21}{1,32}$	$\frac{1,26}{1,30}$	$\frac{1,28}{1,45}$

Примечание. В таблице данные показатели в числителе представлены за 2003–2006 гг., а в знаменателе – за 2011–2013 гг.

[Note: In the table the data in the numerator are presented for 2003–2006 and in the denominator - for 2011–2013].

Характер изменений почв в агроэкосистемах во многом зависит от систем земледелия и агротехнологий. Нерациональные системы обработки способствуют переуплотнению пахотных и подпахотных горизонтов почв, часто сопровождаются засолением и эрозией, дегумификацией, развитием процессов агроистощения и почвоутомления. Интенсивность деградационных процессов в темно-каштановых почвах, развивающихся в результате их использования для выращивания зерновых культур, неодинакова и зависит от применяемых обработок. Согласно материалам исследования 2003–2006 гг. разница в содержании гумуса в слоях 0–10 и 10–25 см не превышает 0,21%, что соответствует относительно равномерному распределению органического вещества в пахотном горизонте за счет глубокой безотвальной обработки почв. Содержание общего азота и валового фосфора в слоях пахотного горизонта исследуемых почв находится на одном уровне, и отклонения не превышают 0,02%.

В настоящее время в земледелии проблема переуплотнения почв сельскохозяйственной техникой выдвигается на одно из первых мест в ряду негативных последствий антропогенных воздействий на почву. Результатом существенного уплотнения пахотного и подпахотного слоя почв является снижение урожайности сельскохозяйственных культур, которое отмечается не только в год уплотнения, но и в последующие несколько лет [8–10].

Урожай зерновых культур тесно взаимосвязан с плотностью почвы. Он закономерно уменьшается при увеличении плотности сложения. Высокая плотность сложения вызывает ухудшение структуры почвы – один из факторов торможения роста корней [11, 12] и ограничения аэробной активности микроорганизмов. С повышением плотности почвы ухудшаются условия для формирования проростков зерновых и увеличиваются энергетические затраты из-за механического сопротивления проникновению корней в почву. Плотность сложения почв в слое 0–10 см – рыхлая, в слое 10–25 см плотность сложения варьирует от рыхлой до среднеплотной степени, при которой урожай зерновых культур заметно снижался по сравнению с неуплотненными почвами.

Являясь крайней степенью минимизации обработки почв, «прямой посев» позволяет в несколько раз снизить затраты механической энергии за счет замены обработки почв применением гербицидов, что позволяет уменьшить частоту и глубину механического воздействия на почву в сравнении с традиционной безотвальной обработкой почв, применяемой в Северном Казахстане [13]. Но «прямой посев» не решает проблему деградационных процессов, а в какой-то мере ухудшает и так шаткое положение почвенного плодородия за счет безвозмездного использования элементов питания и нарушения физических свойств почв.

Снижение уровней органического вещества происходит повсеместно при сельскохозяйственном производстве. Наряду с этим обработка почв вызывает значительное уменьшение количества общего азота [13]. Количественная

оценка изменений гумуса, общего азота и валового фосфора темно-каштановых пахотных почв показывает неравномерное распределение их в пахотных слоях 0–10 и 10–25 см при переходе почв от глубокой безотвальной к минимальной обработке или прямому посеву.

При традиционной глубокой безотвальной обработке почв содержание гумуса в пахотном горизонте в 2003–2006 гг. в слоях 0–10 и 10–25 см находится примерно в равных количественных выражениях. В 2011–2013 гг. при переходе на этих площадках на минимизацию обработки происходит некоторое торможение минерализации органического вещества в слое 0–10 см и колеблется от 1,93 до 2,98%. В слое 10–25 см при длительном отсутствии перемешивания в почве при минимизации обработки наблюдается снижение гумуса с показателей 1,89–2,90% в 2003–2006 гг. до 1,54–2,71% в 2011–2013 гг. Такая же тенденция наблюдается с содержанием общего азота и валового фосфора в слое 10–25 см; при сравнительном анализе данных 2003–2006 и 2011–2013 гг. снижение составило 0,01–0,02% (табл. 2).

В данном случае это объясняется тем, что идет расслоение пахотного горизонта по плодородию. В верхнем 0–10 см слое темно-каштановых почв идет накопление гумуса и валовых элементов питания в связи с ежегодным поступлением пожнивных остатков в виде стерни, которая остается на поверхности и не заделывается в нижележащие слои при прямом посеве и мелкой минимальной обработке. В то же время этот слой быстро, уже сразу после посева в условиях засушливого климата, теряет влагу, корневая система здесь практически не развивается и соответственно вынос элементов питания из этого слоя затормаживается. В слое же 10–25 см отмечается снижение плодородия почв, поскольку здесь сосредоточивается максимум корневой системы и наиболее интенсивно происходят процессы использования и выноса гумуса и валовых элементов питания с ежегодным сбором урожая возделываемых растений.

Таким образом, при сельскохозяйственном использовании темно-каштановые почвы уплотняются, их структурное состояние ухудшается. Особенно отчетливо это проявляется при минимизации обработок на площадках 58 и 62. На стационарных экологических площадках 18 и 19 мелкая минимальная обработка и прямой посев применялись один год, на площадках 63 и 86 – два года, на остальных площадках – три года. Увеличение срока минимизации обработки темно-каштановых карбонатных почв тяжелого гранулометрического состава до трех лет и более приводит к значительному переуплотнению слоя 10–25 см и потере урожая сельскохозяйственных культур. Кроме того, вследствие дезинтеграции почвенной структуры имеют место трансформация порового пространства, уплотнение почвы и образование крупных полигональных блоков с термическими трещинами, т.е. происходит ухудшение физических свойств почв, равновесная плотность в слое 10–25 см переходит в плотную степень уплотненности и достигает 1,45 г/см³, образуя «плужную подошву».

Заключение

Как глубокая безотвальная, так и мелкая минимальная обработки не избавляют почвы от деградационных процессов. Одним из последствий применения минимальных обработок является уменьшение содержания гумуса, общего азота и валового фосфора в слое 10–25 см. В результате проведенных исследований на темно-каштановых почвах получены доказательства увеличения интенсивности процессов деградации в почве по мере минимизации обработки, существенную роль в этом играют переуплотнение почв и вынос элементов питания с урожаем. Основным фактором ухудшения физических свойств почв на фоне минимальной обработки является высокая степень уплотненности нижнего пахотного горизонта, что нарушает водный и воздушный режимы и ухудшает развитие корневой системы растений.

На темно-каштановых карбонатных среднесиловых тяжелосуглинистых и легкосуглинистых почвах необходимо ограничить срок применения мелких минимальных обработок от одного до двух лет или же применять чередование глубокой и мелкой обработки для целей энергосбережения и получения более устойчивых урожаев сельскохозяйственных культур.

Литература

1. *Сводный аналитический отчет о состоянии и использовании земель Республики Казахстан за 2013 г.* / отв. ред. К.А. Ускенбаев. Астана : РГП «НПЦзем», 2014. 255 с.
2. *Лебедева И.И.* Современные гумусовые аккумуляции в черноземах Русской равнины // *Современные проблемы почвоведения* : Науч. тр. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева РАСХН. М., 2000. С. 55–67.
3. *Муха В.Д.* Естественно-антропогенная эволюция почв (общие закономерности и зональные особенности). М. : Колос, 2004. 271 с.
4. *Проблемы деградации, охраны и восстановления продуктивности сельскохозяйственных земель России* / под ред. Г.А. Романенко. М. : ВНИИА, 2007. 76 с.
5. *Паракишина Э.М., Паракишин Ю.П., Тычина А.Н.* Итоги научно-исследовательских работ Целиноградского отделения Института почвоведения АН КазССР за 1962–1973 гг. / *Почвы Северного Казахстана и их мелиорация*. Алма-Ата : Наука, 1974. С. 5–11.
6. *Тулеубаев Ж.С.* Физическая деградация почвы и пути ее снижения. Алма-Ата : Галым, 1994. С. 15.
7. *Аринушкина Е.В.* Руководство по химическому анализу почв. 2-е изд. М. : Изд-во МГУ, 1970. 488 с.
8. *Бондарев А.Г., Кузнецова И.В., Спосожников П.М.* Переуплотнение почв сельскохозяйственной техникой, прогноз явления и процессы разуплотнения // *Почвоведение*. 1994. № 4. С. 58–64.
9. *Buliński J., Marczuk T.* Wyposażenie w maszyny i ciągniki gospodarstw rolnych województwa podlaskiego w aspekcie ugniatania gleby kołami. XI Międzynarodowe Sympozjum «Ekologiczne aspekty mechanizacji produkcji roślinnej». SGGW-IBMER Warszawa 21–22.09.2006. S. 21.
10. *Wolkowski R.P.* Relationship between wheel-traffic-induced soil compaction, nutrient availability, and crop growth: a review // *J. Product. Agr.* 1990. Vol. 3, № 4. P. 460–3469.
11. *Schuurman J.J.* Influence of soil density on root development and growth of oats // *Plant Soil*. 1965. № 22. P. 352–374.

12. McSweeney K., Jansen J.J. Soil structure and associated rooting behavior in minesoils // Soil Sci. Soc. Am. J. 1984. № 48. P. 607–612.
13. Власенко А.Н., Шарков И.Н. и др. Минимизация обработки почвы и минерализация соединений азота // Почвоведение. 2001. № 9. С. 1111–1117.

Поступила в редакцию 14.10.2014 г.; повторно 23.12.2014 г.; принята 15.01.2015 г.

Авторский коллектив:

Васильченко Николай Иванович – канд. с.-х. наук, гл. специалист управления земельного кадастра Республиканского государственного предприятия «Научно-производственный центр земельного кадастра» (г. Астана, Респ. Казахстан).

E-mail: vassilchenko-n@rambler.ru

Звягин Григорий Александрович – докторант кафедры почвоведения и агрохимии Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина (г. Астана, Респ. Казахстан).

E-mail: regor1984111@rambler.ru

Vasil'chenko NI, Zvyagin GA. Agrogenic transformation of soils in the dry steppe zone of the Republic of Kazakhstan. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;1(29):6-15. doi: 10.17223/19988591/29/1. In Russian, English summary

Nikolay I. Vasil'chenko¹, Grigoriy A. Zvyagin²

¹ Republican State Enterprise "Research and Production Center of Land Cadastre", Astana, Republic of Kazakhstan

² S. Seifullin Kazakh AgroTechnical University, Astana, Republic of Kazakhstan

Agrogenic transformation of soils in the dry steppe zone of the Republic of Kazakhstan

We present the results of monitoring investigations of agrogenic temporary transformation of humus parameters, volume weight, total nitrogen and phosphorus in the arable horizon of dark chestnut carbonate light argillaceous and heavy argillo-arenaceous soils in the transition from the deep subsurface to shallow minimum tillage and direct seeding. We carried out monitoring investigations of agrogenic soil transformation in the dry steppe zone on arable lands of Akmola region, which were represented by 10 permanent ecological plots. We analyzed soils according to the following types and methods: humus by Tyurin in Simakov's modification, total nitrogen by Kjeldahl, total phosphorus by Ginsburg and bulk density by Kachinskii. At present, dark-chestnut soils in the dry steppe have a pronounced tendency to deterioration of physical properties of soils in the transition to minimal tillage and direct seeding and in this case, the equilibrium density in the 10-25 cm layer goes often in a strong degree of compaction and reaches 1.45 g/cm³, which ultimately leads to reduced grain yields. Grain yields decrease with bulk density increasing, which shows a close relationship of productivity of agricultural crops with soil density. Quantitative evaluation of changes in the humus and the total phosphorus in the upper horizon of dark chestnut arable soils shows the unevenness of its distribution in the arable horizon during the soil processing transition from deep subsurface tillage to minimum tillage or direct seeding. In terms of time dark-chestnut carbonate light argillaceous and heavy argillo-arenaceous soils there is a tendency to a decrease in the arable horizon percentage of humus, total nitrogen, and, to a lesser extent, total phosphorus. Traditional humus content of subsurface soils in the arable horizon in the layers 0-10 cm and 10-25 cm is approximately in equal quantitative terms, while, minimizing processing, there is some inhibition of organic matter mineralization in the layer 0-10 cm and ranges from 1,93% to 2,98%, as in

2003-2006 and in 2011-2013. In the 10-25 cm layer, during a long absence of mixing in the soil, while minimizing processing, we noticed a decrease in humus from 1,89-2,90% in 2003-2006 to 1,54-2,71% in 2011-2013. We observed the same trend with the content of total nitrogen and total phosphorus in the 10-25cm layer and during a comparative analysis of data for 2003-2006 and 2011-2013 the reduction was 0,01-0,02%.

We conclude that soils in the dry steppe zone of Kazakhstan experience intense human pressure in the transition to a smaller minimum and zero tillage of heavy granulometric soils, which leads to even greater soil degradation and pronounced separation of the arable horizon in humus percentage and other parameters of soils productivity.

The article contains 2 Tables, 13 References.

Key words: productivity; agrogenic transformation; soil depletion; degradation processes; anthropogenesis.

References

1. Svodnyy analiticheskiy otchet o sostoyanii i ispol'zovanii zemel' Respubliki Kazakhstan za 2013 g. [Consolidated analytical report on the status and use of lands in the Republic of Kazakhstan for 2013]. Uskenbaev KA, editor. Astana: RGP "NPTzem" Publ.; 2014, 255 p. In Russian
2. Lebedeva II. Sovremennye gumusovye akumulatsii v chernozemakh Russkoy ravniny [Current humus accumulations in the chernozems of the Russian Plain]. In: *Sovremennye problemy pochvovedeniya*. Nauch. tr. pochv. in-ta im. VV Dokuchaeva RASKhN [Modern problems of soil science. Proc. of VV Dokuchaev Soil Science Institute of the Russian Academy of Agricultural Sciences]. Moscow: Institute im. VV Dokuchaeva RASKhN Publ.; 2000. pp. 55-67. In Russian
3. Mukha VD. Estestvenno-antropogennaya evolyutsiya pochv (obshchie zakonomernosti i zonal'nye osobennosti) [Natural and anthropogenic evolution of soils (general patterns and zonal peculiarities)]. Moscow: Kolos Publ.; 2004. 271 p. In Russian
4. Problemy degradatsii, okhrany i vosstanovleniya produktivnosti sel'skokhozyaystvennykh zemel' Rossii [Problems of degradation, protection and restoration of agricultural land productivity in Russia]. Romanenko GA, editor. Moscow: VNIIA Publ.; 2007. 76 p. In Russian
5. Parakshina EM, Parakshin YuP, Tychina AN. Itogi nauchno-issledovatel'skikh rabot Tselinogradskogo otdeleniya Instituta pochvovedeniya AN KazSSR za 1962-1973 gg. [The results of scientific research of Tselinograd Division of the Institute of Soil Science of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR for 1962-1973]. In: *Pochvy Severnogo Kazakhstana i ikh melioratsiya* [Soils of Northern Kazakhstan and their reclamation]. Alma-Aty: Nauka Publ.; 1974. pp. 5-11. In Russian
6. Tuleubaev ZhS. Fizicheskaya degradatsiya pochvy i puti ee snizheniya [Physical degradation of soils and ways of its reducing]. Alma-Aty: Galym Publ.; 1994. p. 15. In Russian
7. Arinushkina EV. Rukovodstvo po khimicheskomu analizu pochv [Guidance for chemical analysis of soils]. 2nd ed. Moscow: Moscow State University Publ.; 1970. 488 p. In Russian
8. Bondarev AG, Kuznetsova IV, Spozhnikov PM. Pereuplotnenie pochv sel'skokhozyaystvennoy tekhnikoy, prognoz yavleniya i protsessy razuplotneniya [Soil compaction by agricultural machinery, phenomenon forecast and processes of soil softening]. *Pochvovedenie*. 1994;4:58-64. In Russian
9. Buliński J, Marczuk T. Wyposażenie w maszyny i ciągniki gospodarstw rolnych województwa podlaskiego w aspekcie ugniatania gleby kołami. In: *Ekologiczne aspekty mechanizacji produkcji roślinnej*. XII Międzynarodowe Sympozjum. Warszawa, 21-22 września, 2006. Warszawa: SGGW Publ.; 2006. p. 21. In Polish

10. Wolkowski RP. Relationship between wheel-traffic-induced soil compaction, nutrient availability, and crop growth: a review. *J. Product. Agr.* 1990;3(4):460-469. doi: [10.2134/jpa1990.0460](https://doi.org/10.2134/jpa1990.0460)
11. Schuurman JJ. Influence of soil density on root development and growth of oats. *Plant Soil.* 1965;22:352-374. doi: [10/1007/BF01422434](https://doi.org/10.1007/BF01422434)
12. McSweeney K, Jansen JJ. Soil structure and associated rooting behavior in minesoils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1984;48:607-612. doi: [10.2136/sssaj1984.03615995004800030028x](https://doi.org/10.2136/sssaj1984.03615995004800030028x)
13. Vlasenko AN, Sharkov IN, Sineshchekov VE, Prozorov AS. Minimizatsiya obrabotki pochvy i mineralizatsiya soedineniy azota [Soil tillage minimization and mineralization of nitrogen compounds]. *Pochvovedenie.* 2001;9:1111-1117. In Russian

Received 14 October 2014;

Revised 23 December 2014;

Accepted 15 January 2015

Authors info:

Vasil'chenko Nikolay I, Cand. Sci. (Agric.), Chief specialist management of land cadastre of the Republican State Enterprise "Research and Production Center of Land Cadastre", 25 Zheltoksan Str., Astana 010000, Republic of Kazakhstan.

E-mail: vassilchenko-n@rambler.ru

Zvyagin Grigoriy A, PhD student, Department of Soil Science and Agrochemistry, Agronomic Faculty, S. Seifullin Kazakh AgroTechnical University, 62 Pobedy Ave., Astana 010000, Republic of Kazakhstan.

E-mail: regor1984111@rambler.ru

УДК 631.4

doi: 10.17223/19988591/29/2

Н.Ю. Лада, Б.А. Смоленцев

Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, г. Новосибирск, Россия

Фитолитный анализ генезиса стратозема светлогумусового (на примере приозерной территории озера Баган)

Работа выполнена при финансовой поддержке
международного проекта № 220 «BIO-GEO-KLIM»

Представлены результаты изучения условий формирования стратозема светлогумусового водно-аккумулятивного на погребенном солонце, расположенного в Кулундинской степи, при комплексном использовании фитолитного и физико-химических анализов. Согласно проведенным исследованиям данная почва формировалась в сложных динамичных условиях. Первоначально профиль почвы формировался по солонцовому типу с образованием солонца светлого. В связи с изменением климатических условий, приведших сначала к повышению водности р. Баган и соответственно оз. Баган, а затем к ее снижению, происходила трансформация озерной котловины. Одним из результатов данной трансформации является образование берегового вала на значительном удалении (900 м) от современной береговой линии озера, что подтверждается возрастанием процентного содержания фитолитов тростника. Фитолиты лесных злаков и двудольных трав, зафиксированные в погребенной почве, присутствуют во всей вышележающей почвенной толще. Это позволяет предположить, что лесные колки на данной территории появились одновременно с формированием солонцового горизонта, до его погребения под озерными отложениями береговых фаций.

Ключевые слова: фитолиты; стратозем; микробиоморфный анализ; спикеры губок.

Введение

Почвенный покров Кулундинской степи отличается большим разнообразием ввиду сложного рельефа. Для данной территории свойственно чередование высоких грив и разделяющих их понижений, занятых реками и озерами. Практически вокруг всех озер приозерных равнин Кулундинской степи формируются изучаемые почвы, стратоземы светлогумусовые водно-аккумулятивные. В прошлом эти почвы подвергались периодическому обводнению и обсыханию в связи с динамикой биоклиматических процессов.

Вопрос озерно-пойменного почвообразования недостаточно изучен, попытки освещения вопросов его генезиса были предприняты В.И. Шрагом

в 1964 г. [1]; В.А. Казанцевым и соавт. [2] проведено изучение почвообразования в молодых обсыхающих котловинах оз. Чаны; С.П. Кулижским и А.В. Родиковой [3] исследованы основные свойства компонентов, слагающих почвенные комбинации котловины оз. Шира. В настоящее время вопросы изучения почвообразовательных процессов в котловинах озер и поймах рек являются актуальными в связи с усиливающимися процессами антропогенного опустынивания степных территорий Сибири.

Генетическая диагностика почв невозможна без сравнительно-экологического анализа, включающего в себя микробиоморфный, корректирующий биоклиматические характеристики изучаемой территории [4].

Микробиоморфные комплексы сохраняются в почве на протяжении длительного времени и отражают те условия, в которых она сформировалась. Их можно охарактеризовать термином «почва-память», так как микробиоморфы являются индикаторами особенностей функционирования почв и почвенно-ландшафтных систем в прошлом [5, 6].

Показатели экологического состояния почвенного покрова зависят от растительного покрова, определяющего видовой состав микробиоморф, позволяющий выявить стадии увлажнения и аридизации территории на длительной временной шкале, а также стадии эволюции стратозема, образующегося при трансгрессии соленого оз. Баган.

Цель данной работы – определение эволюции почвенного покрова приозерной территории на основе архива палеоландшафтной информации, связанного с образованием стратозема светлогумусового.

Материалы и методики исследования

Исследования проводились на территории Северо-Кулундинской озерно-аллювиальной равнины, расположенной в южной части Западно-Сибирской низменности в пределах Обь-Иртышского междуречья. Дельтовая часть равнины простирается у подошв древних террас и имеет абсолютные высоты 110–123 м. Абсолютная высота местных базисов эрозии изменяется от 92 до 104 м. Относительные превышения водоразделов над местными базисами эрозии составляют 16–19 м [7].

Рельеф гривный, с закономерной сменой поднятий и межгривных понижений. На равнине находятся дельты рек Баган и Карасук, которые имеют многочисленные озерные котловины и заболоченные понижения. Из них оз. Баган является самым крупным и расположено в дельте р. Баган. Формирование территории происходило и происходит в настоящее время в очень динамичных условиях, связанных с изменением водности р. Баган. В целом рельеф представляет собой полузамкнутую широкую (до 3 км) плоскодонную долину с цепочкой озер в центре, соединенных между собой руслом р. Баган. Долину окружают гривообразные повышения; от прилегающих повышений ее отделяет хорошо выраженный уступ

высотой до 1,5 м. Внутри долины, на разном удалении от озера, встречаются останцы древних береговых валов озера, свидетельствующие о различной его наполняемости. Сложены валы слоистыми озерно-аллювиальными отложениями, в толще которых встречается до трёх гумусосодержащих слоев, каждый мощностью до 20 см. Самый удаленный озерный вал обнаружен на вышеупомянутом уступе, в 900 м от современной береговой линии озера.

Климат Северной Кулунды умеренно тёплый. Температуры воздуха выше 10°C наблюдаются в течение 125–130 дней, сумма их равна 2000–2200°. Территория отличается недостаточным увлажнением ($K_{увл} = 0,65$), летом – высоким дефицитом влажности воздуха и частыми засухами, и суховеями. Среднегодовое количество осадков составляет 270–300 мм [8].

Территория значительно распахана, поэтому естественная растительность сохранилась на пастбищах и сенокосах. Она представлена типчакowo-полынными степями, засоленными участками полынных и вострещowo-полынных степей, галофитными лугами, значительно изменёнными в результате пастбищной нагрузки. Около колков сохранились фрагменты злаково-разнотравных луговых степей. Сильнозасоленные участки солончаковых почв покрыты галофитной растительностью.

Почвообразующие породы на исследуемой территории представлены покровными облессованными карбонатными суглинками и супесями на гривах и озерно-аллювиальными слоистыми отложениями в долинах и дельтах рек [9].

Почвенный покров данной территории представлен отделами синлитогенных и постлитогенных почв. Из синлитогенных – это стратоземы светлогумусовые водно-аккумулятивные, формирующиеся как на погребенных почвах, так и на минеральном субстрате. Приурочены они к древним береговым валам озера и развиваются в условиях чередования процессов почвообразования и аккумуляции свежего минерального материала. Из отдела постлитогенных почв представлены черноземы дисперсно-карбонатные, солонцы гидрометаморфические светлые и солончаки.

Ниже приведено описание стратозёма светлогумусового водно-аккумулятивного на солонце светлом (название по [10]). Разрез заложен на микроповышении под полынно-разнотравно-злаковой степью в точке с координатами: 53°54'16,83" с.ш., 77°08'49,87" в.д.

Дернина – 0–4 см – густо переплетена корнями растений, светло-серой окраски, сухая, минеральная часть ее песчаная и порошистая, слабо уплотнена, переход ясный по количеству корней, граница волнистая.

AJaq – 4–23 см – серый, сухой, песчаный, слабо агрегирован, структура непрочная мелкокомковато-порошистая, рыхлый, пронизан корнями, переход заметный по окраске, граница слабоволнистая.

RJ1aq – 23–29 см – светло-серый с белесыми пятнами, сухой, песчаный, слабо агрегирован, непрочной мелкокомковатой структуры, рыхлый, редкие корни растений, переход заметный по окраске, граница волнистая.

RJ2aq – 29–37 см – темно-серый, свежий, песчаный, уплотнен, зернисто-порошистый, редкие корни растений, по ходам корней наблюдаются пятна окисного железа, переход заметный по окраске, граница волнистая.

RJ3aq – 37–45 см – светло-серый с темными пятнами, свежий, супесчаный, уплотнен, книзу плотность увеличивается, мелкокомковатый, единичные корни, переход заметный по гранулометрическому составу, окраске, плотности и структуре, граница языковатая.

BSNy – 45–60(68) см – неоднородной окраски: на общем буром фоне белесые, оранжевые и серые пятна, суглинистый, свежий, плотный, структура призматическая мелко-столбчатая, пятна окисного железа, гумусовые кутаны, единичные корни. В горизонт проникают гумусовые клинья, в нижней части встречается редкий псевдомицелий, слабо вскипает от HCl, переход заметный по окраске и вскипанию, граница языковатая.

BCAy – 60(68)–95 см – светло-бурый, суглинистый, свежий, мелко-комковато-плитчатый, плотный, бурно вскипает от HCl, карбонаты в виде общей пропитки и редкой белоглазки. Горизонт вертикально пересекают гумусовые языки, встречаются пятна окисного железа.

Согласно проведенным полевым исследованиям морфологических свойств исследованный почвенный профиль имеет двучленное строение: стратифицированные горизонты верхней водно-аккумулятивной части и погребенный солонец светлый (рис. 1).

Показатели физико-химических свойств в отобранных почвенных образцах определяли по стандартным методикам [11, 12]. Микробиоморфы изучаемой почвы стратозема светлогумусового выделялись по методике А.А. Гольевой [13].

Брали навеску не растертой почвы массой 40 г, кипятили в 10% HCl в течение 5 мин с целью дезинтеграции почвенных частиц. Для полного удаления илистой фракции (частиц размером менее 0,001 мм) пробу почвы отмучивали, пока верхние 4 см слоя почвенной суспензии не становились прозрачными. Затем просеивали мокрый осадок через сито ($d = 0,5$ мм). Пылеватую фракцию высушивали и центрифугировали в тяжелой жидкости ($KI + CdI$, $\rho = 2,3$ г/см³) при 1000 об/мин. Далее высушенная проба помещалась на предметные стекла с глицерином и велся просмотр препаратов под микроскопом ($\times 400$) (МИКМЕД-6, «ЛОМО», Россия). Разные типы микробиоморф подсчитывали с использованием Международного кода номенклатуры фитолитов [14].

Фитолитный анализ служит дополнением традиционных методов в почвоведении, так как фитолиты обладают высокой сохранностью и отражают состав растительности на месте ее произрастания. Фитолиты осаждаются в почве при отмирании растений и являются индикаторами природно-климатических условий формирования почвенного профиля.

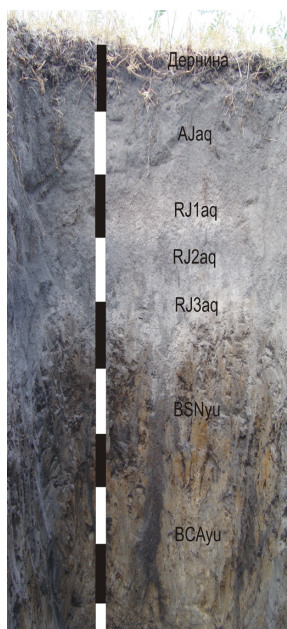


Рис. 1. Профиль стратозема светлогумусового (фото Н.Ю. Лада)
[Fig. 1. Profile of light-humus stratozeme (photo NY Lada)]

Группы растений определенной экологической группировки формируют специфические фитолитные комплексы, позволяя диагностировать фитоценоз. Данный метод находит все большее применение для исследования генезиса почв и реконструкции ландшафтов [13, 15].

Результаты исследования и обсуждение

По данным физико-химических анализов стратозем имеет аккумулятивный характер распределения общего углерода с максимальным накоплением в дернине, где его содержится 3,5%, с постепенным уменьшением вниз по профилю до 0,3% (таблица). Реакция среды изменяется от нейтральной ($pH_{\text{водн}} = 6,6$) в верхних слоях до щелочной ($pH_{\text{водн}} = 8,5$) в аккумулятивно-карбонатном горизонте. Верхний слой стратифицированного горизонта RJ1 имеет слабокислую реакцию среды ($pH_{\text{водн}} = 6,2$). По гранулометрическому составу профиль почвы сложен двучленно, что связано с определенной синлитогенной стадией его формирования. Верхняя часть профиля (0–45 см), представляющая собой отложения водно-аккумулятивного происхождения, песчаная и супесчаная. Нижняя, глубже 45 см, не что иное, как погребенная почва суглинистого и тяжелосуглинистого гранулометрического состава (рис. 2).

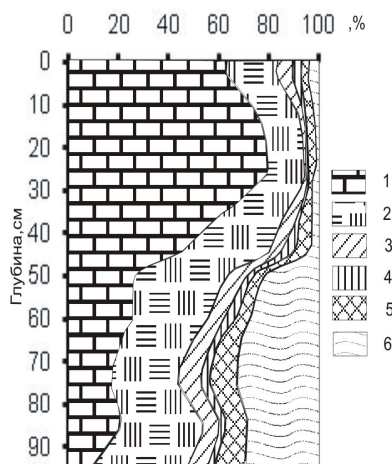


Рис. 2. Гранулометрический состав стратозема.

Диаметр частиц в мм: 1 – 1–0,25; 2 – 0,25–0,05;

3 – 0,05–0,01; 4 – 0,01–0,005; 5 – 0,005–0,001; 6 – <0,001

[Fig. 2. Light-humus stratozem texture.

The particle diameter in mm: 1 - 1-0.25; 2 - 0.25-0.05;

3 - 0.05-0.01; 4 - 0.01-0.005; 5 - 0.005-0.001; 6 - <0.001]

Физико-химические свойства стратозема светлогумусового

[Physical and chemical properties of light-humus stratozem]

Горизонт [Horizon]	Глубина, см [Depth, cm]	C _{общ} [C _{total}], %	pH _{водн} [pH _{water}]	CaCO ₃ , %	Обменные катионы, мг×экв./100 г почвы [Exchangeable cation, cmolckg ⁻¹ soil]				Сумма обменных катионов, мг×экв./ 100 г почвы [Number of exchangeable cations, cmol- ckg ⁻¹ soil]	Mg ²⁺ +Na ⁺ , % от суммы обменных катионов [Percentage of the number of exchangeable cations]
					Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺		
Дернина [Vegetable layer]	0–4	3,5	6,6	0	9,4	3,0	0,1	0,6	13,1	23,6
AJaq	4–13	1,8	6,7	0	3,8	1,3	0,1	0,2	5,4	25,9
	13–23	0,7	6,4	0	1,4	1,2	0,1	0,1	2,8	11,0
RJ1aq	23–29	0,5	6,2	0	2,8	1,6	0,2	0,2	4,8	37,5
RJ2aq	29–37	0,6	6,5	0	5,8	1,6	0,1	0,3	7,8	21,8
RJ3aq	37–45	0,5	6,5	0	4,6	2,6	0,2	0,5	7,9	35,4
BSNyU	45–50	0,7	6,8	0	9,0	7,5	0,2	0,9	17,6	43,8
	50–60	0,6	7,0	0	11,9	7,2	0,2	0,9	19,9	37,2
	60–65	0,5	7,9	1,2	16,2	7,4	0,3	0,8	24,7	31,2
BCAyU	65–75	0,5	8,4	11,6	15,6	6,2	0,2	0,7	22,7	28,2
	75–85	0,4	8,3	10,2	12,4	5,2	0,2	0,5	18,1	29,8
	85–95	0,3	8,5	13,2	13,6	5,6	0,2	0,5	19,9	29,1

В микробиоморфном спектре горизонта ВСАуи преобладают спикеры губок и фитолиты мхов (рис. 3). Спикеры губок и фитолиты мхов говорят о высокой влажности береговой территории. Кроме того, спикеры губок являются индикаторами проточной воды, что свидетельствует о периоде максимального наполнения оз. Баган водами р. Баган и о высоком уровне воды в оз. Баган.

Горизонт BSНуи по гранулометрическому составу среднесуглинистый (см. рис. 2). Содержание общего углерода невелико, в пределах 0,5–0,7%. Реакция среды становится нейтральной. Сумма обменных Mg^{2+} и Na^{+} в верхней части составляет 43,8% (см. таблицу) от суммы обменных оснований, что свидетельствует о солонцеватости этого горизонта. Предположительно погребенная почва до ее затопления формировалась как гидроморфный солонец. Физико-химические свойства погребенных горизонтов ВСАуи и BSНуи совпадают со свойствами подобных горизонтов Вса и В1 современных солонцов [16].

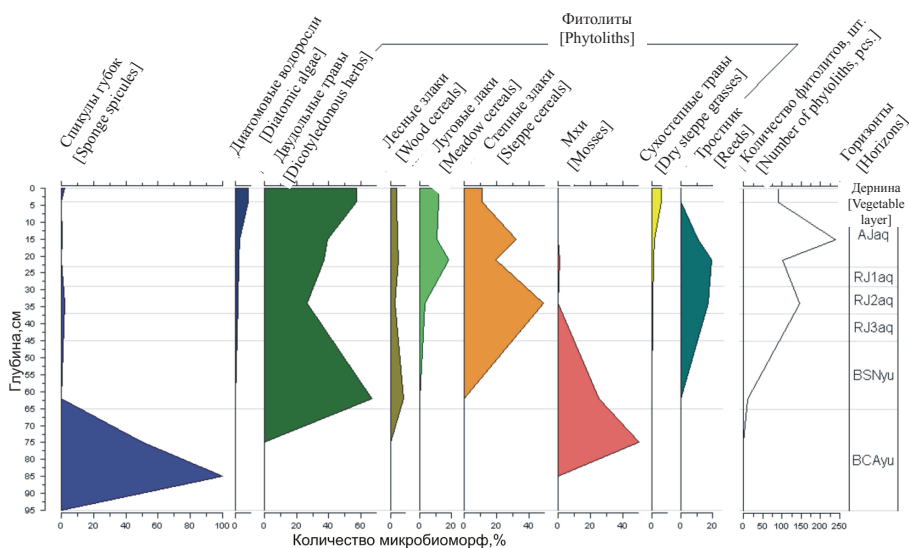


Рис. 3. Микробиоморфный состав стратозема светлогумусового водно-аккумулятивного
[Fig. 3. Microbiomorph composition of water-accumulative light-humus stratozem.

On the ordinate axis - Depth, cm; on the abscissa axis - Number of microbiomorphs, %]

По микробиоморфным данным горизонт BSНуи разбивается условно на два слоя. В нижнем слое фиксируется 65% фитолитов двудольных трав, 20% мхов и около 5% лесных трав и тростника. Единично присутствуют луговые травы. В верхнем слое горизонта количество фитолитов двудольных трав снижается до 40%, мхов – до 5%, а количество фитолитов степных злаков увеличивается от 0 в нижнем слое до 40% к верхней границе горизонта

(см. рис. 3), что говорит об остепнении территории и образовании лесостепного биоценоза. Тростник является «жителем» прибрежных вод и околотовных пространств, и увеличение его остатков до 4–6% свидетельствует о том, что береговая линия была значительно приближена к формирующейся почвенной поверхности.

Выше горизонта BSНуи в слоистой толще озерно-аллювиального происхождения формируются горизонты RJ1aq, RJ2aq, RJ3aq. Наблюдается явный скачок в изменениях физико-химических характеристик (см. таблицу). Гранулометрический состав слоя RJ3aq меняется на супесчаный в сравнении с нижележащим среднесуглинистым горизонтом BSНуи. Фиксируется резкое уменьшение содержания ила (16%) и физической глины (13%). Реакция среды слабокислая ($\text{pH}_{\text{водн}} = 6,5$). Сумма обменных оснований снижается от 17,6 до 7,9 мг×экв./100 г почвы.

В микробиоморфном составе горизонта RJ3aq происходит снижение количества фитолитов двудольных трав до 30%, содержание фитолитов степных злаков возрастает до 40% и тростника до 20% (см. рис. 3). Появляются обитатели озер – губки и диатомовые водоросли. Фитолиты степных злаков, тростника и диатомеи также присутствуют во всех слоях выше по профилю. Это говорит о смене гидрологических условий, связанных с динамикой уровня воды в озере и образованием берегового вала. В процессе формирования слоев стратозема дважды происходила смена тростниковых зарослей степной растительностью. Спиккулы губок и скелеты диатомей также являются показателями процесса поднятия уровня воды в озере.

В слое RJ2aq (29–37 см) супесчаный гранулометрический состав почвы сменяется на песчаный. На него приходится максимум содержания $\text{C}_{\text{орг}}$ в толще RJ. Процент натрия с магнием от суммы обменных оснований заметно снижается (см. таблицу). По микробиоморфным данным уменьшается количество фитолитов двудольных трав. В данном слое зафиксировано максимальное количество фитолитов степных злаков (см. рис. 3), что говорит о формировании его в условиях регрессии береговой линии озера.

В слое RJ1aq (23–29 см) уменьшается сумма обменных катионов за счет снижения содержания обменного кальция. Данный горизонт самый легкий в профиле по гранулометрическому составу (песок рыхлый). Его формирование происходило в условиях более высокой увлажненности, о чем говорит присутствие в микробиоморфной фракции возросшего количества фитолитов луговых злаков и появление фитолитов мхов (см. рис. 3).

Гумусовый горизонт AJaq (4–23) по гранулометрическому составу сходен с нижележащими слоями и соответственно характеризуется песчаным составом (см. рис. 2). Отмечается некоторое повышение величины суммы обменных катионов в верхней части гумусового горизонта. Среди обменных катионов преобладает кальций – 70,4% от суммы.

Минеральная часть дернины имеет супесчаный гранулометрический состав. Содержание общего органического углерода наибольшее в профиле

(см. таблицу). В почвенно-поглощающем комплексе возрастает количество обменного кальция и магния.

Во фракции микробиоморф снижается количество тростника и возрастает содержание фитолитов сухостепных трав (см. рис. 3), что говорит о снижении увлажнения при формировании горизонтов А₁А₂ и дернины почвенного профиля стратозема светлогумусового.

Заключение

Проведенные комплексные исследования стратозема светлогумусового водно-аккумулятивного, сформированного на отложениях древнего берегового вала оз. Баган, показали, что он формировался в сложных динамичных биоклиматических условиях.

Первоначально профиль почвы формировался по солонцовому типу с образованием солонца светлого. По количественным характеристикам биоморф погребенная почва условно разбивается на два слоя. В нижнем слое фиксируется до 65% фитолитов двудольных трав, около 20% мхов и 5% лесных трав и тростника. В верхнем слое горизонта происходит снижение количества двудольных трав до 40%, мхов – до 5%, а количество фитолитов степных трав увеличивается от 0 в нижнем слое до 40% к верхней границе горизонта. Затем, в связи с изменением климатических условий, приведших сначала к повышению водности р. Баган и, соответственно, оз. Баган, а затем к ее снижению, происходила трансформация озерной котловины. Одним из результатов данной трансформации является образование берегового вала озера на значительном удалении (900 м) от его современной береговой линии, что подтверждается возрастанием процентного содержания фитолитов тростника. Профиль солонца светлого был погребен под озерными отложениями береговых фаций, на которых начали формироваться молодые почвы. Происходило несколько этапов увеличения и уменьшения водности озера. Это привело к чередованию степных, луговых и тростниковых комплексов растительности в прибрежной зоне. Фитоциты стратифицированных почвенных горизонтов зафиксировали смену гидрологических режимов на исследуемой территории и обозначили некоторые биоклиматические особенности эволюции профиля исследуемой почвы.

Так как фитоциты лесных злаков и двудольных трав, появившиеся в горизонте BS₁У₂, присутствуют во всей вышезалегающей почвенной толще, можно предположить, что лесные колки на данной территории появились одновременно с формированием солонцового горизонта, до погребения его под озерными отложениями береговых фаций.

Литература

1. Шраг В.И. Пойменные почвы, их мелиорация и сельскохозяйственное использование. М. : Россельхозиздат, 1969. 268 с.

2. Казанцев В.А., Магаева Л.А., Устинов М.Т., Якутин М.В. Формирование и эволюция почв обсыхающих территорий соленых озер (на примере озера Чаны) // Сибирский экологический журнал. 2005. № 2. С. 321–339.
3. Кулижский С.П., Родикова А.В. Геохимическая дифференциация почв котловины озера Шира // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2009. № 3(7). С. 103–108.
4. Гольева А.А. Микробиоморфная память почв // Память почв: Почвы как отражение биосферно-геосферно-антропоферных взаимодействий. М. : Изд-во ЛКИ, 2008. С. 500–529.
5. Таргульян В.О., Соколов И.А. Структурный и функциональный подход к почве: почва-память и почва-момент // Математическое моделирование в экологии. М. : Наука, 1978. С. 17–33.
6. Лойко С.В., Герасько Л.И., Кулижский С.П. Группировка носителей почвенной памяти (на примере северной части ареала черневых систем) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2011. № 3(15). С. 38–49.
7. Почвы Кулундинской степи / отв. ред. Р.В. Ковалёв. Новосибирск : Наука, Сиб. отд-ние, 1967. 290 с.
8. Почвенно-климатический атлас Новосибирской области / отв. ред А.П. Сляднев. Новосибирск : Наука, Сиб. отд-ние, 1978. 122 с.
9. Угланов И.Н. Мелиорируемая толща почв и пород юга Западной Сибири. Новосибирск : Наука, Сиб. отд-ние, 1981. 193 с.
10. Шишов Л.Л., Тонконогов В.Д., Лебедева И.И., Герасимова М.И. Классификация и диагностика почв России. Смоленск : Ойкумена, 2004. 342 с.
11. Теория и практика химического анализа почв / отв. ред. Л.А. Воробьева. М. : ГЕОС, 2006. 400 с.
12. Хитров Н.Б., Понизовский А.А. Руководство по лабораторным методам исследования ионно-солевого состава нейтральных и щелочных минеральных почв. М. : ГОСНИТИ, 1990. 236 с.
13. Гольева А.А. Фитолиты и их информационная роль в изучении природных и археологических объектов. Москва ; Сыктывкар ; Элиста : Полтекс, 2001. 140 с.
14. *International Code for Phytolith Nomenclature 1.0.* // *Annals of Botany*. 2005. Vol. 96. P. 253–260.
15. Гаврилов Д.А., Гольева А.А. Микробиоморфное исследование почв со вторым гумусовым горизонтом южно-таежной подзоны Западной Сибири // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2014. № 2 (26). С. 7–24.
16. Почвы Новосибирской области / под ред. Р.В. Ковалёва. Новосибирск : Наука, Сиб. отд-ние, 1966. 422 с.

Поступила в редакцию 22.09.14 г.; повторно 03.12.14 г.; принята 21.02.2015 г.

Авторский коллектив:

Лада Наталья Юрьевна – м.н.с. лаборатории биогеоценологии Института почвоведения и агрохимии СО РАН (г. Новосибирск, Россия).

E-mail: covaleova.nat@yandex.ru

Смоленцев Борис Анатольевич – канд. биол. наук, зав. лабораторией географии и генезиса почв Института почвоведения и агрохимии СО РАН (г. Новосибирск, Россия).

E-mail: pedolog@ngs.ru

Lada NY, Smolentsev BA. Phytolith analysis of light-humus stratozem genesis (the case of the Bagan lakeside territory). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;1(29):16-27. doi: 10.17223/19988591/29/2. In Russian, English summary.

Natalia Y. Lada, Boris A. Smolentsev

Institute of Soil Science and Agrochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Phytolith analysis of light-humus stratozem genesis (the case of the Bagan lakeside territory)

The purpose of our work was to define the evolution of soil lakeside area on the basis of archive paleolandscape information associated with the formation of light-humus stratozem. We carried out the studies in the North Kulunda lacustrine-alluvial plain located in the southern part of the West Siberian lowland within the Ob-Irtysh interfluvium. We defined the conditions of light-humus stratozem forming under water regime changing of Lake Bagan, using microbiomorph analysis data by the method of A Golyeva. Microbiomorph analysis means studying microresidues of biota leaving its traces in stratozem layers. Microbiomorphs include diatom residues and small crawfish and plant shells. Silicated plant residues, i.e. phytoliths, are deposited in soil and reflect conditions of their forming. Plants of specific ecological groups form their phytolith complexes and differ in shape and size.

According to the field researches of soil profile morphological features, light-humus stratozem has complex profile composition and looks like interchange of horizons and layers formed after fresh material adding and depositing on the buried profile of light saline soil. Physical and chemical stratozem analysis data show accumulative character of total carbon distribution with maximum accumulation in sod cover where carbon amount is 3.5% with its gradual decreasing to 0.3%. Medium reaction changes from neutral ($\text{pH}_{\text{water}}=6.6$) in the upper layers to alkaline one ($\text{pH}_{\text{water}}=8.5$) in the accumulative-carbonate horizon. The upper layer of RJ1 stratified horizon has weak-acid medium reaction ($\text{pH}_{\text{water}}=6.2$). In granulometric composition soil profile is of binomial structure that is referred to specific synlithogenic stage of its forming. The profile upper part corresponding to alluvium (0-45 cm) is sandy and sandy-loam. The lower part (below 45 cm) is just buried soil of loamy and heavy loamy granulometric composition.

Taking into account the research results, we can conclude that water-accumulative light-humus stratozem was formed under complicated dynamic conditions. After flood forming period some stage changes occur with lake water table ebb and flow and steppe and reed complexes form.

Acknowledgments: This work was partially supported by International Project № 220 «BIO-GEO-KLIM».

The article contains 3 Figures, 1 Table, 16 References.

Key words: phytoliths; stratozem; microbiomorph analysis; sponge spicules.

References

1. Shrag VI. Poymennye pochvy, ikh melioratsiya i sel'skokhozyaystvennoe ispol'zovanie [Floodplain soils, their melioration and agricultural use]. Moscow: Rossel'khozizdat Publ.; 1969. 268 p. In Russian
2. Kazantsev VA, Magaeva LA, Ustinov MT, Yakutin MV. Formation and evolution of soils of drying territories of salted lakes (on the example of the Lake Chany). *Sibirskiy Ekologicheskiy Zhurnal – Siberian Journal of Ecology*. 2005;2:321-339. In Russian
3. Kulizhsky SP, Rodikova AV. Geochemical differentiation of soils of the hollow of Lake Shira. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2009;3(7):103-108. In Russian, English summary

4. Golyeva AA. Mikrobiomorfnaia pamyat' pochv [Microbiomorphonic soil memory]. In: *Pamyat' pochv: pochvy kak otrazhenie biosferno-geosferno-antroposfernykh vzaimodeystviy* [Soil memory: Soils as a reflection of biosphere-geosphere-antroposphere Interactions]. Targulian VO, Goryachkin SV, editors. Moscow: LKI Publ.; 2008. p. 314-351. In Russian
5. Targul'yan VO, Sokolov IA. Strukturnyy i funktsional'nyy podhod k pochve: pochva-pamyat' i pochva-moment [Structural and functional approaches to the soil: soil-memory and soil-moment]. In: *Matematicheskoe modelirovanie v ekologii* [Mathematical modeling in ecology]. Moscow: Nauka Publ.; 1978. p. 17-33. In Russian
6. Loyko SV, Gerasko LI, Kulizhsky SP. Grouping the carriers of soil memory (the case of the northern area of chernovaya taiga). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2011;3(15):38-49. In Russian, English summary
7. Pochvy Kulundinskoy stepi [Soils of the Kulunda steppe]. Kovalev RV, editor. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1967. 290 p. In Russian
8. Pochvenno-klimaticheskii atlas Novosibirskoy oblasti [Soil and climatic atlas of Novosibirsk oblast]. Slyadnev AP, editor. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1978. 122 p. In Russian
9. Uglanov IN. Melioriruemaya tolshcha pochv i porod yuga Zapadnoy Sibiri [Reclaimed stratum of soils and rocks in the south of Western Siberia]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1981. 193 p. In Russian
10. Shishov LL, Tonkonogov VD, Lebedeva II, Gerasimova MI. Klassifikatsiya i diagnostika pochv Rossii [Classification and diagnostics of soils of Russia]. Smolensk: Oykumena Publ.; 2004. 342 p. In Russian
11. Teoriya i praktika khimicheskogo analiza pochv [Theory and practice of chemical analysis of soils]. Vorob'eva LA, editor. Moscow: GEOS Publ.; 2006. 400 p. In Russian
12. Rukovodstvo po laboratornym metodam issledovaniya ionno-solevogo sostava neytral'nykh i shchelochnykh mineral'nykh pochv [Guidelines for laboratory studies of ion-salt composition of neutral and alkaline mineral soils]. Khitrov NB, Ponizovskiy AA, editors. Moscow: GOSNITI Publ.; 1990. 236 p. In Russian
13. Golyeva AA. Phytoliths and their information role in natural and archeological objects. Moscow-Sykt'yvkar-Elista: Polteks Publ.; 2001. 140 p. In Russian
14. Madella M, Alexandre A, Ball T. International Code for Phytolith Nomenclature 1.0. *Annals of Botany*. 2005;96:253-260. doi: [10.1093/aob/mci172#sthash.AbP509Tn.dpuf](https://doi.org/10.1093/aob/mci172#sthash.AbP509Tn.dpuf)
15. Gavrillov DA, Golyeva AA. Microbiomorphonic research of soils with the second humus horizon of the West Siberian southern taiga subzone (Russia). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2014;2(26):7-22. In Russian, English summary
16. Pochvy Novosibirskoy oblasti [Soils of Novosibirsk Oblast]. Kovalev RV, editor. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1966. 422 p. In Russian

Received 22 September 2014;

Received 03 December 2014;

Revised 21 February 2015

Authors info:

Lada Natalia Y, junior researcher, Laboratory of Biogeocenology, Institute of Soil Science and Agrochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 18 Sovetskaya Str., Novosibirsk 630099, Russian Federation.

E-mail: covaleova.nat@yandex.ru

Smolentsev Boris A, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Geography and Soil Genesis, Institute of Soil Science and Agrochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 18 Sovetskaya Str., Novosibirsk 630099, Russian Federation.

E-mail: pedolog@ngs.ru

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 579.861.2

doi: 10.17223/19988591/29/3

Д.В. Ерошенко, В.П. Коробов

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия

Сравнительный анализ формирования и разрушения биопленок PIA-отрицательных бактерий *Staphylococcus epidermidis* под действием гидролитических факторов

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Пермского края по реализации научных проектов международными исследовательскими группами ученых по соглашению № С-26/632 и РФФИ (грант № 14-04-00687)

Проведен сравнительный анализ действия гидролитических ферментов и периодата натрия на различные этапы колонизации поверхности полистирола бактериями *Staphylococcus epidermidis*, обладающими PIA-отрицательным фенотипом. Установлено, что адгезия и образование биопленок всех изученных штаммов ингибируются трипсином (15–52% от контроля), лизоцимом (35–65%), ДНКазой (18–70%) и периодатом натрия (17–55%), за исключением процесса формирования биопленок штаммом *S. epidermidis* ATCC 29887 в присутствии ДНКазы. Внесение в инкубационные среды препаратов ДНК не оказывало значительного влияния ни на сорбцию бактериальных клеток, ни на последующее формирование биопленок всеми использованными в работе бактериальными штаммами. Суточные биопленки изученных штаммов стафилококков обладали устойчивостью к лизоциму и окислительному действию периодата натрия. Одновременно с этим биопленки штамма *S. epidermidis* ATCC 29887 разрушались после обработки трипсином (56±8%) и ДНКазой (63±16%), а биопленки штамма *S. epidermidis* GISK 33 – под действием РНКазы (70±11%). Установлено, что внесение РНКазы одновременно с инокулумом повышало адгезию *S. epidermidis* ATCC 12228 (143±32%), но подавляло образование биопленок *S. epidermidis* ATCC 29887 (63±24%). Проведенные исследования свидетельствуют о том, что чувствительность сформированных биопленок исследованных штаммов стафилококков к литическому действию факторов внешней среды не всегда коррелирует с их влиянием на процессы прикрепления бактериальных клеток к поверхностям и последующего образования на них биопленок. В то время как последние два процесса имеют прямую зависимость друг от друга.

Ключевые слова: *Staphylococcus epidermidis*; адгезия; биопленки; трипсин; лизоцим; ДНКазы.

Введение

Бактерии вида *Staphylococcus epidermidis* являются частью нормальной микрофлоры кожи и слизистых человека и животных [1]. Обладая выражен-

ной способностью к образованию биопленок на поверхностях различных материалов, в том числе на поверхностях полимерных и металлических медицинских устройств, бактерии *S. epidermidis* составляют около 80% штаммов, участвующих в биоматериал-ассоциированных инфекциях [2].

В естественной среде практически все бактерии существуют в виде биопленок – сообществ бактериальных клеток, необратимо прикрепленных к биотическим и абиотическим поверхностям и заключенных в сложный экзополимерный матрикс, преимущественно содержащий полисахаридные и белковые компоненты, а также нуклеиновые кислоты [3].

Известно, что процесс образования биопленок включает в себя две основные фазы: первичную адгезию бактерий к поверхности и формирование многослойных клеточных кластеров, обусловленных продукцией особых соединений, формирующих межклеточный матрикс. Активными участниками этих процессов являются разнообразные поверхностно-ассоциированные структуры, в том числе белковые молекулы и полисахариды [3]. Не последнюю роль во взаимодействии бактерий с поверхностью играет внеклеточная ДНК (экзДНК) [4, 5]. Однако конкретный вклад данных структур на каждом определенном этапе развития биопленок изучен недостаточно.

Таким образом, целью настоящего исследования было изучение влияния литических факторов, способных избирательно действовать на компоненты бактериальных клеток, на адгезию, образование и разрушение биопленок бактерий *Staphylococcus epidermidis*.

Материалы и методики исследования

В качестве объектов исследования использовали штаммы бактерий вида *Staphylococcus epidermidis*: *S. epidermidis* GISK 33 (Государственная коллекция патогенных микроорганизмов «Научного центра экспертизы средств медицинского применения» МЗ России, Москва), *S. epidermidis* ATCC 12228 и *S. epidermidis* ATCC 29887. Бактерии выращивали на жидкой питательной среде Luria–Bertani (LB), культивируя при 37°C и 160 об/мин до достижения культурами логарифмической фазы роста, осаждали (12 000×g, 5 мин), осадки дважды промывали 0,14 М NaCl и ресуспендировали в среде LB, содержащей лизоцим (10 мг/мл, «Sigma», США), трипсин (100 мкг/мл, «ICN Biomedicals Inc.», США), ДНКазу I типа (100 мкг/мл, «Биолот», Россия), ДНК из селезенки крупного рогатого скота (5 мкг/мл, «Олайнский завод химреактивов», Латвия), РНКазу (100 мкг/мл, «Биолот», Россия) или NaIO₄ (10 мМ, «Sigma», США) до концентрации 10⁷ КОЕ/мл, и проводили оценку адгезивных и биопленкообразующих свойств бактерий. В контрольных экспериментах и в опытах по действию факторов среды на суточные биопленки использовали суспензии бактерий с той же концентрацией в среде LB без добавления ферментов.

Адгезивные свойства бактерий оценивали по способности сорбироваться на поверхности полистирола (чашки Петри, 40 мм, «Медполимер», Россия)

во время инкубации при 37°C в течение 30 мин [6]. Количество связавшихся с поверхностью бактерий оценивали прямым подсчетом клеток в поле зрения после окрашивания их раствором кристаллического фиолетового (0,1%). Подсчет адгезированных клеток проводили на микровизоре «μViso-103» («ЛОМО», Россия) не менее чем в 10 полях зрения при увеличении $\times 2\,500$.

Биопленкообразующую способность бактерий *S. epidermidis* определяли методом выращивания в ячейках 96-луночного плоскодонного полистиролового планшета («Медполимер», Россия) [7]. В лунки вносили по 200 мкл бактериальной суспензии (10^7 КОЕ/мл) в среде LB, содержащей фермент или соответствующий буферный раствор в указанных выше концентрациях, инкубировали при 37°C в течение 24 ч, после чего планктонную культуру отделяли аспирацией, лунки планшета с биопленками трижды промывали 10 mM натрий-фосфатным буфером (ФБ, pH = 7,2), высушивали и окрашивали 0,1% раствором кристаллического фиолетового в течение 20 мин, излишки красителя удаляли двукратной промывкой дистиллированной водой, а связавшийся краситель экстрагировали этанолом (96%) в течение 30 мин. Биомассу пленок оценивали по оптической плотности полученных экстрактов при 570 нм на планшетном спектрофотометре «Benchmark Plus» («Biorad», США).

Литическое действие ферментов и периодата натрия изучали на суточных биопленках, выращенных в среде LB согласно описанному выше методу [7]. После троекратной промывки пленок 10 mM ФБ (pH = 7,2) в каждую лунку вносили 100 мкл раствора исследуемого вещества в указанной выше концентрации и инкубировали при 37°C в течение 2 ч. В контрольные образцы вносили 0,14 M NaCl или буферный раствор. После действия литических факторов биомассу пленок оценивали по связыванию кристаллического фиолетового.

Тестирование бактерий *S. epidermidis* на способность к секреции полисахаридного межклеточного адгезина (PIA) проводили, выращивая их на агаризованной среде LB с добавлением 0,5% глюкозы и 0,08% красителя Конго красный [8]. Результаты оценивали после инкубации при 37°C в течение 24 ч.

Статистическая обработка полученных экспериментальных данных и построение графиков проведены с использованием программы «Prism 6» («GraphPad», США). Полученные данные представлены в виде средних арифметических с 95% доверительным интервалом.

Результаты исследования и обсуждение

Результаты сравнительного изучения образования биопленок и чувствительности уже сформированных на поверхности полистирола суточных биопленок в присутствии ферментов, расщепляющих белки (трипсин), нуклеиновые кислоты (ДНКазы и РНКазы) и клеточные стенки бактерий (лизозим), и периодата натрия, окисляющего α -гликольные группировки углеводов,

показали, что лизоцим и периодат натрия при внесении в среду одновременно с бактериями отрицательно влияют как на процессы адгезии, так и на формирование биопленок всеми исследованными в работе штаммами (рис. 1). Высокая чувствительность первых этапов формирования биопленок к действию лизоцима и периодата натрия, скорее всего, связана со способностью этих соединений разрушать пептидогликан в составе клеточной стенки бактерий.

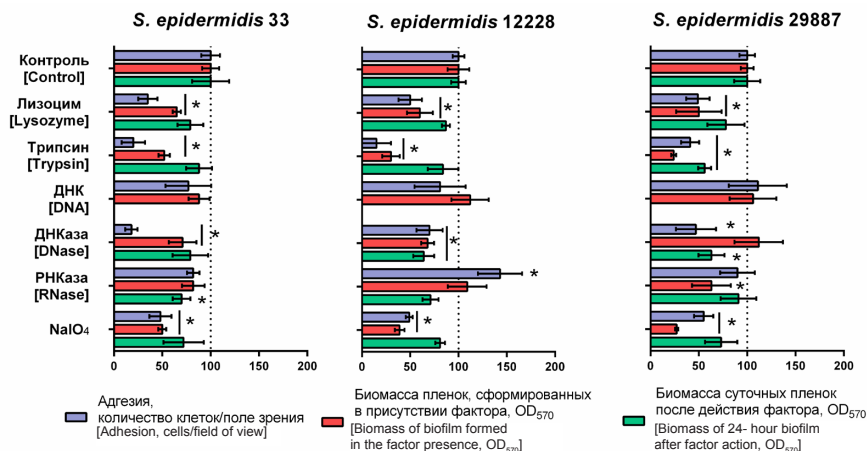


Рис. 1. Действие ферментов, препаратов ДНК и периодата натрия на адгезию бактериальных клеток, образование и разрушение биопленок бактерий *Staphylococcus epidermidis*. Данные представлены в виде средних арифметических с доверительными интервалами (ось абсцисс – отношение величин к контролю, %). * $p < 0,05$

[Fig. 1. The effect of enzymes, DNA, and sodium periodate on the adhesion, formation and destruction of *Staphylococcus epidermidis* biofilm. Data are presented as arithmetic means with confidence intervals (the abscissa axis - ratio to control, %). * $p < 0.05$]

Вместе с тем необходимо отметить, что суточные биопленки всех изученных нами штаммов обладали устойчивостью к лизоциму и окислительному действию периодата натрия. Вероятно, это связано с отсутствием в матриксе полисахаридного межклеточного адгезина, который представляет собой полимер N-ацетилглюкозамина [9] и является мишенью действия данных гидролитических факторов [10].

Действительно, отсутствие способности к синтезу PIA у исследованных стафилококков было подтверждено с помощью тестирования с использованием агара с индикатором Конго красный. Бактерии этих штаммов при выращивании на данной среде формируют красные колонии (рис. 2), что свидетельствует о PIA-негативном фенотипе [8]. В таком случае, согласно литературным данным, основным компонентом матрикса биопленок стафилококков чаще всего являются белковые соединения [11].

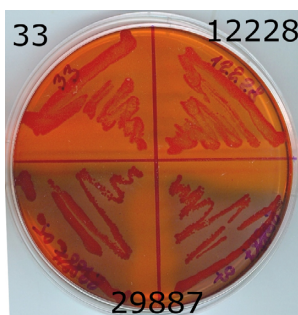


Рис. 2. Детекция полисахаридного межклеточного адгезина (PIA) на плотной среде с красителем Конго красный при росте бактерий *Staphylococcus epidermidis* 33, *Staphylococcus epidermidis* 12228 и *Staphylococcus epidermidis* 29887. Красная окраска колоний – отрицательный результат (фото Д.В. Ерошенко)

[**Fig. 2.** Detection of polysaccharide intercellular adhesin (PIA) on Congo red agar during the growth of *Staphylococcus epidermidis* 33, *Staphylococcus epidermidis* 12228, and *Staphylococcus epidermidis* 29887. The red color of the colonies is a negative result (Photo - DV Eroshenko)]

Считается, что из-за преобладания белковых компонентов в составе матрикса биопленок, образованных PIA-отрицательными стафилококками, они характеризуются высокой чувствительностью к трипсину [11]. Действительно, проведенные нами эксперименты показали, что внесение трипсина вызывало не только разрушение сформированных биопленок (*S. epidermidis* 29887), но и при одновременном внесении с инокулумом снижало как количество сорбированных клеток на 59–85%, так и биомассу формирующихся пленок на 48–76% для всех тестируемых штаммов (см. рис. 1). Поскольку трипсин в использованной концентрации не оказывал бактерицидного действия на бактерии, можно предполагать, что в его присутствии происходит гидролиз определенных белков, необходимых для колонизации поверхности и образования биопленки, а также для удержания клеточных агломератов в составе сформированных пленок.

Согласно литературным данным, внеклеточная ДНК является важным компонентом матрикса биопленок *S. epidermidis* [4, 5]. Отмечается, что ингибирование процесса образования биопленок проявляется в большей степени при добавлении фермента ДНКазы одновременно с инокулятом [5]. Действительно, нами обнаружено, что суточные биопленки двух из трех исследованных штаммов обладали чувствительностью к литическому действию ДНКазы. Одновременно с этим наши эксперименты показали, что внесение ДНКазы подавляет формирование биопленок на 32–39% у штаммов *S. epidermidis* 33 и 12228. Исключение составлял штамм *S. epidermidis* 29887, биопленки которого в присутствии ДНКазы обладали биомассой, соответствующей контролю. Кроме того, показано, что внесение ДНКазы приводит к снижению адгезии

бактерий к поверхности на 30–82% для всех трех штаммов (см. рис. 1). Считается, что ключевая роль экзДНК на первых этапах развития биопленки, по-видимому, связана с увеличением интенсивности кислотно-основных взаимодействий как между клетками и поверхностью, так и непосредственно между бактериальными клетками [5]. В то же время нами показано, что дополнительное внесение чужеродной ДНК не оказывало значительного эффекта ни на сорбцию бактериальных клеток, ни на последующее формирование биопленок для всех исследованных в работе штаммов (см. рис. 1).

Интересно отметить, что все исследованные бактериальные штаммы проявили различную чувствительность к действию РНКазы (см. рис. 1). В связи с тем, что в литературе практически нет данных о стимулирующем или ингибирующем действии РНКазы на процессы образования биопленок стафилококков [5] и РНК не считается основным компонентом матрикса биопленок, можно предположить, что обнаруженные эффекты в первую очередь связаны с разрушением мРНК или тРНК, которые участвуют в процессах синтеза белка.

Заключение

В связи с широким распространением гидролитических ферментов, в частности протеаз, в препаратах бытовой химии исследование влияния этих соединений на представителей нормальной микрофлоры человека, к которым относятся бактерии *S. epidermidis*, несет несомненную практическую пользу. Кроме того, данные о способности гидролаз угнетать образование биопленок стафилококков могут быть использованы в рамках такого развивающегося направления медицины, как системная энзимотерапия. Анализ полученных данных позволяет сделать вывод о том, что снижение количества сорбированных клеток под действием гидролаз хорошо согласуется с торможением процесса формирования биопленок в целом. Одновременно с этим в процессе развития биопленок стафилококков соотношение компонентов в матриксе, вероятнее всего, претерпевает существенные изменения, что приводит к изменению чувствительности биопленок к гидролитическим ферментам по сравнению с действием энзимов на первые этапы развития этих особых бактериальных сообществ.

Литература

1. Дерябин Д.Г. Стафилококки: экология и патогенность. Екатеринбург : УрО РАН, 2000. 239 с.
2. Götz F. Staphylococcus and biofilms // Molecular Microbiology. 2002. Vol. 43, № 6. P. 1367–1378.
3. O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development // Annual review of microbiology. 2000. Vol. 54. P. 49–79.
4. Izano E.A., Amarante M.A., Kher W.B., Kaplan J.B. Differential roles of poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide and extracellular DNA in *Staphylococcus aureus*

- and *Staphylococcus epidermidis* biofilms // Applied and environmental microbiology. 2008. Vol. 74, № 2. P. 470–476.
5. Qin Z., Ou Y., Yang L., Zhu Y., Tolker-Nielsen T., Molin S., Qu D. Role of autolysin-mediated DNA release in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* // Microbiology. 2007. Vol. 153. P. 2083–2092.
 6. Ерошенко Д.В., Лемкина Л.М., Коробов В.П. Адгезия бактерий *Staphylococcus epidermidis* 33 при действии некоторых физико-химических факторов среды // Вестник Пермского университета. Биология. 2012. Вып. 1. С. 29–33.
 7. Stepanović S., Vuković D., Hala V., Di Bonaventura G., Djukić S., Cirković I., Ruzicka F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci // Acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica. 2007. Vol. 115, № 8. P. 891–899.
 8. Freeman D.J., Falkner F.R., Keane C.T. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci // Journal of clinical pathology. 1989. Vol. 42. P. 872–874.
 9. Mack D., Davies A.P., Harris L.G., Knobloch J.K.M., Rohde H. *Staphylococcus epidermidis* biofilms: Functional molecules, relation to virulence, and vaccine potential // Topics in Current Chemistry. 2009. Vol. 288. P. 157–182.
 10. Qin Z., Yang X., Yang L., Jiang J., Ou Y., Molin S., Qu D. Formation and properties of *in vitro* biofilms of ica-negative *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates // Journal of Medical Microbiology. 2007. Vol. 56. P. 83–93.
 11. Rohde H., Burandt E.C., Siemssen N., Frommelt L., Burdelski C., Wurster S., Scherpe S., Davies A.P., Harris L.G., Horstkotte M.A., Knobloch J.K.M., Ragunath C., Kaplan J.B., Mack D. Polysaccharide intercellular adhesin or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic hip and knee joint infections // Biomaterials. 2007. Vol. 28, № 9. P. 1711–1720.

Поступила в редакцию 30.12.2014 г.; повторно 15.01.2015 г.; принята 17.02.2015 г.

Авторский коллектив:

Ерошенко Дарья Владимировна – м.н.с лаборатории биохимии развития микроорганизмов Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН (г. Пермь, Россия).

E-mail: dasha.eroshenko@gmail.com

Коробов Владимир Павлович – доцент, канд. мед. наук, зав. лабораторией биохимии развития микроорганизмов Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН (г. Пермь, Россия).

E-mail: korobov@iegsm.ru

Eroshenko DV, Korobov VP. Comparative analysis of PIA-negative *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation and destruction under hydrolytic factors. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;1(29):28-36. doi: 10.17223/19988591/29/3. In Russian, English summary

Daria V. Eroshenko, Vladimir P. Korobov

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation.

Comparative analysis of PIA-negative *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation and destruction under hydrolytic factors

The ability of Gram-positive bacteria *Staphylococcus epidermidis* to adhere to and form biofilm on various polymeric and metallic surfaces of indwelling medical devices results in the fact that now these bacteria are one of the most common causes of serious nosocomial infections. Although the adhesion is an essential part of biofilm

formation the primary contact between the bacterial cells and the solid surface do not always lead to a strong fixation of bacteria on it. Therefore, the comparison of the hydrolytic enzymes and sodium periodate influenced the bacterial adhesion (30 min) and biofilm formation (24 h), and the destruction of the already formed biofilm *S. epidermidis* occurred. According to Congo red agar assay, all tested *S. epidermidis* strains lacked the ability to produce polysaccharide intercellular adhesion and polymer of N-acetylglucosamine which promotes the biofilm formation on solid surfaces. Adhesion and biofilm formation of all studied strains were strongly inhibited by trypsin (15-52% of control), lysozyme (35-65%), DNase (18-70%) and sodium periodate (17-55%), except *S. epidermidis* ATCC 29887, the biofilm formation of which was similar to control at the DNase presence. Although the extracellular DNA plays an important role in the bacterial colonization, the addition of the cattle DNA did not affect all stages of biofilm development for all used strains. The preformed biofilm of all studied strains was resistant to the lysozyme and the sodium periodate as their biofilm matrix do not contain the PIA. At the same time, *S. epidermidis* ATCC 29887 biofilm was destroyed after treatment with trypsin (56±8%) and DNase (63±16%), and *S. epidermidis* GISK 33 biofilm - after the RNase treatment (70±11%). However, the effect of RNase differed between strains as well as between the moments of its introduction into the medium. Adding RNase simultaneously with inoculum stimulated adhesion of *S. epidermidis* ATCC 12228 (143±32 %) and inhibited biofilm formation of *S. epidermidis* ATCC 29887 (63±24 %). Our results show that the relationship between the sensitivity of mature biofilm to the treatment by hydrolytic factors such as enzymes and the influence of these factors on the biofilm formation is not linear. On the contrary, the processes of attachment of bacterial cells and subsequent biofilm formation are directly interdependent.

Acknowledgments: This work was partially supported by the Ministry of Education and Science of Perm Krai agreement № C-26/632 and RFBR grant № 14-04-00687.

The article contains 2 Figures, 11 References.

Key words: *Staphylococcus epidermidis*; adhesion; biofilm; trypsin; lysozyme; DNase.

References

1. Deryabin DG. Stafilokokki: ekologiya i patogennost' [Staphylococci: ecology and pathogenicity]. Ekaterinburg: Ural Branch of Russian Academy of Science Publ.; 2000. 239 p. In Russian
2. Götz F. *Staphylococcus* and biofilms. *Mol Microbiol.* 2002;43(6):1367-1378. doi: [10.1046/j.1365-2958.2002.02827.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02827.x)
3. O'Toole GA, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annu Rev Microbiol.* 2000;54:49-79. doi: [10.1146/annurev.micro.54.1.49](https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.49)
4. Izano EA, Amarante MA, Kher WB, Kaplan JB. Differential roles of poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide and extracellular DNA in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74(2):470-476. doi: [10.1128/AEM.02073-07](https://doi.org/10.1128/AEM.02073-07)
5. Qin Z, Ou Y, Yang L, Zhu Y, Tolker-Nielsen T, Molin S, Qu D. Role of autolysin-mediated DNA release in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. *Microbiology.* 2007;153:2083-2092. doi: [10.1099/mic.0.2007/006031-0](https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/006031-0)
6. Eroshenko DV, Lemkina LM, Korobov VP. Adhesion of bacteria *Staphylococcus epidermidis* 33 during the effects of some physicochemical environmental factors. *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya.* 2012;1:29-33. In Russian, English summary

7. Stepanović S, Vuković D, Hola V, Di Bonaventura G, Djukić S, Cirković I, Ruzicka F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*. 2007;115(8):891-899. doi: [10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x)
8. Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol*. 1989;42:872-874. doi: [10.1136/jcp.42.8.872](https://doi.org/10.1136/jcp.42.8.872)
9. Mack D, Davies AP, Harris LG, Knobloch JKM, Rohde H. *Staphylococcus epidermidis* biofilms: Functional molecules, relation to virulence, and vaccine potential. *Top Curr Chem*. 2009;288:157-182. doi: [10.1007/128_2008_19](https://doi.org/10.1007/128_2008_19)
10. Qin Z, Yang X, Yang L, Jiang J, Ou Y, Molin S, Qu D. Formation and properties of *in vitro* biofilms of ica-negative *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates. *J Med Microbiol*. 2007;56(1):83-93. doi: [10.1099/jmm.0.46799-0](https://doi.org/10.1099/jmm.0.46799-0)
11. Rohde H, Burandt EC, Siemssen N, Frommelt L, Burdelski C, Wurster S, Scherpe S, Davies AP, Harris LG, Horstkotte MA, Knobloch JK-M, Ragunath C, Kaplan JB, Mack D. Polysaccharide intercellular adhesin or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic hip and knee joint infections. *Biomaterials*. 2007;28(9):1711-1720. doi: [10.1016/j.biomaterials.2006.11.046](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.11.046)

Received 30 December 2014;

Revised 15 January 2015;

Accepted 17 February 2015

Authors info:

Eroshenko Daria V, junior researcher, Laboratory of Microorganisms' Biochemical Development, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 13 Golev Str., Perm 614081, Russian Federation.

E-mail: dasha.eroshenko@gmail.com

Korobov Vladimir P, Cand. Sci. (Biol.), Ass. Professor, Head Laboratory of Microorganisms' Biochemical Development, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 13 Golev Str., Perm 614081, Russian Federation.

E-mail: korobov@iegm.ru

УДК 579:577.112.6

doi: 10.17223/19988591/29/4

**В.М. Храмов, Т.А. Калмантаев, Г.Т. Садикова,
В.В. Перелыгин, В.Д. Похиленко**

*Государственный научный центр прикладной микробиологии
и биотехнологии, п. Оболensk, Московская обл., Россия*

Антимикробный комплекс пептидной природы *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13

Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы
«Научные исследования и разработки с целью обеспечения санитарно-
эпидемиологического благополучия и снижения инфекционной заболеваемости
в РФ (на 2011–2015 гг.)» по НИР № 045 на тему «Разработка и исследование новых
дезинфектантов, антимикробных и инсектицидных препаратов» в 2013 г.

Показаны способность штамма E. mundtii PPHS-5/13 вырабатывать бактериоцидную субстанцию, кинетика ее накопления и зависимости выхода от компонентного состава питательной среды. Найдены способ и условия выделения из культуральной жидкости бактериоцидного комплекса, определены молекулярная масса и подходы по накоплению активной фракции антимикробного пептида. Доказательствами пептидной природы бактериоцидного комплекса и его близости к бактериоцинам подкласса Па являются экспериментальные данные по его разрушению протеолитическими ферментами, выявление при помощи трицин-SDS-PAGE электрофореза индивидуальной полосы с молекулярным весом около 5–6 кДа с активностью против грамположительных бактерий. По данным MALDI-TOF антимикробный комплекс пептидной природы имеет в своем составе преимущественно вещество с молекулярной массой 5 762 Да. Проведенные исследования позволяют рассматривать штамм E. mundtii PPHS-5/13 в качестве перспективного продуцента нового антибактериального средства натурального происхождения, особенно эффективного против листерий.

Ключевые слова: *Enterococcus*; бактериоцины; BLIS; антимикробный комплекс.

Введение

Стремительный рост устойчивости микроорганизмов к антибиотикам создал ряд серьезных проблем в лечении инфекционных болезней микробной этиологии. В связи с необходимостью поиска новых лекарственных средств, в результате быстрого появления лекарственно устойчивых форм микроорганизмов, подавления иммунитета, аллергизации организма, обусловленных частым применением антибиотиков, на сегодняшний день все больше востребованы новые средства естественного происхождения с анти-

микробным действием [1, 2]. В качестве претендентов на такую роль часто рассматриваются пробиотические бактерии, бактериофаги и бактериоцины [3–6]. Если пробиотические бактерии после колонизации на слизистых действуют комплексно, продуцируя метаболиты с антимикробным действием, то бактериофаги и бактериоцины – избирательно. Считается, что бактериоцины, в отличие от вирусов бактерий, более безопасны для потребления человеком [7]. Кроме того, близкий к антибиотикам антимикробный потенциал бактериоцинов делает их весьма перспективным объектом исследований, претендующих на роль антимикробных средств естественного происхождения [8, 9].

Бактериоцины и бактериоциноподобные ингибирующие субстанции (bacteriocin-like inhibitory substances – BLIS) представляют собой низкомолекулярные пептиды, обладающие антимикробным действием [5, 8, 9]. Их могут вырабатывать не только микроорганизмы, но и растения, насекомые, а также животные [1, 10, 11]. Бактериоцины отличаются от антибиотиков по своему происхождению: если первые синтезируются на рибосомах, то вторые – без их участия при помощи специальных ферментов [7, 12]. Наиболее известными бактериоцинами с 60-летней историей применения являются низин и его стандартизованный вариант низаплин [13], выпускаемый английской компанией «Aplin&Barrett Ltd» [14, 15]. Недостаток низина – узкий спектр антимикробной активности и стабильность лишь в области кислых значений pH. В связи с этим поиск новых бактериоцинов, отвечающих требованиям потребителей и производителей, – актуальный вопрос и для нашей страны. К сожалению, изучение бактериоцинов в России ведется в недостаточной степени [16].

При поиске новых продуцентов бактериоцинов рекомендовано обращать внимание на «практически безопасные» (generally recognized as safe – GRAS) микроорганизмы [7]. Этим требованиям удовлетворяют некоторые виды энтерококков, продуцирующие более двух десятков энтероцинов бактериоцинов энтерококков [17, 18]. Наиболее привлекательными в этом плане являются негемолитичные виды *Enterococcus*: *E. faecium* и *E. mundtii*, способные вырабатывать бактериоцины класса II [17–19]. Выделенный нами штамм *E. mundtii* PPHS-5/13 способен накапливать в ферментате бактериоцидные вещества, однако его природа оставалась неизвестной.

Цель исследования – определение условий получения и выделения антимикробной субстанции, продуцируемой штаммом *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13, изучение ее природы и возможности практического использования.

Материалы и методики исследования

Материалом для исследования послужили штамм энтерококкового микроорганизма, выделенного из молока, и вырабатываемый им антимикробный комплекс веществ [20].

Штамм PPHS-5/13, идентифицированный с применением MALDI Biotyper (Bruker Daltonik GmbH), генетических 16SrDNA методов, биохимических тестов API® (BioMerieux) и морфокультуральных признаков как *Enterococcus mundtii*, был депонирован в Государственной коллекции «ГКПМОболенск» (№ В-7424). В качестве индикаторных культур для оценки антимикробной активности образцов энтероцина использовали микроорганизмы из коллекции Центра. В качестве питательных сред использовали коммерческие Nutrient Agar M001 и MRS-broth, HiMedia, (Индия), ГРМ-агар, ГРМ-бульон (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) и экспериментальные варианты.

При отработке условий глубинного культивирования штамма *E. mundtii* PPHS-5/13 опыты проводили в качалочных колбах объемом 700 мл с 200 мл питательной среды при температуре $34 \pm 2^\circ\text{C}$. Базовая среда включала (г/л): солянокислотный гидролизат казеина (5–10), дрожжевой экстракт (5–7), натрия хлорид (3–5), магния сульфат (0,3–0,5). Другие исследуемые компоненты (углеводы, фосфаты, цитраты, азид натрия) в базовую пропись вносили отдельно. Контролем являлось выращивание бактерий на MRS-бульоне – традиционной среде для глубинного культивирования большинства лактобактерий. Среды стерилизовали при 0,5 атм 30 мин. Варианты питательных сред, давшие лучшие результаты по уровню антимикробной активности в опытах на колбах, апробированы при культивировании штамма в 10 л ферментере NBS, модель 511 (США), с 6,5 л питательной среды, где дополнительно оптимизировали условия по перемешиванию, аэрации и продолжительности выращивания. Для определения бактерицидной активности пробы культуральной жидкости (КЖ) освобождали от клеток на микрофуге MiniSpin (13000 об/мин, 10 мин в «Eppendorf AG 22232», Germany) и по 10 мкл наносили на свежезасеянные газоны тест-штамма *Listeria monocytogenes* 776. Антимикробную активность количественно выражали в арбитражных единицах (AU; взяты из общепринятого английского обозначения *arbitration units*, аналогичного аббревиатуре МПК – минимальная подавляющая концентрация), отнесенных к 1 мл или 1 мг пробы. Для ее определения тестируемую жидкость разводили с двукратным шагом (1:1) в физрастворе в 512 раз (1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16...1:512) или более. Из каждого разведения отбирали по 10 мкл и наносили на питательный агар в чашке Петри, которая перед этим засеивалась тест-штаммом; инкубировали в течение ночи при 36°C . При учете антимикробной активности отмечали то максимальное разведение пробы, в котором заметна зона отсутствия роста тест-штамма. Если, например, в разведении 1:64 наблюдалась зона ингибирования индикаторного микроорганизма, то с учетом ее количества (10 мкл) активность пробы в единице объема (1 мл) составила 6400 AU.

Удельные скорости накопления бактериоцидного комплекса (q_p , ч⁻¹) рассчитывали по формуле

$$q_p = \Delta P / X \Delta t,$$

где P – концентрация антимикробных веществ (мг/мл), t – время (ч), X – биомасса (мг/мл).

Отработка метода выделения BLIS из культуральной жидкости включала выбор способа ее разделения (центрибежное, мембранное) с последующей сепарацией бесклеточной жидкости при помощи классических методов – высаливания, сорбции, на границе фаз и их модификаций со сбором преципитатов, интерфазных пленок, их отмывкой, концентрированием, оценкой активности и физико-химических свойств [20].

Первичное определение молекулярной массы образцов BLIS проводили методом трицин-SDS-PAG электрофореза в камере фирмы «Hoefler» (США) по Shagger [21]. После окраски и отмывки гелиевую пластину помещали в стерильные чашки Петри и заливали агаровой суспензией индикаторного штамма (1 мл взвеси клеток смешивали с 15 мл расплавленного и охлажденного до 45°C ГРМ-агара с добавлением 0,5% дрожжевого экстракта). После инкубации чашек в термостате (37°C) в течение 18–20 ч отмечали наличие и расположение зоны подавления роста тест-культуры на агаре с привязкой к белковым маркерам молекулярных весов PageRuler™ или Spectra™ Multicolor.

Хроматографический анализ образцов BLIS проводили методом гель-фильтрации с помощью жидкостного хроматографа Acta Purifier 10 (GE HealthCare, США) на колонке для ВЭЖХ Luna 5u C18(2) 100A 250×4,6 mm (Phenomenex) с обработкой полученных данных по программе UNICORN 5.31 (Швеция).

Определение молекулярного веса пептида *E. mundtii* PPHS-5/13 проводили на основе данных исследований лазерной десорбции и ионизации из матрицы времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF, Bruker Daltonics, Германия) по протоколу для анализа белков [22].

Антимикробная активность BLIS в натуральных условиях испытывалась на тушках охлажденных коммерческих бройлеров. Для этого снятую кожу растягивали по поверхности стерильной марли в лотке и с помощью стального пробойника из нее нарезами кружки площадью около 4,5 см², которые вкладывали в чашки Петри диаметром 35 мм внешней стороной наружу и по 100 мкл инфицировали смесью листерий и сальмонелл в концентрации $2,5 \times 10^8$ клеток/мл каждого вида. На контрольные образцы кожи в таком же количестве наносили стерильный 0,9% раствор NaCl (физраствор). После 30 мин экспозиции при комнатной температуре инфицированные поверхности кож орошали жидким BLIS PPHS-5/13 (100 мкл/пробу), чашки с пробями закрывали крышками и на 45 мин помещали в холодильник (4°C). Затем все образцы кожи (опытные и контрольные) промывали стерильным физраствором (по 3 мл). Из накопившейся жидкости отбирали и высевали на питательный агар пробы для оценки в них общего микробного числа, которое определяли по количеству выросших колоний.

Количественную оценку результатов экспериментов представляли после их обработки с помощью программы MS Excell.

Результаты исследования и обсуждение

Для накопления практически значимых количеств бактериоцидного комплекса в культуральной жидкости (КЖ) при глубинном культивировании продуцента требовалось определить состав питательной среды и подобрать температурно-временные параметры выращивания штамма в опытах на колбах и затем в ферментере.

В результате выполненных исследований установлено, что антимикробная активность бесклеточного супернатанта, обусловленная накоплением бактериоцидного комплекса при глубинном культивировании штамма *E. mundtii* PPHS-5/13, зависела от компонентного состава питательных сред (табл. 1).

Таблица 1 [Table 1]

Антимикробная активность образцов бесклеточного супернатанта культуральной жидкости штамма *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 при нейтральном значении pH в зависимости от компонентного состава питательных сред
[Antimicrobial activity of *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 cell-free cultural supernatant samples at neutral pH depending on the component composition of nutrient media]

Среда (№) [Medium]	1	2	3	4	5	6
Состав, г/л [Composition, g/L]	HC (5), YE (5), NaCl (5), MgSO ₄ (0,3)	HC (6), YE (6), NaCl (4), MgSO ₄ (0,3)	HC (7), YE (7), NaCl (3), MgSO ₄ (0,3)	HC (8), YE (7), NaCl (3), MgSO ₄ (0,3)	HC (9), YE (7), NaCl (3), MgSO ₄ (0,3)	HC (10), YE (7), NaCl (3), MgSO ₄ (0,3)
AA, AU/ml	400	400–800	800	800–1 600	1 600–3 200	1 600–3 200
Среда (№) [Medium]	7	8	9	10	11	12
Состав, г/л [Composition, g/L]	HC (10), YE (6), NaCl (4), MgSO ₄ (0,3)	HC (10), YE (5), NaCl (5), MgSO ₄ (0,3)	HC (10), YE (5), NaCl (5), MgSO ₄ (0,5)	HC (9), YE (5), NaCl (5), MgSO ₄ (0,5)	HC (9), YE (5), NaCl (5), MgSO ₄ (0,5), Gly (1)	HC (9), YE (5), NaCl (5), MgSO ₄ (0,5), SA (1)
AA, AU/ml	1 600–3 200	1 600–3 200	1 600–3 200	1 600–3 200	3 200–6 400	1 600–3 200
Среда (№) [Medium]	13	14	15	16	17	18
Состав, г/л [Composition, g/L]	GK (9), YE (5), NaCl (5), MgSO ₄ (0,5), SA (3)	GK (9), YE (5), NaCl (5), MgSO ₄ (0,5), Gly (1), K ₂ HPO ₄ (3)	GK (9), YE (5), NaCl (5), MgSO ₄ (0,5), SC (1)	GK (9), YE (5), NaCl (5), MgSO ₄ (0,5), SC (3)	GK (9), YE (5), NaCl (5), MgSO ₄ (0,5), SC (1), K ₂ HPO ₄ (3)	MRS-broth 100% (55)
AA, AU/ml	1 600	3 200–6 400	3 200	3 200	3 200–6 400	3 200

Окончание табл. 1 [Table 1 (end)]

Среда (№) [Medium]	19	20	21	22	23	24
Среда (№) [Medium]	1	2	3	4	5	6
Состав, г/л [Composition, g/L]	MRS-broth 50% (27,5)	MRS-broth 10% (5,5)	GK (9), YE (5), NaCl (3), MgSO ₄ (0,5), L (10)	GK (9), YE (5), NaCl (3), MgSO ₄ (0,5), L (10), K ₂ HPO ₄ (3)	GK (9), YE (5), NaCl (3), MgSO ₄ (0,5), L (20), K ₂ HPO ₄ (3)	GK (9), YE (5), NaCl (3), MgSO ₄ (0,5), S (10)
AA, AU/ml	3 200	1 600–3 200	6 400–12 800	6 400–12 800	12 800	12 800
Среда (№) [Medium]	25	26	27	28	29	30
Состав, г/л [Composition, g/L]	GK (9), YE (5), NaCl (3), MgSO ₄ (0,5), S (10), K ₂ HPO ₄ (3)	GK (9), YE (5), NaCl (3), MgSO ₄ (0,5), S (20), K ₂ HPO ₄ (3)	GK (9), YE (5), NaCl (3), MgSO ₄ (0,5), S (20), SA (1), K ₂ HPO ₄ (3)	MRS-broth 10% (5,5) + SA (1)	MRS-broth 10% (5,5) + SC (1)	MRS-broth 10% (5,5) + Gli (1)
AA, AU/ml	12 800	12 800–25 600	12 800	1 600–3 200	3 200–6 400	3 200

Примечание. GK – гидролизат казеина, YE – дрожжевой экстракт, L – лактоза, S – сахароза, Gly – глицерин, SA – азид натрия, SC – цитрат натрия, MRS-broth – MRS-бульон (контрольная среда). AA – антимикробная активность против тест-штамма *Listeria monocytogenes* 776 в арбитражных единицах.

[Note (the columns of the table display the numbers, the composition of the nutrient medium (g/L) and the values of antimicrobial activity of the samples of the cultural liquid, which were obtained in these media)]: GK - hydrolyzed casein, YE - yeast extract, L - lactose, S - sucrose, Gly - glycerol, SA - sodium azide, SC - sodium citrate, MRS-broth - control medium. AA - antimicrobial activity against the test strain of *Listeria monocytogenes* 776 in arbitration units (AU) per ml of the sample].

Лучшие результаты получены в среде № 26: BLIS, выделенная из супернатанта данной среды, в 4–8 раз активнее, чем полученная при выращивании продуцента в контрольном MRS-бульоне. Цитрат и азид натрия обеспечивали лишь функции селективных добавок, фосфаты в первую треть периода культивирования препятствовали падению pH ниже 5 единиц, а глицерин как источник углерода существенно хуже, чем лактоза и сахароза.

Максимальный выход BLIS PPHS-5/13 наблюдался у 12-часовой культуры при переходе микроорганизмов в стационарную фазу роста (рис. 1). Далее с продолжением времени культивирования до 24 ч накопление BLIS постепенно падает, что связано с исчерпанием в среде питательных веществ и увеличением концентрации кислых продуктов. Дальнейшему росту активности КЖ способствовало pH-стагирование ($6,0 \pm 0,5$) в сочетании с ведением процесса инкубации при температуре $33 \pm 1^\circ\text{C}$ (табл. 2).

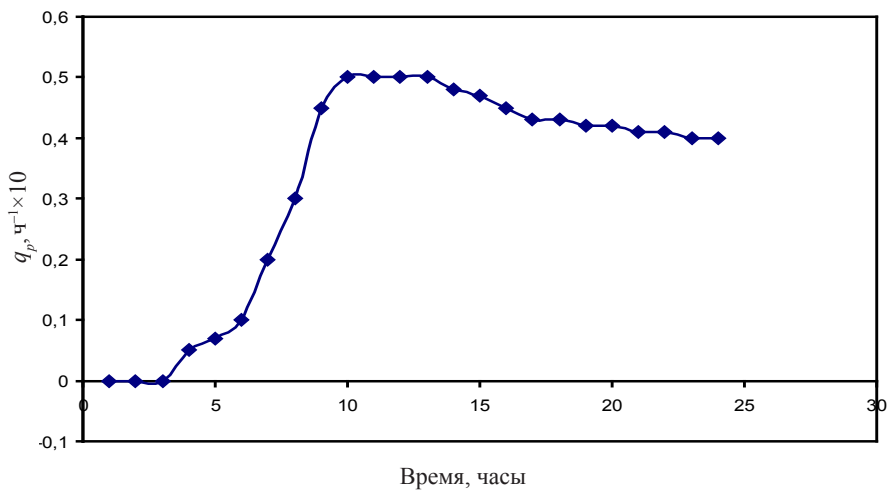


Рис. 1. Удельные скорости накопления антимикробного комплекса *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13

[Fig. 1. Specific accumulation rate of antimicrobial complex *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 (on the ordinate axis - rate of accumulation, $q_p, h^{-1} \times 10$; on the abscissa axis - time of cultivation, hours)]

Таблица 2 [Table 2]

Антимикробная активность (АА) образцов бесклеточного супернатанта культуральной жидкости *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 в зависимости от температуры, pH и продолжительности выращивания штамма [Antimicrobial activity (AA) of *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 cell-free supernatant cultural liquid samples depending on temperature, pH and duration of the growing strain]

Условия роста (температура, pH, время) [Growth conditions (temperature, pH, time)]	30±0,5°C; pH 7,0...4,3; в течение 12 ч [within 12 h]	30±0,5°C; pH 7,0...4,1; в течение 24 ч [within 24 h]	30±0,5°C; pH 5,8...6,2; в течение 12 ч [within 12 h]	30±0,5°C; pH (5,8...6,2); в течение 24 ч [within 24 h]
АА, АУ/мл	6 400	6 400	6 400–12 800	6 400
Условия роста (температура, pH, время) [Growth conditions (temperature, pH, time)]	33±1°C; pH 7,0...4,2; в течение 12 ч [within 12 h]	33±1°C; pH 7,0...3,9; в течение 24 ч [within 24 h]	33±1°C; pH (6,0±0,2); в течение 12 ч [within 12 h]	33±1°C; pH (6,0±0,2); в течение 24 ч [within 24 h]
АА, АУ/мл	12 800	12 800	12 800–25 600	12 800

Окончание табл. 2 [Table 2 (end)]

Условия роста (температура, рН, время) [Growth conditions (temperature, pH, time)]	37±1°C; рН = 7,0...4,0; в течение 12 ч [within 12 h]	37±1°C; рН = 7,0...3,9; в течение 24 ч [within 24 h]	37±1°C; рН (6,0±0,2); в течение 12 ч [within 12 h]	37±1°C; рН (6,0±0,2); в течение 24 ч [within 24 h]
AA, AU/ml	12 800	6 400–12 800	12 800	6 400–12 800

Примечание. AU/мл – арбитражные единицы антимикробной активности образцов на миллилитр пробы против тест-штамма *Listeria monocytogenes* 776.

[Note. AU/ml - arbitrary units of antimicrobial activity of samples per milliliter against the test strain of *Listeria monocytogenes* 776].

В условиях улучшенной массопередачи ферментера накопление бактериоцидной субстанции клетками штамма PPHS-5/13 в процессе их глубинного культивирования становилось еще более стабильным (табл. 3).

Таблица 3 [Table 3]

**Параметры культивирования штамма *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13
в 10 л ферментера и показатели бесклеточной жидкости
[Cultivation parameters of the strain *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13
in 10-L fermenter and indicators of cell-free liquid]**

Время роста, ч [Growth time, h]	Темпера- тура, °C [Tempera- ture, °C]	Поддержа- ние рН* [pH* support]	Перемешива- ние, об/мин [Mixing, r/ min]	Аэрация, л/мин [Aeration, L/min]	Достигаемые выходы [Achieved outputs]	
					OD (550 nm)	AA КЖ [AA CL]
11,0±1,5	33,0±1,0	6,0±0,5	220–450	3±1	2,8±0,6	12 800–25 600

Примечание. * – при помощи 20% КОН; OD – оптическая плотность культуральной жидкости; AA КЖ – антимикробная активность в отношении *Listeria monocytogenes* шт. 776, в арбитражных единицах (AU/мл).

[Note. The columns of the table contain data about the values of monitored parameters. * the adjustment of pH was carried out using 20% KOH solution; OD - the optical density of the cultural liquid; AA CL - antimicrobial activity against *Listeria monocytogenes* 776 in arbitrary units (AU/ml)].

В дальнейшем требовалось отработать способ извлечения BLIS из КЖ. Для этого КЖ освобождают от клеток (центрифуга «Beckmann», 8 000 об/мин, 5°C, 45 мин) и упаривают в 6–10 раз на роторном вакуумном испарителе (Heidolph, модель Laborota 4000, Германия, при 60°C), чтобы снизить объем перерабатываемой жидкости. Применение мембранной технологии оказалось неприемлемым из-за существенной потери антимикробной активности фильтрата, обусловленной налипанием BLIS на полые волокна фильтрационного патрона. Далее концентрат супернатанта при отсутствии возможности его переработки в день получения замораживают и хранят при температуре не выше (–12)°C либо распылительно высушивают на установке Mini Spray Dryer Buchi B-190 (Швейцария) при следующих параметрах: тем-

пература входа/выхода – 130°C/90°C, подача жидкости – около 17 мл/мин. Получаемый сухой порошок с остаточной влажностью не более 6% и антимикробной активностью от 400 до 1000 AU/мл может быть использован непосредственно для приготовления кормовых добавок для животных, лечебных деконтаминирующих растворов, либо как сырьё для отработки способа выделения BLIS, ее очистки и определения свойств.

Отработка способа выделения и очистки BLIS проводилась как из бесклеточной жидкости, так и регидратированного порошка с использованием приемов высаливания, сорбции и межфазного разделения.

При использовании метода солевой преципитации в отмеренный объем бесклеточного супернатанта (нативного/замороженного-оттаянного/регидратированного) дробно с перемешиванием вводили навеску сульфата аммония до концентрации 60%, выставляли на холод (4...7°C) и далее центрифугировали (25 000 G, 20 мин, при 5°C). Надосадочную жидкость удаляли, к осадку добавляли 50–100 мл воды до полного растворения осадка; полученный раствор диализовали (мешок H1, размер пор 3,5 кДа) против дистиллированной воды в течение суток. Установлено, что выход по отношению к суммарному расчетному количеству бактериоцина составил до 30%, а по времени процесс выделения занимал около 2 сут (табл. 4).

Таблица 4 [Table 4]

**Показатели образцов BLIS *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13
в зависимости от способа обработки супернатанта
[The indicators of samples BLIS *Enterococcus mundtii*
PPHS-5/13 depending on a supernatant treatment method]**

Способы и средства выделения [Methods and means of excretion]		Выход [Output], AU/ml	Затраты по времени [Time costs]
Высаливание [Salting-out]	(NH ₄) ₂ SO ₄	51 200±7 400	Около 2 суток [About 2 days]
Сорбция на твердых носителях [Adsorption on solid media]	Силикагель 100/250 [Silica gel 100/250]	51 200±4 500	Около суток [About 1 day]
	Al ₂ O ₃	12 800±3 700	То же [The same]
	Аэросил А-300 [Aerosil A-300]	51 200±8 100	То же [The same]
	Смола КБ-4П2 [Resin KB-4P2]	6 400±800	То же [The same]
Разделение в двухфазной системе [Interfacial separation]	Хлороформ [Chloroform]	102 400±11 000	Около 3 часов [About 3 hours]
	Дихлорметан [Dichloromethane]	102 400±9 000	То же [The same]
	Толуол [Toluene]	51 200±5 300	То же [The same]

Примечание. AU/ml – арбитражная единица активности в отношении тест-штамма *Listeria monocytogenes* 776.

[Note. AU/ml - arbitrary units of antimicrobial activity of samples per milliliter against the test strain of *Listeria monocytogenes* 776].

При применении метода сорбции-десорбции в качестве носителей использованы: силикагель 100/250 мкм (Lachema, Чехия), окись алюминия для хроматографии 5/40 мкм (Lachema, Чехия), аэросил (диоксид кремния) марки А300 (Калушский ОЭЗ, Украина) и карбоксильный катионит (ионообменная смола) КБ-4П-2 (ГОСТ 20298–74). Указанные носители использовали в колоночном и «ванночном» (bath) вариантах. В первом исполнении сорбенты засыпали на 1/3 объема в стеклянные колонки (300×20 мм), во втором – в колбы на 750 мл. Подготовка сорбентов заключалась в промывке водой и уравнивании ацетатным буфером (рН = 4,6). Посадка образцов BLIS-содержащей жидкости заключалась в постепенном ее прибавлении в колонки или колбы с подготовленными сорбентами. При bath-методе колбы с ее содержимым помещали на качалку и перемешивали (60 об/мин) в течение 68 ч. Съем BLIS осуществляли в такой последовательности: дистиллированная вода (рН = 7,2), ацетатный буфер (рН = 4,7), дистиллированная вода (рН = 7,2), 5-, 10-, 20-, 30- и 35%-ные растворы ацетонитрила, дистиллированная вода (рН = 7,2). Образцы элюатов далее концентрировали методом упаривания (в 10 раз) и тестировали на активность. Установлено, что лучшие результаты по выходу антимикробной субстанции получались при использовании силикагеля и аэросила, худшие – на ионообменной смоле КБ-4П2 (см. табл. 4). В целом более удобным оказался колоночный вариант с применением силикагеля.

При отработке метода фазовой сепарации в качестве нерастворимого в воде органического растворителя применяли ди- и трихлорметан (хлороформ), толуол. Чистый стеклянный или фарфоровый стакан на 1/3 объема заполняли образцом бесклеточного супернатанта, туда же вносили (1:1) растворитель. Содержимое стакана гомогенизировали с помощью механического смесителя с металлической мешалкой (800 об/мин, 10 мин). Полученную эмульсию разливали в металлические стаканы, устанавливали в бакет-ротатор (4х150) центрифуги К-23Д фирмы «MLM» (ГДР) и откручивали в течение 20–25 мин при 5000 об/мин, 4–6°C. В результате гравитационного разделения эмульсии на границе фаз образовывался хорошо заметный интерфазный слой пленки (ИФС), содержащий концентрат бактериоцина с остатками среды роста. Разделенные фазы со стаканов осторожно удаляли с помощью вакуумного насоса Комовского, а остающийся ИФС высушивали при 90°C до постоянного веса, что обеспечивало удаление из нее органического растворителя.

Установлено, что в результате фазовой сепарации уходит более 98% балласта, представляющего собой компоненты питательной среды, минеральные соли и метаболиты (табл. 5).

Дихлорметан (ДХМ) предпочтительнее других растворителей из-за его более низкой температуры кипения (40°C), меньшим по сравнению с хлороформом и толуолом уровнем токсичности, легкости удаления из жидкостей и большей возможности многократного использования. При этом подсчита-

но, что выход BLIS по активному началу с использованием ДХМ составлял около 95% от исходного уровня и на весь процесс получения уходит не более 3 ч (см. табл. 4). При извлечении BLIS жидкофазным разделением супернатантов мы исходили из ранее полученных нами данных на других продуцентах о достаточно высокой эффективности данного метода [23]. Несмотря на то, что полученный указанным способом сухой концентрат BLIS содержал более 91% действующего начала (табл. 6), для изучения его природы все же требовалась его доочистка.

Таблица 5 [Table 5]

Выделение бактерицидного комплекса *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 из супернатанта с использованием органического растворителя
[The excretion of bactericidal complex *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 from supernatant using organic solvent]

Фракции супернатанта [Supernatant fractions]	Сухой остаток [Dry residue], %	Антилистериозная активность [Antilisterial activity], %
Верхняя [Upper]	86,5±2,4	7,7±0,3
Промежуточная [Intermediate]	11,8±0,5	91,2±3,3
Нижняя [Lower]	1,7±0,06	1,1±0,02
Супернатант до обработки [Supernatant before treatment]	100	100

Таблица 6 [Table 6]

Влияние протеолитических ферментов, pH и высоких температур на активность BLIS PPHS-5/13
[The influence of proteolytic enzymes, pH and high temperatures on the activity of BLIS PPHS-5/13]

Ферменты, температура и pH [Enzymes, temperature and pH]	Антимикробная активность [Antimicrobial activity]
BLIS без обработки [BLIS without treatment], pH = 6,1	+
BLIS + химотрипсин [BLIS + chymotrypsin], pH = 6,3	—
BLIS + протеиназа К [BLIS + proteinase K], pH = 6,2	—
BLIS при 100°C, 20 мин [BLIS at 100°C, 20 min], pH = 2*	+
BLIS при 121°C, 20 мин [BLIS at 121°C, 20 min], pH = 6,2	+
BLIS при 121°C, 20 мин [BLIS at 121°C, 20 min], pH = 10*	—

Примечания. Концентрации ферментов 10 мг/мл; «+» — наличие, «—» — отсутствие активности; * перед определением активности pH образцов доводили до 6,0–6,3 ед.

[Note: the concentration of enzymes - 10mg/ml; “+” available activity, “—” lack of activity; * before the determination of the activity pH of the samples was brought to 6,0-6,3 units].

Следующий и завершающий этап работы – изучение природы бактериоцидной субстанции *E. mundtii* PPHS-5/13. Для выбора подходящего метода очистки BLIS проводили тремя способами: переводом осадка вещества с одного растворителя в другой (этанол, изопропанол, вода) с последующим их выпариванием, с применением C-18 колонки (Varian, Harbor City, CA), эквивилиброванной метанолом и водой, и гель-фильтрацией. Для проведения гель-фильтрации пробы растворяли в фосфатном буфере и пропускали через колонку Luna 5u C18(2) 100A 250×4,6 mm (Phenomenex) жидкостного хроматографа Acta Purifier 10 (GE HealthCare, США). Для дальнейшей работы выбран метод гель-фильтрации как более производительный и воспроизводимый. Далее очищенные образцы BLIS исследовали на устойчивость к действию ферментов, pH, температуре с последующим тестированием проб на антимикробную активность.

Доказательствами пептидной природы BLIS *E. mundtii* PPHS-5/13 послужили экспериментальные данные по ее разрушению протеолитическими ферментами, что проявилось в потере антимикробного действия, а также наличие индивидуальной полосы активного пептида с молекулярным весом 5–6 кДа при электрофорезе в системе трицин–SDS–PAG (табл. 6, рис. 2).

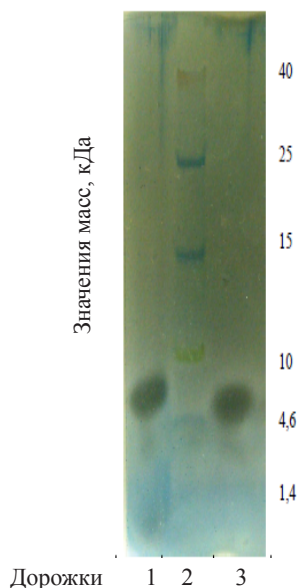


Рис. 2. Электрофорез образцов BLIS *Enterococcus mundtii* 5/13.

Дорожки: 1 и 3 – образцы BLIS, 2 – белковые маркеры молекулярных весов

[Fig. 2. Electrophoresis of BLIS *Enterococcus mundtii* 5/13 samples.

On the ordinate axis - molecular weight (in kiloDaltons); on the abscissa axis - lanes: 1 and 3 samples BLIS, 2 - protein molecular weight markers]

Масс-спектрометрический анализ образца BLIS PPHS-5/13 по результатам MALDI-TOF показал преимущественное содержание в нем вещества с молекулярной массой 5,762 кДа (рис. 3).

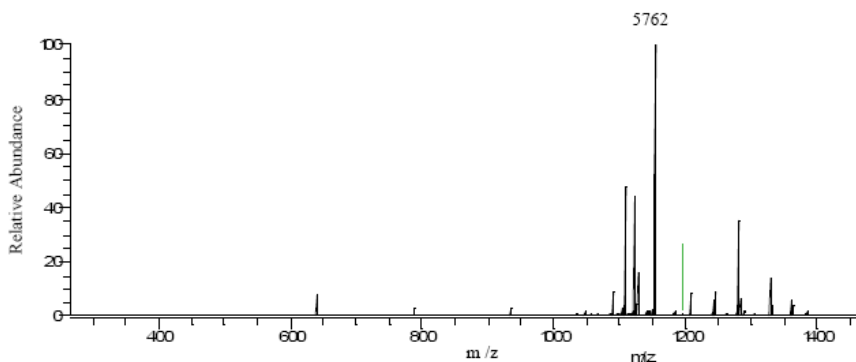


Рис. 3. Определение молекулярного веса образца BLIS *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 по MALDI-TOF Bruker Daltonics. MALDI (лазерная десорбция и ионизация из матрицы) – TOF (времяпролетный масс-спектрометр).

Анализ выполнен в отделе иммунобиохимии ГНЦ ПМБ к.ф.-м.н. А.К. Суриным

[Fig. 3. Determination of molecular weight of BLIS *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 sample by MALDI-TOF Bruker Daltonics. The analysis was carried out by AK Surin (State Research Center for Applied Microbiology& Biotechnology)]

В завершении работы проведена оценка возможности практического использования BLIS *E. mundtii* PPHS-5/13. Мясо животных является чрезвычайно благоприятной средой для размножения различных групп микроорганизмов, становясь источником инфекционного заражения человека. В нашем исследовании объектом изучения степени деконтаминирующего действия BLIS PPHS-5/13 куриная кожа, снятая с охлажденного окорочка бройлера.

Как показали результаты проведенных испытаний, обработка кожи бройлеров жидким препаратом BLIS *E. mundtii* PPHS-5/13 в дозе 100 мкл/пробу приводила к трехкратному снижению показателя обсемененности ее поверхности сальмонеллами и листериями (табл. 7).

Таким образом, в результате выполненных исследований подобрана питательная среда и условия культивирования штамма *E. mundtii* PPHS-5/13 для выработки практически значимых количеств бактериоциноподобной ингибирующей субстанции, определена кинетика накопления, выбран способ выделения из культуральной жидкости и показан практический пример ее возможного использования, а также получены доказательства пептидной природы активного начала.

Таблица 7 [Table 7]

**Действие BLIS *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 на уровень
обсемененности кожи бройлера сальмонеллами и листериями**
[Action of BLIS *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 on the broiler
skin contamination level by *Salmonella* and *Listeria*]

Образцы исследуемой кожи бройлерной птицы [Investigated skin samples]	Содержание бактерий в смывах, КОЕ/мл [Bacterial content in wash-offs, CFU/ml]	Уровень обсемененности [Level of contamination]
Нативный (негативный контроль) [Native (negative control)]	$349 \pm 117 \times 10^3$	Принят за 0%
Инфицированная без обработки BLIS (позитивный контроль) [Artificially contaminated with no treatment by BLIS (positive control)]	$2\,330 \pm 768 \times 10^3$	100%
Инфицированная, обработанная BLIS (опыт) [Artificially contaminated after treatment by BLIS (experiment)]	$690 \pm 214 \times 10^3$	29,6%

[Note. The level of microbial contamination of sample skin after treatment of the BLIS, expressed as a percentage relative to the untreated skin0.

В частности, показано, что культивирование штамма для получения бактериоцидного комплекса следует проводить в бульоне, содержащем (г/л): гидролизат казеина – 9; сахарозу – 20; дрожжевой экстракт – 5; NaCl – 3; MgSO_4 – 0,5 при pH = $6,0 \pm 0,2$ и температуре 33...34°C в течение 12–14 ч. Такие условия выращивания обеспечивают накопление в культуральной жидкости BLIS с активностью не менее 12800 AU/мл, что делает исследуемый микроорганизм технологически перспективным в качестве продуцента нового антибактериального средства из группы бактериоцинов.

На основе сравнительных исследований по выбору способа выделения BLIS отдано предпочтение методу межфазного разделения бесклеточного ферментата при использовании дихлорметана в качестве неполярного растворителя. Применение дихлорметана предоставляло возможность многократного его использования в связи с низкой температурой кипения (40°C), минимальной токсичностью и весьма высоким выходом (до 91%) целевой фракции. Теоретической предпосылкой выбора метода межфазного разделения для жидкостной преципитации BLIS и бактериоцинов явились их амфифильные свойства [24].

Доказательствами пептидной природы BLIS *E. mundtii* PPHS-5/13 послужили экспериментальные данные по ее разрушению протеолитическими ферментами, выявление при помощи Tricine-SDS-PAGE индивидуальной полосы с молекулярным весом около 5–6 кДа, близкому к энтероцинам группы А [17], выделение активной фракции, имеющей по данным MALDI-TOF преимущественно вещество с молекулярной массой 5,762 кДа. Сделан вывод о том, что антимикробный комплекс пептидной природы *E. mundtii*

PPHS-5/13 близок к бактериоцинам подкласса Па, которым свойственна высокая активность против микроорганизмов группы *Listeria* sp. [25, 26].

Заключение

Обнаружена способность штамма *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 производить BLIS на простых по составу средах при обычных условиях аэробного роста, а также определены основные условия ее извлечения из ферментата и очистки малозатратными методами. Установлено, что выходы антимикробного вещества из бесклеточного супернатанта PPHS-5/13 с использованием метода межфазного разделения с дихлорметаном в 2–8 раза выше, чем методов солевой преципитации сульфатом аммония или адсорбции на твердых носителях, при одновременном сокращении времени выделения с 24 до 3 ч. Показано, что антимикробный комплекс *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 имеет пептидную природу, состоит преимущественно из вещества с молекулярной массой 5,762 кДа и по своим основным свойствам близок к бактериоцинам подкласса Па. На примере обработки кожи бройлерной птицы продемонстрирована возможность практического применения BLIS *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 как средства для контроля уровня микробной обсемененности некоторых продуктов питания.

Литература

1. Marshall S., Arenas G. Antimicrobial peptides: A natural alternative to chemical antibiotics and a potential for applied biotechnology // Electronic Journal of Biotechnology. 2003. Vol. 6, № 2. P. 271–284.
2. Gillor O., Etzion A., Riley M.A. The dual role of bacteriocins as anti- and probiotics // Applied Microbiology and Biotechnology. 2008. Vol. 81, № 4. P. 591–606.
3. Abenavoli L., Scarpellini E., Rouabhia S., Balsano C., Luzzi F. Probiotics in non-alcoholic fatty liver disease: which and when // Annals of Hepatology. 2013. Vol. 12, № 3. P. 357–363.
4. Joerger R.D. Alternatives to antibiotics: bacteriocins, antimicrobial peptides and bacteriophages // Poultry Science. 2003. Vol. 82. P. 640–647.
5. Riley M.A., Wertz J.E. Bacteriocins: evolution, ecology, and application // Annual Review of Microbiology. 2002. Vol. 56. P. 117–137.
6. Kirkup B.C. Bacteriocins as Oral and Gastrointestinal Antibiotics: Theoretical Considerations, Applied Research, and Practical Applications // Current Medicinal Chemistry. 2006. Vol. 13, № 27. P. 3335–3350.
7. Похиленко В.Д., Перельгин В.В. Бактериоцины, их биологическая роль и тенденции применения // Исследовано в России. 2011. № 016. С. 164–198. URL: <http://zhurnal.apelarn.ru/articles/2011/016.pdf>
8. Gordon D.M., O'Brien C.L. Bacteriocin diversity and the frequency of multiple bacteriocin production in *Escherichia coli* // Microbiology. 2006. Vol. 152. P. 3239–3244.
9. Giri S., Singh J. New Face in the Row of Human Therapeutics: Bacteriocins // Journal of Microbiology Research. 2013. Vol. 3, № 2. P. 71–78.
10. Будихина А.С., Пинегин Б.В. Дефензины – мультифункциональные катионные пептиды человека // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2008. № 2. С. 31–40.
11. Pálffy R., Gardlik R., Behuliak M., Kadasi L., Turna J., Celec P. On the Physiology and Pathophysiology of Antimicrobial Peptides // Molecular Medicine. 2009. Vol. 15, № 1–2. P. 51–59.

12. Егоров Н.С., Баранова И.П. Бактериоцины. Образование, свойства, применение // Антибиотики и химиотерапия. 1999. Т. 44, № 6. С. 33–40.
13. Стоянова Л.Г. Новые бактериоцины лактококков и их практическое использование: дис. ... д-ра биол. наук. М. : Московский государственный университет, 2008. 368 с.
14. Delves-Broughton J., Blackburn P., Evans R.J., Hugenholtz J. Applications of the bacteriocin, nisin // Antonie Van Leeuwenhoek. 1996. Vol. 69, № 2. P. 193–202.
15. Thomas L.V., Clarkson M.R., Delves-Broughton J. Nisin // In: Natural Food Antimicrobial Systems. Ed. A.S. Naidu. © CRC Press LLC. Boca Raton ; London ; New York ; Washington, D.C., 2000. P. 467–528.
16. Червинец Ю.В. Симбиотические взаимоотношения лактобацилл и микроорганизмов желудочно-кишечного тракта : дис. ... д-ра мед. наук. М. : ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», 2012. 263 с.
17. Ермоленко Е.И. Бактериоцины энтерококков: проблемы и перспективы использования (обзор литературы) // Вестник С.-Петербургского университета. 2009. Сер. 11, вып. 3. С. 78–93.
18. Гармашева И.Л., Коваленко Н.К. Идентификация и таксономия энтерококков // Мікробіологічний журнал. 2010. Т. 72, № 5. С. 49–58.
19. Todorov S.D., Dicks L.M.T. Effect of modified MRS medium on production and purification of antimicrobial peptide ST4SA produced by *Enterococcus mundtii* // Anaerobe. 2009. Vol. 15, № 3. P. 65–73.
20. Пат. 2532227. Российская Федерация, МПК C12N 1/20, C07K 14/315, C12R 1/01. Штамм *Enterococcus mundtii*, продуцирующий субстанцию пептидной природы с антилистериозной активностью / В.М. Храмов, В.Д. Похилenko, В.В. Перельгин, Г.Т. Садикова, Т.А. Калмантаев, И.А. Чукина, Э.А. Светоч; заявитель и патентообладатель ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. № 2013147136/10; 23.10.2013; опубликовано: 27.10.2014. Бюл. № 30. 12 с.
21. Schagger H., von Jagow G. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa // Analytical Biochemistry. 1987. Vol. 166. P. 368–379.
22. Gobom J., Schuerenberg M., Mueller M., Theiss D., Lehrach H., Nordhoff E. Alpha-cyano-4-hydroxycinnamic acid affinity sample preparation. A protocol for MALDI-MS peptide analysis in proteomics // Analytical Chemistry. 2001. Vol. 73, № 3. P. 434–438.
23. Калмантаев Т.А., Садикова Г.Т., Перельгин В.В., Похилenko В.Д. Бактериоциноподобное вещество *Bacillus circulans* и способ его получения // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2012. № 2 (18). С. 52–65.
24. Burianek L.L., Yousef A.E. Solvent extraction of bacteriocins from liquid cultures // Let. Appl. Microbiol. 2000. Vol. 30. P. 193–197.
25. Ennahar S., Sashichara T., Sonomoto K., Ishizaki A. Class IIa bacteriocins: biosynthesis, structure // FEMS Microbiology Review. 2000. Vol. 24. P. 86–106.
26. Eijsink V.G.H., Skeie M., Middelhoven P.H., Brurberg M.B., Nes I.F. Comparative studies of class IIa bacteriocins of lactic acid bacteria // Applied and Environmental Microbiology. 1998. Vol. 64. P. 3275–3281.

Поступила в редакцию 26.02.2014 г.; повторно 24.06.2014 г.; 21.11.2014 г.; принята 27.12.2014 г.

Авторский коллектив:

Храмов Владимир Михайлович – м.н.с. отдела биологических технологий ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (п. Оболенск, Серпуховский р-н, Московская обл., Россия).

E-mail: Khramov-vladimir@yandex.ru

Калмантаев Тимур Ахмерович – канд. биол. наук, м.н.с. отдела биологических технологий ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (п. Оболенск, Серпуховский р-н, Московская обл., Россия).

E-mail: kalmantaev@yandex.ru

Садикова Гульнур Тахавиевна – н.с. отдела биологических технологий ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (п. Оболенск, Серпуховский р-н, Московская обл., Россия).

E-mail: Vpokhil003@yandex.ru

Перельгин Владимир Владимирович – с.н.с., канд. биол. наук, зав. отделом биологических технологий ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (п. Оболенск, Серпуховский р-н, Московская обл., Россия).

E-mail: perelygin@obolensk.org

Похиленко Виктор Данилович – с.н.с., д-р техн. наук, в.н.с. отдела биологических технологий ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (п. Оболенск, Серпуховский р-н, Московская обл., Россия).

E-mail: Vpokhil003@yandex.ru

Khramov VM, Kalmantaev TA, Sadikova GT, Perelygin VV, Pokhilenko VD. Antimicrobial complex *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 of peptide nature. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;1(29):37-55. doi: 10.17223/19988591/29/4. In Russian, English summary

**Vladimir M. Khramov, Timur A. Kalmantaev,
Gulnur T. Sadikova, Vladimir V. Perelygin, Viktor D. Pokhilenko**

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Oblast, Russian Federation

Antimicrobial complex *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 of peptide nature

An irregular application of antibiotics in medicine, veterinary and agriculture is known to result in a wide spread of drug-resistant microorganisms worldwide. Today new natural antimicrobials that would differ from antibiotics are urgently needed to control such microorganisms. Probiotic bacteria, bacteriophages and bacteriocins are often considered as candidates to play the role. In this respect nonhemolytic *Enterococcus* species, such as *E. faecium* and *E. mundtii*, as well as their poorly investigated species producing Class IIa bacteriocins are especially attractive. The aim of our research was to determine the most significant factors that may influence the ability of our *E. mundtii* PPHS-5/13 strain to produce bacteriocidal substance during submerged cultivation, to elaborate a method of purification of the substance and to study its nature and the main properties.

We showed that this strain can produce bacteriocidal substance in concentrations to 12.800 AU/ml on simple media and under conventional aerobic growth conditions. This allows microorganisms to be technologically applicable as a producer of a new antimicrobial remedy. Our research allowed us: to test a low-cost technology of isolation of the bacteriocidal complex from the culture fluid; to determine the peptide nature of the active agent; to determine what fraction inhibiting the growth of gram-positive bacteria; to evaluate tolerance of the peptide to pH, heat and proteolytic enzymes. The yield of the antimicrobial substance from the cell-free supernatant *E. mundtii* PPHS-5/13 strain with a phase separation method using dichloromethane 2-8 times higher than the salt precipitation method with ammonium sulfate or adsorption on solid media, while reducing the separation time from 24 to 3 hours. We found out that the antimicrobial complex *E. mundtii* PPHS-5/13 is of peptide nature, consists mainly of substances with molecular mass 5,762 kDa and its main properties, including and activity against *Listeria* spp., are similar to subclass IIA bacteriocins. By the example of broiler poultry skin we demonstrated the possibility of practical application of BLIS *Enterococcus mundtii* PPHS-5/13 as a means to control the level of microbial contamination of certain food stuff.

Acknowledgments: This work was carried out according to the Scientific Research No 045 on “Development and research of new disinfectants, antimicrobial and insecticidal preparations” in 2013 (Programme of the Russian Federation for 2011-2015).

The article contains 3 Figures, 7 Tables, 26 References.

Key words: *Enterococcus*; bacteriocins; BLIS; antimicrobial complex.

References

1. Marshall S, Arenas G. Antimicrobial peptides: A natural alternative to chemical antibiotics and a potential for applied biotechnology. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2003;6(2):271-284. Available at: <https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/2253/1/ej03030.pdf>
2. Gillor O, Etzion A, Riley MA. The dual role of bacteriocins as anti- and probiotics. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2008;81(4):591-606. doi: [10.1007/s00253-008-1726-5](https://doi.org/10.1007/s00253-008-1726-5)
3. Abenavoli L, Scarpellini E, Rouabhia S, Balsano C, Lizza F. Probiotics in non-alcoholic fatty liver disease: which and when. *Annals of Hepatology*. 2013;12(3):357-363.
4. Joerger RD. Alternatives to antibiotics: bacteriocins, antimicrobial peptides and bacteriophages. *Poultry Science*. 2003;82:640-647. doi: [10.1093/ps/82.4.640](https://doi.org/10.1093/ps/82.4.640)
5. Riley MA, Wertz JE. Bacteriocins: evolution, ecology, and application. *Annual Review of Microbiology*. 2002;56:117-137. doi: [10.1146/annurev.micro.56.012302.161024](https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.161024)
6. Kirkup BC. Bacteriocins as Oral and Gastrointestinal Antibiotics: Theoretical Considerations, Applied Research, and Practical Applications. *Current Medicinal Chemistry*. 2006;13(27):3335-3350. doi: [10.2174/092986706778773068](https://doi.org/10.2174/092986706778773068)
7. Pokhilenko VD, Perelygin VV. Bakteriotsiny, ikh biologicheskaya rol' i tendentsii primeneniya [Bacteriocins: their biological role and potential application]. *Issledovano v Rossii*. 2011;016:164-198. [Electronic resource]. Available at: <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2011/016.pdf>. In Russian
8. Gordon DM, O'Brien CL. Bacteriocin diversity and the frequency of multiple bacteriocin production in *Escherichia coli*. *Microbiology*. 2006;152:3239-3244. doi: [10.1099/mic.0.28690-0](https://doi.org/10.1099/mic.0.28690-0)
9. Giri S, Singh J. New Face in the Row of Human Therapeutics: Bacteriocins. *Journal of Microbiology Research*. 2013;3(2):71-78. doi: [10.5923/j.microbiology.20130302.02](https://doi.org/10.5923/j.microbiology.20130302.02)
10. Budikhina AS, Pinegin BV. Defensins - multifunctional cation peptides of human. *Immunopathology, Allergology, Infectology*. 2008;2:3-140. In Russian, English summary
11. Pálffy R, Gardlik R, Behuliak M, Kadasi L, Turna J, Celec P. On the Physiology and Pathophysiology of Antimicrobial Peptides. *Molecular Medicine*. 2009;15(1-2):51-59. doi: [10.2119/molmed.2008.00087](https://doi.org/10.2119/molmed.2008.00087)
12. Egorov NS, Baranova IP. Bakteriotsiny. Obrazovanie, svoystva, primeneniye [Bacteriocins. Formation, properties, application]. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 1999;44(6):33-40. In Russian
13. Stoyanova LG. Novye bakteriotsiny laktokokkov i ikh prakticheskoe ispol'zovanie [New bacteriocins of lactococci and their practical use. DrSci. Dissertation, Microbiology]. Moscow: Moscow State University; 2008. 368 p. In Russian
14. Delves-Broughton J, Blackburn P, Evans RJ, Hugenholtz J. Applications of the bacteriocin, nisin. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 1996;69(2):193-202. doi: [10.1007/BF00399424](https://doi.org/10.1007/BF00399424)
15. Thomas LV, Clarkson MR, Delves-Broughton J. Nisin. In: *Natural Food Antimicrobial Systems*. Naidu AS, editor. Boca Raton, London, New York, Washington, D.C.: CRC Press LLC.; 2000. pp. 467-528.
16. Chervinets YuV. Simbioticheskie vzaimootnosheniya laktobacill i mikroorganizmov zheludочно-kishechnogo trakta [Symbiotic relationship of lactobacilli and microorganisms of the gastrointestinal tract. DrSci. Dissertation, Microbiology]. Moscow: First Moscow State Medical University named Sechenov; 2012. 263 p. In Russian
17. Ermolenko EI. Bakteriotsiny enterokokkov: problemy i perspektivy ispol'zovaniya [Bacteriocins of enterococci, problems and perspectives of using]. *Vestnik S.-Peterburgskogo universiteta*. 2009;11(3):78-93. In Russian

18. Garmasheva IL, Kovalenko NK. Identifikatsiya i taksonomiya enterokokkov [Identification and taxonomy of enterococci]. *Mikrobiologichnij zhurnal*. 2010;72(5):49-58. In Russian, English and Ukrainian summary
19. Todorov SD, Dicks LMT. Effect of modified MRS medium on production and purification of antimicrobial peptide ST4SA produced by *Enterococcus mundtii*. *Anaerobe*. 2009;15(3):65-73. doi: [10.1016/j.anaerobe.2008.11.002](https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2008.11.002)
20. Patent 2532227. Rossiyskaya Federatsiya, MPK C12N 1/20, C07K 14/315, C12R 1/01. Shtamm *Enterococcus mundtii*, produtsiruyushhiy substantsiyu peptidnoy prirody s antilisterioznoy aktivnost'yu [Patent 2532227. Russian Federation. MPK C12N 1/20, C07K 14/315, C12R 1/01. Strain *Enterococcus mundtii* producing peptide substance with antilisterial activity]. Hramov VM, Pokhilenko VD, Pereygin VV, Sadikova GT, Kalmantaev TA, Chukina IA, Svetoch EA. Zayavitel' i patentoobladatel' FBUN Gosudarstvennyy nauchnyy tsentr prikladnoy mikrobiologii i biotekhnologii [State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology]. No 2013147136/10; 23.10.2013; opublikovano: 27.10.2014; Bjulleten' No 30, 12 p. In Russian, English summary
21. Schagger H, von Jagow G. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Analytical Biochemistry*. 1987;166:368-379. Available at: <http://molbiol.ru/forums/index.php?act=Attach&type=post&id=92824>
22. Gobom J, Schuerenberg M, Mueller M, Theiss D, Lehrach H, Nordhoff E. Alpha-cyano-4-hydroxycinnamic acid affinity sample preparation. A protocol for MALDI-MS peptide analysis in proteomics. *Analytical Chemistry*. 2001;73(3):434-438.
23. Kalmantaev TA, Sadikova GT, Pereygin VV, Pokhilenko VD. Bacteriocin-like substance *Bacillus circulans* and way of its production. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2012;2(18):52-65. In Russian, English summary
24. Burianek LL, Yousef AE. Solvent extraction of bacteriocins from liquid cultures. *Letters in Applied Microbiology*. 2000;30:193-197. doi: [10.1046/j.1365-2672.2000.00802.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00802.x)
25. Ennahar S, Sashihara T, Sonomoto K, Ishizaki A. Class IIa bacteriocins: biosynthesis, structure. *FEMS Microbiology Review*. 2000;24:86-106. doi: [10.1111/j.1574-6976.2000.tb00534.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00534.x)
26. Eijsink VG, Skeie M, Middelhoven PH, Brurberg MB, Nes IF. Comparative studies of class II a bacteriocins of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 1998;64:3275-3281. PMCID: [PMC106721](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC106721/)

Received 26 February 2014;

Revised 24 June 2014; 21 November 2014;

Accepted 27 December 2014

Authors info:

Khramov Vladimir M, junior researcher, Biological Technology Department, State Research Center for Applied Microbiology & Biotechnology, Obolensk 142279, Serpukhov distr., Moscow reg., Russian Federation.

E-mail: Khramov-vladimir@yandex.ru

Kalmantaev Timur A, Cand. Sci. (Biol.), junior researcher, Biological Technology Department, State Research Center for Applied Microbiology & Biotechnology, Obolensk 142279, Serpukhov distr., Moscow reg., Russian Federation.

E-mail: kalmantaev@yandex.ru

Sadikova Gulnur T, researcher, Biological Technology Department, State Research Center for Applied Microbiology & Biotechnology, Obolensk 142279, Serpukhov distr., Moscow reg., Russian Federation.

E-mail: Vpokhil003@yandex.ru

Pereygin Vladimir V, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Biological Technology Department, State Research Center for Applied Microbiology & Biotechnology, Obolensk 142279, Serpukhov distr., Moscow reg., Russian Federation.

E-mail: pereygin@obolensk.org

Pokhilenko Viktor D, Dr. Sci. (Tech.), leading researcher, Biological Technology Department, State Research Center for Applied Microbiology & Biotechnology, Obolensk 142279, Serpukhov distr., Moscow reg., Russian Federation.

E-mail: Vpokhil003@yandex.ru

БОТАНИКА

УДК 581.9 (571.17)

doi: 10.17223/19988591/29/5

Н.Н. Лащинский

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

Редкие кустарниковые сообщества лесного пояса заповедника «Кузнецкий Алатау»

Приводятся данные о редких кустарниковых сообществах на территории заповедника «Кузнецкий Алатау». В рангеновых ассоциаций описаны оригинальные сообщества кустарников в лесном поясе восточной части заповедника, ранее не упоминавшиеся в литературе для западного макросклона Кузнецкого Алатау. Ольшатники верхней части лесного пояса отнесены к ассоциации *Doronico altaici-Duschekietum fruticosae*, а спирейники высокой поймы р. Черная Уса – к ассоциации *Filipendulo ulmariae-Spiraeetum mediae*. Описанные ассоциации относятся к порядку *Trollio-Crepidetalia sibiricae* класса *Mulgedio-Aconitetea* – евросибирских субальпийских и субарктических высокоотравных лугов, редколесий и зарослей кустарников, но к разным союзам порядка. Охарактеризованы экология, морфология и флористический состав сообществ. В обоих случаях кустарниковые сообщества занимают местообитания, неблагоприятные для развития лесной растительности. Рассмотрены возможные экологические факторы, лимитирующие поселение леса в данных местообитаниях.

Ключевые слова: лесной пояс; кустарники; классификация растительности; высокоотравье; ольшатники.

Введение

Заповедник «Кузнецкий Алатау» расположен в центральной части западного макросклона одноименной горной системы. Он занимает 401 811 га в средней и верхней части лесного и в высокогорном поясах. Восточная граница заповедника проходит по основному водоразделу Кузнецкого Алатау и совпадает с административной границей Кемеровской области. Территория относится к гипергумидному сектору Алтае-Саянской горной области [1] и характеризуется среднегодовым количеством осадков от 700 мм в нижней части заповедника до 2 000 мм в высокогорьях [2]. В зимнее время устанавливается мощный снеговой покров до 3 м в верхней части лесного пояса [3, 4], предохраняющий почву от промерзания и способствующий насыщению ее влагой в зимний период. Почвообразующей породой на большей части лесного пояса выступают бурые тяжелые бескарбонатные суглинки [5] часто при близком залегании коренных скальных пород. На них развиваются

бурые горно-лесные почвы [6] с различными вариантами оподзоливания и оглеения. В растительном покрове лесного пояса абсолютно преобладают пихтовые леса с развитым травяным покровом, образованным видами сибирского высокотравья с участием лесных злаков (*Milium effusum*, *Calamagrostis obtusata*, *C. langsдорffii*) и бореальных таежных видов (*Linnea borealis*, *Lycopodium annotinum*, *Gymnocarpium dryopteris* и др.). На маломощных щебнисто-каменистых почвах крутых склонов и гребней хребтов встречаются кедровые чернично-зеленомошные леса, а по долинам крупных рек – травяные еловые леса, нередко заболоченные [7]. Верхняя граница леса образована преимущественно пихтой, но нередко в условиях затрудненного дренажа встречаются леса из *Betula tortuosa* с гигромезофильным травостоем [8]. В поймах крупных рек изредка отмечены леса из древовидной *Salix rorida* с участием *Populus laurifolia*. Кустарниковые сообщества в лесном поясе встречаются изредка и, как правило, приурочены к местообитаниям, по тем или иным причинам не подходящим для развития лесных фитоценозов. Наиболее обычны заросли кустарниковых ив по поймам рек и ручьев в зоне периодического затопления. Встречаются также заросли кустарников по зарастающим скалам и осыпям. В этом случае кустарниковый ярус часто разреженный и образован представителями родов *Caragana*, *Spiraea*, *Ribes*, *Rosa* и *Juniperus sibirica*. Наилучшего развития кустарниковые сообщества достигают в субальпийском поясе выше границы леса. Здесь они играют ландшафтообразующую роль наряду с высокотравными сообществами и образованы преимущественно *Betula rotundifolia* и *Salix glauca* [9].

При геоботаническом обследовании верховий р. Черная Уса в самой восточной части заповедника были описаны оригинальные кустарниковые сообщества, не отмеченные ранее на территории заповедника. Настоящая работа посвящена характеристике их состава, структуры и синтаксономического положения.

Материалы и методики исследования

Геоботаническое обследование проводилось в середине сентября 2014 г. Предварительно на основе анализа космических снимков высокого разрешения (RapidEye) были выделены контуры, различимые по цвету, яркости и текстуре, и намечена серия пеших маршрутов для полного покрытия всего разнообразия выделенных контуров. За время маршрутов выполнено 30 полных и 56 рекогносцировочных геопривязанных описаний растительности. Описания выполнялись по общепринятой методике на площадках 25×25 м для лесных и 10×10 м для кустарниковых и травяных сообществ. Для каждого вида глазомерно определялось проективное покрытие по шкале Браун-Бланке [10]: г – единично; ± – менее 1%; 1 – 1–5%; 2 – 5–25%; 3 – 25–50%; 4 – 50–75%; 5 – 75–100%. Геопривязка описаний производилась с помощью 12-канального GPS в десятичных градусах. Крутизна и экспозиция склонов

определялись инструментально с помощью горного компаса. Высота пробных площадей над уровнем моря определялась с помощью GPS с коррекцией по топографическим картам масштаба 1:25 000 и цифровой модели рельефа (SRTM). В камеральных условиях геоботанические описания были внесены в единую базу данных и обработаны методом эколого-флористической классификации. Синтаксономический анализ данных проведен в программной среде IBIS 6.2 [11]. Названия растений приводятся в соответствии со сводкой С.К. Черепанова [12].

Результаты исследования и обсуждение

В верховьях руч. Глухариный (правый приток р. Черная Уса) были описаны ольшатники с доминированием высокорослых кустов ольховника (*Duschekia fruticosa*) (таблица, оп. 1–5). Особи ольховника представлены многоосными кустами высотой 4–6 м. Оси извилистые, в основании лежащие. Заросли сомкнутые (0,8–0,9), трудно проходимые из-за переплетений стволиков ольховника. В кустарниковом ярусе на высоте кустов ольховника изредка встречаются отдельные кусты рябины (*Sorbus sibirica*). Другие виды кустарников, встречающиеся в этих сообществах в небольшом обилии (*Ribes atropurpureum*, *Lonicera caerulea*, *Rubus idaeus*), достигают высоты 1–1,5 м, слабо выделяясь на фоне высокорослого травостоя. Иногда встречаются одиночные деревья пихты 14–16 м высотой и 20–24 см в диаметре. Пни, сухостой и ветровал деревьев отсутствуют. Следов пожаров также не обнаружено. Травостой сомкнутый, образован видами сибирского высокотравья (*Saussurea latifolia*, *Cirsium helenioides*, *Heracleum dissectum*, *Aconitum septentrionale* и др.), под пологом которого хорошо выражен нижний подъярус с доминированием *Poa insignis*. Во флористическом составе сообществ постоянно присутствуют крупные папоротники (*Dryopteris dilatata*, *Athyrium filix-femina*, *Athyrium distentifolium*), виды субальпийских лугов (*Doronicum altaicum*) и виды переувлажненных местообитаний (*Veratrum lobelianum*, *Cardamine macrophylla*, *Caltha palustris*). Подстилка фрагментарная, мохово-лишайниковый напочвенный покров отсутствует. Ольшатники встречались как по опушкам пихтовых лесов, так и в виде самостоятельных контуров в окружении высокотравий вблизи верхней границы леса. В нижней части субальпийского пояса ольховник быстро теряет доминирование в сообществах и полностью выпадает из состава кустарниковых зарослей, сменяясь кустарниковыми видами ив (*Salix hastata* и *S. glauca*).

В верхней части лесного пояса вблизи границы леса пихтовые леса распределяются полосами вдоль склона, приуроченными к выпуклым, наиболее дренированным участкам, разделенным узкими параллельными склону ложбинами, занятыми гигрофильными высокотравьями. На космических снимках (рис. 1) хорошо заметно, что распространение ольшатников повторяет таковое лесов, но на более низких и, соответственно, влажных участках

склонов. Вероятно, кустарниковые сообщества ольховника занимают местообитания, непригодные для существования леса в силу слабой аэрации почвы и ее избыточного увлажнения. В пользу этого предположения говорит и то, что ольшатники часто располагаются в верховьях небольших ложбин стока, занятых гигрофильными высокотравьями или даже осоковыми низинными болотами. В существующих сводках по растительности западного макросклона Кузнецкого Алатау [13, 9] упоминания о подобных сообществах отсутствуют. Однако они коротко упоминаются при характеристике растительности восточного склона Алатау [14] как компонент растительности высокогорно-лугового подпояса, расположенного выше границы леса.

Другой тип кустарниковых зарослей был описан в верховьях р. Черная Уса по краю высокой поймы на контакте со шлейфом коренного склона. Здесь встречаются заросли *Spiraea media* с высокотравным покровом (см. таблицу, оп. 6–10). Спирейники представляют цепь вытянутых участков на протяжении трех километров по долине реки.

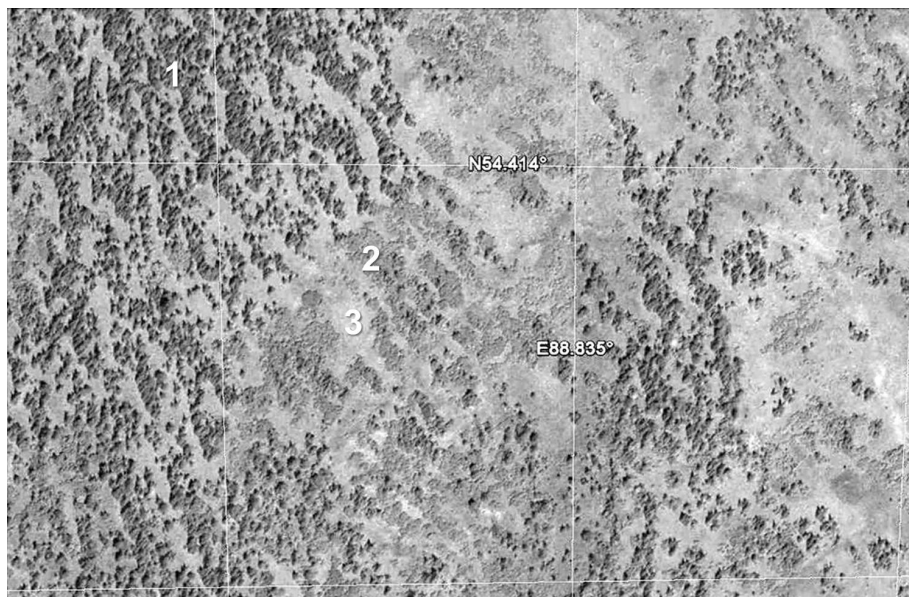


Рис. 1. Фрагмент космического снимка растительного покрова верхней части лесного пояса в верховьях руч. Глухариний (западный макросклон Кузнецкого Алатау): наиболее темные пятна с крупнозернистой текстурой (1) – соответствуют участкам пихтового леса. Серые пятна с зернистой структурой (2) – заросли ольховника. Светло-серый гладкий фон (3) – гигрофильные высокотравья.

[Fig. 1. Fragment of satellite image of the vegetation cover in the upper part of the forest belt in the Gluchariniy creek head (east slope of the Kuznetskiy Alatau): dark spots with macrograin texture (1) - correspond to the fir forest. Gray spots with grain texture (2) - *Dushekia* shrubs. Light-gray smooth areas (3) - hygrophilous tall forbs]

**Ассоциации *Doronico altaici-Duschekietum fruticosae* (I)
и *Filipendulo ulmariae-Spiraetum mediae* (II)
[Associations *Doronico altaici-Duschekietum fruticosae* (I)
and *Filipendulo ulmariae-Spiraetum mediae* (II)]**

Синтаксон [Syntaxon]		I					II					I	II
Крутизна склона, град [Slope inclination, degree]	Ярус [Layer]	8	3	5	–	–	–	–	–	–	5	Постоянство [Constancy]	
Экспозиция склона, град [Slope exposure, degree]		120	170	120	–	–	–	–	–	–	150		
Высота над ур.м., м [Altitude elevation, m]		1215	1123	1219	1128	1138	707	702	701	689	687		
Проективное покрытие (ярус), % [Projective cover (layer), %]:													
кустарниковый [shrub]		80	90	80	80	80	80	80	80	80	80		
травяной [herb]		90	85	85	80	80	75	80	80	75	85		
число видов [number of species]		19	20	22	27	27	29	26	27	28	27		
Номер описания авторский [Author's description number]		L14-186	L14-185	L14-188*	L14-184	L14-189	L14-202	L14-203	L14-204*	L14-205	L14-206		
Табличный [Table]		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Виды древесно-кустарникового яруса [Species of tree and shrub layers]													
<i>Abies sibirica</i>	a1	.	+	.	+	+	.	.	.	.	.	3	–
<i>Ribes atropurpureum</i>	b	.	+	+	+	+	.	.	.	.	.	4	–
<i>Sorbus sibirica</i>	b	.	.	.	+	+	.	.	.	.	.	2	–
<i>Lonicera caerulea</i>	b	.	.	.	+	+	.	.	.	.	.	2	–
<i>Rubus idaeus</i>	b	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	1	–
Д.в. acc. [D.s. of association] <i>Doronico altaici-Duschekietum fruticosae</i>													
<i>Duschekia fruticosa</i>	b	5	5	5	5	5	.	.	.	.	.	5	–
<i>Doronicum altaicum</i> (MA, TC)	c	+	+	+	+	+	.	.	.	.	.	5	–
<i>Dryopteris dilatata</i>	c	+	+	+	1	2	.	.	.	.	.	5	–
<i>Cardamine macrophylla</i> (TC)	c	.	.	+	+	+	.	.	.	.	.	3	–
Д.в. acc. [D.s. of association] <i>Filipendulo ulmariae-Spiraetum mediae</i>													
<i>Spiraea media</i>	b	.	.	.	.	.	5	5	5	5	5	–	5
<i>Filipendula ulmaria</i>	c	.	.	.	.	.	+	+	+	+	+	–	5
<i>Hesperis sibirica</i>	c	.	.	.	.	.	+	+	+	+	+	–	3
<i>Phalaroides arundinacea</i>	c	.	.	.	.	.	.	+	+	+	+	–	3
<i>Conioselinum tataricum</i>	c	.	.	.	.	.	.	+	+	.	+	–	3
Д.в. союза [D.s. of alliance] <i>Trollio asiaticae-Crepidion sibiricae</i> (TC)													
<i>Calamagrostis langsdorffii</i>	c	1	+	2	.	2	+	.	.	.	.	4	1
<i>Caltha palustris</i>	c	+	.	.	.	+	.	.	.	.	.	2	–

Окончание таблицы [Table (end)]

Д.в. союза [D.s. of alliance] <i>Trisetio sibiricae-Aconition septentrionalis</i>													
<i>Aconitum volubile</i>	с	.	.	.	.	.	+	+	+	+	+	+	5
<i>Galium boreale</i>	с	.	.	.	.	.	+	+	+	+	+	+	5
<i>Vicia lilacina</i>	с	.	.	.	.	.	+	+	+	+	+	+	5
Д.в. порядка [D.s. of order] <i>Trollio-Crepidetalia sibiricae</i>													
<i>Cirsium helenioides (MA)</i>	с	+	+	+	+	+	1	+	+	+	+	+	5
<i>Aconitum septentrionale (MA)</i>	с	1	2	1	1	+	+	.	.	+	+	+	3
<i>Anthriscus sylvestris</i>	с	.	.	.	+	+	+	+	+	+	+	+	5
<i>Lamium album</i>	с	.	+	+	+	.	+	+	+	+	+	+	4
<i>Bupleurum aureum (MA)</i>	с	+	+	.	.	.	+	.	+	+	+	+	4
<i>Milium effusum (MA)</i>	с	.	+	.	+	+	+	.	+	.	+	+	3
<i>Senecio nemorensis (MA)</i>	с	+	.	+	+	.	+	+	+	.	.	.	3
<i>Lathyrus gmelinii (MA)</i>	с	+	.	+	.	.	.	+	.	+	+	+	3
<i>Thalictrum minus</i>	с	.	.	.	.	.	+	+	+	+	+	+	5
<i>Polemonium caeruleum (MA)</i>	с	.	.	.	.	.	+	+	+	+	+	+	5
<i>Ranunculus grandifolius</i>	с	.	.	+	.	.	+	.	+	+	+	+	4
<i>Chamaenerion angustifolium</i>	с	.	.	.	.	+	.	.	+	+	+	+	3
<i>Pulmonaria mollis</i>	с	.	.	.	.	.	+	.	+	+	+	+	4
<i>Crepis sibirica</i>	с	.	.	.	.	.	+	+	.	.	+	+	3
Д.в. класса [D.s. of class] <i>Mulgedio-Aconitetea (MA)</i>													
<i>Heracleum dissectum</i>	с	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5
<i>Geranium krylovii</i>	с	+	+	1	+	+	.	+	.	.	+	+	2
<i>Saussurea latifolia</i>	с	1	2	1	2	+	.	.	.	.	.	.	—
<i>Veratrum lobelianum</i>	с	1	+	2	+	+	.	.	.	.	.	.	—
<i>Athyrium distentifolium</i>	с	+	.	+	.	+	.	.	.	.	.	.	—
<i>Primula pallasii</i>	с	.	+	+	+	.	.	.	.	.	.	.	—
<i>Delphinium elatum</i>	с	.	.	.	.	.	.	+	+	.	+	+	—
<i>Solidago dahurica</i>	с	.	.	.	1	1	.	.	.	.	.	.	—
Прочие виды [Other species]													
<i>Poa insignis</i>	с	3	4	3	2	2	2	2	3	3	3	5	5
<i>Trollius asiaticus</i>	с	+	.	+	.	.	+	.	+	+	.	.	3
<i>Urtica dioica</i>	с	.	.	.	.	.	+	+	+	+	+	+	—
<i>Athyrium filix-femina</i>	с	+	+	.	+	+	.	.	.	.	.	.	—
<i>Geum rivale</i>	с	.	.	.	.	.	+	.	+	+	+	+	—
<i>Ranunculus repens</i>	с	.	.	.	.	.	.	+	.	+	+	+	—
<i>Stellaria bungeana</i>	с	.	.	.	+	.	+	+	.	.	.	.	2
<i>Calamagrostis obtusata</i>	с	.	.	.	.	+	.	3	.	+	.	.	2
<i>Adoxa moschatellina</i>	с	.	+	.	+	.	+	.	.	.	.	.	1
<i>Tanacetum vulgare</i>	с	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	—
<i>Dactylis glomerata</i>	с	.	.	.	.	.	.	.	+	+	.	.	—
<i>Oxalis acetosella</i>	с	.	.	.	+	+	.	.	.	.	.	.	—

Единично встречены [Single species]: *Adenophora lilifolia* [c] (6 +), *Allium microdictyon* [c] (3 +), *Angelica decurrens* [c] (5 +), *Angelica sylvestris* [c] (9 +), *Cacalia hastata* [c] (4 +), *Carex altaica* [c] (7 +), *Carex macroura* [c] (6 +), *Elymus caninus* [c] (6 +), *Equisetum pratense* [c] (9 +), *Euphorbia lutescens* [c] (8 +), *Paonia anomala* [c] (7 +), *Rubus saxatilis* [c] (8 +), *Stemmacantha carthamoides* [c] (9 +), *Viola biflora* [c] (2 +).

Локалитеты описаний по табличным номерам (в десятичных градусах по GPS): Кемеровская область, Междуреченский р-н, заповедник «Кузнецкий Алатау», восточный макросклон системы г. Мал. Каным: 1 – 54°23'13,7" с.ш., 88°47'18,9" в.д.;

2 – 54°24'45,9" с.ш., 88°50'32,0" в.д.; 3 – 54°23'12,7" с.ш., 88°47'15,3" в.д.; 4 – 54°24'47,0" с.ш., 88°50'34,6" в.д.; 5 – 54°24'08,5" с.ш., 88°49'14,9" в.д.; Кемеровская область, Междуреченский р-н, заповедник «Кузнецкий Алатау», долина р. Черная Уса, в верховьях: 6 – 54°20'29,5" с.ш., 88°52'26,4" в.д., 7 – 54°20'26,0" с.ш., 88°52'19,3" в.д.; 8 – 54°20'23,7" с.ш., 88°52'12,8" в.д.; 9 – 54°20'10,3" с.ш., 88°51'41,6" в.д.; 10 – 54°20'09,1" с.ш., 88°51'34,8" в.д.

[Locality descriptions according to the table numbers (in decimal degrees by GPS): Kemerovo Oblast, Mezhdurechensk district, "Kuznetskiy Alatau" Nature Reserve, the eastern macroslope of the Maly Kanym: 1 - 54°23'13,7" N, 88°47'18,9" E; 2 - 54°24'45,9" N, 88°50'32,0" E; 3 - 54°23'12,7" N, 88°47'15,3" E; 4 - 54°24'47,0" N, 88°50'34,6" E; 5 - 54°24'08,5" N, 88°49'14,9" E; Kemerovo Oblast, Mezhdurechensk district, "Kuznetskiy Alatau" Nature Reserve, the Black Usa river valley, in the upper reach: 6 - 54°20'29,5" N, 88°52'26,4" E, 7 - 54°20'26,0" N, 88°52'19,3" E; 8 - 54°20'23,7" N, 88°52'12,8" E; 9 - 54°20'10,3" N, 88°51'41,6" E; 10 - 54°20'09,1" N, 88°51'34,8" E

Даты описаний [Description dates]: 13–15.09.2014.

Автор – Лашинский Н.Н. [Author: NN Lashchinskiy]

Примечание. Постоянство видов дано в абсолютных числах. В столбце «Ярус» и в квадратных скобках для единично встреченных видов латинскими буквами обозначены: a1 – ярус древостоя, b – кустарниковый ярус, c – травяно-кустарничковый ярус. Точкой в ячейках таблицы обозначено отсутствие вида, рамкой выделены блоки диагностических видов соответствующих синтаксонов, звездочкой (*) и цветом выделены номенклатурные типы.

[Note. The constancy of species is given in absolute numbers. In the column "Layer" and in square brackets for single species Latin letters denote: a1 - forest stand layer, b - shrub layer, c - herb-dwarf shrub layer. Points in the table cells indicate the absence of species; the frame specifies the blocks of diagnostic species of the corresponding syntaxons; an asterisk (*) and color highlight nomenclature types].

Длина отдельного участка варьирует от 100 до 250 м при ширине 60–80 м. Большинство спирейников расположены на плоской поверхности высокой поймы, но некоторые захватывают нижнюю часть пологих шлейфов склона коренного берега. Сомкнутый кустарниковый ярус монодоминантный, практически одновидовой, высотой 150–160 см, максимальная высота кустов до 2 м. В травяном ярусе хорошо выражено доминирование злаков (*Poa insignis* и *Calamagrostis obtusata*), но его основную массу составляют представители сибирского высокотравья (*Cirsium helenioides*, *Heracleum dissectum*, *Aconitum septentrionale*, *Anthriscus sylvestris* и др.). Характерной особенностью флористического состава этих сообществ является единичное присутствие таких видов, как *Carex macroura* и *Rubus saxatilis*, которые, как и основной доминант кустарникового яруса *Spiraea media*, с высоким постоянством встречаются в подтаежных и лесостепных ландшафтах [15], характеризующихся более напряженным водным режимом по сравнению в климатом лесного пояса западного макросклона Кузнецкого Алатау. В литературе нами не обнаружено описания подобных сообществ. Расположение их вдоль старой дороги, проложенной по долине реки, наталкивает на мысль о возможном антропогенном происхождении спирейников. Однако в связи с организацией заповедника территория была полностью исключена из хозяйственного оборота на протяжении, по меньшей мере, двадцати последних лет. Отсутствие возобновления и подроста древесных видов под пологом кустарников говорит о наличии факторов, препятствующих формированию леса в этих

местообитаниях, и позволяет рассматривать сообщества кустарников как длительно производные. Внешним фактором стабилизации сообществ может служить режим поемности, приводящий к периодическому затоплению местообитаний полыми водами. С другой стороны, галечники, залегающие на небольшой глубине, обеспечивают хороший дренаж местообитаний и снижают водоудерживающую способность почвы. Последнее обстоятельство благоприятно для поселения и разрастания *Spiraea media* и некоторых представителей подтаежной флоры.

Отсутствие в литературе подробной характеристики рассмотренных сообществ позволяет описать их в ранге новых ассоциаций, продромус которых приводится ниже:

Класс **Mulgedio-Aconitetea** Hadac et Klika in Klika et Hadac 1944

Порядок **Trollio-Crepidetalia sibiricae** Guinochet ex Chytry et al. 1993

Союз **Trollio asiaticae-Crepidion sibiricae** Guinochet ex Chytry et al. 1993

Ассоциация **Doronico altaici-Duschekietum fruticosae** ass. nov. hoc loco

Союз **Triseti sibiricae-Aconitum septentrionalis** Ermakov, Shauro et Maltseva 2000

Ассоциация **Filipendulo ulmariae-Spiraeum mediae** ass. nov. hoc loco

По преобладанию в составе травостоя видов сибирского высокотравья, по экологии местообитаний и общему облику сообществ описанные кустарниковые сообщества принадлежат, в соответствии с трактовкой, предложенной Н.Б. Ермаковым [16], к порядку **Trollio-Crepidetalia sibiricae** класса **Mulgedio-Aconitetea** – евросибирских субальпийских и субарктических высокотравных лугов, редколесий и зарослей кустарников.

Сообщества ольховника вблизи верхней границы леса описаны в рамках новой ассоциации **Doronico altaici-Duschekietum fruticosae** (см. таблицу, оп. 1–5). Номенклатурный тип – оп. L14-188 (см. таблицу, № 3). Кемеровская область, Междуреченский р-н, заповедник «Кузнецкий Алатау», восточный макросклон системы г. Мал. Каным (54°23'12,7" с.ш. и 88°47'15,3" в.д., высота 1219 м над ур. м.), пологий (5°) юго-восточный склон. 13.09.2014. Автор – Лашинский Н.Н. Д. в.: *Duschekia fruticosa* (dom.), *Doronicum altaicum*, *Dryopteris dilatata*, *Cardamine macrophylla*. Сообщества ассоциации занимают склоновые местообитания с затрудненным дренажем и избыточно влажными почвами на границе между пихтовыми высокотравными лесами и сообществами гигрофильных высокотравий. По экологии местообитаний и представленности диагностических видов во флористическом составе сообществ ассоциация рассматривается в составе союза **Trollio asiaticae-Crepidion sibiricae** – высокотравных сообществ избыточно переувлажненных местообитаний субальпийского и лесного поясов.

Высокотравные спирейники из высокой поймы р. Черная Уса описаны в составе новой ассоциации **Filipendulo ulmariae-Spiraeum mediae** (см. таблицу, оп. 6–10). Номенклатурный тип – оп. L14-204 (см. таблицу, № 8). Кемеровская область, Междуреченский р-н, заповедник «Кузнецкий Алатау», долина р. Черная Уса в верховьях (54°20'23,7" с.ш. и 88°52'12,8" в.д.,

высота 701 м над ур. м.), плоский участок в высокой пойме. 15.09.2014. Автор – Лащинский Н.Н. Д. в.: *Spiraea media (dom.)*, *Filipendula ulmaria*, *Hesperis sibirica*, *Phalaroides arundinacea*, *Conioselinum tataricum*. Ассоциация рассматривается в составе союза *Trisetum sibiricae-Aconitum septentrionalis* – высокотравных сообществ горно-таежного пояса в гумидном климатическом секторе Алтая и Саян – на основании положения сообществ в лесном поясе западного макросклона Кузнецкого Алатау и присутствия диагностических видов союза. Сообщества встречаются по плоским участкам высокой поймы в окружении кедрово-пихтовых лесов по бортам долины и ивовых зарослей в сочетании с гидрофильнымивейниковыми (с *Calamagrostis langsdorffii*) лугами в пойме реки.

Заключение

В результате детального геоботанического обследования верховий р. Черная Уса в пределах заповедника «Кузнецкий Алатау» были описаны кустарниковые сообщества, редкие и не упоминавшиеся ранее для этой территории. Синтаксономический анализ сделанных описаний позволил выделить две новые ассоциации класса *Mulgedio-Aconitetea*. Сообщества ассоциации *Doronicum altaici-Duschekietum fruticosae* – высокотравных ольшатников верхней части лесного пояса на переувлажненных местообитаниях упоминались ранее для восточного макросклона Алатау без детальной характеристики, а ассоциация *Filipendulo ulmariae-Spiraetum mediae* – высокотравных спирейников в высокой пойме р. Черная Уса приводится впервые. Обе описанные ассоциации являются редкими для всего Кузнецкого Алатау и должны быть предметом охраны на территории заповедника.

Литература

1. Поликарпов Н.П., Чебакова Н.М., Назимова Д.И. Климат и горные леса Южной Сибири. Новосибирск : Наука, 1986. 225 с.
2. Климатологический справочник СССР. Вып. 20, ч. 2 : Атмосферные осадки / под ред. И.В. Путовой. Л. : Гидрометеиздат, 1956. 134 с.
3. Шпинь П.С. Оледенение Кузнецкого Алатау. М. : Наука, 1980. 84 с.
4. Лащинский Н.Н., Демиденко Н.В. Некоторые характеристики снежного покрова в лесном поясе Кузнецкого Алатау // Труды Кемеровского отделения Русского энтомологического общества. 2005. Вып. 3. С. 41–47.
5. Петров Б.Ф. Почвы Кузнецкого Алатау // Тр. научной конференции по изучению и освоению производительных сил Сибири. Томск, 1946. Т. VII. С. 271–305.
6. Трофимов С.С. Экология почв и почвенные ресурсы Кемеровской области. Новосибирск : Наука, 1975. 300 с.
7. Мальцева А.Т. Растительность северной части заповедника // Заповедник «Кузнецкий Алатау». Кемерово : Азия, 1999. С. 101–125.
8. Лапшина Е.Д., Волкова И.И. Березовые криволесья как характерный элемент растительного покрова горных болот Кузнецкого Алатау // Проблемы сохранения биологического разнообразия Южной Сибири. Кемерово, 1997. С. 128–129.
9. Седельников В.П. Флора и растительность высокогорий Кузнецкого Алатау. Новосибирск : Наука, 1979. 168 с.

10. Becking R. The Zürich-Montpellier school of phytosociology // Bot. Rev. 1957. Vol. 23, № 7. P. 411–488.
11. Зверев А.А. Информационные технологии в исследованиях растительного покрова. Томск : Изд-во ТГУ, 2007. 304 с.
12. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб. : Мир и семья-95, 1995. 992 с.
13. Куминова А.В. Растительность Кемеровской области. Ботанико-географическое районирование. Новосибирск : Зап.-Сиб. филиал АН СССР, 1949. 169 с.
14. Куминова А.В., Маскаев Ю.М. Геоботаническое районирование // Растительный покров Хакасии. Новосибирск : Наука, 1976. С. 309–367.
15. Ермаков Н.Б., Королюк А.Ю., Лащинский Н.Н. Флористическая классификация мезофильных травяных лесов Южной Сибири. Препринт. Новосибирск, 1991. 96 с.
16. Ермаков Н.Б. Продромус высших единиц растительности России // Миркин Б.М., Наумова Л.Г. Современное состояние основных концепций науки о растительности. Уфа : Гилем, 2012. С. 377–483.

Поступила в редакцию 21.11.2014 г.; повторно 27.12.2014; принята 15.01.2015 г.

Лащинский Николай Николаевич – д-р биол. наук, гл. н.с. лаборатории геосистемных исследований Центрального Сибирского ботанического сада СО РАН (г. Новосибирск, Россия).

E-mail: nick_lash@mail.ru

Lashchinskiy NN. Rare shrub communities of the forest belt in "Kuznetskiy Alatau" Nature Reserve. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;1(29):56-67. doi: 10.17223/19988591/29/5. In Russian, English summary

Nikolay N. Lashchinskiy

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

Rare shrub communities of the forest belt in "Kuznetskiy Alatau" Nature Reserve

"Kuznetskiy Alatau" Nature Reserve occupies about 400 thousand hectares in the central part of the western macroslope of the submeridional mountain range of the same name. It includes the middle and upper parts of the forest belt and high-mountain belt up to the crest. Climatically, it is an area of hyper humid climate with annual amount of precipitations from 700 up to 2000 mm depending on elevation. Vegetation of the forest belt predominantly consists of coniferous forests with Siberian fir (*Abies sibirica*) as main dominant. Shrub communities in the forest belt occur in small patches in habitats which are not suitable for the forest development. Usually it is willow shrubs on floodplains or low-shrub communities on screes. In the subalpine belt above tree-line shrubs there is one of dominant vegetation types together with tall-herbaceous vegetation. In this case the main dominants are *Betula rotundifolia* and *Salix glauca*. The aim of our work was to describe new original types of shrub communities in the course of geobotanical survey in the Chernaya Usa river basin in the most eastern part of the nature reserve.

We conducted a geobotanical survey in mid-September 2014. Before field work we analyzed satellite images of high resolution (RapidEye) in order to determine areas which are similar by color, brightness and texture. In field we visited all types of areas and described vegetation by standard method. In total, we made 86 full and

short releves. Sampling plots were 25×25 m for a forest and 10×10 m for a shrub and herbaceous vegetation. Besides, we determined such parameters as species coverage, coordinates, elevation, inclination and slope orientation for each plot. We carried out syntaxonomical analysis by IBIS 6.2 program.

We described two types of shrub communities on association level. Their prodromus is: Class *Mulgedio-Aconitetea* Hadac et Klika in Klika et Hadac 1944

Ordung *Trollio-Crepidetalia sibiricae* Guinochet ex Chytry et al. 1993

Alliance *Trollio asiaticae-Crepidion sibiricae* Guinochet ex Chytry et al. 1993

Association *Doronico altaici-Duschekietum fruticosae* ass. nov. hoc loco

Alliance *Trisetio sibiricae-Aconition septentrionalis* Ermakov, Shaulo et Maltseva 2000

Association *Filipendulo ulmariae-Spiraetum mediae* ass. nov. hoc loco

Alder communities with shrubby alder (*Duschekia fruticosa*) occur in the upper part of the forest belt just below the tree-line. The shrub layer is dense and about 4-6 m high. The undergrowth is represented by tall herbaceous summer-green perennials. Their habitats are too wet for the forest development and merged with coniferous forest and tall-herbaceous communities.

Another type occurs in the middle part of the forest belt on the high floodplain of the Chernaya Usa river. The main dominant is *Spiraea media* up to 2 m high. The main limiting factors for the forest development are periodical flood events. Both types are rare and not encountered on this territory before.

The article contains 1 Table, 1 Figure, 16 References.

Key words: forest belt; shrubs; vegetation classification; tall forbs; Alnus shrubs.

References

1. Polikarpov NP, Chebakova NM, Nazimova DI. Klimat i gornye lesa Yuzhnoy Sibiri [Climate and mountain forests of Southern Siberia]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1986. 225 p. In Russian
2. Klimatologicheskii spravochnik SSSR [USSR climate reference book]. Putova IV, editor. Vol. 20. Part 2. Atmosfernye osadki [Precipitations]. Leningrad: Gidrometeoizdat Publ.; 1955. 134 p. In Russian
3. Shpin' PS. Oledenenie Kuznetskogo Alatau [Glaciation of the Kuznetskiy Alatau]. Moscow: Nauka Publ.; 1980. 84 p. In Russian
4. Lashchinskiy NN, Demidenko NV. Nekotorye kharakteristiki snezhnogo pokrova v lesnom poyase Kuznetskogo Alatau [Some characteristics of the snow cover in the forest belt of the Kuznetskiy Alatau]. *Trudy Kemerovskogo otdeleniya Russkogo entomologicheskogo obshchestva*. 2005;3:41-47. In Russian
5. Petrov BF. Pochvy Kuznetskogo Alatau [Soils of the Kuznetskiy Alatau]. *Trydy nauchnoy konferentsii po izucheniyu i osvoeniyu proizvoditel'nykh sil Sibiri* [The investigation and exploration of the productive forces of Siberia. Proc. of the Conf.]. Vol. VII. Tomsk. 1946. pp. 271-305. In Russian
6. Trofimov SS. Ekologiya pochv i pochvennye resursy Kemerovskoy oblasti [Soil ecology and soil resources of Kemerovo Oblast]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1975. 300 p.
7. Mal'tseva AT. Rastitel'nost' severnoy chasti zapovednika [Vegetation of the northern part of the reserve]. In: *Zapovednik "Kuznetskiy Alatau"* ["Kuznetskiy Alatau" Nature Reserve]. Kemerovo: Aziya Publ.; 1999. pp. 101-125. In Russian
8. Lapshina ED, Volkova II. Berezoverye krivoles'ya kak kharakternyy element rastitel'nogo pokrova gornykh bolot Kuznetskogo Alatau [Birch crooked forest as a characteristic element of the vegetation cover of the Kuznetskiy Alatau mountain bogs]. In: *Problemy sokhraneniya biologicheskogo raznoobraziya Yuzhnoy Sibiri* [Problems of conservation of biological diversity in Southern Siberia]. Kemerovo. 1997. pp. 128-129. In Russian

9. Sedel'nikov VP. Flora i rastitel'nost' vysokogoriy Kuznetskogo Alatau [Flora and vegetation of the Kuznetskiy Alatau high mountains]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1979. 168 p. In Russian
10. Becking R. The Zürich-Montpellier school of phytosociology. *Bot. Rev.* 1957;23(7);411-488.
11. Zverev AA. Informatsionnye tekhnologii v issledovaniyakh rastitel'nogo pokrova [Information technologies in studies of vegetation cover]. Tomsk: TSU Publishing House; 2007. 304 p. In Russian
12. Cherepanov SK. Sosudistye rasteniya Rossii i sopredel'nykh gosudarstv (v predelakh byvshego SSSR) [Vascular plants of Russia and adjacent states (the former USSR)]. Saint Petersburg: Mir i sem'ya-95 Publ.; 1995. 992 p. In Russian
13. Kuminova AV. Rastitel'nost' Kemerovskoy oblasti. Botaniko-geograficheskoe rayonirovanie [Vegetation of Kemerovo Oblast. Botanical and geographical zoning]. Novosibirsk: Zap. Sib. filial AN SSSR; 1949. 169 p. In Russian
14. Kuminova AV, Maskaev YuM. Geobotanicheskoe rayonirovanie [Geobotanical zoning]. In: *Rastitel'nyy pokrov Khakasii* [Vegetation cover of Khakassia]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1976. pp. 309-367. In Russian
15. Ermakov NB, Korolyuk AYu, Lashchinskiy NN. Floristicheskaya klassifikatsiya mezofil'nykh travyanykh lesov Yuzhnoy Sibiri [Floristic classification of mesophilic herbal forests in Southern Siberia]. Preprint. Novosibirsk: Tipografiya GPNTB SO RAN; 1991. 96 p. In Russian
16. Ermakov NB. Prodromus vysshikh edinits rastitel'nosti Rossii [Prodromus of higher vegetation units of Russia]. In: *Sovremennoe sostoyanie osnovnykh kontseptsiy nauki o rastitel'nosti* [The current state of vegetation science basic concepts]. Mirkin BM, Naumova LG, editors. Ufa: Gilem Publ.; 2012. pp. 377-483. In Russian

Received 21 November 2014;

Revised 27 December 2014;

Accepted 15 January 2015

Authors info:

Lashchinskiy Nikolay N, Dr. Sci. (Biol.), Laboratory of Geosystem Research, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskaya Str., Novosibirsk 630090, Russian Federation.

E-mail: nick_lash@mail.ru

УДК 581.9(571)

doi: 10.17223/19988591/29/6

В.В. Чепинога

*Институт географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, г. Иркутск, Россия
Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Россия*

Растения-неофиты в гидрофильной флоре Байкальской Сибири

Работа выполнена при частичной поддержке Российского фонда
фундаментальных исследований, грант № 14-04-00771-а

*Для выделения фракций адвентивных растений – археофитов и неофитов – в составе флоры Байкальской Сибири в качестве временного рубежа предлагается использовать середину XIX в. В это время Н.С. Турчаниновым опубликована сводка по флоре Байкало-Даурии. Заносные растения, выявленные позже, следует относить к неофитам. В составе гидрофильной флоры Байкальской Сибири выделена фракция неофитов и проведен ее анализ. 14 гидрофильных видов-неофитов появились в регионе на протяжении последних ста лет в результате непреднамеренного заноса. Инвазивный статус восьми видов зафиксировался в позиции натурализовавшихся. Один вид, *Elodea canadensis*, является инвазивным. Большинство неофитов имеют исходный европейский либо европейско-западносибирский ареал.*

Ключевые слова: адвенты; неофиты; инвазивный статус; гидрофильная флора; Байкальская Сибирь.

Введение

В настоящее время в работах отечественных исследователей наблюдается повышенный интерес к вопросу выявления и изучения адвентивных видов во флорах разных регионов страны [1–6], а также составления списков инвазивных видов, которые включаются в «черные книги» [7–9]. Разграничение местных (индигенных, идиохорных) и адвентивных (заносных) видов является весьма сложной проблемой. К числу адвентивных относятся виды, появление которых во флоре вызвано деятельностью человека. Участие в этом человека может быть активным (интродукция) либо пассивным (случайный занос). Спонтанно расселяющиеся по территории растения, появление которых на соседних территориях было связано с человеком, также относятся к адвентивным. Кроме этого, адвентами являются гибриды, появившиеся в естественной флоре в результате гибридизации с адвентивным видом или между двумя адвентами [10].

Основываясь на времени проникновения заносных растений на исследуемую территорию, адвенты подразделяются на археофиты и неофиты.

В различных регионах временные рамки для их разделения различны. Для Западной и Центральной Европы, как правило, к числу археофитов относят виды, занесенные до открытия Америки. Рубежом в этом случае принят 1500 г. [11]. Виды, занесенные позднее, относят к неофитам (см., напр., [10, 12–14]). Для европейской части России в качестве рубежа принимается период широкого расселения русских с традиционной культурой земледелия: начало XVI в. для Центрального Черноземья [15], середина XVI в. для Вятско-Камского края [16], XVII в. для Среднего Урала [17], начало XVII в. для Зауралья [18].

Для неофитов важным моментом является время появления во флоре. Это важно для оценки инвазивного статуса вида, показывающего сколько времени ему понадобилось, чтобы занять подходящие местообитания и вступить во взаимоотношения с местной флорой [14, 19–20]. Конечно, установление времени проникновения вида во флору напрямую зависит от интенсивности флористических исследований [14].

Целью данной работы является предложение временного рубежа для разграничения археофитов и неофитов во флоре Байкальской Сибири и анализ адвентивной фракции на примере неофитов в составе гидрофильной флоры региона.

Материалы и методики исследования

Байкальская Сибирь (или Предбайкалье и Забайкалье) – это регион на юге Восточной Сибири, объединяющий Иркутскую область, Республику Бурятия и Забайкальский край [21–23]. Флора сосудистых растений Байкальской Сибири составляет не менее 2 858 видов [24], из которых, по данным различных исследователей, от 106 [25] и 186 [21] до 333 видов [26] относятся к адвентивным.

Под гидрофильной флорой понимается совокупность видов растений, жизненный цикл которых полностью или отчасти связан с избыточно увлажненными местообитаниями. В эту выборку вошло 380 видов, что составляет 13,1% флоры региона в целом [27]. Для выявления состава видов и их распространения использованы данные собственных полевых исследований 1994–2012 гг., проводившихся в основном в южной части Байкальской Сибири, материалы основных отечественных гербариев (IRK, IRKU, LE, NSK, TK, UUN), а также литературные источники.

Выделение археофитов должно основываться на палеоботанических и археологических материалах, документально подтверждающих историю заноса и отражающих длительное существование рядом с человеком. Подобными материалами для территории Байкальской Сибири мы не располагаем. Это тема отдельного специального исследования; к тому же анализ состава археофитов должен решать свои специфические задачи. Сейчас же представляется более интересным проанализировать состав неофитов, поскольку именно эта

фракция определяет современные тенденции изменения состава флоры региона, вызванные деятельностью человека.

В качестве рубежа для разделения археофитов и неофитов в Байкальской Сибири предлагаю взять середину XIX в., когда Н.С. Турчаниновым была опубликована его обширная флористическая сводка по Байкало-Даурии [28–29]. Сводка достаточно полная. Она включает 1 402 пронумерованных вида и ряд нenumерованных разновидностей, принимаемых на сегодняшний день в ранге видов. Территория, где работал Н.С. Турчанинов, соответствует южной, наиболее освоенной и заселенной человеком части Байкальской Сибири.

В первой половине XIX в. заселение территории Байкальской Сибири все еще имело постепенный и немассовый характер. Даже в 1880-х гг. число переселенцев в Иркутскую губернию было очень небольшим. К примеру, за 4 года, с 1885 по 1888 г., сюда переселилось только 115 человек, тогда как в Енисейскую губернию за этот же период прибыло 6 037 человек [30]. Активизация прироста населения и хозяйственного использования территории Байкальской Сибири связана со строительством Транссибирской железнодорожной магистрали в конце XIX – начале XX в.

Исследование Байкало-Даурии Н.С. Турчанинов начал в 1828 г. по прибытии в Иркутск в должности «ученого путешественника между Алтаем и Восточным Океаном при Петербургском Ботаническом саде» [31]. Последующие пять лет были наиболее активными и плодотворными в работе Турчанинова. Был осуществлен ряд продолжительных и сложных экспедиций по региону, где собрано порядка 60 000 листов гербария [31].

Сводка Н.С. Турчанинова фиксирует флористическую ситуацию перед активизацией заселения и, соответственно, на момент интенсификации антропогенного влияния и заноса новых видов растений в регион, что вполне соответствует цели установки рубежа между археофитами и неофитами.

При определении статуса адвентивных видов учтено прохождение ими трех этапов процесса инвазии: занесение – натурализация – инвазивный континуум [32–35]. В соответствии с этим выделяют виды: 1) случайные, или нерегулярные (*casual*), т.е. не образующие устойчивых популяций на новой территории; 2) натурализовавшиеся (*naturalized*) – образуют устойчивые популяции на протяжении нескольких жизненных циклов без участия со стороны человека или несмотря на вмешательство человека; 3) инвазивные (*invasive*) – подгруппа натурализовавшихся видов, образующих устойчивые популяции на протяжении многих жизненных циклов, дающих плодовитое потомство, часто в большом количестве, которое способно распространяться на дальние расстояния.

По дате первого сбора определен год проникновения того или иного вида на территорию региона [14]. Определен путь проникновения: «d» – имеет место (также или только) преднамеренный (*deliberate*) занос или «a» – случайный (*accidental*), непреднамеренный занос. Для указания происхождения адвентов определен их исходный ареал до уровня континентов либо их крупных частей (в случае Азиатского субконтинента).

Для характеристики распространения видов на территории Байкальской Сибири использовано региональное деление, разработанное для характеристики распространения растений [23], где **АН, ПР, СЕ, ЮЖ, ШИ** соответствуют районам «Флоры Сибири» [36], а **Пз, Пю, Пв, Пс, Сб, Нб, Нв, Бю, Дя, Да, До, Дю** – районам «Флоры Центральной Сибири» [37]. Если вид известен более чем из трех местонахождений района, источники данных не указываются.

Результаты исследования и обсуждение

Некоторые из видов гидрофильной флоры Байкальской Сибири, отнесенные ранее к числу адвентивных [38], принадлежат к индигенной флоре (апофиты?) либо, если их заносная природа будет доказана, к адвентам-археофитам. Это такие виды, как *Acorus calamus* L., *Bidens radiatus* Thuill., *B. tripartitus* L., *Carex bohémica* Schreb., *Catabrosa aquatica* (L.) P. Beauv., *Lycopus lucidus* Turcz. ex Benth., *Potamogeton crispus* L., *Rorippa brachycarpa* (С.А. Мей.) Hayek, *Stellaria uliginosa* Murray.

Неофиты в гидрофильной флоре региона представлены 14 видами, что составляет лишь 3,7% всей гидрофильной выборки.

Семейство Typhaceae Juss.

1. *Typha laxmannii* Lepesch. По берегам степных озер и мелких водоемов, заболоченным поймам рек, берегам карьерных озер.

Иркутская обл. **АН:** Пз – 1 (с. Старый Акульшет, г. Тайшет [38]), 2 (залив Тубинский (Усть-Илимское водохр.) [39]); Пю – 5; Сс – 10 (р. Жидой в окр. с. Тальяны [38]). **ПР:** Пв – 11 (с. Верхоленск [40]), 12 (с. Казачинское [41]; пос. Магистральный [42]). Республика Бурятия. **СЕ:** Нб – 27 (с.: Баргузин [Баргузинск], Душелан [43]). **ЮЖ:** Бю – 32. Забайкальский кр. **ШИ:** Дя – 40; Да – 41, 42; До – 43 (с. Гавань [44]), 44, 45; Дю – 46.

В Бурятии и Забайкальском крае *T. laxmannii* является индигенным видом, где встречается по побережьям степных озер. В Иркутской обл. это вид заносный, встречающийся почти исключительно по нарушенным и искусственным водоемам. В настоящее время на юге области это достаточно обычное растение.

Семейство Hydrocharitaceae Juss.

2. *Elodea canadensis* Michx. В озерах, прудах, водохранилищах, реках.

Иркутская обл. **АН:** Пз – 2 (Усть-Илимское водохр. [39]); Пю – 4, 5; Сб – 7, 8. **ПР:** Пв – 11 (с.: Верхоленск, Пономарева [42]), 12 (р. Озерная, оз. Ближнее, с. Конец Луг [42]); Нб – 15 (мыс Покойники [45]). Республика Бурятия. **СЕ:** Нб – 22, 24, 26. **ЮЖ:** Сб – 30 (старица у р. Мишиха близ устья [46]); 31; Бю – 32; Нв – 33 (оз. Бол. Еравное [47]). Забайкальский кр. **ШИ:** Дя – 40 (оз. Кенон [48]).

Широко распространившийся и натурализовавшийся во многих районах Байкальской Сибири инвазивный вид [42].

Семейство Poaceae Barnhart

3. *Glyceria fluitans* (L.) R. Br. По берегам водоемов, на болотистых лугах. Иркутская обл. **АН:** Пю – 5 (р. Олха (близ г. Иркутск) [49]).

Европейский вид, единичные находения в Сибири трактуются как заносные [49–50]. В Байкальской Сибири единственный раз этот вид собирал Огладин в 1911 г. (LE!). По свидетельству М.Г. Попова, это плохой и неполный экземпляр [49]. Возможно, растение относится к другому виду – *G. plicata* [51].

4. *Glyceria plicata* (Fries) Fries. По берегам водоемов, в придорожных канавах. Республика Бурятия. **ЮЖ:** Сб – 30 (р. Осиновка у ст. Танхой [52]).

Натурализовался в месте заноса. На других речках предгорий Хамар-Дабана, кроме Осиновки Танхойской, не известен.

Семейство Juncaceae Juss.

5. *Juncus tenuis* Willd. На лесных дорогах, по берегам водоемов.

Иркутская обл. **АН:** Сб – 8 (ст. Мурино [53]). **ПР:** Пв – 11 (м/у с. Голоновка и с. Тутура [8]). Республика Бурятия. **СЕ:** Нб – 27 (с. Улонхан (Баргузинский р-н) [53]). **ЮЖ:** Бю – 32 (г. Улан-Удэ [54]).

Семейство Polygonaceae Juss.

6. *Persicaria foliosa* (Lindb. fil.) Kitag. По берегам водоемов, на отмелях. Забайкальский кр. **ШИ:** Дя – 40 (окр. с. Дровяная [55]).

Семейство Brassicaceae Burnett

7. *Rorippa* × *armoracioides* (Tausch) Fuss [*R. austriaca* (Crantz) Besser × *R. sylvestris* (L.) Besser, *R. anceps* auct. non (Wahlenb.) Rchb.] По берегам рек, галечникам, в придорожных канавах, по обочинам дорог и на сорных местах.

Иркутская обл. **ПР:** Пс – 14 (р. Черепаниха [56]; с. Алимовка (Алымовка) [57–58]).

Гербарный лист «*R. anceps*», хранящийся в Ботаническом институте РАН (Иркутская обл., Киренский р-н, р. Лена, пойменная терраса выше с. Алимовка. 23 VII 1951, Л.И. Номоконов; LE!), переопределен в 1971 г. Б. Йонселом (Bengt Jonsell) как «*R. austriaca* (Crantz) Besser × *R. sylvestris* (L.) Besser» и, по свидетельству А.Л. Эбеля [57], принадлежит *R. × armoracioides* [38].

8. *Rorippa austriaca* (Crantz) Besser. На влажных местах, лугах, по берегам рек и озер. В Байкальской Сибири обнаружен на железнодорожных путях, что также характерно для вида [57].

Иркутская обл. **АН:** Пю – 5 (окр. г. Иркутск [25]).

9. *Rorippa sylvestris* (L.) Besser. На влажных местах по берегам рек, в придорожных канавах и лужах.

Республика Бурятия. **СЕ:** Нб – 27 (м/у с. Адамово и пос. Усть-Баргузин [57]).

Семейство Lythraceae J. St.-Hil.

10. *Lythrum salicaria* L. По берегам водоемов и придорожных канав.

Иркутская обл. **АН:** Пю – 5 (г. Иркутск [59]).

11. *Lythrum virgatum* L. По сырым берегам озер и ручьев.

Иркутская обл. **АН:** Пю – 5 (с. Олха, ст. Летняя (Шелеховский р-н) [60]).

Семейство Lamiaceae Martinov

12. *Lyscopus exaltatus* L. fil. В поймах рек, на болотах, лугах, опушках лесов. Республика Бурятия. **СЕ:** Нб – 26 (п-ов Святой Нос [61–62]). Забайкальский кр. **ШИ:** До – 44 (оз. Ножий (Ножей) [66]).

L. exaltatus – евросибирский вид, ареал которого на восток доходит до р. Енисей. Местонахождение «оз. Ножей» приводилось для территории Бурятии (**СЕ:** [63]), что является очевидной ошибкой и относится к оз. Ножий на юге Забайкальского кр. Местонахождение на п-ове Святой Нос О.А. Аненхонов и Т.Д. Пыхалова [62] приводят по работе А.С. Краснопевцевой с соавт. [61]. Подтверждающий гербарий этой находки не известен и нахождение *L. exaltatus* на полуострове сомнительно.

13. *Stachys palustris* L. По берегам рек и озер, на полях, залежах, огородах. Иркутская обл. **АН:** Пз – 1, 2; Пю – 4 (с. Лохово [60]), 5; Сб – 7 (с. Бол. Коты [64–65]), 8 (ст. Мурино [66]). Республика Бурятия. **ЮЖ:** Сб – 29 (окр. с. Шимки – IRKU).

Семейство Asteraceae Bercht. et J. Presl

Согласно статье 62.2 Международного кодекса ботанической номенклатуры для названия *Bidens* следует считать правильным мужской род [67]. В соответствии с этим изменены окончания видовых эпитетов.

14. *Bidens cernuus* L. По болотистым лугам, берегам загрязненных водоемов и придорожных канав.

Иркутская обл. **АН:** Пю – 4, 5; Сс – 9 (р. Горхон [68]). Республика Бурятия. **СЕ:** Нб – 26 (оз. Арангагуй [62]). **ЮЖ:** Сб – 30 (р. Бол. Ивановка, ст. Ключевка [69]).

По мнению М.Г. Попова [64], указание Н.С. Турчанинова [29. Р. 33], а в последствии и П.Н. Крылова [70. Р. 2719] *B. cernuus* для района Иркутска, в действительности относится к *B. radiatus* (по Попову – к *B. tripartitus*, см. ниже). Поэтому *B. cernuus* следует считать неофитом, достоверно появившимся в регионе лишь в 1952 г. [64. С. 723]. В настоящее время *B. cernuus* встречается в Южном Прибайкалье достаточно часто.

Следует сразу прояснить ситуацию с двумя другими видами рода флоры региона. *B. radiatus* Thuill. и *B. tripartitus* L., очевидно, являются местными видами-апофитами (или археофитами?), распространенными в регионе уже в середине XIX в. [29]. Оба вида весьма близки и долгое время смешивались. Н.С. Турчанинов [29] и М.Г. Попов [64] считали *B. tripartitus* наиболее обычным в Байкальской (Средней) Сибири видом рода *Bidens*. Начиная со сводки «Флора Центральной Сибири» [37], понимание указанных двух видов критически пересмотрено и в разряд обычных перешел *B. radiatus*, тогда как *B. tripartitus* стал «встречающимся sporadically». Очевидно, между популяциями вида имеет место гибридизация. Для гибридов *B. radiatus* и *B. tripartitus* существует биномиальное название *B. × polakii* Velen. [1882, Sitzungsber. Königl. Böhm. Ges. Wiss. Prag: 256].

Все неофиты, относящиеся к гидрофильной флоре региона, попали в Байкальскую Сибирь в результате непреднамеренного заноса (таблица).

В Иркутской области обнаружено десять видов, семь видов – в Бурятии и только три вида – в Забайкальском крае. *Typha laxmannii* является заносным лишь для территории Иркутской области.

Неофиты в гидрофильной флоре Байкальской Сибири
[Neophyte plant species in hydrophilous flora of Baikal Siberia]

№	Виды [Species]	Инвазив- ный статус [Invasive status]			Время проник- новения [Residence time]	Путь проник- новения [Mode of intro- duction]	Исходный ареал [Geo- graphic origin]	Источники [Sources]
		ИО	РБ	ЗК				
1	<i>Typha laxmannii</i>	nat	М	М	1982	а	ЦАз	ИО [41]
2	<i>Elodea canadensis</i>	inv	inv	inv	1960-ые	а	САм	ИО [71]; РБ [72]; ЗК [48]
3	<i>Glyceria fluitans</i>	cas			1911	а	Евр	[49]
4	<i>Glyceria plicata</i>		nat		1973	а	Евр	[52]
5	<i>Juncus tenuis</i>	nat	nat		1910	а	САм	ИО [8]; РБ*
6	<i>Persicaria foliosa</i>			nat	2007	а	Евр	[55]
7	<i>Rorippa ×armoracioides</i>	cas			~1951	а	Евр	[57]
8	<i>Rorippa austriaca</i>	cas			1984	а	Евр	[25]
9	<i>Rorippa sylvestris</i>		cas		1947	а	Евр	[57]
10	<i>Lythrum salicaria</i>	nat			1992	а	Евр	[59]
11	<i>Lythrum virgatum</i>	nat			2004	а	Евр-ЗСиб	[60]
12	<i>Lycopus exaltatus</i>		cas	cas	?	а	Евр-ЗСиб	ЗК [63]; РБ [61]
13	<i>Stachys palustris</i>	nat	nat		1952	а	Евр-ЗСиб	ИО [64]; РБ**
14	<i>Bidens cernuus</i>	nat	nat		1952	а	Евр-ЗСиб	[64]

Примечание. Инвазивный статус: cas – нерегулярный (casual), nat – натурализовавшийся (naturalized), inv – инвазивный (invasive); М – местный вид / indigenous species. ИО – Иркутская область, РБ – Республика Бурятия, ЗК – Забайкальский край. **Время проникновения:** год, когда вид был впервые обнаружен в регионе. **Путь проникновения:** d – имеет место (также или только) преднамеренный (deliberate) занос, а – случайный (accidental), непреднамеренный занос. **Исходный ареал:** ЦАз – Центральная Азия, САм – Северная Америка, Евр – Европа, Евр-ЗСиб – Европа и Западная Сибирь. * – окр. г. Улан-Удэ, дол. р. Березовки, луг, 27.06.1969, Е. Мирошниченко (NSK!); ** – окр. пос. Выдрино, в огороде, 18.08.1973, А. Киселева, Н. Власова, № 1952 (NSK!).

[Note. **Invasive status:** cas - casual, nat - naturalized, inv - invasive; М - indigenous species. ИО - Irkutsk Oblast', РБ - Republic of Buryatia, ЗК - Zabaikalskii Krai. **Residence time:** the year of the first record in Baikal Siberia. **Mode of introduction:** d - deliberate, a - accidental. **Geographic origin:** ЦАз - Central Asia, САм - Northern America, Евр - Europe, Евр-ЗСиб - Europe and Western Siberia. * - vicinity of Ulan-Ude city, river valley of the Beresovka River, meadow, 27.06.1969, E. Miroshnichenko (NSK!); ** - vicinity of Vydrino village, in garden, 18.08.1973, A. Kiseleva, N. Vlasova, № 1952 (NSK!).]

Для всех неофитов, кроме одного (не найден образец *Лycopus exaltatus*), известно точное либо примерное появление в регионе (см. таблицу). Динамика появления неофитов гидрофильной составляющей флоры достаточно стабильна на протяжении последних 100 лет (рис. 1). Каждое десятилетие

в среднем появлялось 1–2 вида. В 1950-е гг. в результате инвентаризации флоры, проведенной М.Г. Поповым, было обнаружено сразу три вида. По-видимому, некоторые из заносных растений появились в регионе существенно раньше, но просто не привлекали внимание работавших здесь немногочисленных исследователей. В последнее время наблюдается увеличение интенсивности заноса адвентивных растений в регионе [73], однако в составе гидрофильной флоры такой тенденции пока не видно.

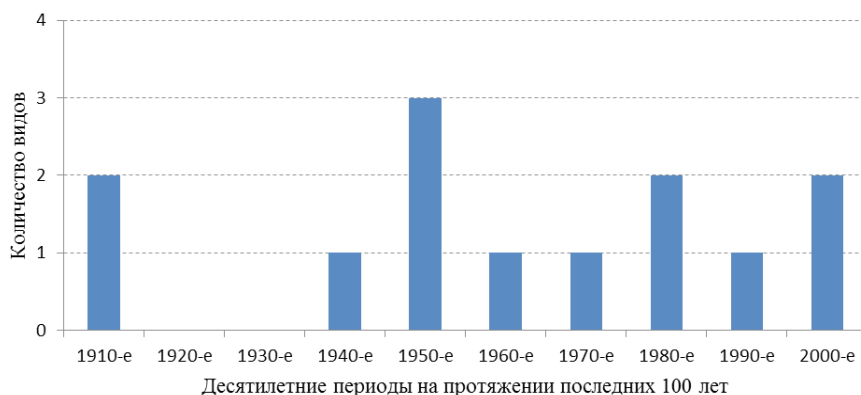


Рис. 1. Динамика появления неофитов в гидрофильной флоре Байкальской Сибири
[Fig. 1. Progress in introduction of neophytes in hydrophilous flora of Baikal Siberia
(on the abscissa axis - Decades, on the ordinate axis - Number of species)]

Инвазивный статус у большинства неофитов (8 из 14) зафиксировался на позиции «натурализовавшийся вид». Один вид (*Elodea canadensis*) является инвазивным. Он успешно размножается вегетативно и продолжает экспансию территории Байкальской Сибири [42]. Пять видов относятся к нерегулярно встречающимся (casual) – известны из одной-двух точек и после обнаружения более не собирались: *Glyceria fluitans*, *Lycopus exaltatus*, виды рода *Rorippa*.

Большинство неофитов имеют исходно европейский либо европейско-западносибирский ареал. Они сложены как случайными, так и натурализовавшимися растениями. Единственный центральноазиатский вид *Typha laxmannii* в Забайкалье является индигенным. Североамериканские адвенты представлены двумя видами – инвазивным *Elodea canadensis* и натурализовавшимся *Juncus tenuis*.

Заключение

Таким образом, первая сводка по флоре Байкало-Даурии, изданная Н.С. Турчаниновым в 1842–1856 гг., характеризует флору Байкальской Сибири до активизации заселения региона переселенцами. Поэтому середину XIX в. можно принять в качестве рубежа для разделения заносных растений на фракции археофитов и неофитов. Это позволит более четко выделить группу неофитов, анализ которой призван выявить современные тенденции

изменений состава флоры в условиях продолжающегося усиления антропогенного влияния на растительный покров.

Автор благодарен А.Л. Эбелю (г. Томск) за дополнительную информацию о некоторых заносных растениях.

Литература

1. Григорьевская А.Я., Стародубцева Е.А., Хлызова Н.Ю., Агафонов В.А. Адвентивная флора Воронежской области: исторический, биогеографический, экологический аспекты. Воронеж : Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2004. 319 с.
2. Чепинога В.В., Верховина А.В. К флоре эргазеофитов Иркутской области // Материалы к флоре Байкальской Сибири. Иркутск: Изд-во Иркут. ун-та, 2007. Вып. 1. С. 161–172.
3. Верховина А.В. Адвентивная флора северо-восточного Присаянья и ее анализ // Сиб. экол. журн. 2008. Т. 15, № 2. С. 273–280.
4. Бялт В.В. Адвентивные виды в семействе Crassulaceae // Рос. журн. биол. инвазий. 2011. № 2. С. 28–34.
5. Третьякова А.С. Инвазионный потенциал адвентивных видов Среднего Урала // Рос. журн. биол. инвазий. 2011. № 3. С. 62–69.
6. Lysenko D.S. Naturalization of adventive plants in Magadan region // Рос. журн. биол. инвазий. 2011. № 1. С. 60–64.
7. Виноградова Ю.К., Майоров С.Р., Нотов А.А. Черная книга флоры Тверской области: чужеродные виды растений в экосистемах Тверского региона. М. : КМК, 2011. 292 с.
8. Виноградова Ю.К., Майоров С.Р., Хорун Л.В. Черная книга флоры Средней России: Чужеродные виды растений в экосистемах Средней России. М. : ГЕОС, 2010. 512 с.
9. Нотов А.А., Виноградова Ю.К., Майоров С.Р. О проблеме разработки и ведения региональных черных книг // Рос. журн. биол. инвазий. 2010. № 4. С. 54–68.
10. Pyšek P., Richardson D.M., Rejmánek M., Webster G., Williamson M., Kirschner J. Alien plants in checklists and floras: towards better communication between taxonomists and ecologists // Taxon. 2004. Vol. 53. P. 131–143.
11. Schroeder F.-G. Zur Klassifizierung der Antropochoren // Vegetatio. 1969. Bd. 16, No 5/6. S. 225–238.
12. Holub J., Jirásek V. Zur Vereinheitlichung der Terminologie in der Phytogeographie // Folia Geobot. Phytotax. 1967. Vol. 2. P. 69–113.
13. Pyšek P., Danihelka J., Sádlo J., Chrtek J. jun., Chytrý M., Jarošík V., Kaplan Z., Krauholec F., Moravcová L., Pergl J., Štajerová K., Tichý L. Catalogue of alien plants of the Czech Republic (Ed. 2): checklist update, taxonomic diversity and invasion patterns // Preslia. 2012. Vol. 84. P. 155–255.
14. Pyšek P., Sádlo J., Mandák B. Catalogue of alien plants of the Czech Republic // Preslia. 2002. Vol. 74. P. 97–186.
15. Игнатов М.С., Макаров В.В., Чичев А.В. Конспект флоры адвентивных растений Московской области // Флористические исследования в Московской области. М. : Наука, 1990. С. 5–105.
16. Третьяков Д.И. Роль синантропного компонента в формировании флоры Белоруссии : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Минск, 1990. 20 с.
17. Третьякова А.С., Мухин В.А. Синантропная флора Среднего Урала. Екатеринбург : Изд-во «Екатеринбург», 2001. 148 с.
18. Науменко Н.И. Адвентивный компонент флоры Южного Зауралья // Вестн. Удмурт. ун-та. Серия 6: Биология. 2005. № 10. С. 3–16.

19. Winter M., Schweiger O., Klotz S., Nentwig W., Andriopoulos P., Arianoutsou M., Basnou C., Delipetrou P., Didžiulis V., Hejda M., Hulme P.E., Lambdon P.W., Pergl J., Pyšek P., Roy D.B., Kühn I. Plant extinctions and introductions lead to phylogenetic and taxonomic homogenization of the European flora // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. Vol. 106. P. 21721–21725. DOI: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.09070
20. Gassó N., Pyšek P., Vilà M., Williamson M. Spreading to a limit: the time required for a neophyte to reach its maximum range // Divers. & Distr. 2010. Vol. 16. P. 310–311. DOI: [10.1111/j.1472-4642.2010.00647.x](http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-4642.2010.00647.x)
21. Малышев Л.И., Пешикова Г.А. Особенности и генезис флоры Сибири. Предбайкалье и Забайкалье. Новосибирск : Наука, 1984. 265 с.
22. Пешикова Г.А. Растительность Сибири: Предбайкалье и Забайкалье. Новосибирск : Наука, 1985. 145 с.
23. Чепинога В.В. Рабочее районирование территории Байкальской Сибири для характеристики распространения сосудистых растений // Изв. ИГУ. Сер. Биология. Экология. 2009. Т. 2, № 2. С. 3–7.
24. Флора Байкальской Сибири 2010+ : информационная система / сост. В.В. Чепинога и др. Иркутск. URL: <http://www.flora.baikal.ru> (дата обращения: 09.11.2014).
25. Киселева А.А. Находки заносных видов во флоре Центральной Сибири и Красноярского края // Бот. журн. 1988. Т. 73, № 12. С. 1760–1761.
26. Верхозина А.В., Чепинога В.В. Адвентивная фракция флоры Байкальской Сибири // Проблемы изучения растительного покрова Сибири : материалы III Междунар. конф., посвящ. 120-летию Гербария им. П.Н. Крылова Томского гос. ун-та. Томск : Изд-во Том. ун-та, 2005. С. 59–60.
27. Чепинога В.В. Флора и растительность водоемов и водотоков юга Восточной Сибири : дис. ... д-ра биол. наук. Иркутск, 2013. 467 с.
28. Turczaninow N.S. Flora baicalensi-dahurica seu descriptio plantarum in regionibus cis et transbaicalensibus atque in Dahurica sponte nascetium. Moscow, 1842–1845. Vol. I. P. 1–544.
29. Turczaninow N.S. Flora baicalensi-dahurica seu descriptio plantarum in regionibus cis et transbaicalensibus atque in Dahurica sponte nascetium. Moscow, 1856. Vol. II. P. 1–436, 1–374.
30. Шободоева А.В. Во власти истории: Евгений Шободоев. Сборник статей и публикаций. Иркутск : Оттиск, 2009. 340 с.
31. Камелин Р.В., Сытин А.К. Николай Степанович Турчанинов, русский ботаник // Вестн. РАН. 1997. Т. 67, № 5. С. 439–443.
32. Blackburn T.M., Pyšek P., Bacher S., Carlton J.T., Duncan R.P., Jarošík V., Wilson J.R.U., Richardson D.M. A proposed unified framework for biological invasions // Trends Ecol. Evol. 2011. Vol. 26. P. 333–339. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2011.03.023>
33. Richardson D.M., Pyšek P. Plant invasions: merging the concepts of species invasiveness and community invisibility // Progr. Phys. Geogr. 2006. Vol. 30. P. 409–431. DOI: [10.1191/0309133306pp490pr](http://dx.doi.org/10.1191/0309133306pp490pr)
34. Richardson D.M., Pyšek P., Carlton J.T. A compendium of essential concepts and terminology in biological invasions // Fifty years of invasion ecology: the legacy of Charles Elton. Oxford: Blackwell Publishing, 2011. P. 409–420.
35. Richardson D.M., Pyšek P., Rejmánek M., Barbour M.G., Panetta F.D., West C.J. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions // Diversity & Distrib. 2000. Vol. 6. P. 93–107. DOI: [10.1046/j.1472-4642.2000.00083.x](http://dx.doi.org/10.1046/j.1472-4642.2000.00083.x)
36. Флора Сибири : в 14 т. Новосибирск : Наука, 1987–2003.
37. Флора Центральной Сибири : в 2 т. Новосибирск : Наука, 1979. 1048 с.
38. Чепинога В.В., Степанцова Н.В., Гребенюк А.В., Верхозина А.В., Виньковская О.П., Гнутиков А.А., Дулепова Н.А., Енуиценко И.В., Зарубин А.М., Казановский С.Г., Коновалов А.С.,

- Коробков А.А., Луферов А.Н., Росбах С.А. Конспект флоры Иркутской области (сосудистые растения) / ред. Л.И. Малышева. Иркутск : Изд-во Иркут. гос. ун-та, 2008. 328 с.
39. Ефимов Д.Ю. Флора экосистем Усть-Илимского водохранилища. Новосибирск : Гео, 2011. 166 с.
40. Зарубин А.М., Иванова М.М., Ляхова И.Г., Барицкая В.А., Ивельская В.И. Флористические находки в Прибайкалье // Бот. журн. 1993. Т. 78, № 8. С. 93–101.
41. Киселева А.А. Дополнение к флоре Казачинско-Ленского района Иркутской области // Изв. СО АН СССР. Сер. биол. наук. 1984. Вып. 2, № 13. С. 19–22.
42. Чепинога В.В., Дементьева М.К., Лиштва А.В. Флористические находки в верхнем течении бассейна реки Лены (Иркутская область) Сибири // Изв. ИГУ. Сер. Биология. Экология. 2013. Т. 6, № 1. С. 102–109.
43. Красноборов И.М., Короткова Е.И. Семейство Turpaseae – Розговые // Флора Сибири. Т. 1 : Lycopodiaceae – Hydrocharitaceae. Новосибирск : Наука, 1988. С. 86–88.
44. Галанин А.В., Беликович А.В., Храпко О.В. Флора Даурии. Владивосток : Дальнаука, 2008. Т. 1. 184 с.
45. Степанцова Н.В. Водная флора и растительность залива Покойники (Байкало-Ленский заповедник) // Тр. гос. природ. заповед. «Байкало-Ленский». Иркутск, 2001. Вып. 2. С. 21–23.
46. Абрамова Л.А., Волкова П.А. Сосудистые растения Байкальского заповедника. Аннотированный список видов. М. : Добросвет, 2011. 112 с.
47. Майстренко С.Г., Неронов Ю.В. Североамериканское водное растение элодея канадская (*Eloдея canadensis* Michaux) в бассейне озера Байкал // Материалы 2-го Междунар. симп. «Экологически эквивалентные и экзотические виды гидробионтов в великих и больших озерах мира». Улан-Удэ : Изд-во БНЦ СО РАН, 2002. С. 82–83.
48. Базарова Б.Б., Пронин Н.М. *Eloдея canadensis* Michaux на границе мирового водораздела Ледовитого и Тихого океанов // Рос. журн. биол. инвазий. 2010. № 3. С. 2–12.
49. Попов М.Г. Флора Средней Сибири. М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1957. Т. 1. 556 с.
50. Цвелев Н.Н. Злаки СССР. Л. : Наука, 1976. 788 с.
51. Пешкова Г.А. Семейство Poaceae, или Gramineae – Мятликовые, или Злаки // Флора Центральной Сибири. Новосибирск : Наука, 1979. Т. 1. С. 69–139.
52. Васильченко З.А., Иванова М.М., Киселева А.А. Обзор видов высших растений Байкальского заповедника // Флора Прибайкалья. Новосибирск : Наука, 1978. С. 49–114.
53. Ковтонюк Н.К. Семейство Juncaceae – Ситниковые // Флора Сибири. Т. 4 : Agaceae – Orchidaceae. Новосибирск : Наука, 1987. С. 16–43.
54. Суткин А.В. Урбанофлора города Улан-Удэ. Улан-Удэ : Изд-во БНЦ СО РАН, 2010. 142 с.
55. Чепинога В.В., Росбах С.А., Паздникова Н.М., Коновалов А.С., Любогощинский П.И., Исайкина М.М. Флористические находки в Забайкалье // Бюл. МОИП. Отд. биол. 2011. Т. 116, вып. 3. С. 73–76.
56. Доронькин В.М. *Rorippa* Scop. – Жерушник // Флора Сибири. Т. 7 : Berberidaceae – Grossulariaceae. Новосибирск : Наука, 1994. С. 73–76.
57. Эбель А.Л. К распространению видов рода *Rorippa* Scop. (Brassicaceae) в Сибири // Krylovia. 2000. Т. 2, № 1. С. 81–86.
58. Байков К.С. Семейство Brassicaceae – Крестоцветные // Конспект флоры Сибири: Сосудистые растения. Новосибирск : Наука, 2005. С. 89–103.
59. Зарубин А.М., Иванова М.М., Ляхова И.Г. Новые данные о распространении сосудистых растений в Центральной Сибири // Проблемы экологии, биоразнообразия и охраны природных экосистем Прибайкалья. Иркутск, 2000. С. 46–57.
60. Зарубин А.М., Чепинога В.В., Верхозина А.В., Барицкая В.А., Прудникова А.Ю. Новые данные по адвентивным растениям в Байкальской Сибири // Материалы к флоре Байкальской Сибири. Иркутск : Изд-во Иркут. ун-та, 2007. Вып. 1. С. 130–140.

61. Краснопецева А.С., Мартусова Е.Г., Краснопецева В.М. Флористические находки с нижней оконечности п-ва Святой Нос (Забайкальский природный национальный парк) // Матер. Всерос. конф., посвящ. памяти А.С. Рожкова «Природная и антропогенная динамика наземных экосистем». Иркутск : Изд-во Иркут. гос. тех. ун-та, 2005. С. 96–97.
62. Аненхонов О.А., Пыхалова Т.Д. Конспект флоры сосудистых растений Забайкальского национального парка. Улан-Удэ : Изд-во БНЦ СО РАН, 2010. 228 с.
63. Доронькин В.М. *Lycopus* L. – Зюзник // Флора Сибири. Т. 11 : Rutolaceae – Lamiaceae (Labiatae). Новосибирск : Наука, 1997. С. 221–222.
64. Попов М.Г. Флора Средней Сибири. М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1959. Т. 2. С. 559–918.
65. Попов М.Г., Бусик В.В. Конспект флоры побережий оз. Байкал. М. ; Л. : Наука, 1966. 216 с.
66. Водопьянова Н.С. Семейство Lamiaceae, или Labiatae – Яснотковые, или Губоцветные // Флора Центральной Сибири. Т. 2 : Новосибирск : Наука, 1979. С. 742–759.
67. Danihelka J., Chrtek J.Jr., Kaplan Z. Checklist of vascular plants of the Czech Republic // Preslia. 2012. Vol. 84. P. 647–811.
68. Чепинога В.В. Флора долины р. Горхон (правобережье р. Ия, Восточный Саян) // Проблемы экологии, биоразнообразия и охраны природных экосистем Прибайкалья. Иркутск : Изд-во Иркут. ун-та, 2000. С. 86–102.
69. Пешкова Г.А. Семейство Asteraceae, или Compositae – Астровые, или Сложноцветные // Флора Центральной Сибири. Новосибирск: Наука, 1979а. Т. 2. С. 811–918.
70. Крылов П.Н. Флора Западной Сибири. Руководство к определению западно-сибирских растений. Т. 11 : Campanulaceae – Compositae. Томск, 1949. 133 с.
71. Гагарин П.К. Элодея канадская на Байкале // География и природ. ресурсы. 1995. № 2. С. 66–73.
72. Неронов Ю.В., Майстренко С.Г. Элодея канадская проникла на Байкал // Природа. 1981. № 4. С. 114–115.
73. Верхозина А.В., Плешанов А.С., Плешанова Г.И. Адвентизация флоры и фауны Иркутской области // Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Иркутской области в 2009 году». Иркутск : Мин-во природ. ресурсов и экологии Иркутской обл., 2010. С. 477–481.

Поступила 27.11.2014 г.; повторно 15.12.2014 г.; принята 15.01.2015 г.

Чепинога Виктор Владимирович – д-р биол. наук, в.н.с. Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН (г. Иркутск, Россия); доцент кафедры Иркутского государственного университета (г. Иркутск, Россия).
E-mail: Victor.Chepinoga@gmail.com

Chepinoga V.V. Neophyte plant species in hydrophilous flora of Baikal Siberia. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;1(29):68-85. doi: 10.17223/19988591/29/6. In Russian, English summary

Victor V. Chepinoga

V.B. Sochava Institute of Geography, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russian Federation
Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

Neophyte plant species in hydrophilous flora of Baikal Siberia

Basing on the time of the first introduction, the adventive species are divided into two fractions - archeophytes and neophytes. In different regions, the time boundary separating these two groups differs. For example, in Western and Central Europe,

species introduced in the region before the discovery of America, namely, before the year of 1500 are treated as archeophytes. All the species, introduced after this date, are neophytes. In the European part of Russia, such time border is the beginning of the XVI-th century for Central Chernozem region, the middle of the XVI-th century is for Vyatka-Kama region, the XVII-th century is for the Middle Urals and the beginning of the XVII-th century is for the Trans-Ural region.

To separate archaeophytes and neophytes, the fractions of alien plants within the flora of Baikal Siberia, as a time boundary, I propose the middle of the XIX-th century (namely, the 1850th year). At this time, NS Turczaninow published his comprehensive flora of Baikal-Dahuria region, including 1402 numbered species and a number of unnumbered varieties. At present, many of these varieties are accepted as separate species. During the XIX-th century, the increasing of population in Baikal Siberia was gradual and not massive. The intensive settlement of the region started at the end of the XIX-th and in the beginning of the XX-th centuries, when the Trans-Siberian Railway was constructed. So, the Turczaninow's synopsis fixes the floristic situation before the intensification of the anthropogenic impact and introduction of a huge number of new adventive species in Baikal Siberia. Species introduced to the regional flora in the second half of the XIX-th century should be distinguished as neophytes.

As an example, I accounted and analyzed neophytes in hydrophilous flora of Baikal Siberia. All the 14 hydrophilic neophytes (*Typha laxmannii* Lepech., *Elodea canadensis* Michx., *Glyceria fluitans* (L.) R. Br., *G. plicata* (Fries) Fries., *Juncus tenuis* Willd., *Persicaria foliosa* (Lindb. fil.) Kitag., *Rorippa* × *armoracioides* (Tausch) Fuss, *R. austriaca* (Crantz) Besser, *R. sylvestris* (L.) Besser, *Lythrum salicaria* L., *L. virgatum* L., *Lycopus exaltatus* L. fil., *Stachys palustris* L., *Bidens cernuus* L.) are accidentally introduced to the region during last century. Usually, every decade one or two species were introduced into the flora. Only in the 1950th were recorded three new species. Thus, a general increasing rate in introduction of adventive species into Baikal Siberian flora is not observed in its hydrophilous fraction. Ten neophyte species are recorded in Irkutsk Oblast, seven species – in the Republic of Buryatia and three species – in Zabaikalskii Krai. *Typha laxmannii*, a Central Asian species, is adventive only in Irkutsk Oblast. Eight species are classified as naturalized ones and one species, *Elodea canadensis*, is distinguished as invasive species. Most neophytes are originally European or European-West Siberian species.

This work was partially supported by the Russian Foundation for Basic Research, grant № 14-04-00771-a.

Acknowledgments: The author is grateful to Prof. AL Ebel (Tomsk State University, Tomsk) for supplementary information about some invasive plants.

The article contains 1 Table, 1 Figure, 73 References.

Key words: alien species; neophytes; invasion status; hydrophilous flora; Baikal Siberia.

References

1. Grigor'evskaya AY, Starodubtseva EA, Khlyzova NYu, Agafonov VA. Adventivnaya flora Voronezhskoy oblasti: istoricheskiy, biogeograficheskiy, ekologicheskiy aspekty [Adventive flora of the Voronezh Region: historical, biogeographical, ecological aspects]. Voronezh: Voronezh St. University Publ.; 2004. 319 p. In Russian
2. Chepinoga VV, Verkhozina AV. To the flora of ergasiophytes of Irkutsk Oblast. In: *Materialy k flore Baikalskoi Sibiri* [Materials to the flora of Baikal Siberia]. Chepinoga VV, editor. Irkutsk: Irkutsk St. University Publ.; 2007. pp. 161-172. In Russian

3. Verkhovzina AV. Adventive flora of North-Eastern Prisaian'y'e and its analysis. *Sibirskiy Ekologicheskij zhurnal – Contemporary Problems of Ecology*. 2008;15(2):273-280. In Russian
4. Byalt VV. The adventive species of Crassulaceae. *Russian Journal of Biological Invasions*. 2011;2:28-34. In Russian
5. Tretyakova AS. Invasive potential of adventive plant species of the Middle Urals. *Russian Journal of Biological Invasions*. 2011;3:62-69. In Russian
6. Lysenko DS. Naturalization of adventive plants in Magadan region. *Russian Journal of Biological Invasions*. 2011;1:60-64.
7. Vinogradova YuK, Mayorov SR, Notov AA. Chernaya kniga flory Tverskoy oblasti: chuzherodnye vidy rasteniy v ekosistemakh Tverskogo regiona [The black data book of the Tver Oblast': adventives plant species in ecosystems of the Tver region]. Moscow: KMK Publ.; 2011. 292 pp. In Russian
8. Vinogradova YuK, Mayorov SR, Khorun LV. Chernaya kniga flory Sredney Rossii: chuzherodnye vidy rasteniy v ekosistemakh Sredney Rossii [Black book of the flora of Central Russia. Invasive plant species in ecosystems of Central Russia]. Moscow: GEOS Publ.; 2010. 512 p. In Russian
9. Notov AA, Vinogradova YuK, Mayorov SR. On the problem of development and maintenance of the regional Black books. *Russian Journal of Biological Invasions*. 2010;4:54-68. In Russian
10. Pyšek P, Richardson DM, Rejmánek M, Webster G, Williamson M, Kirschner J. Alien plants in checklists and floras: towards better communication between taxonomists and ecologists. *Taxon*. 2004;53:131-143.
11. Schroeder F-G. Zur Klassifizierung der Antropochoren. *Vegetatio*. 1969;16(5/6):225-238. In German
12. Holub J, Jirásek V. Zur Vereinheitlichung der Terminologie in der Phytogeographie. *Folia Geobot. Phytotax*. 1967;2:69-113. In German
13. Pyšek P, Danihelka J, Sádlo J, Chrtěk J, Chytrý M, Jarošík V, Kaplan Z, Krahulec F, Moravcová L, Pergl J, Štajerová K, Tichý L. Catalogue of alien plants of the Czech Republic (Ed. 2): checklist update, taxonomic diversity and invasion patterns. *Preslia*. 2012;84:155-255.
14. Pyšek P, Sádlo J, Mandák B. Catalogue of alien plants of the Czech Republic. *Preslia*. 2002;74:97-186.
15. Ignatov MS, Makarov VV, Chichev AV. Konspekt flory adventivnikov rasteniy Moskovskoy oblasti [The check-list of adventive plant species in Moscow Oblast']. In: *Floristicheskie issledovaniya v Moskovskoy oblasti* [Floristic investigations in Moscow Oblast']. Moscow: Nauka Publ.; 1990. pp. 5-105. In Russian
16. Tretyakov DI. Rol' sinantropnogo komponenta v formirovanii flory Belorussii [The role of synanthropic species in forming flora of Belarus] [CandSci. Dissertation Abstract, Biology]. Minsk: AN BSSR, Institut eksperimental'noy botaniki im. VF Kuprevicha; 1990. 20 pp. In Russian
17. Tretyakova AS, Mukhin VA. Sinantropnaya flora Srednego Urala [Synanthropic flora of the Middle Urals]. Yekaterinburg: Ekaterinburg Publ.; 2001. 148 p. In Russian
18. Naumenko NI. The adventive component of the flora of South Trans-Ural's Region. *Vestnik Udmurtskogo universiteta. Seriya 6: Biologiya – Bulletin of Udmurt University. Series 6: Biology*. 2005;10:3-16. In Russian
19. Winter M, Schweiger O, Klotz S, Nentwig W, Andriopoulos P, Arianoutsou M, Basnou C, Delipetrou P, Didžiulis V, Hejda M, Hulme PE, Lambdon PW, Pergl J, Pyšek P, Roy DB, Kühn I. Plant extinctions and introductions lead to phylogenetic and taxonomic homogenization of the European flora. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009;106:21721-21725. doi: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.09070

20. Gassó N, Pyšek P, Vilà M, Williamson M. Spreading to a limit: the time required for a neophyte to reach its maximum range. *Diversity and Distribution*. 2010;16:310-311. doi: [10.1111/j.1472-4642.2010.00647.x](https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2010.00647.x)
21. Malyshev LI, Peshkova GA. Osobennosti i genezis flory Sibiri. Predbaykal'e i Zabaykal'e [Peculiarities and genesis of Siberian flora: Cisbaikalia and Transbaikalia]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1984. 265 pp. In Russian
22. Peskhova GA. Rastitel'nost' Sibiri: Predbaikal'e i Zabaikal'e [Vegetation of Siberia: Cisbaikalia and Transbaikalia]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1985. 145 pp. In Russian
23. Chepinoga VV. Provisional subdivision of the Baikalian Siberia for characterization of vascular plant distribution. *Izvestiya Irkutskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya Biologiya i Ekologiya – The Bulletin of Irkutsk State University. Series “Biology. Ecology”*. 2009;2(2):3-7. In Russian
24. Flora Baykal'skoy Sibiri 2010+ [Flora of Baikal Siberia 2010+]. Chepinoga VV., editor Irkutsk. Available at: <http://www.flora.baikal.ru> (accessed 09.11.2014). In Russian
25. Kiseleva AA. Findings of adventitious species in the flora of Central Siberia and Krasnoyarsk Krai. *Botanicheskiy zhurnal – Botanical journal*. 1988;73(12):1760-1761. In Russian
26. Verkhozina AV, Chepinoga VV. Adventivnaya frakciya flory Baikal'skoy Sibiri [Adventive fraction in the flora of Baikal Siberia]. In: *Problemy izucheniya rastitel'nogo pokrova Sibiri. Materialy III Mezhdunarodnoy konferentsii* [Problems in investigation of the Siberian plant cover. Proc. of the 3rd International conference]. Tomsk: Tomsk St. University Press; 2005. pp. 59-60. In Russian
27. Chepinoga VV. Flora i rastitel'nost' vodoemov i vodotokov yuga Vostochnoy Sibiri [Flora and vegetation of water bodies and streams in the south of the eastern Siberia] [DrSci. Dissertation, Biology]. Tomsk: Tomsk State University; 2013. 469 pp. In Russian
28. Turczaninow NS. Flora baicalensi-dahurica seu descriptio plantarum in regionibus cis et transbaicalensibus atque in Dahurica sponte nascetium. Vol. I. Moscow: Typis A. Semen Publ.; 1842-1845; pp. 1-544. In Latin
29. Turczaninow NS. Flora baicalensi-dahurica seu descriptio plantarum in regionibus cis et transbaicalensibus atque in Dahurica sponte nascetium. Vol. II. Moscow: Typis Universitatis Caesareae Publ.; 1856; pp. 1-436, 1-374. In Latin
30. Shobodoeva AV. Vo vlasti istorii: Evgeniy Shobodoev. Sbornik statey I publikatsyi [In the power of history: Evgeniy Shobodoev. Collection of articles and publications]. Irkutsk: Ottisk Publ.; 2009. 340 p. In Russian
31. Kamelin RV, Sytin AK. Nikolay Stepanovich Turczaninow russkiy botanik [Nikolay Stepanovich Turczaninow, a Russian botanist]. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Nauk*. 1997;67(5):439-443. In Russian
32. Blackburn TM, Pyšek P, Bacher S, Carlton JT, Duncan RP, Jarošík V, Wilson JRU, Richardson DM. A proposed unified framework for biological invasions. *Trends Ecol. Evol*. 2011;26:333-339. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2011.03.023>
33. Richardson DM, Pyšek P. Plant invasions: merging the concepts of species invasiveness and community invisibility. *Progr. Phys. Geogr*. 2006;30:409-431. doi: [10.1191/0309133306pp490pr](https://doi.org/10.1191/0309133306pp490pr)
34. Richardson DM, Pyšek P, Carlton JT. A compendium of essential concepts and terminology in biological invasions. In: *Fifty years of invasion ecology: the legacy of Charles Elton*. Oxford: Blackwell Publishing; 2011. pp. 409-420.
35. Richardson DM, Pyšek P, Rejmánek M, Barbour MG, Panetta FD, West CJ. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and Distribution*. 2000;6:93-107. doi: [10.1046/j.1472-4642.2000.00083.x](https://doi.org/10.1046/j.1472-4642.2000.00083.x)

36. Flora Sibiri [Flora of Siberia]. Malyshev LI, Peshkova GA, Krasnoborov IM, Polozhij AV, Baikov KS, editors. In 14 volumes. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1987-2003. In Russian
37. Flora Tsentral'noy Sibiri [Flora of Central Siberia]. Malyshev LI, Peshkova GA, editors. In 2 volumes. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1979. 1048 pp. In Russian
38. Chepinoga VV, Stepantsova NV, Grebenyuk AV, Verkhozina AV, Vin'kovskaya OP, Gnutikov AA, Dulepova NA, Enushchenko IV, Zarubin AM, Kazanovskiy SG, Konovalov AS, Korobkov AA, Lufarov AN, Rosbakh SA. Check-list of the vascular flora of the Irkutsk region. Malyshev LI, editor. Irkutsk: Irkutsk State University Publ.; 2008. 328 pp. In Russian
39. Efimov DYU. Flora ekosistem Ust'-Ilimskogo vodokhranilishcha [Flora of ecosystems of the Ust-Ilimsk reservoir]. Novosibirsk: Geo Publ.; 2011. 166 p. In Russian
40. Zarubin AM, Ivanova MM, Lyakhova IG, Baritskaya VA, Ivel'skaya VI. Floristic findings in Pribaikay'e (West Baikal region). *Botanicheskiy zhurnal – Botanical journal*. 1993;78(8):93-101. In Russian
41. Kiseleva AA. Additions to the flora of Kazachinsk-Lensky district in Irkutsk region. *Izvestiya SO AN SSSR. Ser. biol. nauk. – The Bulletin of the Siberian Division of the Academy of Sciences of the USSR. Series of Biological Sciences*. 1984;2(13):19-22. In Russian
42. Chepinoga VV, Dement'eva MK, Lishtva AV. Floristic findings in the upper part of the Lena River basin (Irkutsk Region). *Izvestiya Irkutskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya Biologiya i Ekologiya – The Bulletin of Irkutsk State University. Series "Biology. Ecology"*. 2013;6(1):102-109. In Russian
43. Krasnoborov IM, Korotkova EI. Semeystvo Typhaceae – Rogozovye [The family Typhaceae]. In: *Flora Sibiri [Flora of Siberia]*. Vol. 1. *Lycopodiaceae – Hydrocharitaceae*. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1988. pp. 86-88. In Russian
44. Galanin AV, Belikovich AV, Khrapko OV. Flora Daurii [Flora of Dahuria]. Vol. 1. Vladivostok: Dalnauka Publ.; 2008. 184 p. In Russian
45. Stepantsova NV. Vodnaya flora i rastitel'nost' zaliva Pokoyniki (Baykalo-Lenskiy zapovednik) [Aquatic flora and vegetation in Pokoyniki bay (Baikal-Lensky Natural Reserve)]. *Proceedings of the Natural Reserve "Baikalo-Lensky"*. Irkutsk. 2001. Iss. 2. pp. 21-23. In Russian
46. Abramova LA, Volkova PA. Sosudistye rasteniya Baykal'skogo zapovednika. Annotirovannyi spisok vidov [Vascular plants of the Baikalskii Nature Reserve. The annotated check-list]. Moscow: Dobrosvet Publ.; 2011. 112 p. In Russian
47. Maystrenko SG, Neronov YuV. Severoamerikanskoe vodnoe rastenie elodeya kanadskaya (*Elodea canadensis* Michaux) v bassejne ozera Baykal [North American aquatic plant *Elodea canadensis* Michaux in the basin of Lake Baikal]. *Ekologicheskiy ekvivalentnye i ekzoticheskie vidy gidrobiontov v velikikh i bol'shikh ozerakh mira* [Ecologically equivalent and exotic hydrobiont species in the greatest and huge lakes of the world. Proc. of the 2nd international symposium]. Ulan-Ude: Buryat Sci. Center Publ.; 2002. pp. 82-83. In Russian
48. Bazarova BB, Pronin NM. *Elodea canadensis* Michaux on the border of world watershed of Arctic and Pacific oceans. *Russian Journal of Biological Invasions*. 2010;3:2-12. In Russian
49. Popov MG. Flora Sredney Sibiri [Flora of Middle Siberia]. Vol. 1. Moscow; Leningrad: USSR Academy of Sciences Publ.; 1957. 556 pp. In Russian
50. Tsvelev NN. Zlaki SSSR [Cereals of the USSR]. Leningrad: Nauka Publ.; 1976. 788 pp. In Russian
51. Peshkova GA. Semeystvo Poaceae, ili Gramineae – Myatlikovye, ili Zlaki [The family Poaceae (Gramineae)]. In: *Flora Tsentral'noy Sibiri [Flora of Central Siberia]*. Vol. 1. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1979. pp. 69-139. In Russian
52. Vasil'chenko ZA, Ivanova MM, Kiseleva AA. Obzor vidov vysshikh rasteniy Baykal'skogo zapovednika [An account of vascular plant species of the Baikalskii nature reserve]. In:

- Flora Pribaykal'ya* [Flora of the Cisbaikal region]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1978. pp. 49-114. In Russian
53. Kovtonyuk NK. Semeystvo Juncaceae – Sitnikovye [The family Juncaceae]. In: *Flora Sibiri* [Flora of Siberia]. Vol. 4. Araceae – Orchidaceae. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1987. pp. 16-43. In Russian
 54. Sutkin AV. The urbanoflora of Ulan-Ude city. Ulan-Ude: Buryat Sci. Center Publ.; 2010. 142 pp. In Russian
 55. Chepinoga VV, Rosbakh SA, Pazdnikova NM, Konovalov AS, Lyubogoshchinskiy PI, Isaykina MM. Floristic records in Transbaikalia. *Byulleten' MOIP. Otdelenie Biologiya – Bulletin of Moscow Society of Naturalists. Biological Series*. 2011;116(3):73-76. In Russian
 56. Doron'kin VM. *Rorippa* Scop. – Zherushnik [*Rorippa* Scop.]. In: *Flora Sibiri* [Flora of Siberia]. Vol. 7. Berberidaceae – Grossulariaceae. Novosibirsk: Nauka Publ.; 1994. pp. 73-76. In Russian
 57. Ebel AL. About distribution of species of genus *Rorippa* Scop. (*Brassicaceae*) within Siberia. *Krylovia*. 2000;2(1):81-86. In Russian
 58. Baykov KS. Semeystvo *Brassicaceae* – Krestozvetnye [The family *Brassicaceae*]. Konspekt flory Sibiry. Sosudistye rasteniya [The check-list of Siberian flora. Vascular plants]. Novosibirsk: Nauka Publ.; 2005. pp. 89-103. In Russian
 59. Zarubin AM, Ivanova MM, Lyakhova IG. Novye dannye o rasprostraneniі sosudistyykh rasteniy v Tsentral'noy Sibiri [New data on the distribution of vascular plants in Central Siberia]. In: *Problemy ekologii, bioraznoobraziya i okhrany prirodnnykh ekosistem Pribaykal'ya* [Problems of Ecology, Biodiversity and Protection of Natural Ecosystems]. Irkutsk: Irkutsk St. University Publ.; 2000. pp. 46-57. In Russian
 60. Zarubin AM, Chepinoga VV, Verkhozina AV, Baritskaya VA, Prudnikova AYu. New data on adventive plants in Baikal Siberia. *Materials to the flora of Baikal Siberia*. Chepinoga VV, editor. Irkutsk: Irkutsk St. University Publ.; 2007. pp. 130-140. In Russian
 61. Krasnopevtseva AS, Martusova EG, Krasnopevtseva VM. Floristicheskie nakhodki s nizhney okonechnosti poluostrova Svyatoy Nos (Zabaykal'skiy prirodnyy natsional'nyy park) [Floristic findings in the southern tip of the Svyatoy Nos peninsula (Zabaykalsky National park)]. In: *Prirodnaya i antropogennaya dinamika nazemnykh ekosistem* [Natural and antropogenic dynamics of terrestrial ecosystems. Proc. of the Russian National Conference]. Irkutsk: Irkutsk St. Technical University Publ.; 2005. pp. 96-97. In Russian
 62. Anenkhonov OA, Pykhalova TD. Check-list of vascular plants flora of Zabaykal'skiy National park. Ulan-Ude: Buryat Sci. Center Publ.; 2010. 228 p. In Russian
 63. Doron'kin VM. *Lycopus* L. – Zyuznik [*Lycopus* L.]. In: *Flora Sibiri* [Flora of Siberia]. Vol. 11. Pyrolaceae – Lamiaceae (Labiatae). Novosibirsk: Nauka Publ.; 1997. pp. 221-222. In Russian
 64. Popov MG. Flora Sredney Sibiri [Flora of Middle Siberia]. Vol. 2. Moscow; Leningrad: USSR Academy of Sciences Publ.; 1959. pp. 559-918. In Russian
 65. Popov MG, Busik VV. Konspekt flory poberezhnykh ozer Baykal [The check-list of vascular plants on the shores of Lake Baikal]. Moscow; Leningrad: Nauka Publ.; 1966. 216 p. In Russian
 66. Vodop'yanova NS. Semeystvo Lamiaceae, ili Labiatae – Yasnotkovye, ili Gubotsvetnye [The family Lamiaceae (Labiatae)]. Vol. 2. In: *Flora Tsentral'noy Sibiri* [Flora of Central Siberia]. Novosibirsk: Nauka Publ.; 1979. pp. 742-759. In Russian
 67. Danihelka J, Chrtek J Jr, Kaplan Z. Checklist of vascular plants of the Czech Republic. *Preslia*. 2012;84:647-811.
 68. Chepinoga VV. Flora doliny r. Gorkhon (pravoberezh'e r. Iya, Vostochnyy Sayan) [Flora of the Gorkhon river valley (right riverside of the Iya River, Eastern Sayan)]. In: *Problemy ekologii, bioraznoobraziya i okhrany prirodnnykh ekosistem Pribaykal'ya* [Problems of

- ecology, biodiversity and protection of natural ecosystems of the Cisbaikal region]. Irkutsk: Irkutsk St. Technical University Publ.; 2000. pp. 86-102. In Russian
69. Peshkova GA. Semeystvo Asteraceae, ili Compositae – Astrovye, ili Slozhnotsvetnye [The family Asteraceae (Copositae)]. In: *Flora Tsentral'noy Sibiri* [Flora of Central Siberia]. Vol. 2. Novosibirsk: Nauka Publ.; 1979. pp. 811-918. In Russian
70. Krylov PN. Flora Zapadnoy Sibiri. Rukovodstvo k opredeleniyu zapadno-sibirskikh rasteniy [Flora of Western Siberia. Guide to the determination of the West Siberian plants]. Vol. 11. Campanulaceae – Compositae. Tomsk: 1949. 133 p. In Russian
71. Gagarin PK. Elodeya kanadskaya na Baykale [Canadian waterweed in Lake Baikal]. *Geografiya i prirodnye resursy – Geography and Natural Resources*. 1995;2:66-73. In Russian
72. Neronov YuV, Maystrenko SG. Elodeya kanadskaya pronikla na Baykal [Canadian waterweed penetrated in Lake Baikal]. *Priroda*. 1981;4:114-115. In Russian
73. Verkhozina AV, Pleshanov AS, Pleshanova GI. Adventizatsiya flory i fauny Irkutskoy oblasti [Adventisation of the flora and fauna in Irkutsk Oblast']. In: *O sostoyanii i ob okhrane okruzhayushchey sredy Irkutskoy oblasti v 2009 godu. Gosudarstvenniy doklad* [About condition and protection of the environment in Irkutsk Oblast' in 2009. State report]. Irkutsk: Ministry of natural resources and ecology of Irkutsk Oblast'; 2010. pp. 477-481. In Russian

Received 27 November 2014;

Revised 15 December 2014;

Accepted 15 January 2015

Author info:

Chepinoga Victor V, Prof., Dr. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of Physical Geography & Biogeography, The VB Sochava Institute of Geography, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 1 Ulan-Batorskaya Str., Irkutsk 664033, Russian Federation; Ass. Professor, Department of Botany, Faculty of Biology and Soil Studies, Irkutsk State University, 1 Karla Marksa Str., Irkutsk 664003, Russian Federation.

E-mail: Victor.Chepinoga@gmail.com

УДК 58.009

doi: 10.17223/19988591/29/7

М.Н. Шурупова, И.И. Гуреева, Н.А. Некратова

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия

Особенности размножения редких видов *Saussurea* (Asteraceae) на Кузнецком Алатау

Исследования выполнены в рамках гранта Президента РФ
для поддержки ведущих научных школ (НШ-324.2014.4)

Приведены данные об особенностях размножения 4 редких видов *Saussurea* (*S. baicalensis*, *S. frolovii*, *S. salicifolia* и *S. schanginiana*) на Кузнецком Алатау. *S. baicalensis* не размножается вегетативно и характеризуется низкой численностью в ценозе, высокими реальной семенной продуктивностью побега и всхожестью стратифицированных семян. Вегетативное размножение *S. frolovii*, *S. salicifolia* и *S. schanginiana* представлено старческой партикуляцией и не имеет значения для самоподдержания ценопопуляций. Способность к семенному возобновлению исследованных видов невысока: *S. frolovii* и *S. salicifolia* характеризуются относительно высоким числом генеративных побегов и семян на 1 м², но низкой всхожестью семян; *S. schanginiana* отличается критически низким числом генеративных побегов и семян на 1 м² и высокой всхожестью свежесобранных и стратифицированных семян. Затрудненное самоподдержание ценопопуляций, редкая или спорадическая встречаемость в пределах Кузнецкого Алатау, небольшие площади, занимаемые популяциями, делают виды уязвимыми к любым воздействиям, поэтому они нуждаются в охране. Сборы сырья в естественных местообитаниях недопустимы.

Ключевые слова: *Saussurea* DC.; Кузнецкий Алатау; биоморфа; редкий вид; семенная продуктивность; всхожесть семян.

Введение

Род *Saussurea* DC. семейства *Asteraceae* насчитывает около 350 видов, населяющих Евразию и Северную Америку. Основные центры видообразования – Гималаи, Тибет и Китай, в пределах России – Сибирь и Дальний Восток [1]. Род является сложным в систематическом отношении.

В результате инвентаризации рода *Saussurea* во флоре Кузнецкого Алатау выявлено 11 видов, относящихся к 4 секциям и 2 под родам [2]: *S. frolovii* Ledeb. (Соссюрея Фролова), *S. salicifolia* (L.) DC. (С. иволжистая), *S. baicalensis* (Adams) Robins. (С. байкальская), *S. schanginiana* (Wydł.) Fisch. Ex Herd. (С. Шангина), *S. alpina* (L.) DC. (С. альпийская), *S. controversa* DC. (С. густолистная), *S. foliosa* Ledeb. (С. густолистная), *S. latifolia* Ledeb. (С. широколистная), *S. parviflora* subsp. *parviflora* (С. мелкоцветковая), *S. parviflora*

subsp. *purpurata* (Fish. ex Herd.) Lipsch. (С. пурпуровая), *S. stubendorfi* Herd. (С. Штубендорфа). Среди перечисленных видов на Кузнецком Алатау выявлено 6 редких представителей рода *Saussurea* с единичными местонахождениями: *S. frolovii*, *S. salicifolia*, *S. baicalensis*, *S. schanginiana*, *S. foliosa* и *S. stubendorfi*. Из них *S. baicalensis* известна только из 5 местонахождений – гольцы Вершина Тургаюла, Знаменитовские, Казыр-Терен, Большой Каным и верховья руч. Рождественский, *S. salicifolia* зарегистрирована в окр. с. Ефремкино и в дол. р. Улень, *S. schanginiana* – на гольцах Большой Каным, Чалбахтасхыл, Казыр-Терен и в окр. с. Ефремкино. Перечисленные виды произрастают с малым обилием (от единичных особей до 3% проективного покрытия). Согласно флористическим сводкам [3–5] и нашим наблюдениям на Кузнецком Алатау насчитывается достаточно много местонахождений *S. frolovii*: верховья р. Правая Сарала, окрестности пос. Приисковый, оз. Ивановские, верховья рр. Терсей, Черного и Белого Июсов, голец Ольгинский, верховья р. Андат, водораздел рр. Черный Июс и Большая Уса, на г. Азаргая; верховья р. Малый Казыр, истоки р. Тумуяс, хр. Тегир-Тыш, гольцы Поднебесный, Большой Каным, Таскыл, Чемодан, окр. пос. Коммунар (голец Подоблачный), верховья рр. Каратас и Пихтерек (гольцы Булочные, Орлигтасхы). Однако ареал *S. frolovii* фрагментарный, т.е. лишь частично занимает экологически пригодные участки. Местами особи этого вида образуют небольшие по площади заросли (до 20% проективного покрытия, единичный случай – до 50%).

Актуальность изучения редких видов *Saussurea* на Кузнецком Алатау заключается в том, что все они уязвимы, однако в настоящее время ни один редкий вид *Saussurea* не признан нуждающимся в охране. В 2000 г. *S. frolovii* была занесена в Красную книгу Кемеровской области с категорией МСОП 3 (R) [6], но в следующее издание Красной книги она не включена [7]. *S. baicalensis*, *S. frolovii* и *S. schanginiana*, произрастающие на территории государственного природного заповедника «Кузнецкий Алатау», подлежат охране только в его пределах. Вместе с тем результаты исследований химического состава сибирских соссюрей свидетельствуют о том, что род *Saussurea* весьма перспективен для медицины. В клинике получены положительные результаты при лечении лямблиоза у детей настойкой из травы *S. salicifolia* [8], лямблиозных гепатохолеститов и холецистохолангитов [9] и энтероколитов [10]. Получены данные о перспективности использования экстракта этого вида в связи с содержащимися в нем фенольными соединениями и лигнаном арктигенином для лечения и профилактики рака [11, 12]. Препараты из *S. salicifolia* не входят в Государственный реестр лекарственных средств по состоянию на 7.02.2014 [13], однако продаются в аптеках и интернет-магазинах. Остальные сибирские виды *Saussurea* имеют богатую историю использования в традиционной медицине при эндокардите, острых инфекционных заболеваниях, интоксикациях, злокачественных новообразованиях, респираторных инфекциях, полиартрите, малярии,

диареи и т.д. [14]. Нужно отметить, что, по наблюдениям авторов, на территории Кузнецкого Алатау случаи сбора сырья *Saussurea* местным населением единичны, что объясняется редким упоминанием об этих растениях в популярных справочниках народной медицины. Однако массовый туризм, строительство дорог и развитие горнодобывающей и лесотехнической промышленности на Кузнецком Алатау напрямую угрожают местообитаниям редких видов *Saussurea* [15–17].

Устойчивость популяций в пределах отдельных растительных сообществ обеспечивается способностью видов к размножению семенным и вегетативным способами. Поэтому целью нашего исследования явилось изучение семенной продуктивности 4 видов рода, являющихся наиболее уязвимыми.

Материалы и методики исследования

Объектами исследования выбраны 4 редких вида *Saussurea*: *S. baicalensis*, *S. frolovii*, *S. salicifolia* и *S. schanginiana*, обитающих на Кузнецком Алатау. Все изученные виды приурочены к горным местообитаниям. *S. baicalensis* – алтае-саяно-монгольский эндемик [18], встречающийся в высокогорьях на гольцах, каменистых россыпях, в мохово-кустарничковых тундрах и лиственнично-берёзово-кедровых редколесьях. *S. frolovii* произрастает в основном на территории Южной Сибири. Этот вид также приурочен к высокогорьям, растет на альпийских и субальпийских лугах, заходит в мохово-лишайниковую, каменистую и кустарниковую тундры, спускается в верхнюю часть таёжного пояса в березово-пихтовые и кедровые редколесья. Территория Кузнецкого Алатау является северной границей ареалов этих видов в Западной Сибири [4, 19]. *S. salicifolia* и *S. schanginiana* – азиатские виды с дизъюнктивными ареалами [4, 20]. В Кузнецком Алатау *S. salicifolia* встречается в каменистых степях, на скалах, крутых каменистых и щебнистых склонах и характеризуется периферийной редкостью, *S. schanginiana* – диффузно редкий вид, растущий в высокогорьях в мохово-лишайниковой тундре и каменистых степях южных склонов лесного пояса среднегорных районов Кузнецкого Алатау. Названия растительных сообществ приведены в соответствии с классификациями А.В. Куминовой [21] и В.П. Седелникова [22].

Исследования проводились в течение вегетационных сезонов 2012–2013 гг. в следующих местообитаниях:

S. baicalensis. Плоская вершина гольца вблизи скалистых останцов (1450 м над ур. м., г. Вершина Тургаюла, 54°24'634" с.ш., 89°17'225" в.д., 2012 г.), осочково-дриадовая тундра в окружении подгольцового редколесья (*Betula tortuosa* Ledeb., *Larix sibirica* Ledeb., *Pinus sibirica* Du Roi). Общее проективное покрытие (ОПП) травяно-кустарничкового покрова 70%. Доминируют *Dryas oxyodonta* Juz. с проективным покрытием (ПП) 50% и *Carex ledebouriana* C.A. Meyer ex Trev. с ПП 20%. Сопутствующие виды – *Hedysarum neglectum* Ledeb., *Phlojodicarpus villosus* (Turcz. ex Fisch. et C.A. Mey.),

Scorzonera radiata Fisch., *Viola biflora* L. и др. *S. baicalensis* встречается единично.

S. frolovii. 1) Юго-восточный склон г. Подоблачной (30–35°, 1350 м над ур. м., 54°18'652" с.ш., 89°13'890" в. д., 2013 г.), субальпийский высокоотравный мятликово-рапонтикумовый луг с фрагментами черничной пустоши (*Vaccinium myrtillus* L.) с единичными *Abies sibirica* Ledeb., *Betula tortuosa*, *Pinus sibirica* и *Sorbus sibirica* Hedl. В сообществе доминируют *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin. (ПП до 50%) и *Poa sibirica* Roshev. (7%). Покрытие зеленых мхов около 5%. С меньшим обилием произрастают *Doronicum altaicum* Pall., *Rumex alpestris* Jacq., *Allium microdictyon* Prokh., *Pedicularis incarnata* L., *Erythronium sibiricum* (Fisch. et C.A. Mey.) Kryl. и др. Единично встречаются *Aquilegia glandulosa* Fisch. ex Link, *Trientalis europea* L., *Anthoxanthum alpinum* A. Löve et D. Löve и др. Проективное покрытие *Saussurea frolovii* составляет 2%.

2) Северо-западный склон г. Подоблачной (5–10°, 1500 м над ур. м., 54°18'449" с.ш., 89°13'301" в.д., 2013 г.), подгольцовое березово-пихтовое редколесье (*Betula tortuosa*, *Abies sibirica*) IV–V классов бонитета с сомкнутостью крон 0,2 и высотой древостоя 2–7 м. Подрост березы и пихты встречается единично, подлесок представлен *Spiraea chamaedriolia*. ОПП травяно-кустарничкового покрова 90%. Доминируют *Saussurea frolovii* (20%), *Vaccinium myrtillus* (15%) и *Carex altaica* (Gorodk.) V. Krecz. (7%). С меньшим обилием произрастают *Allium microdictyon*, *Aquilegia glandulosa*, *Euphorbia lutea* C.A. Meyer, *Rhaponticum carthamoides* и *Sibbaldia procumbens* L. Единично встречаются *Adenophora liliefolia* (L.) A. DC., *Bupleurum aureum* Fisch. ex Hoffm., *Bistorta elliptica* (Willd. ex Spreng.) Kom., *Solidago dahurica* Kitag., *Trifolium lupinaster* L. и др. *S. frolovii* довольно обильна, проективное покрытие 20%.

S. salicifolia. 1) Скалистая гряда на правом берегу р. Белый Июс в окр. с. Ефремкино, восточный склон (20–45°, 600 м над ур. м., 54°27'246" с.ш., 89°27'626" в.д., 2012–2013 гг.), осочково-мятликово-разнотравная петрофитная луговая степь с единичными деревьями *Larix sibirica* на щебнистом субстрате. Степь с одной стороны граничит с полосой зарослей кустарника (*Cotoneaster melanocarpus* Fisch. et Blytt.), с другой – с подтаежным березово-лиственничным разнотравным лесом (*Larix sibirica*, *Betula pendula* Roth.). В верхней части местообитания расположены каменистые известняковые выходы и скалы. В травяном покрове с ОПП 60–70% преобладают *Hedysarum gmelinii* Ledeb. s.str., *Carex macroura* subsp. *kirilovii* (Turcz.) Malyshev, *C. duriuscula* C.A. Mey., *Galium verum* L., *Poa attenuata* Trin. и *Pulsatilla multifida* (G. Pritzel.) Juz. Малое обилие характерно для *Aconitum anthorae* DC., *Adenophora coronopifolia* Fischer, *Androsace dasyphylla* Bunge. и др. Проективное покрытие *Saussurea salicifolia* составляет 0,3–0,5%.

2) Скалистая гряда на правом берегу р. Белый Июс в окр. с. Ефремкино, юго-западный склон (25°, 750 м над ур. м., 54°26'745" с.ш., 89°28'125" в.д.,

2013 г.), овсяницево-осочковая петрофитная луговая степь с единичными деревьями (*Larix sibirica*, *Betula pendula*) на щебнистом субстрате. По неглубоким ложбинам вдоль склона группами произрастают кустарники *Caragana arborescens* Lam., *Cotoneaster melanocarpus*. Поперек склона проходит тропа для туристов. В травостое с ОПП 40–50% доминируют *Carex macroura* subsp. *kirilovii*, *C. duriuscula* и *Festuca valesiaca* Gaudin. С меньшим обилием встречаются *Artemisia sericea* Web. ex Stechm., *Thalictrum foetidum* L. s.str., *Galatella altaica* Tzvel., *Hedisarum gmelinii*. Единично произрастают *Bupleurum multinerve* DC., *Youngia tenuifolia* Willd. s.str., *Allium clathratum* Ledeb., *Gypsophila patrinii* Ser. и др. *Saussurea salicifolia* растет единично, иногда группами особей с проективным покрытием 0,5–1%.

S. schanginiana. Скалистая гряда на правом берегу р. Белый Июс в окр. с. Ефремкино, южный склон (35–60°, 700 м над ур. м., 54°26'768" с.ш., 89° 28'047" в.д., 2013 г.), вздутоплодниково-мятликовая петрофитная луговая степь на щебнистом субстрате с фрагментами отвесных выходов известняка. ОПП травяного покрова 10–50%. Доминирующие виды: *Poa reverdattoi* Roshev. (15%) и *Phlojodicarpus sibiricus* (Steph. ex Spreng.) Koso-Pol. (5%). Встречаются *Thymus mongolicus* (Ronn.) Ronn., *Hedisarum gmelinii*, *Potentilla tanacetifolia* Willd. ex Schlecht., *Goneolimon speciosum* (L.) Boiss., *Sedum hybridum* L. и др. Единично произрастают *Primula cortusoides* L., *Allium stellerianum* Willd., *Adenophora stenanthina* Ledeb. (Kitag.), *S. salicifolia* и др. *S. schanginiana* растет также единично.

В работе использовали общепринятые методики по изучению биоморфы с учётом редкости видов [23–27]. Для характеристики семенной продуктивности применяли следующие показатели: потенциальная семенная продуктивность (ПСП), реальная семенная продуктивность (РСП), коэффициент семенификации, показывающий отношение РСП к ПСП, выраженное в процентах [28]. Среднемесячную температуру и количество выпавших осадков высчитывали, исходя из данных метеостанции, расположенной в пос. Ши́ра (Хакасия, 475 м над ур. м., 54°50' с.ш., 89°93' в.д.) [29]. Для определения возраста *S. baicalensis* по анатомическим срезам использовались методические приемы, разработанные Н.Ф. Некратовым [30, 31]. Масса семян каждого вида измерена в трехкратной повторности. Для определения всхожести семян использовали свежесобранные и стратифицированные семена. Для стратификации семена помещались в холодильник, где хранились при температуре +2...+4°C в течение 2 мес [32]. Для определения всхожести использовали семена, собранные в 2012–2013 гг. В популяциях *S. baicalensis* и *S. schanginiana* в 2013 г. было отмечено 5 и 14 генеративных побегов соответственно, поэтому для изучения семенной продуктивности и всхожести было собрано небольшое число корзинок. Проращивание проводили в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной водой, у *S. baicalensis* однократно (100 шт., 2013 г.), у *S. frolovii* – в 3 повторностях из каждого местообитания (по 60 шт., 2013 г.), у *S. salicifolia* – в 3 повторностях по

50 шт. из местообитания 1 в 2012 г. и из каждого местообитания в 2013 г., у *S. schanginiana* – в 3 повторностях (по 100 шт., 2013 г.). Регистрацию прорастания семян проводили ежедневно в течение 20 дней. Вычисление среднего арифметического и стандартной ошибки среднего произведено при помощи пакета Microsoft Office Excel 2003.

Результаты исследования и обсуждение

Saussurea baicalensis, *S. frolovii*, *S. salicifolia* и *S. schanginiana* – летнезелёные травянистые многолетники. Надземная часть генеративной особи *S. baicalensis* представлена полициклическим монокарпическим генеративным побегом, в начале онтогенеза проходящим фазу розетки, во время цветения она состоит из единственного удлиненного побега; подземная часть включает длинный стержневой корень и каудекс. Биоморфу *S. baicalensis* можно определить как моноцентрический многолетний летнезелёный травянистый полурозеточный длинностержнекорневой монокарпик с неветвящимся каудексом. Надземная часть *S. frolovii*, *S. salicifolia* и *S. schanginiana* представлена розеточными полициклическими вегетативными и полурозеточными полициклическими монокарпическими генеративными побегами; подземная часть включает длинный стержневой корень и ветвистый (многоглавый) каудекс, в конце жизни распадающийся на отдельные слабо- или нежизнеспособные партикулы. Биоморфу *S. frolovii*, *S. salicifolia* и *S. schanginiana* можно определить как неявнополицентрический летнезелёный травянистый полурозеточный длинностержнекорневой поликарпик с многоглавым каудексом. Таким образом, у одного вида – *S. baicalensis* – вегетативное размножение отсутствует, у трёх других видов – происходит в виде сенильной партикуляции, что способствует только увеличению числа особей постгенеративного периода, но не имеет значения для поддержания жизнеспособной популяции и расширения ее площади, т.е. не является эффективным.

Семенное размножение, таким образом, является единственным способом экспансии изученных видов в географическом и эколого-ценотическом пространстве. Важнейшим показателем семенного размножения является семенная продуктивность. Как у всех Asteraceae, в основе соцветий представителей рода *Saussurea* лежит простое соцветие корзинка. У *S. frolovii* и *S. schanginiana* генеративный побег несет, как правило, единственную корзинку. У *S. schanginiana* изредка встречаются генеративные побеги с 2 корзинками, но при этом 2-я корзинка сильно недоразвита. У *S. baicalensis* корзинки собраны в сложное кистевидное соцветие, а у *S. salicifolia* – в щитковидно-метельчатое. У всех представителей рода *Saussurea* односемянной плод семянка.

В результате исследования получены данные по 11 показателям семенной продуктивности 4 видов *Saussurea* (табл. 1). Наибольшей РСП генеративного побега среди изученных видов характеризуется *S. baicalensis*.

У этого вида наиболее эффективно протекает процесс созревания семян. Коэффициент семенификации *S. baicalensis* составляет 53%, что превышает этот показатель у остальных видов в 1,1–3,3 раза. На уровне побега наибольшая РСП отмечена также у *S. baicalensis* (212 семян), что превышает этот показатель у других исследованных видов в 7–8 раз. На уровне особи *S. baicalensis* также является наиболее продуктивным видом, тогда как *S. salicifolia* уступает ему по РСП особи в 2 раза, *S. frolovii* – в 5 раз и *S. schanginiana* – почти в 7 раз.

Т а б л и ц а 1 [Table 1]

Семенная продуктивность редких видов *Saussurea* на Кузнецком Алатау
[Seed productivity of rare *Saussurea* species in the Kuznetsk Alatau]

Показатель семенной продуктивности [Indicator of seed productivity]	<i>S. baicalensis</i>	<i>S. frolovii</i>	<i>S. salicifolia</i>	<i>S. schanginiana</i>
ПСП корзинки [Potential seed productivity of anthodium]	44,40±2,28 / 29–59 (20)	159,33±8,09 / 22–378 (60)	16,77±0,44 / 4–34 (210)	72,3±8,9 / 36–120 (10)
РСП корзинки [Actual seed productivity of anthodium]	23,55±3,31 / 3–43 (20)	26,93±4,07 / 0–134 (60)	4,06±0,34 / 0–24 (210)	31,7±3,4 / 15–54 (10)
Коэффициент семенификации, % [Seed: ovule ratio, %]	53,04	16,90	47,95	43,85
Число корзинок на 1 побеге [Number of anthodia per shoot]	9 / 5–14 (5)	1	3,54±0,18 / 0–17 (190)	1
РСП генеративного побега [Actual seed productivity of generative shoot]	212 / 120–360 (5)	26,93±3,77 / 0–83 (30)	24,93 / 0–224 (30)	31,7±3,4 / 15–54 (10)
Число генеративных побегов на особь [Number of generative shoots per individual]	1	1,56±0,14 / 1–6 (58)	3,90±0,36 / 0–20 (100)	1
РСП генеративной особи [Actual seed productivity of individual]	212 / 120–360 (5)	41,99	97,23	31,7±3,4 / 15–54

О к о н ч а н и е т а б л. 1 [Table 1 (end)]

Показатель семенной продуктивности [Indicator of seed productivity]	<i>S. baicalensis</i>	<i>S. frolovii</i>	<i>S. salicifolia</i>	<i>S. schanginiana</i>
Число генеративных побегов на 1 м ² [Number of generative shoots per 1 m ²]	0,005	1,37±0,19 / 0–6 (60)	2,32±0,32 / 0–12 (90)	0,062
Масса 1000 семян, мг [Weight of 1000 achenes, mg]	6 400	16 006	2 013	7 161
Число семян на 1 м ² [Number of achenes per 1 m ²]	1	51,17 / 0–162	87,22 / 0–2688	0,5
Урожайность, мг/м ² [Productivity, mg/m ²]	6,4	589,15	253,0	3,7

Примечания. В таблице указаны показатели семенной продуктивности для каждого вида в следующем порядке: $M \pm m / \text{lim } (n)$, где M – среднее арифметическое, m – стандартная ошибка, lim – пределы колебаний значений выборки, n – объём выборки.

[Note. The data are exposed in the following order: $M \pm m / \text{lim}(n)$ where M - the mean; m - the standard error of the mean; lim - the fluctuation range of the sample values, n - the sample size].

Важным критерием состояния вида является участие его особей в ценозе. Максимальное число генеративных побегов на 1 м² наблюдалось у *S. salicifolia* (в среднем 2 побега). Этот вид также наиболее благополучен по числу семян на 1 м². Однако у *S. salicifolia* отмечено значительное колебание показателей семенной продуктивности в 2012 и 2013 гг. (табл. 2). 2012 г. характеризовался засушливым и жарким летом со среднесуточной температурой июля +19,0°C и количеством выпавших осадков 55,6 мм; 2013 г. был прохладным и дождливым со среднесуточной температурой июля +17,1°C и количеством выпавших осадков 72,8 мм. ПСП корзинки *S. salicifolia* в 2012 г. оказалась в 1,4 раза меньше, чем в 2013 г. Остальные показатели семенной продуктивности в 2012 г. были выше, чем в 2013 г.: РСП корзинки – в 2,5 раза, коэффициент семенификации – в 3,2 раза, число корзинок на 1 побеге – в 1,6 раза, РСП генеративного побега – в 3,9 раза, масса 1 000 семян – почти в 2 раза. Это свидетельствует о том, что условия тёплого и засушливого лета более благоприятны для созревания семян *S. salicifolia*. Разница между показателями семенной продуктивности *S. salicifolia* в разных местообитаниях в 2013 г. не столь значительна.

У *S. frolovii* отмечена наибольшая ПСП на уровне корзинки, но РСП существенно ниже. Из всех изученных видов *S. frolovii* характеризуется наименьшим коэффициентом семенификации. Низкая РСП корзинки является результатом сильного влияния насекомых-фитофагов. Личинки и имаго

долгоносика *Larinus sturnus* Schall. и мухи-пестрокрылки *Tephritis froloviana* Scherb., специализирующейся исключительно на *S. frolovii*, съедают до 90% ложа корзинки, бутонов, цветков, семязачатков и семян [33]. Поэтому *S. frolovii* отличается низким числом вызревающих семян на 1 м², уступая по этому показателю *S. salicifolia* почти в 2 раза.

Т а б л и ц а 2 [Table 2]

**Семенная продуктивность *Saussurea salicifolia*
в 2012–2013 гг. в разных местообитаниях**
[Seed productivity of *Saussurea salicifolia* in different habitats in 2012–2013]

Показатель семенной продуктивности [Indicator of seed productivity]	Семенная продуктивность, М±м/лим (n) [Seed productivity, M±m/lim (n)]		
	2012 г., местообитание 1 [2012, habitat 1]	2013 г., местообитание 1 [2013, habitat 2]	2013 г., местообитание 2 [2013, habitat 2]
ПСП корзинки [Potential seed productivity of anthodium]	11,70±0,64 / 4–17 (30)	17,81±0,44 / 6–33 (90)	15,48±0,38 / 5–25 (90)
РСП корзинки [Actual seed productivity of anthodium]	8,35±0,78 / 0–16 (30)	2,84±0,49 / 0–24 (90)	3,80±0,51 / 0–23 (90)
Коэффициент семенификации, % [Seed: ovule ratio, %]	71,50	20,31	24,55
Число корзинок на побеге [Number of anthodia per shoot]	5,40±0,71 / 0–14 (30)	3,08±0,19 / 1–17 (130)	3,67±0,31 / 1–7 (30)
РСП генеративного побега [Actual seed productivity of generative shoot]	45 / 0–117	9 / 3–48	14 / 4–27
Число генеративных побегов на 1 м ² [Number of generative shoots per 1 m ²]	1,93±0,62 / 0–12 (30)	3,27±0,55 / 0–10 (30)	1,77±0,46 / 0–9 (30)
Масса 1000 семян, мг [Weight of 1000 achenes, mg]	2927	1633	1480
Число семян на 1 м ² [Number of achenes per 1 m ²]	87,22	28,65	24,61
Урожайность, мг/м ² [Productivity, mg/m ²]	255,29	46,79	36,42

Примечания. 1. Условные обозначения те же, что в табл. 1. 2. Местообитание 1 – осочково-мятликово-разнотравная горная степь (окр. с. Ефремикино, 600 м над ур. м.), местообитание 2 – овсяницево-осочковая горная степь (окр. с. Ефремикино, 700 м над ур. м.).

[Note. 1. Conventions are the same as in Table 1; 2. Habitat 1 - mountain steppe with sedges, bluegrass and forbs (near the village of Efremkino, 600 m above sea level), habitat 2 - mountain steppe with fescues and sedges (near the village of Efremkino, 700 m above sea level)].

Критически низкое участие в ценозе по числу генеративных побегов и вызревающих на 1 м² семян отмечено у *S. baicalensis* и *S. schanginiana*. Малое обилие особей *S. baicalensis* связано с жизненной формой этого вида (монокарпик). Изучение сотрудниками лаборатории флоры и растительных ресурсов НИИББ ТГУ продолжительности жизни растений этого вида показало, что абсолютный возраст генеративных особей *S. baicalensis* составляет

5–9 лет. В последний год жизни особь образует генеративный побег, после чего отмирает. На побеге вызревает сравнительно большое число семян (120–360), после чего, израсходовав все накопленные ресурсы, растение погибает. Подобный механизм размножения получил название тактики «концентрированного удара» [34].

Критически низкое обилие *S. schanginiana* обусловлено отчасти малой РСП генеративного побега, отчасти продолжительными перерывами в цветении, которые, по нашим наблюдениям, могут длиться до 3 лет.

В результате изучения лабораторной всхожести семян 4 видов *Saussurea* получены данные по 4 показателям всхожести (табл. 3). Из изученных видов самой высокой всхожестью свежесобранных семян (72%) характеризуется *S. schanginiana*, семян после стратификации (86%) – *S. baicalensis*. У *S. frolovii* и *S. salicifolia* отмечена относительно низкая всхожесть в обоих вариантах опыта.

Т а б л и ц а 3 [Table 3]

Лабораторная всхожесть семян редких видов *Saussurea* Кузнецкого Алатау
[Laboratory seed germination of rare *Saussurea* species of the Kuznetsk Alatau]

Показатель всхожести [Indicator of germination]	<i>S. baicalensis</i>		<i>S. frolovii</i>		<i>S. salicifolia</i>		<i>S. schanginiana</i>	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Начало прорастания, сут [Beginning of germination, day]	6	5	2	3	2	2	2	2
Период прорастания, сут [Germination period, day]	13	14	6	11	10	6	6	8
Всхожесть, % (lim) [Germination, % (lim)]	9,0	86,0	8,0 (3,3–11,7)	6,6 (1,7–11,9)	6,3 (0–18)	11,0 (4,7–14,0)	72,0 (64,0–76,0)	76,7 (71,7–81,1)

Примечания. lim – пределы колебаний значения выборки. 1 – свежесобранные семена; 2 – стратифицированные семена.

[Note. lim - the fluctuation range of the sample. 1 - freshly harvested seeds; 2 - stratified seeds].

Обработка холодом оказала очень эффективное воздействие на семена *S. baicalensis* (увеличение всхожести почти в 10 раз). Всхожесть семян *S. salicifolia* после стратификации выросла значительно (почти в 2 раза), но при этом осталась невысокой, сократился период прорастания семян этого вида. Стратификация семян *S. schanginiana* оказала небольшое положительное влияние на всхожесть (увеличилась на 6%), но на 2 дня выросли период и энергия прорастания. Семена *S. frolovii* характеризуются отрицательной реакцией на стратификацию: их всхожесть уменьшилась на 17,5%, обработка холодом увеличила период прорастания на 5 дней.

Таким образом, *S. baicalensis* и *S. schanginiana*, оказавшиеся наиболее уязвимыми из изученных видов по показателям семенной продуктивности,

характеризуются высокими показателями всхожести семян после стратификации. И хотя полевая всхожесть всегда ниже лабораторной, можно рассматривать высокую всхожесть этих видов как механизм компенсации низкой численности в ценопопуляциях. *S. frolovii* и *S. salicifolia*, характеризующихся средней урожайностью и низкой всхожестью семян. Вероятно, низкие показатели самовоспроизведения изученных видов на территории Кузнецкого Алатау отражают их стеноотпность, которая является причиной фрагментарного ареала этих видов.

Выводы

1. У всех изученных видов отсутствует эффективное вегетативное размножение.

2. Семенная продуктивность на уровне корзинки наиболее высокая у *S. schanginiana*, на уровне побега – у *S. baicalensis*, на уровне ценоза – у *S. salicifolia*.

3. *S. baicalensis* является многолетним монокарпиком и играет малую роль в ценозе, выживает за счёт высоких РСП побега и всхожести стратифицированных семян.

4. Для *S. frolovii* характерен низкий коэффициент семенификации, в том числе в результате деятельности специализирующихся на этом виде фитофагов. *S. salicifolia* отличается довольно низкими показателями семенной продуктивности и всхожести. Удерживание видов в ценозах обеспечивается относительно высоким числом генеративных побегов и созревающих семян.

5. *S. schanginiana* имеет достаточно высокие показатели семенной продуктивности на уровне корзинки и побега и отличается высокой всхожестью свежесобранных и стратифицированных семян. Уязвимость вида связана с низким числом генеративных побегов и созревших семян.

6. На территории Кузнецкого Алатау ценопопуляции изученных видов занимают незначительные площади, в результате чего антропогенное вмешательство может их легко уничтожить. Исходя из полученных данных по показателям воспроизведения, все изученные виды нуждаются в охране. Заготовки лекарственного сырья в природе недопустимы.

Авторы выражают благодарность сотрудникам кафедры зоологии беспозвоночных ТГУ М.В. Щербакову и С.А. Кривец за помощь в определении насекомых-фитофагов.

Литература

1. Лунин С.Ю. Род Соссюрея, Горькуша – *Saussurea* DC. // Флора СССР. Т. 27. М. ; Л. : Изд-во Академии наук СССР, 1962. С. 361–535.
2. Шурупова М.Н., Гуреева И.И. К ботанико-географическому изучению редких видов рода *Saussurea* DC. на Кузнецком Алатау // Биогеоценология и ландшафтная экология: материалы IV Международной конференции, посвященной памяти Ю.А. Львова. 28–30 ноября 2012. Томск : Изд-во Том. гос. ун-та, 2012. С. 309–312.

3. Сергиевская Л.П. *Saussurea* DC. – Соссюрея // Крылов П.Н. Флора Западной Сибири. Т. 12 (доп.), ч. 2. Томск, 1964. С. 3497–3500.
4. Серых Г.И. *Saussurea* DC. Соссюрея, Горькуша // Флора Красноярского края. Томск, 1980. Вып. 10. С. 80–87.
5. Буко Т.Е. Конспект флоры высших сосудистых растений заповедника «Кузнецкий Ала-тау» // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. 2002. № 8. С. 35–53.
6. Красная книга Кемеровской области. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов / под ред. И.М. Красноборова. Кемерово : Кемеровское книж-ное изд-во, 2000. 246 с.
7. Красная книга Кемеровской области: Т. 1 : Редкие и находящиеся под угрозой исчез-новения виды растений и грибов. 2-е изд., перераб. и доп. / под ред. А.Н. Куприянова. Кемерово : Кемеровское книжное изд-во, 2012. 208 с.
8. Григорьева Т.П. О применении в детской клинической практике спиртовых экстрактов пижмы и голубушки // Материалы 2-го совещания по исследованию лекарственных растений Сибири и Дальнего Востока. Томск, 1961. С. 33–34.
9. Федотова В.Е. Препараты из голубушки как противоямблиозное средство // Новые лекарственные растения Сибири, их лечебные препараты и применение. 1959. № 5. С. 151–154.
10. Саратиков А.С., Федотова В.Е. Экстракт голубушки как противоямблиозное сред-ство // Аптечное дело. 1962. № 3. С. 26–28.
11. Kang K., Lee H.J., Kim C.Y., Tunsag J., Batsuren D., Nho C.W. The chemopreventive effects of *Saussurea salicifolia* through induction of apoptosis and phase II detoxification enzyme // Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2007. Vol. 30, № 12. P. 2352–2359.
12. Chunsriimayataw G., Hoza I., Valášek P., Skrovanková S., Banzragch D., Tseveguren N. Determination of Phenolic Compounds in *Saussurea salicifolia* (L.) DC by HPLC // Czech Journal of Food Sciences. 2009. Vol. 27. P. 259–261.
13. Государственный реестр лекарственных средств. URL: <http://www.grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx>, свободный (дата обращения: 7 февраля 2014).
14. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, исполь-зование. Т. 7 : Семейство Asteraceae (Compositae) / под ред. П.Д. Соколова. СПб. : Наука, 1993. 352 с.
15. Балашова М.В., Кудряшова И.А., Балаганская Е.Н. Проблемы, перспективы и совре-менный механизм поддержки малых и средних предприятий, действующих в сфере внутреннего и въездного туризма на территории Кемеровской области // Вестник Ке-меровского государственного университета культуры и искусств. 2010. № 13. С. 136–142.
16. Алябьева Г.Н., Фахрина М.В. Антропогенное воздействие на природный потенциал Кемеровской области // Современные наукоемкие технологии. 2008. № 2. URL: http://www.rae.ru/snt/?section=content&op=show_article&article_id=2970, свободный (дата обращения: 7 февраля 2014).
17. Акименко Ю. Новая трасса в Хакасии: дорога к горным богатствам, которых хватит на сто лет. Вести.RU // © “Вести” интернет-газета (“VESTI.RU”). URL: <http://www.vesti.ru/doc.html?id=1108832>, свободный (дата обращения: 7 февраля 2014).
18. Красноборов И.М. Высокогорная флора Западного Саяна. Новосибирск : Наука, 1976. 380 с.
19. Эбель А.Л. Конспект флоры северо-западной части Алтае-Саянской провинции. Ке-мерово : Ирбис, 2012. 568 с.
20. Ареалы лекарственных и родственных им растений СССР (Атлас) / под ред. В.М. Шмидт. Л. : Изд-во Ленингр. гос. ун-та, 1983. С. 175.
21. Куминова А.В. Основные черты и закономерности растительного покрова // Расти-тельный покров Хакасии. Новосибирск : Наука, 1976. С. 40–94.

22. Седельников В.П. Высокогорная растительность Алтае-Саянской горной области. Новосибирск : Наука, 1988. 223 с.
23. Серебряков Т.И. Жизненные формы высших растений и их изучение // Полевая геоботаника. М. : Наука, 1964. Т. 3. С. 146–205.
24. Голубев В.Н. Эколого-биологические особенности травянистых растений и растительных сообществ лесостепи. М., 1965. 286 с.
25. Денисова Л.В., Никитина С.В., Заугольнова Л.Б. Программа и методика наблюдений за ценопопуляциями видов растений Красной книги СССР. М. : ВАСХНИЛ, 1986. 34 с.
26. Рысин Л.П., Рысина Г.П. Морфоструктура подземных органов лесных травянистых растений. М. : Наука, 1987. 208 с.
27. Шурупова М.Н., Гуреева И.И., Некратова Н.А. Онтогенез и структура ценопопуляций *Saussurea salicifolia* (Asteraceae) в Кузнецком Алатау // Растительные ресурсы. 2014. Т. 50, № 2. С. 205–215.
28. Вайнагий И.В. О методике изучения семенной продуктивности растений // Ботанический журнал. 1974. Т. 59, № 6. С. 826–831.
29. Погода и климат // Погода и климат – погода в Шира (Хакасия, Россия), архив погоды в Шира, погода в Шира за неделю. URL: <http://www.pogodaiklimat.ru/weather.php?id=29756&bday=1&fday=31&amonth=7&ayear=2012>, <http://www.pogodaiklimat.ru/weather.php?id=29756&bday=1&fday=31&amonth=7&ayear=2013>, свободный. (дата обращения: 7 февраля 2014).
30. Некратов Н.Ф. К биологии родиолы розовой // Исчезающие, редкие и слабо изученные растения и животные Алтайского края и проблемы их охраны : тез. докл. Барнаул, 1987. С. 18–19.
31. Некратова Н.А., Некратов Н.Ф., Михайлова С.И., Серых Г.И. Лекарственные растения Кузнецкого Алатау. Ресурсы и биология. Томск : Изд-во Том. гос. ун-та, 1991. 268 с.
32. Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л. : Наука, 1985. 348 с.
33. Щербаков М.В. Мухи-пестрокрылки (Diptera, Tephritidae) центральной части Кузнецкого Алатау // Энтомологическое обозрение. 2002. Т. 81, № 2. С. 460–487.
34. Пианка Э. Эволюционная экология / пер. с англ. А.М. Гилярова, В.Ф. Матвеева ; под ред. и с предисл. М.С. Гилярова. М. : Мир, 1981. 400 с.

Поступила в редакцию 24.05.2014 г.; говорно 27.11.2014 г.; принята 15.01.2015 г.

Авторский коллектив:

Шурупова Маргарита Николаевна – аспирант кафедры ботаники Биологического института Национального исследовательского Томского государственного университета (г. Томск, Россия).

E-mail: rita.shurupova@inbox.ru

Гуреева Ирина Ивановна – д-р биол. наук, профессор; профессор кафедры ботаники Биологического института Национального исследовательского Томского государственного университета, зав. Гербарием им. П.Н. Крылова (г. Томск, Россия).

E-mail: gureyeva@yandex.ru

Некратова Наталья Алексеевна – д-р биол. наук, с.н.с., зав. лабораторией флоры и растительных ресурсов НИИ биологии и биофизики Национального исследовательского Томского государственного университета (г. Томск, Россия).

E-mail: nnekrat@gmail.com

Shurupova MN, Gureeva II, Nekratova NA. Reproduction features of rare *Saussurea* species (Asteraceae) in the Kuznetsk Alatau mountains. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;1(29):86-102. doi: 10.17223/19988591/29/7. In Russian, English summary.

Margarita N. Shurupova, Irina I. Gureeva, Natalya A. Nekratova

Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

Reproduction features of rare *Saussurea* species (Asteraceae) in the Kuznetsk Alatau mountains

Genus *Saussurea* DC. in the Kuznetsk Alatau mountains is represented by 11 species which are not considered endangered. The development of the mining and timber industries, construction of roads and mass tourism directly threaten their habitats. The stability of populations within separate plant communities is provided with ability of species to seed reproduction and cloning. The aim of our work was to investigate seed productivity of 4 *Saussurea* species which are the most vulnerable. We studied the biomorph, seed efficiency and laboratory seed viability of 4 rare *Saussurea* species growing in the Kuznetsk Alatau: *S. baicalensis* (Adams) Robins., *S. frolovii* Ledeb., *S. salicifolia* (L.) DC., and *S. schanginiana* (Wydł.) Fisch. ex Herd. in 2012-2013 using standard methods. We defined the biomorph of *S. baicalensis* as monocentric long-term deciduous summer herbaceous semi-rosette monocarpic with long taproot and not branched caudex. The biomorph of *S. frolovii*, *S. salicifolia* and *S. schanginiana* is implicitly polycentric deciduous summer herbaceous semi-rosette polycarpic with multihead caudex. *S. baicalensis* is characterized by critically low number of generative shoots in cenosis (0.005 piece/m²), a high of shoot (212 seeds) and germination of stratified seeds (86%). The low seed: ovule ratio (16.9%), including the result of activity of phytophagans specializing in this species, and low seed germination (to 8%) is characteristic of *S. frolovii*. Low of an anthodium (about 4 seeds) and seed germination (to 11%) are also noted for *S. salicifolia*. Keeping species in the cenoses is provided by a rather high number of generative shoots and maturing seeds. *S. schanginiana* differs by a rather high of anthodium (about 38 seeds) and seed germination (76-81%). The vulnerability of this species is connected with a low number of generative shoots (0.062 piece/m²) and maturing seeds (0.5 piece/m²). All studied species have no effective vegetative reproduction, and the ability to seed self-resumption is low. Complicated cenopopulation self-maintenance, rare or sporadic occurrence within the Kuznetsk Alatau, and small areas occupied by populations make species vulnerable to any influences, therefore they need protection.

Acknowledgments: This work was carried out under the grant of the President of the Russian Federation for Support of the Leading Scientific Schools (HIII-324.2014.4).

The authors thank MV Shcherbakov (Tomsk State University, Tomsk) and SA Krivets (Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Tomsk) for the help in determining phytophagous insects.

The article contains 3 Tables, 34 References.

Key words: *Saussurea* DC.; Kuznetsk Alatau; biomorph; rare species; seed productivity; seed germination.

References

1. Lipshits SYu. Rod Sossyureya, Gorkusha - *Saussurea* DC. In: Flora SSSR. Asteraceae [Flora of the USSR]. Vol. 27. Komarov VL, editor. Moscow-Leningrad: Izdatel'stvo AN SSSR; 1962. pp. 361-535. In Russian
2. Shurupova MN, Gureyeva II. K botaniko-geograficheskomu izucheniyu redkikh vidov roda *Saussurea* DC. na Kuznetskom Alatau [To botanical and geographic study of the rare species of *Saussurea* DC. in the Kuznetsk Alatau]. In: *Biogeotsenologiya i landshaftnaya ekologiya*. Materialy IV Mezhdunar. konf., posvyashchennoy pamyati Yu.A. L'vova. 28–30 noyabrya 2012 [Biogeocenology and landscape ecology. Proc. of the IV International. Conf. dedicated to the memory of L'vov YuA. 28-30 November 2012]. Tomsk: Tomsk State University Publ.; 2012. pp. 309-312. In Russian
3. Sergievskaya LP. *Saussurea* DC. – Sossyureya. In: Krylov P.N. Flora Zapadnoy Sibiri [Krylov P.N. Flora of Western Siberia]. Vol. 12, Pt. 2. Tomsk: Tomsk State University Publ.; 1964. pp. 3497-3500. In Russian
4. Serykh GI. *Saussurea* DC. Sossyureya, Gor'kusha. In: Flora Krasnoyarskogo Kraya. Asteraceae (Compositae) [Flora of Krasnoyarsk Kray. Asteraceae (Compositae)]. Vol. 10. Polozhiy AV, editor. Tomsk: Tomsk State University Publ.; 1980. pp. 80-87. In Russian
5. Buko TE. The check-list of higher vascular plants of the reservation "Kuznetsk Alatau". *Botanicheskie issledovaniya Sibiri i Kazakhstana*. 2002;8:35-53. In Russian
6. Krasnaya kniga Kemerovskoy oblasti. Redkie i nakhodyashchiesya pod ugrozoy ischeznoveniya vidy rasteniy i gribov [The Red list of Kemerovo Oblast. Rare and endangered species of plants and fungi]. Krasnoborov IM, editor. Kemerovo: Kemerovskoe knizhnoe izdatel'stvo; 2000. 246 p. In Russian
7. Krasnaya kniga Kemerovskoy oblasti. Redkie i nakhodyashchiesya pod ugrozoy ischeznoveniya vidy rasteniy i gribov [The Red list of Kemerovo Oblast. Rare and endangered species of plants and fungi]. 2nd ed. Kupriyanov AN, editor. Vol. 1. Kemerovo: Kemerovskoe knizhnoe izdatel'stvo; 2012. 208 p. In Russian
8. Grigor'eva TP. O primeneni v detskoj klinicheskoy praktike spirtovykh ekstraktov pizhmy i golubushki [On the application in pediatric clinical practice of alcoholic extracts of tansy and golubushka]. In: *Mat. 2-go soveshch. po issledovaniyu lekarstvennykh rasteniy Sibiri i Dal'nego Vostoka* [Proc. of the 2nd Conf. on research of medicinal plants in Siberia and the Far East]. Tomsk: Tomsk State University Publ.; 1961. pp. 33-34. In Russian
9. Fedotova VE. Preparaty iz golubushki kak protivolyamblioznoe sredstvo [Medications from Golubushka as an antigirardiasis drug]. *Novye lekarstvennye rasteniya Sibiri, ikh lechebnye preparaty i primeneniye* [New Siberian medicinal plants, their medicinal preparations and application]. Vol. 5. Tomsk: Tomsk State University Publ.; 1959. pp. 151-154. In Russian
10. Saratikov AS, Fedotova VE. Ekstrakt golubushki kak protivolyamblioznoe sredstvo [Extract of Golubushka as an antigirardiasis drug]. *Aptechnoe delo*. 1962;3:26-28. In Russian
11. Kang K, Lee HJ, Kim CY, Tunsag J, Batsuren D, Nho CW. The chemopreventive effects of *Saussurea salicifolia* through induction of apoptosis and phase II detoxification enzyme. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2007;30(12):2352-2359.
12. Chunsriimyatav G, Hoza I, Valášek P, Skrovanková S, Banzragch D, Tsevegsuren N. Determination of Phenolic Compounds in *Saussurea salicifolia* (L.) DC by HPLC. *Czech Journal of Food Sciences*. 2009;27: 259-261.
13. Gosudarstvennyi reestr lekarstvennykh sredstv [State Register of medicines] [Electronic resource]. Available at: <http://www.grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx> (accessed 07.02.2014). In Russian
14. Rastitel'nye resursy SSSR: Tsvetkovye rasteniya, ikh khimicheskii sostav, ispol'zovanie. Semeistvo Asteraeae (Compositae) [Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition and utilization. Family Asteraeae (Compositae)]. Sokolov PD, editor. Vol. 7. St. Petersburg: Nauka Publ.; 1993. 352 p. In Russian

15. Balashova MV, Kudryashova IA, Balaganskaya EH. Problems, prospects and modern mechanism of support for small and medium-sized enterprises operating in domestic and inbound tourism in Kemerovo region. *Bulletin of Kemerovo State University of culture and arts*. 2010;13:136-142. In Russian
16. Alyab'eva GN, Fakhrina MV. Antropogennoe vozdeystvie na prirodnyy potentsial Kemerovskoy oblasti [Human impact on the natural potential of Kemerovo Oblast]. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*. 2008;2. [Electronic resource]. Available at: http://www.rae.ru/snt/?section=content&op=show_article&article_id=2970 (accessed 07.02.2014). In Russian
17. Akimenko Yu. Novaya trassa v Khakasii: doroga k gornym bogatstvam, kotorykh khvatit na sto let [The new road in Khakassia: the road to the mountain wealth which will suffice for a hundred years]. In: *Vesti.ru – Internet Newspaper*. 2013 [Electronic resource]. Available at: <http://www.vesti.ru/doc.html?id=1108832> (accessed 07.02.2014). In Russian
18. Krasnoborov IM. Vysokogornaya flora Zapadnogo Sayana [High-mountain flora of the Western Sayan]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1976. 380 p. In Russian
19. Ebel AA. Konspekt flory severo-zapadnoy chasti Altae-Sayanskoy provintsii [Synopsis of flora of the north-western part of the Altai-Sayan region]. Kemerovo: Irbis Publ.; 2012. 568 p. In Russian
20. Areal'y lekarstvennykh i rodstvennykh im rasteniy SSSR (Atlas) [Geographic ranges of medicinal plants and their congeners in the USSR (Atlas)]. Schmidt VM, editor. Leningrad: Leningrad State University Publ.; 1983. 208 p. In Russian
21. Kuminova AV. Osnovnye cherty i zakonomernosti rastitel'nogo pokrova [Key features and patterns of vegetation]. In: *Rastitel'nyi pokrov Khakasii* [Vegetation of Khakassia]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1976. pp. 40-94. In Russian
22. Sedel'nikov VP. Vysokogornaya rastitel'nost' Altae-Sayanskoy gornoj oblasti [Highland vegetation of the Altai-Sayan mountain area]. Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ.; 1988. 223 p. In Russian
23. Serebryakov TI. Zhiznennyye formy vysshikh rasteniy i ikh izuchenie [Life forms of higher plants and their study]. In: *Polevaya geobotanika* [Field geobotany]. Korchagin AA, Lavrenko EM, editors. Vol. 3. Moscow: Nauka Publ.; 1964. pp. 146-205. In Russian
24. Golubev VN. Ekologo-biologicheskie osobennosti travyanistyykh rasteniy i rastitel'nykh soobshchestv lesostepi [Ecological and biological features of herbaceous plants and plant communities of the forest steppe]. Moscow: Nauka Publ.; 1965. 286 p. In Russian
25. Denisova LV, Nikitina SV, Zaugol'nova LB. Programma i metodika nablyudeniya za tsenopopulyatsiyami vidov rasteniy Krasnoy knigi SSSR [Program and methods of observation on cenopopulations of plant species of the Red List of the USSR]. Moscow: Izdatel'stvo Vsesoyuznoy akademii sel'skokhozyaystvennykh nauk imeni Lenina; 1986. 34 p. In Russian
26. Rysin LP, Rysina GP. Morfostruktura podzemnykh organov lesnykh travyanistyykh rasteniy [Morphological structure of subsurface parts of forest herbaceous plants]. Moscow: Nauka Publ.; 1987. 208 p. In Russian
27. Shurupova MN, Gureyeva II, Nekratova NA Ontogenesis and cenopopulation structure of *Saussurea salicifolia* (Asteraceae) on the Kuznetsky Alatau mountains. *Rastitel'nye resursy*. 2014;50(2):205-215. In Russian, English summary
28. Vainagiy IV. O metodike izucheniya semennoy produktivnosti rasteniy [Methods of plant seed productivity studying]. *Botanicheskiy zhurnal*. 1974;59(6):826-831. In Russian
29. Pogoda i Klimat – pogoda v Shira (Khakasiya, Rossiya), arkhiv pogody v Shira, pogoda v Shira za nedelyu [Weather and Climate - Weather in Shira (Khakassia, Russia), an archive of weather Shira, Shira weather for the week] [Electronic resource]. Available at: <http://www.pogodaiklimat.ru/weather.php?id=29756&bday=1&fday=31&amonth=7&ayear=2012>, <http://www.pogodaiklimat.ru/weather.php?id=29756&bday=1&fday=31&amonth=7&ayear=2013> (accessed 07.02.2014). In Russian

30. Nekratov NF. K biologii rodioly rozovoy [Biology of *Rhodiola rosea*]. In: *Ischezayushchie, redkie i slabo izuchennyye rasteniya i zhivotnye Altaiskogo kraya i problemy ikh okhrany* [Endangered, rare and poorly studied plants and animals of Altai Kraiy and the problems of their protection. Proc. Sci. Conf.]. Barnaul. 1987. pp. 18-19. In Russian
31. Nekratova NA, Nekratov NF, Mikhaylova SI, Serykh GI. Lekarstvennyye rasteniya Kuznetskogo Alatau. Resursy i biologiya [Medicinal plants of the Kuznetsk Alatau. Resources and biology]. Tomsk: Tomsk State University Publ.; 1991. 268 p. In Russian
32. Nikolaeva MG, Razumova MV, Gladkova VN. Spravochnik po prorashchivaniyu pokoyaschikhhsya semyan [Handbook of dormant seed germination]. Leningrad: Nauka Publ.; 1985. 348 p. In Russian
33. Scherbakov MV. Tephritid flies (Diptera, Tephritidae) of Central part of the Kuznetsk Alatau. *Entomologicheskoe obozrenie*. 2002;81(2):460-487. In Russian
34. Pianka ER. Evolutionary ecology. Gilyarova AM, Matveeva VF, translated from English; Gilyarov MS, editor. Moscow: Mir; 1981. 400 p. In Russian

Received 24 May 2014;
Revised 27 November 2014;
Accepted 15 January 2015

Authors info:

Shurupova Margarita N, post graduate student, Department of Botany, Tomsk State University, 36 Lenina Prospekt, Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: rita.shurupova@inbox.ru

Gureeva Irina I, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Department of Botany, P.N. Krylov Herbarium, Tomsk State University, 36 Lenina Prospekt, Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: gureyeva@yandex.ru

Nekratova Natalya A, Dr. Sci. (Biol.), Department of Flora and Plant Resources, Institute of Biology and Biophysics, Tomsk State University, 36 Lenina Prospekt, Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: nnekrat@gmail.com

ЗООЛОГИЯ

УДК 597+57.084

doi: 10.17223/19988591/29/8

И.В. Зуев¹, А.В. Зуева²

¹ Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, Россия

² Институт биофизики СО РАН, г. Красноярск, Россия

Оценка эффективности мечения рыб флуоресцентными красителями на различной полимерной основе

Проведены исследования эффективности мечения рыб флуоресцентными красителями на основе акрилата и силиконовых компаундов. В лабораторных экспериментах особям сибирского пескаря *Gobio suposcephalus* подкожно имплантировали метки трех типов, оценивая изменение сохранности и видимости метки с течением времени, а также выживаемости и скорости роста помеченных рыб в сравнении с рыбами в контрольной группе. Показано, что внедрённые акриловые метки хорошо распознавались в течение четырех месяцев, не приводя к смертности и уменьшению скорости роста рыб в сравнении с контрольной группой. Видимость меток при использовании источника ультрафиолетового излучения на 134-е сут эксперимента составила 100%. Имплантация силиконовых компаундов также не оказывала воздействия на выживаемость рыб, однако потери меток этого типа составили более 85% на 44-й день эксперимента. Сохранившиеся силиконовые метки оставались в неизменном виде в течение 6 мес. Результаты исследований позволяют рекомендовать акриловые метки для кратковременного мечения мелких рыб, силиконовые – для мечения рыб среднего и крупного размера на длительный срок.

Ключевые слова: мечение рыб; имплантация; флуоресцентные метки; акрилаты; силиконы.

Введение

Мечение рыб существенно расширяет возможности их исследования в естественной среде обитания, позволяя изучать множество индивидуальных и популяционных показателей, таких как оценка численности стада, установление миграционных путей, определение интенсивности промысла и т.д. Несмотря на внедрение в арсенал ихтиологов разнообразных высокотехнологичных типов меток [1, 2], до сих пор остаются востребованными и традиционные методы мечения рыб, обычно более бюджетные и дающие возможность распознавания помеченной рыбы без специального оборудования.

Современной альтернативой классическим внешним меткам (например, биркам) служат флуоресцентные химические красители, наносимые поверхностно или впрыскиваемые под кожу. Метод удобен для массового ме-

чения мелких животных и считается относительно недорогим и безопасным для рыб. Лидером и практически единственным производителем флуоресцентных меток является фирма Northwest Marine Technology (NMT, USA), эффективность продуктов которой подтверждена многими исследованиями [3–5]. Помимо этого, существует ряд публикаций, где исследователи проводят тестирование самых разнообразных потребительских красителей, призванных еще более уменьшить себестоимость готовых меток [6–8].

Несмотря на довольно успешные, хотя и часто противоречивые результаты этих работ, русскоязычные публикации, посвященные методикам или результатам применения флуоресцентных меток, практически отсутствуют. Цель настоящего исследования – оценка мечения мелких рыб тремя видами доступных полимеров, являющихся основой для флуоресцентного пигмента.

Материалы и методики исследования

Для проведения мечения использовали особей пескаря сибирского *Gobio synocephalus* Dybowski, 1869. Данный вид является фоновым для территории Красноярского края, массово встречается в местных водотоках и относительно легко содержится в искусственных условиях.

Отлов рыб проводили с мая по октябрь 2013 г. в водотоках Красноярского края (р. Кача, р. Бугач) неводом с диаметром ячеи 10 мм. Размеры отловленных рыб варьировали от 7 до 14 см, в среднем около 10 см.

Период акклиматизации рыб длился не менее 10 дней. Акклиматизация заключалась в формировании стабильной однородной выборки рыб, адаптированной к лабораторной температуре, свету, режиму и типу кормления. В процессе подготовки рыб к эксперименту удаляли эктопаразитов (паразитических ракообразных рода *Lernaea*); рыб, имеющих поверхностные язвы, дополнительно пролечивали стандартными методами [9].

Оборудование для содержания рыб до и после проведения мечения представлено ёмкостями из пищевого алюминия объёмом около 500 л (30×130×130 см). Резервуары оборудованы системами фильтрации, аэрации воды и подсветки (лампы мощностью 50 Вт). Режим освещения (10 свет / 14 темнота) задавался таймером. Температура воды поддерживалась на уровне 19–20°C. Кислородное насыщение при данной температуре – 100%. Два раза в неделю в резервуарах чистили и меняли 1/10 часть объема воды.

При кормлении рыб использовали сухой форелевый гранулированный комбикорм и замороженный комбикорм собственного изготовления. Режим кормления сухим комбикормом – 4 г на 15 рыб один раз в два дня; замороженным комбикормом – 15 г на 15 рыб один раз в два дня.

Для снижения стрессового фактора при пересаживаниях, взвешивании и мечении, рыб предварительно усыпляли раствором анестетика (в том числе рыб в контрольной группе). Для этих целей использовали природный анестетик – гвоздичное масло – согласно рекомендациям [10, 11].

Для мечения рыб применяли инсулиновые шприцы с иглой (1 мл, 0,45 мм×12 мм). Время мечения одной усыпленной рыбы составляло примерно 15–30 с. Метка вводилась подкожно в область основания грудных плавников.

Непосредственно после процедуры мечения рыб помещали в ёмкость с раствором перманганата калия (0,01 г на 1 л воды) на 10–15 мин для снижения вероятности возникновения воспалений септической природы и другого типа поражений патогенными для рыб организмами.

Взвешивание каждой группы рыб (контрольной и экспериментальной) проводили в водной среде. Для этого на электронных весах (с точностью измерения до 0,01 г) обнулялась масса стеклянной ёмкости с объемом воды около 1 л, затем туда высаживали рыб и проводили взвешивание.

В ходе работы мы тестировали три типа меток, составляющими которых являлись следующие компоненты:

1. Акриловая флуоресцентная краска на основе водной акриловой дисперсии (производитель ЗАО Завод художественных красок «Невская Палитра», г. Санкт-Петербург).

2. Кремнийорганическая паста-основа «Пентэласт-712» марка А + флуоресцентный пигмент (страна-производитель – Индия, импортёр – ООО «Люминофор Сити», г. Пермь) + сшивающий агент (производитель ООО «Пента-91», г. Москва). Соотношение компонентов по массе – 100:1:6. При температуре 20°C полученная смесь застывает в течение 72 ч.

3. Кремнийорганическая паста-основа «Пентэласт-750 FF» + флуоресцентный пигмент (страна-производитель – Индия, импортёр – ООО «Люминофор Сити», г. Пермь) + сшивающий агент (производитель ООО «Пента-91», г. Москва). Соотношение компонентов по массе – 95:1:6. При температуре 20°C полученная смесь застывает в течение 30 мин.

Каждым типом помечались 15 экземпляров пескаря (всего 45), контрольная (немеченая) группа также состояла из 15 особей. Максимальная продолжительность эксперимента с контрольной группой составила 134 дня, после чего рыбы с сохранившимися метками выдерживались еще 6 месяцев.

Для оценки эффективности мечения определяли следующие параметры:

1) показатель смертности – отношение числа погибших особей к общему числу рыб, выраженное в процентах;

2) относительный прирост массы тела особи

$$W_{\text{отн}} = \frac{(W_i - W_0)}{W_0} \times \frac{100}{n},$$

где $W_{\text{отн}}$ – относительный прирост массы на одну особь, %; W_i – масса выборки рыб на дату i , г; W_0 – масса выборки рыб в начале эксперимента, г; n – количество рыб в выборке (при отсутствии смертности рыб в эксперименте), шт.;

3) показатель потери меток – отношение числа рыб без метки к общему числу помеченных рыб, выраженное в процентах;

4) время сохранности метки – время, в течение которого метка остаётся распознаваемой;

5) распознаваемость метки – определялась видимость метки в воздушной среде, отдельно при лабораторном и ультрафиолетовом освещении. Показатель оценивался по четырёхбалльной системе: 0 – метки нет, 1 – метка едва заметна, 2 – метка хорошо распознаётся, но её состояние отлично от первоначального, 3 – метка хорошо видна;

6) локальное состояние – степень воздействия метки на организм рыбы в области прикрепления метки. Показатель оценивался по четырёхбалльной системе: 0 – полное заживление (шрама не видно), 1 – есть рана, но нет покраснения, 2 – небольшое воспаление (небольшое покраснение в месте введения метки), 3 – сильное воспаление (отчётливое покраснение в районе метки).

В качестве источника ультрафиолетового излучения (УФ), необходимого для возбуждения флуоресценции, использовали УФ-фонарь на 12 светодиодах с пиковой длиной волны 395 нм.

Результаты исследования и обсуждение

Имплантация рыбам всех видов полимеров приводила к формированию четкой метки в основании грудного плавника, которая хорошо распознавалась как при лабораторном, так и при УФ-освещении (рис. 1). Акриловая метка образовывала широкую (диаметром 0,5–0,7) цветную область, в то время как силиконовые метки формировали в тканях более компактную структуру (менее 0,5 см).

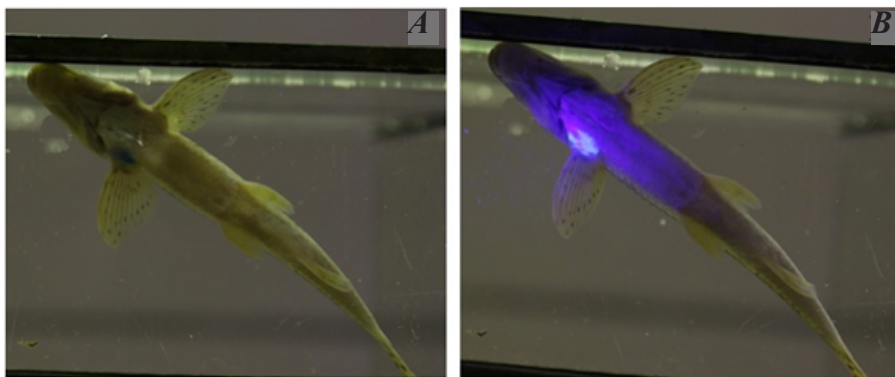


Рис. 1. Пескари, меченные акриловыми флуоресцентными красителями синего цвета.

A – лабораторное освещение, *B* – ультрафиолетовое освещение (фото И.В. Зуева)

[**Fig. 1.** Gudgeons, tagged with blue-fluorescent dye.

A - laboratory light, *B* - UV light (Photo IV Zuev)]

Выживаемость рыб в результате мечения и дальнейшего выдерживания составила 100% во всех вариантах опыта и в контроле (таблица). Осмотр, проведенный через 16 сут после начала эксперимента, показал, что в варианте с акриловыми метками у 73% особей наблюдалось полное заживление места инъекции, у остальных особей отмечались воспаления разной степени тяжести, соответствующие 2 и 3 баллам. В варианте с силиконовыми метками на 16-е сут доля особей с воспалениями ткани в районе метки выше (около 40%). Однако на 44-е сут эксперимента полное заживление места внедрения метки диагностировали во всех вариантах опыта.

Показатели смертности рыб (d, %) и потери меток разных типов (l, %)
[Fish mortality (d, %) and the loss of tags of different types (l, %)]

Время, дни [Time, days]	Контроль [Control]	Акрилат [Acrylate]		«Пентэласт-712» [Pentelast-712]		«Пентэласт-750FF» [Pentelast-750FF]	
	d, %	d, %	l, %	d, %	l, %	d, %	l, %
1	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	46,6	0	80,0
44	0	0	0	0	93,3	0	86,6
74	0	0	0	—	—	—	—
103	0	0	0	—	—	—	—
134	0	0	0	—	—	—	—

Примечание. «—» – эксперимент прекращен.
[Note. «—» - experiment terminated].

Метки на акриловой и силиконовой основе существенно различались по степени сохранности в процессе тестирования. За весь 134-дневный период ни одной акриловой метки не было утрачено, в то время как значительная потеря силиконовых меток была отмечена уже на 16-й день, а к 44-му дню метку сохранила только одна рыба в варианте с «Пентаэласт-712» и две рыбы – «Пентаэласт-750FF» (см. таблицу). Эксперимент с силиконовыми метками после этого был прекращен, однако рыбы, имевшие метки на 44-й день, сохранили их в неизменном виде и после 6 мес культивирования.

Деградация акриловых меток происходила постепенно. К концу 134-дневного периода хорошо распознавалось более 70% меток при лабораторном освещении и более 90% при освещении УФ (рис. 2).

Воздействие имплантации акриловой метки не оказывает существенного воздействия на ростовые показатели рыб. Большой относительный прирост массы у контрольной группы в сравнении с опытной регистрировался в начале и середине эксперимента, на 134-е сут большой прирост, напротив, был отмечен для опытной группы. Средние за весь период значения прироста массы тела между двумя группами статистически значимо не различались ($p > 0,05$) (рис. 3).

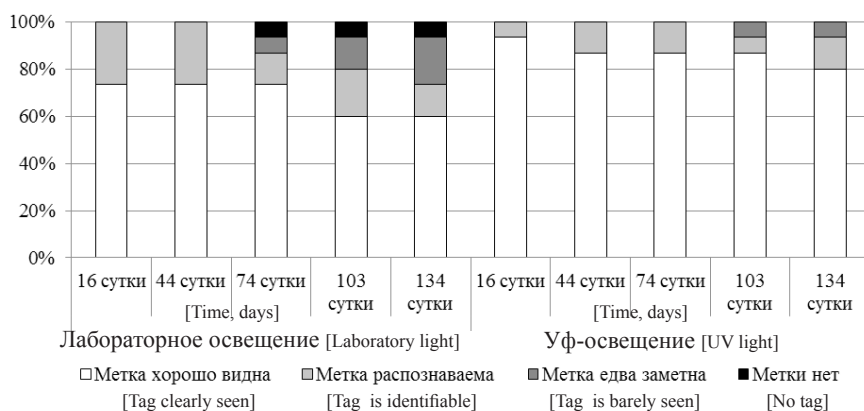


Рис. 2. Распознаваемость акриловых меток при лабораторном и УФ-освещении
[Fig. 2. Identifiability of acrylic tags at the laboratory and UV light]

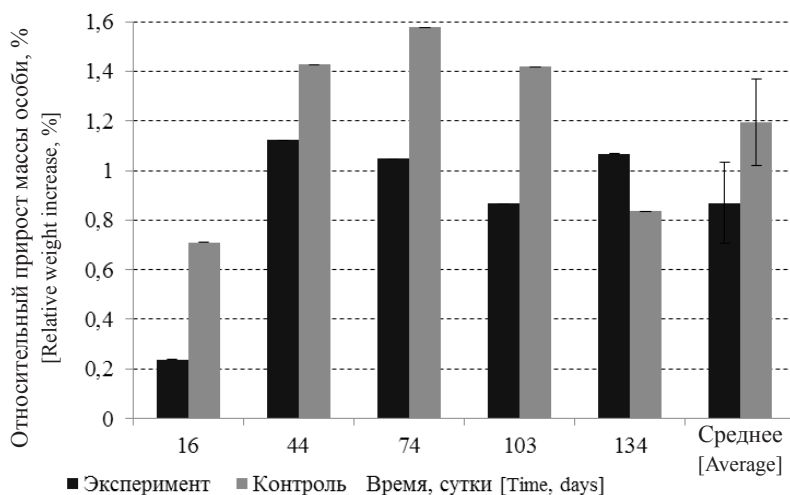


Рис. 3. Относительные приросты рыб в эксперименте с акриловыми метками и в контроле.

Плankи погрешностей представлены в виде стандартной ошибки среднего
[Fig. 3. Relative fish increase in the experiment with acrylic tags and in control.
 Error bars are presented as a standard error of the mean]

Результаты проведенных экспериментов говорят о возможности использования относительно экономически доступных веществ (полимеры, пигменты) в качестве меток для рыб. Стоимость минимального тестового комплекта оригинальных полимерных меток (VIE tags) фирмы NMT составляет около \$42 за 1 мл (при среднем расходе 300–500 меток на 1 мл) [12]. При этом доставка комплекта до России через сторонние организации (NMT не

имеет представительства в России) может увеличить стоимость в 3–5 раз. Компоненты меток, используемые в настоящем исследовании, имеют значительно меньшую стоимость: акриловый флуоресцентный краситель – 60 руб./50 мл, «Пентэласт-712» – 405 руб./кг, «Пентэласт-750FF» – 680 руб./кг, флуоресцентный пигмент – 120 руб./10 г.

По составу и структуре к VIE tags наиболее близки силиконовые компаунды серии «Пентаэласт», застывающие после инъекции. Относительно неудачные результаты с сохранностью меток данного типа можно объяснить высокой плотностью компаундов после отверждения. Активно работающие мышцы грудного плавника выталкивали застывшие шарики полимера вскоре после мечения. Если этого не происходило, метка сохранялась долгое время (до 6 мес) без какой-либо деградации. J.L. Frederick [3], тестирующий сходные по поведению VIE tags на мелких рыбах (до 8 мм), отмечал, что застывание эластомера в тканях происходит только в течение 24 ч после инъекции и сохранность метки в этот период напрямую зависит от активности рыбы. Сохранность VIE tags при мечении осетровых зависела от места прикрепления метки и была выше при мечении в хрящевую ткань рыла, в то время как при мечении межлучевого пространства грудных плавников потеря составила 8% на 150-е сут [4].

В отличие от компаундов, имплантированные в ткань акриловые метки представляют собой достаточно пластичную массу, вследствие чего не выталкиваются мышечными тканями рыб. Весь объем полимера относительно однородно распределяется под кожными покровами. Вместе с тем метки данного типа непригодны для длительного использования, поскольку с течением времени уменьшаются в размерах до полного исчезновения.

Согласно нашим экспериментам распознавание акриловых меток у мелких рыб (около 10 см) возможно до 4 мес, более крупным рыбам можно имплантировать больший объем полимера, что увеличивает срок службы метки. Сохранность акриловых меток в работах американских исследователей [6, 7] составляла от 2–4 до 12–16 мес и зависела от объема метки и её локализации.

В целом анализ работ, где тестируются различные варианты данного типа меток для рыб, говорит о том, что эффективность мечения во многом определяется такими факторами, как опыт оператора, размер рыбы, локализация метки, выдерживание после мечения и т.д. [6, 13, 14]. При аккуратной имплантации большинство меток остаются видимыми не менее 2–3 мес и не оказывают воздействия на ростовые показатели рыб.

Заключение

Таким образом, акриловые флуоресцентные красители и затвердевающие силиконовые полимеры могут быть использованы в качестве аналогов популярным торговым продуктам фирмы NMT. Областью применения акри-

латов может быть мечение мелких рыб с их контролем в течение 2–3 мес. Процедура имплантации акрилатов относительно дешева и проста, а разнообразие цветовой палитры позволяет присваивать рыбам индивидуальный код. Протестированные силиконовые метки могут быть эффективными для рыб средних размеров (более 15 см) или при их подкожной имплантации в относительно пассивной области.

Литература

1. *Thorsteinsson V.* Tagging methods for stock assessment and research in fisheries. Report of concerted action FAIR CT.96.1394 (CATAG). Reykjavik : Marine research institute technical report (79), 2002. 179 p.
2. *Abdul W.O.* Marking and tagging: lecture guide. Abeokuta: University of agriculture, 2011. 21 p.
3. *Frederick J.L.* Evaluation of fluorescent elastomer injection as a method for marking small fish // *Bulletin of marine science*. 1997. Vol. 61, № 2. P. 399–408.
4. *Ченуркина М.А.* Результаты использования флуоресцентных красителей при мечении осетровых рыб // I Междунар. семинар «Новые технологии в воспроизводстве осетровых рыб». Астрахань, 2005. С. 7–8.
5. *Soula M., Navarro A., Hildebrandt S., Zamorano M.J., Roo J., Heranandez-Cruz M., Afonso J.M.* Evaluation of VIE (Visible Implant Elastomer) and PIT (Passive Integrated Transponder) physical tagging systems for the identification of red porgy fingerlings (*Pagrus pagrus*) // *Aquacult Int*. 2012. Vol. 20. P. 571–583.
6. *Kelly W.H.* Marking freshwater and a marine fish by injected dyes // *Transactions of the American fisheries society*. 1967. Vol. 96, № 2. P. 163–175.
7. *Lotrich V.A., Meredith W.H.* A technique and the effectiveness of various acrylic colors for subcutaneous marking of fish // *Transactions of the American fisheries society*. 1974. Vol. 103, № 1. P. 140–142.
8. *McIlwain T.D., Christmas J.Y.* III. A new batch marking technique for fingerling striped bass // *The progressive fish-culturist*. 1975. Vol. 37, № 3. P. 123–125.
9. *Васильков Г.В., Грищенко Л.И., Енгашев В.Г., Канаев А.И., Ларькова З.И., Осетров В.С.* Болезни рыб : справочник / под ред. В.С. Осетрова. М. : Агропромиздат, 1989. 288 с.
10. *Javahery S., Nekoubin H., Moradlu A.H.* Effect of anesthesia with clove oil in fish (review) // *Fish physiol. biochem*. 2012. Vol. 38. P. 1545–1552.
11. *Завьялова Е.А., Дрошнев А.Е., Гулюкин М.И., Калинина Н.Р.* Анестезия радужной форели // *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*. 2012. № 4. С. 22–24.
12. *Visible Implant Elastomer Tag Project Manual* Guidelines on planning and conducting projects using VIE and associated equipment. Northwest Marine Technology, Inc. 2008. 27 p. [Electronic resource]. Available at: <http://www.nmt.us/support/appnotes/ape06.pdf>
13. *Catalano M.J., Chipps S.R., Bouchard M.A., Wahl D.H.* Evaluation of Injectable Fluorescent Tags for Marking Centrarchid Fishes: Retention Rate and Effects on Vulnerability to Predation // *North American Journal of Fisheries Management*. 2001. Vol. 21, № 4. P. 911–917.
14. *Studenkov S.H., Georgieva M.B., Uzunova E.P., Nikolova M.N., Velkov B.* Experimental application of visible elastomer implants for tagging of pumpkinseeds (*Lepomis gibbosus* L.) // *Proceeding of the anniversary scientific conference of ecology*. Bulgaria. 2008. P. 494–502.

Поступила в редакцию 11.11.2014 г.; принята 15.01.2015 г.

Авторский коллектив:

Зуев Иван Владимирович – канд. биол. наук, доцент кафедры водных и наземных экосистем института фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета (г. Красноярск, Россия).

E-mail: zuev.sfu@gmail.com

Зуева Анастасия Вячеславовна – ведущий инженер лаборатории радиоэкологии Института биофизики СО РАН (г. Красноярск, Россия).

E-mail: an.v.zueva@ya.ru

Zuev IV, Zueva AV. Evaluation of polymer-based fluorescent dyes for fish tagging. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;1(29):103-112. doi: 10.17223/19988591/29/8. In Russian, English summary

Ivan V. Zuev¹, Anastasiya V. Zueva²

¹ Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

² Institute of Biophysics Siberian Branch of RAS, Krasnoyarsk, Russian Federation

Evaluation of polymer-based fluorescent dyes for fish tagging

The aim of our study was to evaluate small-sized fish tagging by three types of polymers which are the basis for the fluorescent pigment. We examined the efficiency of small-sized fish tagging with acrylic and silicone-based fluorescent dyes. The acrylic tag was blue fluorescent water-dispersion dye. For silicone tag preparation, we mixed compounds with fluorescent pigment and curing agent. The mixture was cured during 72 hours (Pentelast-712) and during 30 minutes (Pentelast-750 FF). Under laboratory conditions we marked Siberian gudgeons *Gobio cynocephalus* (average body length about 10 cm) with three types of hypodermic tags. The tags were implanted in the pectoral fin by an insulin syringe. We evaluated mortality, growth rate, tag retention and visibility.

We showed that injected polymer tags had no influence on the growth rate and surviving comparing with the control group. The visibility of acrylic tags under UV-light was 100% after 134 days, but some tags changed their size and shape. Silicone tag loss was more than 85% on the 44th day of the experiment but the remaining tags were readable during six months. Tissue inflammation in the tag location area disappeared completely in all variations on the 44th day of the experiment. The experimental results allow us to recommend acrylic tags for using in short-term tagging of small-sized fish; silicone - medium-sized and large-sized fish for long-term studies. The process of implanting acrylic tags is technically simpler than silicone. Silicone tags should be implanted in a less mobile body location with the following control of their integrity before fish releasing. The cost of the material used in the work is significantly cheaper than the current commercial product - fluorescent tags (VIE tags) of Northwest Marine Technology company (NMT, USA).

The article contains 1 Table, 3 Figure, 14 References

Key words: tagging; tag retention; silicone; acrylate; fluorescent tag; polymer.

References

1. Thorsteinsson V. Tagging methods for stock assessment and research in fisheries. Report of concerted action FAIR CT.96.1394 (CATAG). Reykjavik: Marine Research Institute Technical Report (79); 2002. pp. 179.

2. Abdul WO. Marking and tagging: lecture guide. Abeokuta: University of agriculture; 2011. 21 p.
3. Frederick JL. Evaluation of fluorescent elastomer injection as a method for marking small fish. *Bulletin of Marine Science*. 1997;61(2):399-408.
4. Chepurkina MA. Rezul'taty ispol'zovaniya fluorestsennykh krasiteley pri mechenii osetrovyykh ryb [The results of using fluorescent dyes to tag Sturgeons]. In: *I Mezhdunar. seminar "Novye tekhnologii v vosproizvodstve osetrovyykh ryb"* [New technologies in Sturgeon reproduction. Int. seminar]. Astrakhan'. 2005. pp. 7-8. In Russian
5. Soula M, Navarro A, Hildebrandt S, Zamorano MJ, Roo J, Heranandez-Cruz M, Afonso JM. Evaluation of VIE (Visible Implant Elastomer) and PIT (Passive Integrated Transponder) physical tagging systems for the identification of red porgy fingerlings (*Pagrus pagrus*). *Aquacult Int*. 2012;20:571-583.
6. Kelly WH. Marking freshwater and a marine fish by injected dyes. *Transactions of the American fisheries society*. 1967;96(2):163-175.
7. Lotrich VA, Meredith WH. A technique and the effectiveness of various acrylic colors for subcutaneous marking of fish. *Transactions of the American fisheries society*. 1974;103(1):140-142.
8. McIlwain TD, Christmas JY. III. A new batch marking technique for fingerling striped bass. *The progressive fish-culturist*. 1975;37(3):123-125.
9. Vasil'kov GV, Grishchenko LI, Engashev VG, Kanaev AI, Lar'kova ZI, Osetrov VS. Bolezni ryb: Spravochnik [Fish diseases Handbook]. Osetrov VS, editor. Moscow: Agropromizdat; 1989. 288 p. In Russian
10. Javahery S, Nekoubin H, Moradlu AH. Effect of anesthesia with clove oil in fish (review). *Fish physiol. biochem*. 2012;38:1545-1552. doi: [10.1007/s10695-012-9682-5](https://doi.org/10.1007/s10695-012-9682-5)
11. Zavyalova EA, Droshnev AE, Gulukin MI, Kalinina NR. Anesthesia of the Rainbow Trout. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Sel'skokhozyaystvennye zhivotnye*. 2012;4:22-24. In Russian
12. Visible Implant Elastomer Tag. Project Manual. Guidelines on planning and conducting projects using VIE and associated equipment. Northwest Marine Technology, Inc. 2008. 27 p. [Electronic resource]. Available at: <http://www.nmt.us/support/appnotes/ape06.pdf>
13. Catalano MJ, Chipps SR, Bouchard MA, Wahl DH. Evaluation of Injectable Fluorescent Tags for Marking Centrarchid Fishes: Retention Rate and Effects on Vulnerability to Predation. *North American Journal of Fisheries Management*. 2001;21(4):911-917.
14. Studenkov SH, Georgieva MB, Uzunova EP, Nikolova MN, Velkov B. Experimental application of visible elastomer implants for tagging of pumpkinseeds (*Lepomis gibbosus* L.). In: *Proceedings of the Anniversary Scientific Conference of Ecology*. Bulgaria: Paisiy Khilendarski Publ.; 2008. pp. 494-502.

Received 11 November 2014;

Accepted 15 January 2015

Authors info:

Zuev Ivan V, Cand. Sci. (Biol.), Ass. Professor, Department of Aquatic and Terrestrial Ecosystems, School of Fundamental Biology and Biotechnology, Siberian Federal University, 79 Svobodny Pr., Krasnoyarsk 660041, Russian Federation.

E-mail: zuev.sfu@gmail.com

Zueva Anastasiya V, engineer, Laboratory of Radioecology, Institute of Biophysics of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation.

E-mail: an.v.zueva@ya.ru

УДК 597.828

doi: 10.17223/19988591/29/9

С.М. Ляпков¹, Р.В. Волонцевич²

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия

²Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия

Формирование географической изменчивости размеров и репродуктивных характеристик самок остромордой лягушки *Rana arvalis* Nilsson, 1842

Работа выполнена при поддержке гранта
Российского научного фонда (проект № 14-14-00330).

Проведен сравнительный анализ возрастного состава, длины тела и репродуктивных характеристик для ряда географически удаленных популяций остромордой лягушки в пределах ареала вида. Установлено, что в северо-восточных популяциях с минимальной длительностью сезона активности первое размножение большинства самок происходит после 4-й зимовки, реже – после 3-й зимовки; самки в возрасте 5 лет и старше редки. В центральных популяциях первое размножение происходит в двухлетнем возрасте, но крайне редко, большинство самок размножается в возрасте 3 или 4 лет, причем многие четырехлетние самки размножаются впервые, максимальная продолжительность жизни – 10 лет. В южных популяциях с максимальной длительностью сезона активности около половины всех самок размножается впервые после второй зимовки, остальные – после третьей зимовки. Доля 4-летних самок приблизительно равна доле 2-летних самок, а доля самок старше 4 лет очень низка. Показано, что средний диаметр яйца (и абсолютное значение, и скорректированное по длине тела) максимален у самок северо-восточной популяции. Различия в возрасте сильнее сказывались на размерах яиц, чем на плодовитости, и не влияли на относительную массу кладки. В южных популяциях вклад плодовитости в репродуктивное усилие максимален, причем увеличение репродуктивного усилия происходит благодаря одновременному увеличению плодовитости и размеров яиц. Во всех популяциях вклад плодовитости в репродуктивное усилие намного больше вклада размеров яиц. Исключение – сильное снижение не только размеров яиц, но и плодовитости, выявленное у самых молодых впервые размножающихся самок.

Ключевые слова: *Rana arvalis*; географическая изменчивость; длина тела; возраст; плодовитость; репродуктивное усилие.

Введение

Принято считать, что по мере увеличения широты (или высоты) местобитаний популяций амфибий происходит увеличение средних размеров взрослых особей, среднего возраста первого размножения, а также размеров

яиц и абсолютной плодовитости самок [1]. Вместе с тем исследования последних 10 лет выявили многочисленные исключения, не подтверждающие выявленные ранее закономерности [2–5]. Другое, еще более существенное несоответствие этим тенденциям состоит в том, что изменение среднепопуляционных размеров [6] и возрастов [7] взрослых амфибий с увеличением высоты и широты местности происходит по-разному. Выявление характера межпопуляционной изменчивости репродуктивных характеристик особенно интересно в связи с тем, что они определяются и размерами самок, и их возрастом. Например, более крупные размеры яиц у *R. sylvatica* [8] обусловлены более крупными в среднем размерами самок горной популяции в сравнении с таковыми равнинной популяции, что было следствием не более быстрого роста, а большего среднего значения возраста самок горной популяции. При этом плодовитость в среднем более крупных самок горной популяции выше, однако нормированная по длине тела плодовитость меньше, чем у более мелких самок равнинной популяции.

У остромордой лягушки была выявлена положительная корреляция плодовитости и размеров яиц с длиной тела, а также статистически значимая положительная аллометрия характера зависимости плодовитости от длины тела, причем как в центре европейской части России [9, 10], так и в более южных [4] и в северо-восточных частях ареала [11, 12]. Поэтому средняя плодовитость самок более северных популяций, характеризующихся сравнительно мелкими средними размерами [3], должна быть меньше в сравнении с более южными популяциями. Вместе с тем различия между популяциями по относительным (т.е. не зависимым от размеров самок) величинам плодовитости и других репродуктивных характеристик остаются неисследованными. Кроме того, репродуктивные характеристики могут изменяться и внутри популяции, что обусловлено изменчивостью размеров и возрастов, а также неодинаковыми условиями в различные годы [9, 12–14].

Кроме неоднозначности взаимосвязи размеров самок с плодовитостью и размерами яиц, необходимость исследования ряда репродуктивных характеристик объясняется тем, что репродуктивные стратегии представляют собой компромисс между преимуществами более раннего и более позднего достижения половой зрелости, а также между сравнительно высокой плодовитостью самки и сравнительно крупными размерами каждого ее потомка [15]. Литературные данные по взаимосвязям репродуктивных характеристик остромордой лягушки [5, 12, 16] подтверждают наличие таких компромиссов у этого вида.

В связи с рассмотренными взаимосвязями репродуктивных характеристик с размерами и возрастным составом самок целью нашей работы было выявление характера географической изменчивости возрастного состава, длины тела и репродуктивных характеристик самок остромордой лягушки, а также взаимосвязи между этими характеристиками по данным исследования нескольких географически удаленных популяций этого вида.

Материалы и методики исследования

Материал собран в нескольких регионах Украины, Беларуси и России, где имеются различия в длительности сезона активности остромордой лягушки (т.е. периода от выхода с зимовки весной и до ухода в зимовку осенью): Киевская область, Чернобыльский р-н, 51°05' N; 30°24' E (с 1987 по 1992 г., исследовано 5 локальных популяций, представлены объединенные данные, далее для краткости – **Чернобыль**, длительность сезона активности 7,5 мес); Минская обл., Копыльский р-н, 53°09' N, 27°26' E (2006–2007 гг., далее – **Минск**, 7 мес); Брянская обл., окрестности заповедника «Брянский лес» (52°27' N; 33°53' E, 2001–2012 гг., для краткости – **Брянск**, 7 мес); Московская обл., Звенигородская биостанция МГУ (1987–2005 гг., 55°44' N, 36°51' E, для краткости – **ЗБС**, 6 мес); Кировская обл., Орловский р-н, 58°40' N, 49°5' E (1998–2007 гг., далее – **Киров**, 5 мес); Томская обл. (2009–2012 гг., 56°24' N; 84°59' E, далее – **Томск**, 4,5 мес). Во всех названных локалитетах половозрелых самок отлавливали во время размножения в нерестовых водоемах или вблизи них. Кроме того, для оценки темпов роста и размеров половозрелых самок, использованы летние сборы 2007–2009 гг. (74 особи) в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре, основная часть материала собрана в заказнике «Сорумский», 63°54' N, 68°24' E (**ХМАО**, 3,8 мес) [17]. Всего было исследовано 2483 половозрелых самки.

Возраст лягушек оценивали методом скелетохронологии, который основан на сезонных изменениях темпов роста, включая его полную остановку во время зимовки [18]. Поперечные срезы, окрашенные гематоксилином Эрлиха, изготавливали из середины диафиза голени. Далее у всех особей определяли возраст по линиям склеивания, которые исследовали на полученных срезах с помощью микроскопа с увеличением 10×10 и 10×40.

У всех лягушек измеряли длину тела (далее для краткости – L), а также (кроме материала из ХМАО) определяли плодовитость (F) путем взвешивания кладки и ее фрагмента, содержащего около 100–200 яиц, подсчета числа яиц в этом фрагменте и вычислением числа яиц во всей кладке. Диаметр яйца (D) измеряли под биноклем с помощью линейки окуляра-микрометра с точностью до 0,05 мм. В качестве характеристики для дальнейшего анализа брали среднее значение, полученное на выборке из 20 яиц от каждой кладки (поскольку внутрикладочная изменчивость существенно ниже межкладочной [19]). Величину относительной массы кладки (RC) рассчитывали как отношение массы кладки к массе самки. Поскольку мы не имели возможности взвешивать самок и кладки в популяциях Чернобыля, для характеристики величины вклада репродукции (кроме RC) использовали также репродуктивное усилие (E), которое рассчитывали по формуле $E = FD^3/L^3$ [19].

Статистическую обработку проводили с помощью пакета программ StatSoft STATISTICA 8.0 for Windows. Для оценки статистической значимости различий между популяциями, а также между возрастными и различными годами

сбора в пределах каждой популяции использовали различные схемы дисперсионного анализа и последующих множественных сравнений (подробнее – в соответствующих разделах «Результатов»). Для учета возможного влияния размеров самок на репродуктивные характеристики применен ковариационный анализ с длиной тела в качестве ковариансы и последующим вычислением скорректированных по длине тела средних значений. Согласно предварительному анализу наших данных коэффициенты детерминации и оценки изменчивости, объясняемые линейной и аллометрической зависимостями каждой из репродуктивных характеристик от длины тела, оказались сходными (результаты не приводятся). Поэтому в данной работе нами использована линейная модель для анализа зависимости репродуктивных характеристик от длины тела.

Авторы благодарны за помощь в сборе материала в Кировской обл. Ю.А. Кабардиной, в Киевской обл. – В.Г. Черданцеву и Е.М. Черданцевой (Московский государственный университет), в Минской обл. – Е.В. Корзуну и Р.В. Новицкому (Центр по биоресурсам НАН Беларуси, г. Минск), в ХМАО – А.В. Матковскому (Сургутский государственный университет).

Результаты исследования

1. Изменчивость возрастного состава и длины тела самок каждой из исследованных популяций остромордой лягушки

1.1. *Чернобыль.* В этой популяции с максимальным по длительности сезоном активности значительная часть самок начинает размножаться в 2-летнем возрасте, т.е. уже после второй зимовки. Большинство самок размножается в возрасте 3 лет (причем часть из них – впервые), доля 4-летних самок меньше доли 2-летних самок. 5-летние самки уже редки, максимальный возраст – 6 лет. В итоге средний возраст самок составил 2,89 года (табл. 1).

Длина тела половозрелых самок, пойманных в нерестовых водоемах, характеризовалась минимальным (по сравнению с другими популяциями) средним значением (47,9 мм) и высокой изменчивостью: от 34,5 до 69 мм, при максимальном значении коэффициента вариации (CV, табл. 1). Поскольку ни одна из локальных популяций Чернобыля не была исследована во все годы сборов, влияние межгодовых различий на длину тела анализировали на материале двух наиболее полно представленных популяций. Для обеих популяций (П1 и П2, табл. 2) влияние межгодовых различий на возраст и длину тела статистически значимо.

1.2. *Минск.* В отличие от популяций Чернобыля и Брянска, большинство самок популяции Минска размножается впервые уже после 2-й зимовки. Доля 3-летних особей несколько выше доли 4-летних, более старших возрастов не выявлено, что скорее всего обусловлено сравнительно малым объемом выборки (см. табл. 1). Среднее значение возраста 2,62 года.

Окончание табл. 1 [Table 1 (end)]

Популяция [Population]	Возраст [Age]	%	Длина тела, мм [Body length, mm]			Плодовитость [Clutch size]			Диаметр яйца, мм [Egg diameter, mm]			E		RC	
			n	x	CV	x	CV	x	x	CV	x	x	CV	x	CV
	7	1,2	15	57,92	6,95	1035	20,48	1,76	4,79	0,029	17,46	0,332	7,26		
	8	0,1	1	54,00	0,00	495	0,00	1,86	0,00	0,020	0,00				
	9	0,1	1	62,00	0,00	855	0,00	1,75	0,00	0,019	0,00				
	10	0,1	1	61,20	0,00	1992	0,00	1,72	0,00	0,044	0,00	0,362	0,00		
	Все [All]	4,17	1365	54,02	6,78	978	28,38	1,71	5,01	0,031	24,25	0,332	11,91		
Брянск [Bryansk, 52°27' N; 33°53' E]	2	34,4	64	45,71	10,26	826	45,20	1,51	4,28	0,029	39,20	0,284	21,21		
	3	46,2	86	52,06	8,39	1131	45,93	1,60	4,76	0,031	29,82	0,314	21,60		
	4	16,1	30	58,47	9,76	1734	42,22	1,66	5,31	0,038	29,04	0,371	17,67		
	5	3,2	6	62,83	8,74	1744	38,12	1,74	2,96	0,035	26,87	0,374	19,96		
	все	2,88	232	51,55	12,28	1215	47,98	1,57	6,18	0,032	31,25	0,316	21,20		
Минск [Minsk, 53°09' N; 27°26' E]	2	57,1	12	48,04	10,41	763	46,28	1,57	7,70	0,027	47,36	0,320	18,18		
	3	23,8	5	53,20	10,67	945	33,11	1,65	5,22	0,028	29,55	0,355	20,66		
	4	19,0	4	50,75	10,47	655	23,43	1,49	8,32	0,014		0,278	1,47		
	Все [All]	2,62	21	49,79	10,88	800	41,18	1,58	7,48	0,027	43,04	0,324	18,93		
	2	29,8	113	42,44	8,28	617	40,98	1,52	4,53	0,028	30,99				
Чернобыль [Chernobyl, 51°05' N; 30°24' E]	3	54,1	205	48,30	8,36	960	40,93	1,59	5,19	0,033	29,44				
	4	13,2	50	56,25	6,32	1460	35,39	1,65	5,02	0,037	30,10				
	5	2,6	10	59,00	4,59	1849	38,59	1,61	6,58	0,038	41,27				
	6	0,3	1	64,00	0,00	1839		1,73		0,036					
	Все [All]	2,89	402	47,89	12,82	932	51,84	1,58	5,59	0,032	32,06				

Примечание. В ячейках с заголовком “все” (в столбце “%”) приведены средние значения возраста.
[Note. n - sample size, E - reproductive effort, RC - relative clutch mass. The cells with the heading “all” (in the column “%”) show mean values of age].

Т а б л и ц а 2 [Table 2]

**Влияние межгодовых различий на возраст и длину тела самок
в популяциях *Rana arvalis***

[Influence of interannual differences on age and body length of females in *Rana arvalis* populations]

Характеристика [Characteristic]	Возраст [Age]			Длина тела [Body length]		
Популяция [Population]	d.f.	F	p	d.f.	F	p
Томск [Tomsk]	3	33,1	0,000	3	5,8	0,001
Киров [Kirov]	6	4,1	0,001	10	3,7	0,001
ЗБС [ZBS]	16	32,1	0,000	17	22,1	0,000
Брянск [Bryansk]	7	4,0	0,000	8	18,9	0,000
Минск [Minsk]	1	3,4	0,083	1	0,0	0,837
Чернобыль, П1 [Chernobyl, P1]	3	7,3	0,000	3	11,8	0,000
Чернобыль, П2 [Chernobyl, P2]	4	11,1	0,000	4	31,1	0,000

Примечание. Результаты однофакторного дисперсионного анализа: d.f. – число степеней свободы; F – F-критерий; p – уровень значимости.

[Note. The results of one-way ANOVA: d.f. - the number of degrees of freedom; F - F-test; p - significance level)].

Т а б л и ц а 3 [Table 3]

**Сравнение среднепопуляционных значений возраста
половозрелых самок *Rana arvalis*
[Comparison of population means of age in *Rana arvalis* mature females]**

Популяция [Population]	ХМАО [KhMAO]	Томск [Tomsk]	Киров [Kirov]	ЗБС [ZBS]	Брянск [Bryansk]	Минск [Minsk]	Чернобыль [Chernobyl]
ХМАО [KhMAO]		—	*	**	**	**	**
Томск [Tomsk]			**	**	**	**	**
Киров [Kirov]				**	**	**	**
ЗБС [ZBS]					**	**	**
Брянск [Bryansk]						—	—
Минск [Minsk]							—

* $p < 0,01$; ** $p < 0,05$; «—» $p > 0,05$.

Длина тела половозрелых самок характеризовалась не столь высокой, как у двух других южных популяций, изменчивостью (от 37 до 58 мм, среднее – 49,8 мм, CV, см. табл. 1). Межгодовые различия не оказывали значимого влияния на возраст и длину тела (табл. 3).

1.3. *Брянск.* Относительно высокая доля самок популяции Брянска размножается впервые уже после второй зимовки, доля 3-летних самок немно-

го выше, доля более старших возрастов низкая, максимальный отмеченный возраст – 5 лет (см. табл. 1). Среднее значение возраста 2,88 года.

Размеры половозрелых самок отличаются высокой изменчивостью: длина тела варьировала от 37 до 70 мм, коэффициент вариации высокий, как у самок Чернобыля (табл. 1). Среднее значение длины тела – 51,6 мм. Межгодовые различия оказывали статистически значимое влияние на возраст и длину тела самок (см. табл. 3).

I.4. *ЗБС*. В этой популяции первое размножение в двухлетнем возрасте происходит редко. Чаще всего размножающиеся самки имеют возраст 3–4 года. Доля 5-летних самок лишь немного меньше доли 3-летних, доля самок в возрасте более 5 лет низкая. Среднее значение возраста 4,17 года, максимальный возраст 10 лет.

Средняя длина тела половозрелых самок 54,02 мм. Размеры самок характеризовались не столь высокой изменчивостью, как в южных популяциях (от 40 до 65 мм).

I.5. *Киров*. Доля самок, размножающихся впервые в возрасте 2 и 3 лет (см. табл. 1), существенно ниже, чем в трех южных популяциях, однако выше, чем в популяции ЗБС, даже если сравнивать с возрастным распределением самок ЗБС только сравнительно поздних лет сборов (со средним возрастом 3,95 года), соответствующих низкому уровню численности популяции (подробнее см. [10]). Доля 4-летних самок ниже доли 3-летних, что указывает на более низкую (чем у самок ЗБС) выживаемость в возрасте от 3 до 4 лет. Максимальное (6 лет) и среднее значение возраста (3,41 года) также ниже, чем у самок ЗБС.

Длина тела половозрелых самок (среднее значение 51,2 мм) характеризовалась относительно невысокой изменчивостью (от 42 до 61 мм). Межгодовые различия оказывали статистически значимое влияние на возраст и длину тела самок (см. табл. 3).

I.6. *Томск*. В этой популяции с относительно коротким сезоном активности минимальный возраст впервые размножавшихся самок составил уже не 2, а 3 года. Как и в популяции ЗБС, доля 4-летних особей выше доли 3-летних, однако доля 5-летних самок существенно ниже, что также указывает на более низкую выживаемость. Среднее значение возраста 3,96 года, максимальный возраст 9 лет.

Длина тела половозрелых самок (среднее значение 52,1 мм) характеризовалась большим (чем у популяции Кирова) интервалом значений (от 35 до 68 мм), но сходной величиной CV (см. табл. 1). Межгодовые различия статистически значимо влияли на возраст и длину тела самок (табл. 3).

I.7. *ХМАО*. Сборы половозрелых особей популяции ХМАО, в отличие от всех остальных популяций остромордой лягушки, проведены не во время

размножения, а позднее, в течение сезона летней активности. Тем не менее данные по возрастному составу и скорости роста половозрелых особей сравнимы с аналогичными данными, полученными для других популяций. В возрасте 3 лет впервые размножаются лишь немногие самки (со средней длиной тела 46,2 мм), доля 4-летних самок приблизительно такая же, как всех 3-летних, т.е. большая часть самок размножается впервые в возрасте 4 лет (при средней длине тела 48,8 мм [17]). Доля 5- и 6-летних особей сравнительно низкая (средняя длина тела 51,8 и 57,1 мм соответственно), что указывает на высокую смертность и позволяет предположить, что значительная часть самок размножается всего один раз. Средняя длина тела самок этого региона 48,3 мм, средний возраст 3,73 года, максимальный возраст 6 лет.

Средняя длина тела самок ХМАО (48,3 мм) минимальная (среди исследованных популяций со сравнительно коротким сезоном активности, см. табл. 1), с интервалом значений от 39,5 до 63 мм, что объясняется не столько низким средним значением возраста, сколько минимальными годовыми приростами [17].

II. Межпопуляционные сравнения по возрастному составу и длине тела самок

Общая тенденция изменения минимального возраста первого размножения состоит в его увеличении от 2 до 4 лет по мере сокращения длительности сезона активности (см. табл. 1). Это проявляется прежде всего в снижении доли 2-летних и увеличении доли 3-летних самок, а у северных популяций – 4-летних самок. Среднепопуляционные значения возраста также постепенно увеличивались по мере сокращения длительности сезона активности. У самок Чернобыля, Брянска и Томска эти значения не различаются между собой и статистически значимо ниже, чем у самок всех более северных популяций. В свою очередь, средний возраст самок Кирова статистически значимо ниже, чем у самок Томска и ХМАО. От этой тенденции сильно отклоняется только среднее значение популяции ЗБС, которое статистически значимо выше, чем у всех остальных популяций (табл. 4). Однако если использовать для сравнения среднее значение выборки только сравнительно поздних лет сборов (3,95 года), лучше всего соответствующее другим популяциям по уровню численности взрослых самок, то выявленная тенденция становится более выраженной (подробнее см. [3]). Отметим также, что низкая доля возрастов старше 4 лет во всех более северных, чем ЗБС, популяциях обусловлена низкой выживаемостью взрослых особей [12, 17].

Выявленные сильные межпопуляционные различия в возрастной структуре указывают на необходимость сравнения длины тела половозрелых особей в пределах каждого из возрастов.

У самок остромордой лягушки наименьшим средним значением длины тела после второй зимовки характеризовались особи популяции ХМАО (табл. 5), сходные с ними низкие значения отмечены и для неполовозрелых (и не включенных в анализ) самок популяции Томска. Среди половозрелых

самок минимальными средними размерами характеризовались особи популяции Чернобыля, более крупными были 2-летние самки не только двух других южных популяций (Брянска и Минска), но и популяции Кирова.

Т а б л и ц а 4 [Table 4]

**Сравнение среднепопуляционных значений длины
тела половозрелых самок *Rana arvalis*
[Comparison of population means of body length in *Rana arvalis* mature females]**

Популяция [Population]	ХМАО [KhMAO]	Томск [Tomsk]	Киров [Kirov]	ЗБС [ZBS]	Брянск [Bryansk]	Минск [Minsk]	Чернобыль [Chernobyl]
2 года (выше диагонали), 3 года (ниже диагонали) [2 years (above the diagonal), 3 years (below the diagonal)]							
ХМАО [KhMAO]			**	*	**	**	**
Томск [Tomsk]	**						
Киров [Kirov]	**	—		—	—	—	**
ЗБС [ZBS]	**	**	**		—	—	—
Брянск [Bryansk]	**	**	**	—		—	**
Минск [Minsk]	**	*	*	—	—		**
Чернобыль [Chernobyl]	**	**	—	**	**	**	
4 года (выше диагонали), 5 лет (ниже диагонали) [4 years (above the diagonal), 5 years (below the diagonal)]							
ХМАО [KhMAO]		**	**	**	**	—	**
Томск [Tomsk]	—		—	**	**	—	**
Киров [Kirov]	*	—		—	**	—	**
ЗБС [ZBS]	*	—	—		**	—	**
Брянск [Bryansk]	**	**	**	**		**	**
Минск [Minsk]							**
Чернобыль [Chernobyl]	**	**	—	**	*		
Все возрасты вместе [All ages together]							
ХМАО [KhMAO]		**	**	**	**	—	—
Томск [Tomsk]			—	**	—	*	**

О к о н ч а н и е т а б л. 4 [Table 4 (end)]

Попу- ляция [Popu- lation]	ХМАО [KhMAO]	Томск [Tomsk]	Киров [Kirov]	ЗБС [ZBS]	Брянск [Bryansk]	Минск [Minsk]	Черно- быль [Chernobyl]
Киров [Kirov]				**	—	—	**
ЗБС [ZBS]					**	**	**
Брянск [Bryansk]						—	**
Минск [Minsk]							—

Примечание. * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$; «—» $p > 0,05$; отсутствие обозначений – нет данных для сравнения.

[Note. * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$; «—» $p > 0,05$; Absence of symbols - no data for comparison].

В возрасте 3 лет более крупные значения свойственны самкам Минска, Брянска и ЗБС, статистически значимо превышавшие размеры самок ХМАО, Томска и Кирова, а также Чернобыля. После 4-й и 5-й зимовок статистически более крупные размеры наблюдались среди самок Брянска и Чернобыля. В каждом из этих возрастов самые мелкие размеры также среди особей популяции ХМАО, несколько более крупные размеры – у особей популяций Томска и Кирова.

В целом максимальной скоростью роста характеризуются самки двух южных популяций (Брянска и Чернобыля), несколько меньшей – популяций Минска и ЗБС, еще меньшей – более северных популяций Кирова и Томска, и минимальной – ХМАО. Однако из-за сильных межпопуляционных различий в возрастном составе и средних возрастах (см. табл. 1) среднепопуляционное значение длины тела максимально у самок популяции ЗБС (в сравнении со всеми остальными популяциями), несколько меньше – популяции Томска (статистически значимо не отличаясь от популяции Брянска) и минимально – в популяции Чернобыля (статистически значимо не отличаясь от популяций ХМАО и Минска). Следовательно, с одной стороны, по мере увеличения длительности сезона активности в пределах ареала вида средние размеры самок должны увеличиваться благодаря увеличению ежегодных приростов, а с другой – уменьшаться из-за снижения продолжительности жизни и среднего возраста. Итогом двух этих разнонаправленных процессов может быть наличие некоего максимального среднепопуляционного значения длины тела в популяциях с промежуточным значением длительности сезона активности, что и наблюдается у самок популяции ЗБС [3].

Кроме того, у самок южных популяций можно ожидать увеличения межпопуляционной изменчивости размеров, поскольку в некоторых из этих популяций выявлены низкие значения средней длины тела самок младших возрастов (2- и 3-летних), но высокие значения – у старших возрастов. Такой «проигрыш» в размерах у младших возрастов может быть объяснен конку-

ренцией между процессами роста и размножения [19] и перераспределением большей части ресурсов на размножение.

Т а б л и ц а 5 [Table 5]

Статистическая значимость влияния (р) межгодовых (фактор «год») и возрастных (фактор «возраст») различий на длину тела самок (L), плодовитость (F), диаметр яйца (D), репродуктивное усилие (E) и относительную массу кладки (RC)
[Significance of influence (p) of interannual (factor "year") and age (factor "age") differences on female body length (L), clutch size (F), egg diameter (D), reproductive effort (E) and relative clutch mass (RC)]

Популяция [Population]	Схема анализа [Outline of analysis]	ANOVA					ANCOVA			
	Признак [Characteristic]	L	F	D	E	RC	F	D	E	RC
	Фактор [Factor]									
Томск [Tomsk]	Год (1) [year]	—	—	**	—	—	—	*	—	—
	Возраст (2) [age]	**	—	**	—	—	—	*	—	—
	1×2	*	—	—	—	—	—	—	—	—
	L						**	**	—	—
Киров [Kirov]	Год (1) [year]	—	—	**	*	—	—	**	**	—
	Возраст (2) [age]	**	—	*	—	—	—	—	—	—
	1×2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L						**	—	—	—
ЗБС [ZBS]	Год (1) [year]	**	**	**	**		**	**	**	
	Возраст (2) [age]	**	**	**	*		**	**	*	
	1×2	*	*	**	—		**	**	—	
	L						**	**	—	
Брянск [Bryansk]	Год (1) [year]	**	**	—	**	**	**	**	**	**
	Возраст (2) [age]	**	**	**	—	**	—	*	—	—
	1×2	—	—	**	*	—	*	**	*	—
	L						**	**	—	**
Минск [Minsk]	Год (1) [year]	—	—	*	—	*	—	*	—	—
	Возраст (2) [age]	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1×2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L						*	—	—	—
Чернобыль [Chernobyl]	Год (1) [year]	**	**	**	**		**	**	**	
	Возраст (2) [age]	**	**	**	**		—	—	—	
	1×2	**	**	*	*		**	**	*	
	L						**	**	**	

Примечание. * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$; «—» $p > 0,05$, отсутствие обозначений — нет данных для сравнения. По результатам дисперсионного анализа (ANOVA) и ковариационного анализа (ANCOVA) коварианса — длина тела (L).

[Note. * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$; «—» $p > 0,05$, absence of symbols-no data for comparison. According to the results of ANOVA and ANCOVA, with body length (L) as covariate].

III. Особенности изменчивости репродуктивных характеристик самок каждой из исследованных популяций остромордой лягушки

III.1. *Чернобыль*. Плодовитость (F) варьирует в диапазоне от 140 до 3 185 яиц. Диаметр яйца (D) от 1,28 до 1,87 мм, причем значения менее 1,4 мм выявлены только в этой и двух других южных популяциях (Брянска и Минска) и только у 2-летних самок. Репродуктивное усилие (E) от 0,0074 до 0,0620. Второй показатель вклада в репродукцию, относительная масса кладки, использован во всех популяциях, кроме Чернобыля (см. табл. 1).

С возрастом наблюдалось увеличение F , а также D (см. табл. 1), но не показателей вклада в репродукцию. Однако возрастные различия самок связаны в значительной мере с различиями в их размерах. Следовательно, для проведения корректных сравнений репродуктивных характеристик как внутри данной популяции, так и между популяциями необходим учет не только возраста, но и длины тела. Результаты дисперсионного анализа влияния возраста и межгодовых различий на репродуктивные характеристики, а также ковариационного анализа с добавлением длины тела самок в качестве ковариансы приведены в табл. 5. У самок Чернобыля влияние на F , а также на все другие репродуктивные характеристики обоих факторов и их взаимодействие статистически значимо. Однако согласно результатам ковариационного анализа влияние возраста незначительно, в то время как длина тела (коварианса) оказывала значимое влияние на все репродуктивные характеристики, т.е. влияние возрастных различий сводилось целиком к различиям в размерах.

Увеличение плодовитости по мере увеличения длины тела происходит быстро (максимально быстро – в популяции Брянска – см. коэффициент b линейной регрессии, табл. 6). Корреляция плодовитости с возрастом сильная, положительная и статистически значимая, но слабее, чем с длиной тела (табл. 7). Увеличение плодовитости по мере увеличения возраста также происходит быстро, особенно при переходе от 2-летних к 3-летним самкам (см. табл. 1), однако скорректированные по длине тела средние значения плодовитости увеличиваются не столь резко и статистически незначимо (табл. 8 и 9). Увеличение D по мере увеличения длины тела происходит существенно медленнее, чем плодовитости (значение коэффициента b линейной регрессии минимально в сравнении с другими популяциями, см. табл. 6). Увеличение D по мере взросления также происходит медленнее, за исключением перехода от 2-летних к 3-летним самкам (см. табл. 1), при этом вообще не наблюдается увеличения скорректированных по длине тела средних значений диаметра яйца (табл. 8 и 9). Корреляция D с возрастом и с длиной тела положительная, но слабее, чем в случае плодовитости (табл. 7). Увеличение E по мере увеличения длины тела происходит медленно (в сравнении с увеличением F и D), но быстрее, чем в остальных популяциях (значение коэффициента b линейной регрессии максимально в сравнении с другими

популяциями – см. табл. 6). Корреляция *E* с возрастом и с длиной тела также положительная (и статистически значимая), но еще слабее, чем в случае *F* и *D* (см. табл. 7). Увеличение *E* по мере взросления также происходит медленно, за исключением перехода от 2-летних к 3-летним самкам (см. табл. 1), однако увеличения скорректированных по длине тела средних значений *E* вообще не происходит (см. табл. 8 и 9).

Т а б л и ц а 6 [Table 6]

Параметры линейной регрессии ($Y=a+bL$) каждой из репродуктивных характеристик (*Y*) по длине тела (*L*) *Rana arvalis*
[Parameters of linear regression ($Y=a+bL$) of each reproductive characteristic (*Y*) on body length (*L*) in *Rana arvalis*]

Характеристика [Characteristic]	F		D		E		RC	
Популяция [Population]	a	b	a	b	a	b	a	b
Томск [Tomsk]	–997,9	41,48	1,242	0,0093	0,0503	–0,00015	0,1997	0,00163
Киров [Kirov]	–1935,6	56,40	1,143	0,0104	–0,0011	0,00066	0,0887	0,00436
ЗБС [ZBS]	–1297,5	42,23	1,117	0,0110	0,0196	0,00021	0,2226	0,00196
Брянск [Bryansk]	–2784,8	77,33	1,164	0,0079	–0,0034	0,00069	–0,0384	0,00686
Минск [Minsk]	–779,2	31,56	1,009	0,0116	0,0230	0,00007	0,1170	0,00415
Чернобыль [Chernobyl]	–2221,8	66,06	1,212	0,0077	–0,0049	0,00077		

Примечание. Жирным шрифтом выделены значения *b*, статистически значимо отличающиеся от 0.

[Note. Significant values of *b* are in bold].

III.2. *Минск*. *F* варьирует в диапазоне от 323 до 1 441 яиц, *D* – от 1,39 до 1,78 мм, причем, как уже отмечалось, значения менее 1,4 мм выявлены только у 2-летних самок. *E* – от 0,0113 до 0,0563; относительная масса кладки (*RC*) – от 0,199 до 0,422.

С возрастом наблюдалось увеличение *F* и *D* (см. табл. 1), но у показателей вклада в репродукцию *RC* и *E* это увеличение выявлено только при переходе от 2 к 3 годам, выражено слабо и статистически незначимо. Результаты дисперсионного и ковариационного анализов влияния возраста и межгодовых различий на репродуктивные характеристики приведены в табл. 5. Влияние на *F*, а также на другие репродуктивные характеристики (кроме фактора «годы» на *D*) обоих факторов и их взаимодействия незначимо. Согласно результатам ковариационного анализа влияние обоих факторов оставалось статистически незначимым (кроме фактора «годы» на *D* и *RC*), причем длина тела (коварианса) оказывала статистически значимое влияние только на *F*, т.е. влияние возрастных различий не может быть целиком сведено к различиям в размерах.

Таблица 7 [Table 7]

Корреляции репродуктивных характеристик с возрастом и длиной тела самок в пределах каждой из локальных популяций *Rana arvalis*
[Correlations of reproductive characteristics with age and body length of females within each local *Rana arvalis* population]

Корреляция [Correlation]	Возраст [Age]				Длина тела, мм [Body length, mm]			
Характеристика [Characteristic]	F	D	E	RC	F	D	E	RC
Популяция [Population]								
Томск [Tomsk]	0,252	0,266	–0,012	–0,007	0,516	0,364	–0,00518	0,075
Киров [Kirov]	0,213	0,419	0,040	0,091	0,771	0,486	0,287	0,275
ЗБС [ZBS]	0,087	0,421	0,015	0,147	0,553	0,460	0,106	0,190
Брянск [Bryansk]	0,504	0,627	0,272	0,415	0,841	0,560	0,429	0,652
Минск [Minsk]	0,036	–0,008	–0,128	–0,046	0,523	0,542	0,034	0,368
Чернобыль [Chernobyl]	0,604	0,426	0,297		0,808	0,528	0,444	

Примечание. Жирным шрифтом выделены значения коэффициента корреляции Пирсона, статистически значимо отличающиеся от 0.

[Note. The significant Pearson correlation coefficients are in bold].

Увеличение *F* по мере увеличения длины тела происходит медленнее, чем у самок двух других южных популяций (см. коэффициент *b* линейной регрессии в табл. 6). Скорректированные по длине тела средние значения *F* увеличиваются также только в возрасте от 2 до 3 лет и статистически незначимо (см. табл. 8 и 9). Увеличение *RC* и *E* по мере увеличения длины тела происходит медленно (в сравнении с увеличением *F* и *D* – табл. 6). Увеличение по мере взросления скорректированных по длине тела средних значений *RC* и *E* вообще не происходит (см. табл. 8 и 9).

III.3. *Брянск.* *F* варьирует в диапазоне от 194 до 2 996 яиц. *D* – от 1,22 до 1,81 мм, как в двух других южных популяциях, значения менее 1,4 мм выявлены только у 2-летних самок. *E* – от 0,0051 до 0,0841, *RC* – от 0,075 до 0,473.

С возрастом наблюдалось увеличение *F* и *D* (см. табл. 1), для обеих характеристик статистически значимое в интервале от 2 до 4 лет. У показателей вклада в репродукцию (т.е. *RC* и *E*) выявлено такое же увеличение в возрасте от 2 до 4 лет. Согласно результатам дисперсионного анализа (табл. 5), влияние обоих факторов на каждую из репродуктивных характеристик (кроме фактора «годы» на *D* и фактора «возраст» на *E*) статистически значимо. Согласно результатам ковариационного анализа (см. табл. 5) влияние фактора «годы» на все характеристики значимо, а фактора «возраст» – значи-

мо только на ***D***. При этом длина тела (коварианса) оказывала статистически значимое влияние на все характеристики, кроме ***E***. Это означает, что только влияние возрастных различий на ***D*** не может быть сведено к различиям в длине тела.

Т а б л и ц а 8 [Table 8]

Скорректированные по длине тела средние значения репродуктивных характеристик самок различных популяций *Rana arvalis*
[Mean values of reproductive characteristics of females from different *Rana arvalis* populations, adjusted for body length]

Популяция [Population]	Возраст [Age]	Плодовитость ±95%CI [Clutch size ± 95%CI]	Диаметр яйца, мм [Egg diameter, mm]	E	RC
Томск [Tomsk]	3	1357±62	1,72±0,018	0,045±0,002	0,301±0,016
	4	1257±51	1,74±0,015	0,042±0,002	0,298±0,013
	5	1196±94	1,77±0,026	0,042±0,003	0,266±0,024
	Всё [All]	<i>1107</i> ±36	1,72±0,010	0,042±0,001	0,285±0,008
Киров [Kirov]	3	1174±130	1,66±0,037	0,033±0,004	0,323±0,033
	4	1162±172	1,72±0,050	0,037±0,006	0,345±0,042
	5	928±257	1,70±0,075	0,029±0,009	0,279±0,073
	Всё [All]	<i>951</i> ±83	1,68±0,024	0,033±0,003	0,316±0,020
ЗБС [ZBS]	3	1065±33	1,68±0,009	0,031±0,001	0,332±0,014
	4	1023±23	1,70±0,007	0,032±0,001	0,330±0,012
	5	921±31	1,74±0,009	0,031±0,001	0,318±0,018
	Всё [All]	824±17	1,69±0,005	0,030±0,001	0,316±0,008
Брянск [Bryansk]	3	1254±56	1,61±0,016	0,032±0,002	0,324±0,014
	4	1467±97	1,63±0,028	0,036±0,003	0,355±0,024
	5	1226±212	1,68±0,062	0,032±0,007	0,340±0,053
	Всё [All]	<i>1184</i> ±35	1,57±0,010	0,032±0,001	0,318±0,008
Минск [Minsk]	3	892±278	1,62±0,105	0,028±0,012	0,348±0,055
	4	572±439	1,50±0,157	0,014±0,026	0,267±0,087
	Всё [All]	<i>865</i> ±120	1,60±0,036	0,027±0,004	0,334±0,028
Чернобыль [Chernobyl]	3	1307±42	1,64±0,012	0,036±0,001	
	4	1342±76	1,63±0,022	0,036±0,003	
	5	1573±172	1,57±0,050	0,036±0,006	
	Всё [All]	<i>1127</i> ±28	1,61±0,008	0,033±0,001	

Примечание. После среднего значения приводятся верхняя и нижняя границы 95% доверительного интервала (95%CI). Одинаковым выделением (жирный шрифт, курсив или подчеркивание) отмечены значения, статистически значимо различающиеся между собой.

[*Note.* After mean value, the upper and lower limits of 95% confidence interval (95%CI) are given. Values statistically different from each other are marked identically (in bold, in italics or underlined)].

Т а б л и ц а 9 [Table 9]

Скорректированные по длине тела средние значения репродуктивных характеристик самок южных популяций *Rana arvalis*

[Mean values of reproductive characteristics of females from southern *Rana arvalis* populations, adjusted for body length]

Популяция [Population]	Возраст [Age]	Плодовитость ±95%CI [Clutch size ±95%CI]	Диаметр яйца, мм [Egg diameter, mm]	E	RC
Брянск [Bryansk]	2	826±74	1,54±0,020	0,033±0,0026	0,329±0,0176
	3	1131±61	1,59±0,016	0,030±0,0020	0,313±0,0117
	4	1734±105	1,61±0,030	0,032±0,0037	0,322±0,0230
	Все [All]	<u>1083±40</u>	1,56±0,011	0,031±0,0012	0,311±0,0069
Минск [Minsk]	2	763±163	1,58±0,043	0,029±0,0053	0,348±0,0319
	3	945±253	1,64±0,066	0,026±0,0082	0,346±0,0484
	4	655±400	1,50±0,104	0,013±0,0182	0,263±0,0765
Чернобыль [Chernobyl]	Все [All]	<u>786±137</u>	1,58±0,036	0,027±0,0043	0,330±0,0236
	2	617±54	1,57±0,018	0,035±0,0023	
	3	960±40	1,60±0,011	0,035±0,0014	
	4	1460±83	1,61±0,023	0,032±0,0029	
	Все [All]	<u>1077±31</u>	1,59±0,008	0,033±0,0009	

Примечание. После среднего значения приводятся верхняя и нижняя границы 95% доверительного интервала (95%CI). Одинаковым выделением (жирный шрифт, курсив или подчеркивание) отмечены значения, статистически значительно различающиеся между собой.

[Note. After mean value, the upper and lower limits of 95% confidence interval (95%CI) are given. Values statistically different from each other are marked identically (in bold, in italics or underlined)].

Возрастание *F* по мере увеличения длины тела происходит максимально быстро в сравнении с самками двух других южных популяций (см. коэффициент *b* линейной регрессии в табл. 6), увеличение *D* – существенно медленнее. Скорректированные по длине тела средние значения *F* значительно увеличиваются в возрасте от 2 до 4 лет (см. табл. 8). Статистически значимое увеличение *D* по мере взросления выявлено у самок в возрасте от 2 до 3 лет (см. табл. 8). Увеличение *RC* и *E* по мере увеличения длины тела происходит медленно (в сравнении с увеличением *F* и *D* – см. табл. 6), однако наклон линии регрессии значительно отличается от нулевого. По мере взросления не происходит увеличения скорректированных по длине тела средних значений *RC* и *E* (табл. 8 и 9).

III.4. ЗБС. *F* варьирует в диапазоне от 350 до 2 138 яиц, *D* – от 1,43 до 2,05 мм, *E* – от 0,0097 до 0,0693, *RC* – от 0,178 до 0,450.

С возрастом наблюдалось увеличение *F* и *D* (см. табл. 1), статистически значимое в интервале от 3 до 4 лет. У показателей вклада в репродукцию *RC* и *E* не выявлено такого же значимого увеличения в возрасте от 3 до 4 лет.

Согласно результатам дисперсионного анализа (см. табл. 5) влияние факторов «годы» и «возраст» на F и D значимое, а на E и RC – незначимое. Согласно результатам ковариационного анализа (см. табл. 5) влияние факторов «годы» и «возраст» статистически значимо на все характеристики, кроме RC . При этом длина тела (коварианса) оказывала значимое влияние только на F и D . Это означает, что влияние возрастных различий на E не может быть сведено к различиям в длине тела.

Рост F по мере увеличения длины тела происходит относительно медленно, особенно в сравнении с самками южных популяций (см. коэффициент b линейной регрессии в табл. 6), увеличение D – быстрее, чем у южных популяций. Скорректированные по длине тела средние значения F незначительно уменьшаются в возрасте от 3 до 5 лет (см. табл. 8). Вместе с тем значимое увеличение D выявлено у самок в возрасте от 3 до 5 лет (см. табл. 8). Увеличение RC и E по мере увеличения длины тела происходит медленно (в сравнении с увеличением F и D , см. табл. 12), но статистически значимо. По мере взросления не происходит увеличения скорректированных по длине тела средних значений RC и E (см. табл. 8).

III.5. *Киров*. F варьирует в диапазоне от 166 до 1 781 яиц, D – от 1,44 до 1,91 мм, E – от 0,0067 до 0,0549, RC варьирует от 0,119 до 0,412.

С возрастом наблюдалось увеличение D (статистически значимое – только в интервале от 3 до 5 лет). F и показатели вклада в репродукцию (RC и E) с возрастом не увеличивались (см. табл. 1). Согласно результатам дисперсионного анализа (табл. 5) значимо влияние фактора «годы» на D и E и фактора «возраст» на D . Согласно результатам ковариационного анализа, влияние фактора «годы» на D и E оставалось значимым, а фактора «возраст» на все характеристики незначимо. При этом длина тела (коварианса) оказывала статистически значимое влияние только на F . Это означает, что влияние возрастных различий на репродуктивные характеристики сводится к различиям в длине тела, однако связь каждой из них (кроме F) с длиной тела остается слабой.

Увеличение F по мере увеличения длины тела происходит не так быстро, как в популяциях Брянска и Чернобыля (см. коэффициент b линейной регрессии в табл. 1), увеличение D – несколько быстрее, чем в тех же популяциях. Скорректированные по длине тела средние значения D увеличиваются в возрасте от 3 до 4 лет. Скорректированные по длине тела средние значения F , RC и E с возрастом не изменяются (см. табл. 8). По мере увеличения длины тела не происходит увеличение RC и E : соответствующие коэффициенты b линейной регрессии не отличаются от нуля (см. табл. 6).

III.6. *Томск*. F варьирует в диапазоне от 272 до 2 292 яиц, D – от 1,43 до 1,99 мм, E – от 0,0109 до 0,0873, RC – от 0,088 до 0,429.

С возрастом наблюдалось увеличение D (значимое – только в интервале от 3 до 4 лет, см. табл. 1). Однако F и показатели вклада в репродукцию (RC и E) с возрастом не увеличивались. Согласно результатам дисперсионного анализа (см. табл. 5) влияние факторов «годы» и «возраст» статистически значимо только на D . Согласно результатам ковариационного анализа влияние обоих этих факторов на D оставалось статистически значимым, а на все остальные характеристики – незначимым. При этом длина тела (коварианса) оказывала статистически значимое влияние только на F и D . Это означает, что влияние возрастных различий на каждую из репродуктивных характеристик, кроме D , сводится к различиям в длине тела.

Рост F по мере увеличения длины тела происходит так же быстро, как в популяции ЗБС, но медленнее, чем в популяциях Брянска и Чернобыля (см. коэффициент b линейной регрессии в табл. 6), увеличение D – несколько быстрее, чем в популяциях Брянска и Чернобыля. По мере увеличения длины тела не происходит увеличения RC и E : соответствующие коэффициенты b линейной регрессии не отличаются от нуля (см. табл. 6). Так же, как в популяции Кирова, скорректированные по длине тела средние значения D увеличиваются в возрасте от 3 до 4 лет. Скорректированные по длине тела средние значения F , RC и E не изменяются с возрастом (см. табл. 8).

IV. Межпопуляционные сравнения по репродуктивным характеристикам

IV.1. Сравнения по характеру изменения каждой из репродуктивных характеристик в зависимости от возраста и длины тела.

Плодовитость. Для оценки межпопуляционных различий применяли схему двухфакторного дисперсионного анализа, с факторами «возраст» (градации: 3, 4 и 5 лет) и «популяция» (все популяции, кроме Минска, где среди самок отсутствуют 5-летние). Влияние обоих факторов, а также их взаимодействия статистически значимы (табл. 10).

Последнее объясняется тем, что в каждой из популяций направление изменений средневозрастных значений F неодинаково (см. табл. 1): в популяции Томска F не увеличивалась по мере взросления до возраста 6 лет, в популяции ЗБС и Чернобыля – увеличивалась, в популяции Брянска – также увеличивалась, но только до возраста 4 лет, в популяции Минска – не изменялась (вероятно, из-за отсутствия в выборке самок старших возрастов). Средние значения F популяций Брянска и Томска (которые не различались между собой) статистически значимо выше, чем у всех других популяций (кроме различия между Томском и ЗБС), у самок ЗБС – больше, чем у самок Чернобыля, средние значения F самок Кирова и ЗБС между собой не различались, но у самок ЗБС и Чернобыля средняя F выше, чем у самок Минска

(табл. 11). Следует также отметить, что выявленные различия не соответствуют средним размерам самок (см. табл. 1).

Т а б л и ц а 10 [Table 10]

Влияние межпопуляционных и возрастных различий на репродуктивные характеристики *Rana arvalis*
[Influence of interpopulation and age differences on reproductive characteristics in *Rana arvalis*]

Признак [Characteristic]	Фактор [Factor]	ANOVA			ANCOVA		
		d.f.	F-test	p	d.f.	F-test	p
L	Популяция (1) [Population]	5	31,1	0,000			
	Возраст (2) [Age]	2	181,8	0,000			
	1 × 2	10	15,2	0,000			
F	L (коварианса) [L (covariate)]	1			1	1054,2	0,000
	Популяция (1) [Population]	4	60,4	0,000	4	74,7	0,000
	Возраст (2) [Age]	2	45,7	0,000	2	1,6	0,203
	1 × 2	8	17,7	0,000	8	5,1	0,000
D	L (коварианса) [L (covariate)]	1			1	191,9	0,000
	Популяция (1) [Population]	4	26,7	0,000	4	40,9	0,000
	Возраст (2) [Age]	2	36,3	0,000	2	5,5	0,004
	1 × 2	8	2,3	0,019	8	3,20	0,001
E	L (коварианса) [L (covariate)]	1			1	46,1	0,000
	Популяция (1) [Population]	4	58,2	0,000	4	63,0	0,000
	Возраст (2) [Age]	2	5,6	0,004	2	1,8	0,165
	1 × 2	8	2,4	0,015	8	1,3	0,223
RC	L (коварианса) [L (covariate)]	1			1	30,3	0,000
	Популяция (1) [Population]	3	23,4	0,000	3	11,1	0,000
	Возраст (2) [Age]	2	5,7	0,003	2	2,8	0,062
	1 × 2	6	2,6	0,017	6	1,3	0,241

Примечание. Результаты дисперсионного (ANOVA) и ковариационного (ANCOVA) анализов. F-test – F-критерий.

[Note. The results of ANOVA and ANCOVA. F-test – F-criterion].

Ковариационный анализ выявил статистически значимое влияние длины тела в качестве ковариансы (см. табл. 10). Скорректированное по длине тела среднее значение *F* популяции Брянска больше, чем у популяций Чернобыля и Томска, которые, в свою очередь, превосходили популяции Кирова, ЗБС и Минска (различия между последними тремя популяциями статистически

незначимы, см. табл. 8). Таким образом, направленность межпопуляционных различий по скорректированным средним значениям F не совпадала с результатами сравнений средних значений. Возрастная динамика скорректированных по длине тела средних значений F (см. табл. 8) сильно различалась между популяциями: в интервале от 3 до 5 лет эти значения уменьшались у самок популяций Томска, ЗБС и Минска, но оставались без изменений в популяции Брянска и даже увеличивались в популяции Чернобыля. Этим различиям соответствуют более быстрый рост значений F у самок Чернобыля и Брянска с увеличением длины тела по сравнению с самками других популяций (см. табл. 6), а также более высокие значения коэффициентов корреляции F с длиной тела у самок этих двух популяций (см. табл. 7). Поскольку у самок популяций Брянска, Минска и Чернобыля первое размножение происходит в возрасте 2 лет, возрастная динамика скорректированных средних значений F рассмотрена отдельно для этих популяций (см. табл. 9). Во всех трех популяциях эти средние значения существенно ниже у двухлетних самок, чем у самок более старших возрастов, различия между 2- и 3-летними самками выявлены в популяциях Брянска и Чернобыля.

Таблица 11 [Table 11]

**Сравнения средних значений репродуктивных характеристик самок
различных популяций *Rana arvalis***
[Comparison of mean values of reproductive characteristics of
females from different *Rana arvalis* populations]

Популяция [Population]	Томск [Tomsk]	Киров [Kirov]	ЗБС [ZBS]	Брянск [Bryansk]	Минск [Minsk]	Чернобыль [Chernobyl]
2 года [2 years]						
Томск [Tomsk]						
Киров [Kirov]	—		—	—	—	—
ЗБС [ZBS]	—	—			—	—
Брянск [Bryansk]	—	*	—		—	**
Минск [Minsk]	—	—	—	*		—
Чернобыль [Chernobyl]	—	—	—	—	—	
3 года [3 years]						
Томск [Tomsk]		**	**	—	—	**
Киров [Kirov]	**		—	**	—	—
ЗБС [ZBS]	**	*		**	—	—
Брянск [Bryansk]	**	—	**		—	**

Окончание табл. 11 [Table 11 (end)]

Популяция [Population]	Томск [Tomsk]	Киров [Kirov]	ЗБС [ZBS]	Брянск [Bryansk]	Минск [Minsk]	Чернобыль [Chernobyl]
Минск [Minsk]	—	—	—	—		—
Чернобыль [Chernobyl]	**	—	**	—	—	
4 года [4 years]						
Томск [Tomsk]		—	**	**	*	**
Киров [Kirov]	—		—	**	—	**
ЗБС [ZBS]	**	—		**	—	**
Брянск [Bryansk]	**	—	*		**	**
Минск [Minsk]	**	**	**	**		**
Чернобыль [Chernobyl]	**	*	**	—	**	
5 лет [5 years]						
Томск [Tomsk]		—	**	**		**
Киров [Kirov]	—		—	**		**
ЗБС [ZBS]	—	—		**		**
Брянск [Bryansk]	—	—	—			—
Минск [Minsk]						
Чернобыль [Chernobyl]	**	*	**	**		
Все возрасты вместе [All ages together]						
Томск [Tomsk]		**	**	—	**	**
Киров [Kirov]	**		—	**	—	—
ЗБС [ZBS]	**	**		**	*	*
Брянск [Bryansk]	**	**	**		**	**
Минск [Minsk]	**	**	**	—		—
Чернобыль [Chernobyl]	**	**	**	—	—	

Примечание. Выше диагонали – плодовитость F , ниже – диаметр яйца D ; * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$; «—» $p > 0,05$; отсутствие обозначений – нет данных для сравнения.

[Note. Above the diagonal - clutch size F , below - egg diameter D ; * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$; «—» $p > 0,05$, absence of symbols - no data for comparison].

Диаметр яйца. Статистически значимое увеличение средневозрастных значений наблюдалось во всех популяциях, различия между популяциями

также статистически значимы (см. табл. 1 и 10). Максимальным (и отличающимся от всех других популяций) средним значением D характеризуется популяция Томска (см. табл. 1), что соответствует минимальной длительности сезона активности вида в данной части ареала. Средние значения D популяций Кирова и ЗБС больше, чем у популяций Брянска, Минска и Чернобыля. Различия между этими тремя более южными популяциями статистически незначимы, из них минимальное значение D – в популяции Брянска. Наклон линии регрессии D по длине тела у популяций ЗБС, Кирова и Томска несколько больше, чем в южных популяциях (см. табл. 6), однако корреляция D с длиной тела несколько выше в южных популяциях (см. табл. 7). Межпопуляционные различия по скорректированным по длине тела среднепопуляционным значениям D имеют такую же направленность и могут быть выражены еще сильнее. Отличия популяций Томска от популяций Кирова и ЗБС статистически значимы, отличия каждой из этих популяций от трех южных популяций – также (табл. 8). Минимально низкое скорректированное среднее значение D популяции Брянска статистически значимо отличалось от такового популяции Чернобыля. Следует также отметить, что возрастное увеличение D выражено более отчетливо (чем в случае плодовитости), и у самок трех более северных популяций наблюдается также для скорректированных по длине тела средневозрастных значений, хотя у популяций Томска и Кирова эти различия находятся на пределе статистической значимости (см. табл. 8). Это означает также, что уже у трехлетних самок популяций Томска, Кирова и ЗБС (которые размножаются в этом возрасте впервые) относительные размеры яиц превышают таковые у самок более южных популяций (многие из которых размножаются в этом возрасте во второй раз). У самок популяций Брянска, Минска и Чернобыля первое размножение происходит в возрасте 2 лет, при этом средние размеры яиц существенно мельче, чем у самок более старших возрастов (табл. 1). Возрастная динамика скорректированных средних значений D рассмотрена также отдельно для трех южных популяций (см. табл. 9). Как и в случае плодовитости, во всех трех популяциях эти скорректированные средние значения D двухлетних самок существенно меньше, чем у самок более старших возрастов, различия между 2- и 3-летними самками статистически значимы (кроме популяции Минска).

Репродуктивное усилие и относительная масса кладки. На E статистически значимое влияние оказывали не только межпопуляционные, но и возрастные различия (см. табл. 1 и 10), однако изменения средневозрастных значений не проявляли определенной направленности. С возрастом не наблюдалось также однотипных изменений E в различных популяциях, что соответствует статистически значимому влиянию взаимодействия факторов «популяция $\times$ возраст». Однако при учете влияния длины тела сохранялось значимым только влияние межпопуляционных различий, а влияния возрастных различий и взаимодействия двух факторов становились незначимыми

(см. табл. 10). Максимальное среднепопуляционное значение E , превышавшее средние значения всех других популяций, у самок Томска, минимальное (меньше, чем у всех других популяций) – у самок Минска (см. табл. 1 и 12). Остальные популяции не различались между собой, за исключением более высокого среднепопуляционного значения E популяции Брянска по сравнению с ЗБС. У самок популяций Брянска и Чернобыля коэффициент наклона линии регрессии E по длине тела статистически значимо отличался от нуля и превышал значения такового самок Кирова и Томска (не отличался от нуля, см. табл. 6). Корреляция E с длиной тела у самок популяций Брянска и Чернобыля также статистически значима (см. табл. 7). При учете влияния длины тела межпопуляционные различия (максимум – в популяции Томска) в целом сохранялись, за исключением большего скорректированного среднего значения популяции Чернобыля, отличающегося от популяций Минска и ЗБС. Выраженной возрастной динамики скорректированных средних в пределах каждой из популяций также не наблюдалось, различий между 3- и 4-летними самками не выявлено (см. табл. 8). Различий по скорректированному среднему E не выявлено и по результатам ковариационного анализа трех южных популяций (см. табл. 9).

Т а б л и ц а 12 [Table 12]

**Сравнения средних значений репродуктивных характеристик
самок всех возрастов различных популяций *Rana arvalis*
[Comparison of mean values of reproductive characteristics
in females of all ages from different *Rana arvalis* populations]**

Популяция [Population]	Томск [Tomsk]	Киров [Kirov]	ЗБС [ZBS]	Брянск [Bryansk]	Минск [Minsk]	Чернобыль [Chernobyl]
2 года [2 years]						
Томск [Tomsk]						
Киров [Kirov]			–	–	–	–
ЗБС [ZBS]				–	–	–
Брянск [Bryansk]		–			–	–
Минск [Minsk]		–		–		–
Чернобыль [Chernobyl]						
3 года [3 years]						
Томск [Tomsk]		**	**	**	**	**
Киров [Kirov]	–		–	–	–	–
ЗБС [ZBS]	**	–		–	–	**
Брянск [Bryansk]	**	–	–		–	–

Окончание табл. 12 [Table 12 (end)]

Популяция [Population]	Томск [Tomsk]	Киров [Kirov]	ЗБС [ZBS]	Брянск [Bryansk]	Минск [Minsk]	Чернобыль [Chernobyl]
Минск [Minsk]	*	—	—	—		—
Чернобыль [Chernobyl]						
4 года [4 years]						
Томск [Tomsk]		—	**	—	**	**
Киров [Kirov]	*		—	—	*	—
ЗБС [ZBS]	**	—		**	—	**
Брянск [Bryansk]	**	—	**		**	—
Минск [Minsk]	—	—	—	—		*
Чернобыль [Chernobyl]						
5 лет [5 years]						
Томск [Tomsk]		**	**	—		—
Киров [Kirov]	—		—	—		—
ЗБС [ZBS]	**	—		—		*
Брянск [Bryansk]	**	*	—			—
Минск [Minsk]						
Чернобыль [Chernobyl]						
Все возрасты вместе [All ages together]						
Томск [Tomsk]		**	**	**	**	**
Киров [Kirov]	*		—	—	*	—
ЗБС [ZBS]	**	—		*	*	—
Брянск [Bryansk]	**	—	**		**	—
Минск [Minsk]	*	—	—	—		*
Чернобыль [Chernobyl]						

Примечание. Выше диагонали – репродуктивное усилие E , ниже – относительная масса кладки. * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$; «—» $p > 0,05$; отсутствие обозначений – нет данных для сравнения.

[Note. Above the diagonal - reproductive effort E , below - relative clutch mass. * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$; «—» $p > 0,05$, absence of symbols – no data for comparison].

Межпопуляционные и возрастные различия по RC в целом сходны с таковыми по E (см. табл. 1, 8 и 9). Согласно результатам ковариационного

анализа статистически значимое влияние оказывают только межпопуляционные различия, но не возрастные изменения и не взаимодействие этих двух факторов (см. табл. 10). Популяция Томска характеризовалась минимальным скорректированным по длине тела средним значением RC и статистически значимо отличалась от каждой из остальных популяций, которые не различались между собой (см. табл. 12). Отсутствие влияния возрастных различий проявлялось в том, что средние значения относительной массы кладки не изменялись в интервале между 3 и 4 годами, а также между 2 и 3 годами у двух южных популяций (см. табл. 8).

IV.2. Популяционные особенности взаимосвязей репродуктивных характеристик.

Межпопуляционные сравнения по силе взаимосвязи F и D с RC и E . Выявленное более быстрое увеличение F и RC по мере увеличения размеров самок популяций Чернобыля и Брянска (в сравнении с остальными популяциями) указывает на то, что в этих южных популяциях вклад плодовитости в репродуктивное усилие максимален. Подтверждением этому служит максимально высокая корреляция F с RC (или с E) у самок этих южных популяций (табл. 13). Эта корреляция ненамного ниже (и также статистически значима) у самок всех остальных, в том числе и двух северных популяций. Кроме того, у самок всех популяций эта корреляция остается высокой и статистически значимой при исключении влияния длины тела, т.е. при вычислении частной корреляции между F и RC (табл. 13).

Корреляции D и RC существенно ниже (чем F и RC) у самок всех популяций, хотя статистически значимые значения выявлены у всех популяций, кроме Кирова и Томска. Во всех популяциях эта корреляция становится ниже и статистически незначимой (кроме Чернобыля) при исключении влияния длины тела, т.е. при вычислении частной корреляции между F и RC (см. табл. 13).

Это указывает на существенное значение размеров самок при формировании вклада D в репродуктивное усилие. Таким образом, во всех исследованных популяциях вклад F в репродуктивное усилие (в RC и в E) не связан непосредственно с размерами самок и больше вклада D . Вместе с тем наиболее слабое ограничение репродуктивного усилия (т.е. увеличение как F , так и D) длительностью сезона активности выявлено в южных популяциях. Высокая положительная корреляция длины тела с F и D у самок этих популяций может быть следствием наличия в составе выборок двухлетних самок, характеризующихся очень низкими значениями F и D , а также длиной тела, близкой к минимальной (см. табл. 1).

Межпопуляционные сравнения по знаку и величине корреляций F и D . Общепринято считать, что величина и знак корреляции между F и D отражают репродуктивную стратегию популяций с различной длительностью сезона активности. У самок популяций Чернобыля и Брянска эта корреля-

ция положительная и сравнительно невысокая, но статистически значимая (у популяции Минска – незначимая), у популяций ЗБС и Томска – существенно ниже, хотя тоже значимая (см. табл. 13).

Т а б л и ц а 13 [Table 13]

**Корреляции между репродуктивными характеристиками
самок разных популяций *Rana arvalis*
[Correlations between reproductive characteristics
in females from different *Rana arvalis* populations]**

Популяция [Population]	Репродуктивная характеристика [Reproductive characteristic]	<i>F</i>	<i>D</i>	<i>RC</i>
Томск [Tomsk]	<i>F</i>		0,144*	0,472**
	<i>D</i>	–0,083		0,124
	<i>RC</i>	0,509**	0,101	
Киров [Kirov]	<i>F</i>		0,328*	0,554**
	<i>D</i>	0,006		0,191
	<i>RC</i>	0,509**	0,067	
ЗБС [ZBS]	<i>F</i>		0,094**	0,631**
	<i>D</i>	–0,229**		0,148*
	<i>RC</i>	0,645**	0,060	
Брянск [Bryansk]	<i>F</i>		0,284**	0,784**
	<i>D</i>	–0,288**		0,369**
	<i>RC</i>	0,592**	0,064	
Минск [Minsk]	<i>F</i>		0,410	0,711**
	<i>D</i>	0,196		0,483*
	<i>RC</i>	0,643**	0,346	
Чернобыль [Chernobyl]		<i>F</i>	<i>D</i>	<i>E</i>
	<i>F</i>		0,325**	0,777**
	<i>D</i>	–0,203**		0,487**
	<i>E</i>	0,791**	0,332**	

Примечание. В популяции Чернобыля вместо относительной массы кладки (*RC*) использовано репродуктивное усилие (*E*). * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$. Коэффициент корреляции Пирсона (выше диагонали) и частная корреляция с учетом длины тела (ниже диагонали).
[*Note.* In the population of Chernobyl reproductive effort (*E*) is used instead of relative clutch mass (*RC*). * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$. The Pearson correlation coefficient (above the diagonal) and partial correlation with body length control (below the diagonal)].

При исключении влияния длины тела, т.е. при вычислении частной корреляции между *F* и *D*, во всех популяциях наблюдалось изменение величины и направленности этой взаимосвязи. При этом у самок популяций Чернобыля, Брянска и ЗБС эта частная корреляция слабая отрицательная и статистически значимая, а у остальных (включая и популяцию Минска) – не отличающаяся от нуля. Таким образом, в случае отсутствия ограниче-

ний длительностью сезона активности увеличение вклада в репродуктивное усилие возможно благодаря одновременному повышению плодовитости и увеличению размеров яиц. При наличии такого ограничения (обычно у более северных популяций) увеличение репродуктивного усилия, прежде всего за счет увеличения размеров яиц, у большинства самок делает невозможным одновременное его увеличение за счет плодовитости.

Межпопуляционные сравнения по силе различий между размножающимися впервые самками и самками более старших возрастов по совокупности репродуктивных характеристик. Выявленные в каждой из популяций сильные отличия впервые размножающихся самок младшего возраста от более старших возрастов по *F* и *D* позволяют поставить задачу количественной оценки величины этих различий по совокупности исследованных репродуктивных характеристик (*F*, *D* и *RC*). С помощью дискриминантного анализа сравнивали каждую из возрастных групп самок (за исключением особей старше 5 лет, встречающихся сравнительно редко) в пределах каждой из популяций (табл. 14).

Т а б л и ц а 14 [Table 14]

Количественная оценка различий между самками разных возрастов в пределах одной популяции *Rana arvalis* по совокупности репродуктивных характеристик (F, D и E)
[Multidimensional qualitative estimation of differences between females of different ages within one *Rana arvalis* population, considering all reproductive characteristics (F, D and E)]

Популяция [Population]	Сравнение возрастов [Comparison of ages]				
	2- и 3-лет- ние	2- и 4-лет- ние	3- и 4-лет- ние	3- и 5-лет- ние	4- и 5-лет- ние
Томск [TomsK]			0,43	2,16	0,69
Киров [Kirov]			2,46	5,09	1,26
ЗБС [ZBS]			0,34	1,87	0,65
Брянск [Bryansk]	2,51	9,94	2,68		
Минск [Minsk]	1,48				
Чернобыль [Chernobyl]	1,99	13,24	5,26		

Примечание. В ячейках таблицы – расстояния по Махаланобису, статистически значимые различия ($p < 0,05$) выделены жирным шрифтом.
[Note. In the table cells - Mahalanobis distances, statistically significant differences ($p < 0,05$) are in bold].

В популяциях Чернобыля и Брянска различия между 2- и 3-летними самками существенно слабее, чем между 2- и 4-летними, в то время как различия между 3-и 4-летними – такие же (Брянск) или сильнее (Чернобыль), чем между 2- и 3-летними. Поскольку 3-летние самки представлены размно-

жающимися впервые и размножающимися во второй раз, наиболее сильные различия, связанные со своеобразием впервые размножающихся самок, следует ожидать между 2- и 4-летними, что и наблюдалось в действительности. Аналогичные возрастные различия выявлены и в популяциях ЗБС, Кирова и Томска, но поскольку возраст первого размножения составлял не 2, а 3 года, как у южных популяций, то наиболее сильные различия выявлены между 3- и 5-летними самками (см. табл. 14).

Обсуждение

Географическая изменчивость возраста, длины тела и репродуктивных характеристик при первом размножении. У самок остромордой лягушки возраст достижения половой зрелости увеличивается в пределах ареала по мере сокращения длительности сезона активности. В Днепропетровской области (Украина) [11] и в Минской области (Беларусь) [20], т.е. в южной части ареала вида, первое размножение происходит после 2-й или (реже) после 3-й зимовки. В популяции Брянска, а также в популяциях Чернобыльского р-на Украины [4] первое размножение происходит после 2-й или после 3-й зимовки. В популяции Кировской обл. [1] первое размножение обычно происходит после 3-й зимовки, реже – после 4-й и крайне редко – после 2-й зимовки. В популяции Томска сохраняется тенденция увеличения возраста первого размножения: у большей части самок этот возраст составляет уже не 3, а 4 года.

Поскольку по мере сокращения длительности сезона активности происходит снижение величины ежегодных приростов [3, 20], размеры особей при первом размножении также уменьшаются. Сравнительно низкое значение средней длины тела трехлетних самок выявлено в популяции Томска, сходные с ними по размерам трехлетние самки – в популяции Кировской области, а в наиболее северной популяции Ханты-Мансийского автономного округа отмечено минимальное значение длины тела [17]. Максимальные размеры трехлетних самок отмечены в популяции Брянска.

Впервые размножающиеся в раннем возрасте самки характеризуются также своеобразием репродуктивных характеристик (в сравнении с самками более старших возрастов той же популяции), что, очевидно, связано с их мелкими размерами и сравнительно невысокой долей ресурсов, направляемых на репродукцию. В южных популяциях 2-летние самки существенно отстают от более старших возрастов по относительным величинам плодовитости и размеров яиц (скорректированным по длине тела средним значениям F и D , см. табл. 13). В более северных популяциях 3-летние самки также уступают более старшим возрастам по относительной величине размеров яиц.

Географическая изменчивость возрастного состава и возрастной динамики длины тела. В южных популяциях доля 4-летних самок (а в не-

которых уже и 3-летних) сравнительно низкая. В более северных популяциях 2-летние самки встречаются крайне редко, а доля 4-летних превышает долю 3-летних. Это обуславливает увеличение среднего возраста по мере сокращения сезона активности. Вместе с тем, как показано нами на примере популяции Брянска, величина ежегодных приростов в южных популяциях настолько высока, что средняя длина тела превышает таковую самок более северных популяций. Сходные высокие приросты наблюдались и у самок Чернобыльского р-на [4]. Длина тела самок в каждом из возрастов существенно уменьшается в популяции Томска и в Кировской обл. [21]. В популяциях Ханты-Мансийского автономного округа выявлены минимальные ежегодные приросты [17]. Снижение средних размеров по мере увеличения среднего возраста показано и для других популяций остромордой лягушки, а также для нескольких популяций травяной лягушки [22]. Таким образом, у бурых лягушек северных популяций в ряде случаев увеличение среднепопуляционных значений возраста связано с уменьшением величины ежегодных приростов и не приводит к увеличению средних размеров.

Географическая изменчивость репродуктивных характеристик и межпопуляционные различия в характере их взаимосвязи с длиной тела и с возрастом. Согласно нашим и литературным данным [11], плодовитость самок остромордой лягушки по мере сокращения длительности сезона активности изменяется не направленно, достигая высоких среднепопуляционных значений как в южной, так и в северной части ареала. Согласно Бervenу [8], созревание в раннем возрасте в южных популяциях (даже в ущерб увеличению плодовитости при первом размножении) объясняется высокой постметаморфозной смертностью, в том числе и после достижения половой зрелости, что делает невыгодным отсрочку первого размножения. Наши данные по возрастному составу самок остромордой лягушки указывают на высокую смертность по достижении половой зрелости, поэтому предположение Бервена подходит для объяснения межпопуляционных различий в размерах и плодовитости остромордой лягушки.

Изменение среднепопуляционных значений размеров яиц имеет четко выраженную направленность: они увеличиваются по мере сокращения длительности сезона активности. Согласно нашим данным, эта тенденция не соответствует ненаправленному изменению среднепопуляционных значений размеров самок, но полностью совпадает с увеличением средних возрастов. Согласно предположению Бервена [8], первопричиной увеличения диаметра яйца в горных популяциях *R. sylvatica* является сильное воздействие отбора на размеры яиц при сравнительно высокой выживаемости по завершении метаморфоза. Поскольку увеличение плодовитости связано с более крупными размерами самок, в горных популяциях должна происходить отсрочка первого размножения на один год, в результате чего самки не только производят крупные яйца, но и сильно повышают плодовитость. Вместе с тем

по мере приближения к северной границе ареала *R. sylvatica* наблюдается значительное уменьшение средних размеров половозрелых особей, несмотря на увеличение их среднего возраста. С этим связано уменьшение не только плодовитости, но и средних размеров яиц у самок северных популяций *R. sylvatica*, что совпадает с выявленным нами у остромордой лягушки снижением плодовитости, но не соответствует увеличению размеров яиц в северных популяциях, причем не только абсолютных значений, но и нормированных по длине тела. Следует также добавить, что снижение плодовитости может быть обусловлено также средовыми ограничениями (коротким сезоном активности) на величину ежегодных приростов длины тела, что подтверждается выявленным статистически значимым влиянием межгодовых различий на репродуктивные характеристики.

Величина репродуктивного усилия максимальна у самок южных популяций *R. arvalis* и уменьшается по мере сокращения сезона активности [11]. Аналогичные результаты получены для *R. sylvatica* [8]: нормированный по длине тела объем кладки выше у самок равнинной популяции по сравнению с горной, несмотря на их сравнительно мелкие размеры.

Исследования, выполненные другими авторами на остромордой лягушке и других видах бесхвостых амфибий, в большинстве случаев выявляют положительную корреляцию репродуктивных характеристик с возрастом и длиной тела (см. табл. 7 и 15). При наличии сопоставимых данных [5, 23, 24] подтверждается выявленная нами для остромордой лягушки тенденция более сильной зависимости всех характеристик, кроме размеров яиц, от длины тела, чем от возраста. Вместе с тем в большинстве публикаций рассмотрены взаимосвязи репродуктивных характеристик с размерами самок (но не с их возрастом), причем у большинства исследованных видов корреляция с плодовитостью сильнее, чем с размерами яиц (табл. 15).

Географические различия в характере взаимосвязи между репродуктивными характеристиками. Выявленная нами наиболее сильная положительная корреляция между размерами яиц и плодовитостью самок популяции Чернобыля (а также двух других южных популяций) соответствует высоким значениям относительной массы кладки у самок тех же южных популяций. Результаты лабораторного содержания самок *R. temporaria* из популяции юга Швеции [14] подтверждают, что при достаточном количестве пищи происходит не только их рост, но и одновременное увеличение размеров яиц и плодовитости. Однако в двух других популяциях травяной лягушки [23, 24] выявлена статистически значимая отрицательная частная корреляция между размерами яиц и плодовитостью при исключении влияния длины тела.

Необходимость формировать более крупные яйца в популяциях *R. arvalis* из местообитаний с кислой водой в нерестовых водоемах ведет к отрицательной корреляции размеров и числа яиц в кладках самок таких популяций. У популяций из местообитаний со сходной длительностью сезона активно-

Т а б л и ц а 15 [Table 15]

Корреляции возраста и длины тела самок бесхвостых земноводных с репродуктивными характеристиками
 [Correlations of age and body length in anuran females with reproductive characteristics]

Вид [Species]	Популяция [Population]	Корреляция возраста [Correlation of age with]				Корреляция длины тела [Correlation of body length with]				Корре- ляция [Corre- lation]	Литера- турный источник [Reference]
		F	D	E	RC	F	D	E	RC		
<i>Rana arvalis</i>	Талица, Свердловская обл., Россия [Talitsa, Sverdlovsk Oblast, Russia]	-0,221	0,336	-0,196	-0,163			-0,234	-0,033		[16]
<i>R. arvalis</i>	Швеция, кислые водоемы [Sweden, acidic ponds]	++	+			++	++			--	[5]
<i>R. arvalis</i>	Швеция, нейтральные водоемы [Sweden, neutral ponds]	0	++			++	0			0	[5]
<i>R. temporaria</i>	ЗБС, Московская обл., Россия [ZBS, Moscow Oblast, Russia]	0,280	0,380	-0,04	0,175	0,496	0,439	0,058	0,233	-0,058*	[23]
<i>R. temporaria</i>	Ирландия [Ireland]	0,093	0,488		0,330	0,717	0,291		0,418	0,096*	[24]
<i>R. temporaria</i>	Страна Басков, юго-запад Франции [Basque Country, South-West of France]					0,580			0,390		[25]
<i>R. kukunoris</i>	Китай, Гималаи, 3450 над ур. м. [China, the Himalayas, 3450 above sea level]					0,730			0,240	0,420	[26]
<i>R. kukunoris</i>	Китай, Гималаи, 11 популяций от 2000 до 3450 над ур. м. [China, the Himalayas, 11 populations from 2000 to 3450 above sea level]									0	[27]
<i>R. kunyuensis</i>	Юж. Китай, гора Куньчу [Southern China, Mountain Kunyu]					0,784					[28]
<i>Bufo viridis</i>	Сев.-зап. Италия [Northwest Italy]					0,748	0,237				[29]
<i>B. viridis</i>	Измир, Турция [Izmir, Turkey]					0,617					[30]

Продолжение табл. 15 [Table 15 (continuation)]

<i>Anaxyrus fowleri</i>	Оз. Эри, Канада [Lake Erie, Canada]					0,469						[31]
<i>B. calamita</i>	Юго-зап. Испания [Southwest Spain]					0,709	0,635				-0,357	[32]
<i>Pelobates cultripes</i>	Юго-зап. Испания [Southwest Spain]					0,483	0,479				-0,439	[32]
<i>P. fuscus</i>	Оз. Лебязье, Саратовская обл., Россия [Lake Lebyazhie, Saratov Oblast, Russia]					0,721	0,590			0,880		[33]
<i>P. fuscus</i>	Оз. Садок, Саратовская обл., Россия [Lake Sadok, Saratov Oblast, Russia]					0,663	0,650			0,950		[33]
<i>P. fuscus</i>	Оз. Кругленькое, Саратовская обл., Россия [Lake Kruglen'koe, Saratov Oblast, Russia]					0,787				0,990		[33]
<i>P. fuscus</i>	Оз. Коблово, Саратовская обл., Россия [Lake Koblovo, Saratov Oblast, Russia]					0,800	0,525			0,930		[33]
<i>Physalaemus gracilis</i>	De Maldonado, Уругвай [Uruguay]					++	++				0	[34]
<i>Ph. biligonigerus</i>	De Rivera, Уругвай [Uruguay]					0	0				--	[34]
<i>Ranidella signifera</i>	Юж. Австралия [South Australia]					+	0			0	-0,403	[35]
<i>Hyla intermedia</i>	Cameri Novara, Италия [Italy]					++	++					[36]
<i>H. labialis</i>	Колумбия, Анды, 3 500 м [Columbia, the Andes]					0,387					-0,447	[37]
<i>H. labialis</i>	Колумбия, Анды, 2 700 м [Columbia, the Andes]					0,806					-0,557	[37]
<i>H. labialis</i>	Колумбия, Анды, 2 000 м [Columbia, the Andes]					0,557					-0,490	[37]

О к о н ч а н и е т а б л. 15 [Table 15 (end)]

<i>Rhacophorus omeimonitis</i>	Зап. Китай, 1700 м над у.м. [West China, 1700 m above sea level]	0,496	-0,716			0,845	-0,460		-0,402	[38]
<i>Rh. omeimonitis</i>	Зап. Китай, 1000 м над ур. м. [West China, 1000 m above sea level]	0,797	-0,093			0,939	-0,742		-0,837	[38]

Примечание. Приведены коэффициенты корреляции (жирным шрифтом отмечены статистически значимые значения), если в публикации они не приводятся – статистическая значимость и сила корреляции: «++» сильная положительная корреляция, «+» слабая положительная корреляция, «--» сильная отрицательная корреляция, 0 – отсутствие статистической значимости корреляции; * статистически значимая отрицательная частная корреляция при исключении влияния длины тела.

[Note. The table shows correlation coefficients (valid values are in bold), if they are not given in the publication - significance and correlation force: ++ strong positive correlation, + weak positive correlation, -- strong negative correlation, 0 - absence of significant correlation. * significant negative partial correlation with body length control].

сти, но с водоемами, имеющими рН, близкую к нейтральной, корреляция между этими характеристиками не отличалась от нулевой [5]. Исследования, выполненные на других видах бесхвостых амфибий (см. табл. 13 и 15), почти во всех случаях выявляют статистически значимую отрицательную корреляцию между размерами яиц и плодовитостью (исключение – высокогорная популяция бурой лягушки *R. kukunoris* [26]). Вероятно, это связано со сравнительно мелкими размерами взрослых особей исследованных видов (см. табл. 15).

На основании выявленных различий в величине коэффициентов корреляции репродуктивного усилия с плодовитостью и размерами яиц (см. табл. 13) можно заключить, что в южных популяциях вклад плодовитости в репродуктивное усилие максимален, причем увеличение вклада в репродуктивное усилие происходит благодаря одновременному увеличению плодовитости и размеров яиц. Во всех исследованных нами популяциях вклад плодовитости в репродуктивное усилие намного больше вклада размеров яиц. Исключение – сильное снижение не только размеров яиц, но и плодовитости, выявленное только у самых молодых впервые размножающихся самок, сходные результаты получены и на *R. sylvatica* [8].

Формирование альтернативных репродуктивных стратегий (мелкие яйца при высокой плодовитости или крупные яйца при сравнительно низкой плодовитости) в южной и северной популяциях может быть также связано с тем, что при длительном сезоне активности выгоднее мелкие размеры яиц, а при более коротком – крупные размеры яиц [8, 20]. Особо следует отметить, что такое объяснение не является альтернативным по отношению к выявленному нами онтогенетическому механизму (сильная взаимосвязь длины тела с плодовитостью и возраста с размерами яиц) формирования этих репродуктивных характеристик.

Заключение

Межпопуляционная изменчивость возраста и размеров при первом размножении, размеров и возрастного состава самок, а также их репродуктивных характеристик выявлена и при сходных значениях длительности сезона активности исследованных нами популяций, прежде всего – южных. Внешнее проявление этой изменчивости сводится к тому, что не во всех популяциях особи используют преимущество длительного сезона активности, например, первое размножение большей части самок популяций Брянска и Чернобыля в возрасте не двух, а только трех лет, а также сравнительно медленный рост двух- и трехлетних самок Чернобыля. Наиболее очевидной причиной этих различий являются неодинаковые условия влажности в местообитаниях южных популяций в течение длительного сезона активности. Вместе с тем намного более сильные различия выявлены нами при сравнении популяций из местообитаний с существенными климатическими

различиями, т.е. при анализе собственно географической изменчивости. Масштабы таких различий больше внутривидовой изменчивости или различий между популяциями одной климатической зоны. К таким различиям относятся отсутствие снижения с возрастом нормированной по длине тела плодовитости самок Брянска и Чернобыля и наличие такого снижения у самок северных популяций. Между северными и южными популяциями выявлены сильные различия по размерам яиц (как по абсолютным, так и по нормированным значениям), характеру взаимосвязи между плодовитостью и размерами яиц и по величине вклада плодовитости и размеров яиц в репродуктивное усилие. Особо следует отметить, что темпы полового созревания самок оказываются более лабильным признаком, чем темпы роста, и их соотношение специфично для каждой из исследованных нами популяций. На основании выявленных различий могут быть разработаны критерии для разграничения географической и локальной изменчивости, основанные на представлении об оптимизации репродуктивных стратегий.

Литература

1. Morrison C., Hero J.-M. Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review // *Journal of Animal Ecology*. 2003. Vol. 72. P. 270–279.
2. Ляпков С.М. Географическая изменчивость и половые различия по длине тела и возрастному составу у травяной лягушки: формирование и закономерности проявления // *Принципы экологии*. 2012. № 2. С. 21–44.
3. Ляпков С.М. Географическая изменчивость и половые различия по длине тела и возрастному составу у остромордой лягушки: формирование и закономерности проявления // *Праці Українського герпетологічного товариства*. 2013. № 4. С. 64–86.
4. Ляпков С.М., Черданцев В.Г., Черданцева Е.М. Географическая изменчивость как результат различия в темпах эволюции признаков с широкой и узкой нормой реакции у остромордой лягушки (*Rana arvalis*) // *Журнал общей биологии*. 2008. Т. 69, № 1. С. 25–43.
5. Rasanen K., Soderman F., Laurila A., Merila J. Geographic variation in maternal investment: acidity affects egg size and fecundity in *Rana arvalis* // *Ecology*. 2008. Vol. 89, № 9. P. 2553–2562.
6. Oromi N., Sanuy D., Sinsch U. Altitudinal variation of demographic life-history traits does not mimic latitudinal variation in natterjack toads (*Bufo calamita*) // *Zoology*. 2012. Vol. 115, № 1. P. 30–37.
7. Zhang L., Lu X. Amphibians live longer at higher altitudes but not at higher latitudes // *Biological Journal of the Linnean Society*. 2012. Vol. 106, № 3. P. 623–632.
8. Berven K.A. The genetic basis of altitudinal variation in the wood frog *Rana sylvatica*. I. An experimental analysis of life history traits // *Evolution*. 1982. Vol. 36, № 5. P. 962–983.
9. Ляпков С.М., Черданцев В.Г., Черданцева Е.М. Регуляция численности остромордой лягушки (*Rana arvalis*) по данным многолетних наблюдений за одной популяцией // *Зоологический журнал*. 2006. Т. 85, вып. 9. С. 1128–1142.
10. Lyapkov S.M. A long-term study on population ecology of the moor frog (*Rana arvalis*) in Moscow province, Russia // *Der Moorfrosch/ Zeitschrift für Feldherpetologie*. 2008. Vol. 13 (Suppl.). P. 211–230.

11. Ляпков С.М., Корнилова М.Б., Марченковская А.А., Мисюра А.Н., Гассо В.Я. Особенности возрастного состава, размерных половых различий и репродуктивных характеристик у остромордой лягушки в южной части ареала // Герпетологические исследования в Казахстане и сопредельных странах. Алматы : АСБК–СОПК, 2010. С. 150–165.
12. Волонцевич Р.В., Ляпков С.М., Куранова В.Н. Географическая и внутривидовая изменчивость возрастного состава, длины тела и репродуктивных характеристик остромордой лягушки *Rana arvalis* // Праці Українського герпетологічного товариства. 2011. № 3. С. 13–27.
13. Cummins C.P. Temporal and spatial variation in egg size and fecundity in *Rana temporaria* // Journal of Animal Ecology. 1986. Vol. 55, № 2. P. 303–316.
14. Lardner B., Loman J. Growth or reproduction? Resource allocation by female frogs *Rana temporaria* // Oecologia. 2003. Vol. 137, № 4. P. 541–546.
15. Liao W.B., Lu X., Jehle R. Altitudinal variation in maternal investment and trade-offs between egg size and clutch size in the Andrew's toad // Journal of Zoology. 2014. Vol. 293, № 2. P. 84–91.
16. Ishchenko V.G. The measurement of reproductive effort in amphibians // Russian J. Herpetol. 2003. Vol. 10, № 3. P. 207–212.
17. Матковский А. В., Ляпков С.М., Стариков В.П. Темпы постметаморфозного роста и возрастной состав популяций остромордой лягушки вблизи северной границы ареала по данным скелетохронологии // Современная герпетология. 2011. Т. 11, вып. 3/4. С. 143–156.
18. Смирин Э.М. Годовые слои в костях травяной лягушки // Зоологический журнал. 1972. Т. 51, вып. 10. С. 1529–1534.
19. Черданцев В.Г., Ляпков С.М., Черданцева Е.М. Механизмы формирования плодовитости у остромордой лягушки *Rana arvalis* // Зоологический журнал. 1997. Т. 76, вып. 2. С. 187–198.
20. Ляпков С.М., Корнилова М.Б., Сербинова И.А., Корзун Е.В., Новицкий Р.В. Формирование направленной географической изменчивости особенностей жизненного цикла бурых лягушек // Современная герпетология. 2009. Т. 9, вып. 3/4. С. 103–121.
21. Ляпков С.М. Географическая и возрастная изменчивость полового диморфизма по длине тела и темпам роста бурых лягушек // Вопросы герпетологии : материалы 3-го Съезда Герпетологического Общества им. А.М. Никольского. Пущино ; Москва, 2008. С. 262–267.
22. Ishchenko V.G. Growth of brown frogs of fauna of Russia: some problems of study of growth in amphibians // Ananjeva N. and Tsinenko O. (eds.), Herpetologia Petropolitana. Proc. of the 12th Ord. Gen. Meeting Soc. Eur. Herpetol., August 12 – 16, 2003, St. Petersburg. 2005. Russian Journal of Herpetology. Vol. 12 (Suppl.). P. 153–157.
23. Ляпков С.М., Корнилова М.Б., Северцов А.С. Демографические характеристики и динамика численности популяции травяной лягушки (*Rana temporaria* L.) // Зоологический журнал. 2002. Т. 81, № 10. С. 1251–1259.
24. Gibbons M.M., McCarthy T.K. The reproductive output of frogs *Rana temporaria* (L.) with particular reference to body size and age // Journal of Zoology. 1986. Vol. A209, № 4. P. 579–593.
25. Vignes J.C. Caracteristiques biologiques de la reproduction de la Grenouille rousse (*Rana temporaria*) dans une population a l'extreme sud-ouest de la France // Munibe. 2010. № 58. P. 131–148.
26. Lu X., Zeng X., Du B., Nie C. Reproductive ecology of *Rana kukunoris* Nikolskii, 1918, a high-altitude frog native to the Tibetan Plateau // Herpetozoa. 2008. Vol. 21, № 1/2. P. 67–77.

27. Chen W., Tang Z.H., Fan X.G., Wang Y., Pike D.A. Maternal investment increases with altitude in a frog on the Tibetan Plateau // Journal of Evolutionary Biology. 2013. Vol. 26, № 12. P. 2710–2715.
28. Chen W., Wu Q.W., Su Z.X., Lu X. Age, body size and clutch size of *Rana kunyuensis*, a subtropical frog native to China // Herp. J. 2012. Vol. 22. P. 203–206.
29. Castellano S., Cucco M., Giacoma C. Reproductive Investment of Female Green Toads (*Bufo viridis*) // Copeia. 2004. № 3. P. 659–664.
30. Baskale E., Sayim F., Yildirim S., Atatür M.K., Kaya U. Reproductive ecology and body size-fecundity relationships of the Green Toad, *Pseudepidalea viridis* (Laurenti, 1768), in the Kocacay Stream, Izmir, Turkey // Zoology in the Middle East. 2011. Vol. 52, № 1. P. 39–46.
31. Green D.M. Implications of female body-size variation for the reproductive ecology of an anuran amphibian // Ethology Ecology & Evolution. 2015. Vol. 27, № 2. P. 173–184.
32. Marangoni F., Tejedo M., Gomez-Mestre I. Extreme reduction in body size and reproductive output associated with sandy substrates in two anuran species // Amphibia-Reptilia. 2008. Vol. 29. P. 541–553.
33. Ермохин М.В., Табачишин В.Г. Зависимость репродуктивных показателей самок *Pelobates fuscus* (Laurenti, 1768) от размерных и весовых характеристик // Современная герпетология. 2011. Т. 11, вып. 1/2. С. 28–39.
34. Camargo A., Sarroca M., Maneyro R. Reproductive effort and the egg number vs. size trade-off in *Physalaemus* frogs (Anura: Leiuperidae) // Acta oecologica. 2008. Vol. 34. P. 163–171.
35. Williamson I., Bull C.M. Life-History Variation in a Population of the Australian Frog *Ranidella signifera*: Seasonal Changes in Clutch Parameters // Copeia. 1995. № 1. P. 105–113.
36. Cadeddu G., Castellano S. Factors affecting variation in the reproductive investment of female treefrogs, *Hyla intermedia* // Zoology. 2012. Vol. 115. P. 372–378.
37. Lüddecke H. Variation and trade-off in reproductive output of the Andean frog *Hyla labialis* // Oecologia. 2002. Vol. 130, № 3. P. 403–410.
38. Liao W.B., Lu X. A comparison of reproductive output of the Omei Treefrog (*Rhacophorus omeimontis*) between high and low elevations // Animal Biology. 2011. Vol. 61. P. 263–276.

Поступила 24.11.2014 г.; повторно 17.01.2015 г.; принята 17.02.2015 г.

Авторский коллектив:

Ляпков Сергей Марленович – с.н.с., канд. биол. наук, в.н.с. кафедры биологической эволюции Биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (г. Москва, Россия).

E-mail: lyapkov@mail.ru

Волонцевич Роман Владимирович – аспирант кафедры зоологии позвоночных и экологии Биологического института Национального исследовательского Томского государственного университета (г. Томск, Россия).

E-mail: rwv_17@mail.ru

Lyapkov SM, Volontsevich RV. Development of geographic variation of body size and reproductive characteristics in *Rana arvalis* females. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;1(29):113-154. doi: 10.17223/19988591/29/9. In Russian, English summary

Sergey M. Lyapkov¹, Roman V. Volontsevich²

¹ *MV Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

² *Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation*

Development of geographic variation of body size and reproductive characteristics in *Rana arvalis* females

The aim of our work was to identify the nature of geographic variation in age structure, body length and reproductive characteristics of *Rana arvalis* females, as well as interrelations between these characteristics according to the research data of some geographically distant populations of this species. The material was collected in several regions of Ukraine, Belarus and Russia. In total, 2483 adult females were studied.

We conducted a comparative analysis of age structure, body size and female reproductive characteristics between distantly separated populations of *Rana arvalis* within species range. In north-eastern populations with the shortest activity season (3.8 months), females bred for the first time after the 4th wintering and relatively seldom - after the 3rd wintering. Five-year-old and older females were rare. In central populations, the first breeding of 2-year-old females was very rare, most of females bred at the age of three or four, while most of four-year-old females reproduced for the first time. The maximum life-span was 10 years. In southern populations, with maximal duration of activity season (7.5 months), about one-half of females bred after the 2nd wintering for the first time, the rest bred after the 3rd wintering. The proportion in four-year-old females was about equal to that of in 2-year-olds, whereas the proportion of older females was very low. In populations with the activity season close to the shortest, the relative low population mean values of female body length were revealed. Apparently, a relatively small body size and low fecundity in females from north-eastern populations were due to low mean age as the result of high mortality after reaching maturity. Mean egg diameter (both absolute value and adjusted by body length means) was maximal in females from the north-eastern population. In all studied populations, age differences have more impact on egg size than on fecundity, and it was not revealed for relative clutch mass. In contrast to age, female body length has more impact on fecundity than on egg size. In southern populations, the contribution of fecundity into reproductive effort was the highest and was attained by simultaneous increase in fecundity and egg diameter that was suggested by significant positive correlation between these two characteristics. In northern populations, the decrease in fecundity into reproductive effort was not connected with increase in egg size which can be explained by stronger influence of body length than age on fecundity and weaker influence - on egg size. However, in all populations, the contribution of fecundity into reproductive effort was much higher than egg diameter. As an exception, we revealed a sufficient decrease both in egg diameter and fecundity in the youngest females that bred for the first time.

Acknowledgments: This work was supported by the Russian Scientific Foundation (RNF) grant (project No 14-14-00330).

The authors are grateful to Drs. Kabardina YuA for the help in collecting information in Kirov Oblast, Cherdantsev VG and Cherdantseva EM in Kiev Oblast (Moscow State

University, Russia); Korzun EV and Dr. Novitskiy RV in Minsk Oblast (The Centre for Biological Resources, NAS of Belarus, Minsk); Cand. Sci. Matkovskiy AV in KhMAO (Surgut State University, Russia).

The article contains 15 Tables, 38 References.

Key words: *Rana arvalis*; geographical variation; body length; age; fecundity; reproductive effort.

References

1. Morrison C, Hero J.-M. Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review. *Journal of Animal Ecology*. 2003;72:270-279.
2. Lyapkov SM. Geographical variation and sexual differences of body length and age composition in *Rana temporaria*: the ontogenetic development and phenotypic trends. *Printsipy ekologii*. 2012;2(2):21-44. In Russian
3. Lyapkov SM. Geographical variation and sexual differences of body length and composition in *Rana arvalis*: the development and phenotype trends. *Праці Українського герпетологічного товариства – Proceeding of the Ukrainian herpetological society*. 2013;4:64-86. In Russian, English summary
4. Lyapkov SM, Cherdantsev VG, Cherdantseva EM. Geographic variation as a result of evolution of the traits with broad and narrow norms of reaction in the moor frog (*Rana arvalis*). *Zhurnal obshchey biologii*. 2008;69(1):25-43. In Russian
5. Rasanen K, Soderman F, Laurila A, Merila J. Geographic variation in maternal investment: acidity affects egg size and fecundity in *Rana arvalis*. *Ecology*. 2008;89(9):2553-2562. PMID: [18831176](#)
6. Oromi N, Sanuy D, Sinsch U. Altitudinal variation of demographic life-history traits does not mimic latitudinal variation in natterjack toads (*Bufo calamita*). *Zoology*. 2012;115(1):30-37. doi: [10.1016/j.zool.2011.08.003](#)
7. Zhang L, Lu X. Amphibians live longer at higher altitudes but not at higher latitudes. *Biological Journal of the Linnean Society*. 2012;106(3):623-632. doi: [10.1111/j.1095-8312.2012.01876.x](#)
8. Berven KA. The genetic basis of altitudinal variation in the wood frog *Rana sylvatica*. I. An experimental analysis of life history traits. *Evolution*. 1982;36(5):962-983.
9. Lyapkov SM, Cherdantsev VG, Cherdantseva EM. Regulation of *Rana arvalis* numbers based on long-term study of the same population. *Zoologicheskii zhurnal*. 2006;85(9):1128-1142. In Russian
10. Lyapkov SM. A long-term study on population ecology of the moor frog (*Rana arvalis*) in Moscow province, Russia. In: Der Moorfrosch/The Moor Frog. *Zeitschrift für Feldherpetologie*. 2008;13(Suppl.):211-230.
11. Lyapkov SM, Kornilova MB, Marchenkovskaya AA, Missura AN, Gasso VY. Osobennosti vozrastnogo sostava, razmernykh polovykh razlichiy i reproduktivnykh kharakteristik u ostromordoy lyagushki v yuzhnoy chasti areala [Peculiarities of age composition, size sexual differences and reproductive characteristics in *Rana arvalis* populations from southern part of the range]. In: *Gerpetologicheskie issledovaniya v Kazakhstane i sopredel'nykh stranakh* [Herpetological research in Kazakhstan and neighbouring countries]. Alma-Aty: ASBK-SOPK Publ.; 2010. pp. 150-165. In Russian
12. Volontsevich RV, Lyapkov SM, Kuranova VN. Geographic and within-population variation of age composition, body length and reproductive characteristics of the moor frog, *Rana arvalis* (Amphibia; Ranidae). *Праці Українського герпетологічного товариства – Proceeding of the Ukrainian herpetological society*. 2011(3):13-27. In Russian, English summary

13. Cummins CP. Temporal and spatial variation in egg size and fecundity in *Rana temporaria*. *Journal of Animal Ecology*. 1986;55(2):303-316.
14. Lardner B, Loman J. Growth or reproduction? Resource allocation by female frogs *Rana temporaria*. *Oecologia*. 2003;137(4):541-546. doi: [10.1007/s00442-003-1390-5](https://doi.org/10.1007/s00442-003-1390-5)
15. Liao WB, Lu X, Jehle R. Altitudinal variation in maternal investment and trade-offs between egg size and clutch size in the Andrew's toad. *Journal of Zoology*. 2014;293(2):84-91. doi: [10.1111/jzo.12122](https://doi.org/10.1111/jzo.12122)
16. Ishchenko VG. The measurement of reproductive effort in amphibians. *Russian J. Herpetol.* 2003;10(3):207-212.
17. Matchkovskiy AV, Lyapkov SM, Starikov VP. Postmetamorphic growth rate and age composition in *Rana arvalis* populations near the northern limit of its range according to skeletochronological data. *Sovremennaya gerpetologiya*. 2011;11(3-4):143-156. In Russian, English summary
18. Smirina EM. Godovye sloi v kostyakh travyanoy lyagushki. *Zoologicheskii zhurnal*. 1972;51(10):1529-1534. In Russian
19. Cherdantsev VG, Lyapkov SM, Cherdantseva EM. Mechanisms of forming fecundity in *Rana arvalis*. *Zoologicheskii zhurnal*. 1997;76(2):187-198.
20. Lyapkov SM, Kornilova MB, Serbinova IA, Korsun EV, Novitsky RV. Formation of countergradient and cogradient variation in life-history traits of brown frogs. *Sovremennaya gerpetologiya*. 2009;9(3-4):103-121. In Russian, English summary
21. Lyapkov SM. Geographical and age variation of sexual dimorphism in body length and growth rate in brown frogs. In: *The Problems of Herpetology*. Proc. of the 3th Meeting of the Nikolsky Herpetological Society. 9-13 October 2006. Putschino. Saint-Petersburg: Saint-Petersburg State University Publ.; 2008. pp. 262-267. In Russian
22. Ishchenko VG. Growth of brown frogs of fauna of Russia: some problems of study of growth in amphibians. In: *Herpetologia Petropolitana*. Proc. of the 12th Ordinary General Meeting of the Societas Europaea Herpetologica 12-16 August 2003, Saint-Petersburg, Russia. Ananjeva N, Tsinenko O, editors. *Russian Journal of Herpetology*. 2005;12(Suppl.):153-157.
23. Lyapkov SM, Kornilova MB, Severtsov AS. Demographic characteristics and number dynamics of *Rana temporaria* population. *Zoologicheskii zhurnal*. 2002;81(10):1251-1259.
24. Gibbons MM, McCarthy TK. The reproductive output of frogs *Rana temporaria* (L.) with particular reference to body size and age. *Journal of Zoology*. 1986;A209(4):579-593.
25. Vignes JC. Caracteristiques biologiques de la reproduction de la Grenouille rousse (*Rana temporaria*) dans une population a l'extreme sud-ouest de la France [Biological characteristics about the Common Frog (*Rana temporaria*) reproduction in a population in the French furthest South West]. *Munibe*. 2010;58:131-148. In French
26. Lu X, Zeng X, Du B, Nie C. Reproductive ecology of *Rana kukunoris* Nikolskii, 1918, a high-altitude frog native to the Tibetan Plateau. *Herpetozoa*. 2008;21(1/2):67-77.
27. Chen W, Tang ZH, Fan XG, Wang Y, Pike DA. Maternal investment increases with altitude in a frog on the Tibetan Plateau. *Journal of Evolutionary Biology*. 2013;26(12):2710-2715. doi: [10.1111/jeb.12271](https://doi.org/10.1111/jeb.12271)
28. Chen W, Wu QW, Su ZX, Lu X. Age, body size and clutch size of *Rana kunyuensis*, a sub-tropical frog native to China. *Herp. J.* 2012;22:203-206.
29. Castellano S, Cucco M, Giacoma C. Reproductive investment of female green toads (*Bufo viridis*). *Copeia*. 2004(3):659-664. doi: <http://dx.doi.org/10.1643/CE-03-182R2>
30. Baskale E, Sayim F, Yildirim S, Atatür M.K, Kaya U. Reproductive ecology and body size-fecundity relationships of the Green Toad, *Pseudepidalea viridis* (Laurenti, 1768), in the Kocacay Stream, Izmir, Turkey. *Zoology in the Middle East*. 2011;52(1):39-46.
31. Green DM. Implications of female body-size variation for the reproductive ecology of an anuran amphibian. *Ethology Ecology & Evolution*. 2015;27(2):173-184.

32. Marangoni F, Tejedo M, Gomez-Mestre I. Extreme reduction in body size and reproductive output associated with sandy substrates in two anuran species. *Amphibia-Reptilia*. 2008;29(4):541-553. doi: [10.1163/156853808786230370](https://doi.org/10.1163/156853808786230370)
33. Yermokhin MV, Tabachishin VG. Reproductive parameters of females *Pelobates fuscus* (Laurenti, 1768) as functions of size and weight characteristics. *Sovremennaya gerpetologiya*. 2011;11(1-2):28-39. In Russian, English summary
34. Camargo A, Sarroca M, Maneyro R. Reproductive effort and the egg number vs. size trade-off in Physalaemus frogs (Anura: Leiuperidae). *Acta oecologica*. 2008;34:163-171. doi: [10.1016/j.actao.2008.05.003](https://doi.org/10.1016/j.actao.2008.05.003)
35. Williamson I, Bull CM. Life-History Variation in a population of the Australian frog *Ranidella signifera*: seasonal changes in clutch parameters. *Copeia*. 1995(1):105-113.
36. Cadeddu G, Castellano S. Factors affecting variation in the reproductive investment of female treefrogs, *Hyla intermedia*. *Zoology*. 2012;115(6):372-378. doi: [10.1016/j.zool.2012.04.006](https://doi.org/10.1016/j.zool.2012.04.006)
37. Lüddecke H. Variation and trade-off in reproductive output of the Andean frog *Hyla labialis*. *Oecologia*. 2002;130(3):403-410. doi: [10.1007/s00442-001-0820-5](https://doi.org/10.1007/s00442-001-0820-5)
38. Liao WB, Lu X. A comparison of reproductive output of the Omei Treefrog (*Rhacophorus omeimontis*) between high and low elevations. *Animal Biology*. 2011;61(3):263-276. doi: [10.1163/157075511X584218](https://doi.org/10.1163/157075511X584218)

Received 24 November 2014;

Revised 17 January 2015;

Accepted 17 February 2015

Authors info:

Lyapkov Sergey M, Cand. Sci. (Biol.), senior research fellow, Department of Biological Evolution, Faculty of Biology, MV Lomonosov Moscow State University, GSP-1, Leninskie Gory, Moscow 119991, Russian Federation.

E-mail: lyapkov@mail.ru

Volontsevich Roman V, post graduate student, Department of Vertebrate Zoology and Ecology, Institute of Biology, Tomsk State University, 36 Lenina Prospekt, Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: wrw_17@mail.ru

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

УДК 577.29:616-006.6

doi: 10.17223/19988591/29/10

В.В. Кузнецов, А.А. Евдокимов, Н.А. Нетесова

*Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии
«Вектор», р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

Олигонуклеотидные ингибиторы Dnmt1: Проникновение и ингибирование роста клеток HeLa и CaSki

Современные противораковые препараты класса ингибиторов ДНК-метилтрансфераз наряду с терапевтическим эффектом обладают сильными мутагенными свойствами. Поиск новых нетоксичных ингибиторов является актуальной проблемой. Изучено влияние конкурентных ингибиторов метилтрансфераз, аналогов природного субстрата ферментов, на рост клеток карцином шейки матки HeLa и CaSki. Показано, что проникая в клетки, они преимущественно накапливаются в ядре, при этом максимальное насыщение ядер сохраняется минимум в течение 48 часов. При изучении токсического эффекта выявлены различия в восприимчивости разных линий карцином к ингибиторам. Так, для клеток линии HeLa (ассоциирована с ВПЧ-18) половинная токсическая концентрация составляла 236–408 нМ, тогда как для клеток линии CaSki (ассоциирована с ВПЧ-16) $TC_{50} = 118–170$ нМ. Установлено, что изученные ингибиторы ДНК-метилтрансферазы 1 обладают низким токсическим эффектом на здоровые фибробласты ($TC_{50} > 10^4$ нМ), что делает перспективным их дальнейшее исследование в качестве противоопухолевых препаратов.

Ключевые слова: метилирование ДНК; ингибиторы ДНК-метилтрансфераз; карцинома шейки матки.

Введение

Метилирование цитозина в составе CpG островков генома является необходимым инструментом регулирования активности генов, родительского импринтинга, инактивации X-хромосомы, поддержания целостности генома клетки и его защиты от встраивания ретровирусов и транспозонов [1]. В клетках млекопитающих важную роль в этом процессе играют ДНК-метилтрансферазы (ДНК МТазы) Dnmt1, Dnmt3a и Dnmt3b. При этом Dnmt3a и Dnmt3b отвечают за метилирование *denovo*, а Dnmt1 – за восстановление профиля метилирования в дочерней цепи во время репликации ДНК [2].

Известно, что одним из ключевых факторов запуска и развития процесса канцерогенеза является локальное гиперметилирование CpG-островков в регуляторных областях (район промотора и первого экзона) генов-онко-

супрессоров [3]. Аберрантное метилирование регуляторных областей генов-онкосупрессоров показано для подавляющего большинства известных спорадических онкопатологий и происходит на самых ранних стадиях заболевания до проявления клинических признаков [4]. Кроме того, показано, что набор метилированных CpG-островков (профиль метилирования ряда генов-онкосупрессоров) может специфически характеризовать определенный тип опухоли и различается для разных онкопатологий [5].

Поскольку присоединение метильной группы к цитозину в составе ДНК не приводит к изменению генетического кода, использование ингибиторов МТаз позволяет добиться реактивации генов-онкосупрессоров, приводящей к обратному развитию опухоли [2]. В настоящее время допущены к применению аналоги цитидина (Vidaza[®], Dacogen[®]) для терапии острого миелоидного лейкоза и миелодиспластического синдрома [6]. Однако помимо высокой эффективности данные препараты обладают сильным токсическим и мутагенным эффектом. Таким образом, остается актуальным поиск прямых ингибиторов МТаз, обладающих наряду с противоопухолевой активностью умеренным воздействием на нормальные клетки.

Ранее нами сконструированы и синтезированы конкурентные олигодезоксирибонуклеотидные ингибиторы (ОДН) Dnmt1 человека как наиболее близкие к природному субстрату фермента – клеточной ДНК – и продемонстрирована их способность ингибировать реакцию метилирования ДНК *in vitro* [7]. Таким образом, цель данной работы – изучение влияния лучших олигонуклеотидных ингибиторов Dnmt1 на рост клеток карциномы шейки матки Hela и Caski.

Материалы и методики исследования

Клеточные линии. Для экспериментов использовали клеточные линии HeLa (карцинома шейки матки, ассоциированная с ВПЧ-18), CaSki (карцинома шейки матки, ассоциированная с ВПЧ-16) и L-68 (легочные фибробласты эмбриона человека) из коллекции культур клеток ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Россия), посевная концентрация 10^5 клеток/мл. Использовалась среда Игла МЕМ производства ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Россия) с добавлением 5%-ной фетальной сыворотки крупного рогатого скота.

Изучение внутриклеточной локализации ОДН в клетках. Для изучения внутриклеточной локализации ОДН в клетках HeLa и CaSki использовали флуоресцентно меченные структуры. Клетки культивировали в 6-луночных планшетах на покровных стеклах в 2 мл среды с сывороткой без антибиотиков (18 ч, 37°C, 5% CO₂), затем ее заменяли на среду без сыворотки и антибиотиков. Доставку ОДН в клетки осуществляли с помощью трансфекционного агента Липофектамин 2000 «Invitrogen» (США) согласно инструкции производителя. Для этого преинкубированные смеси липофектамина и ОДН разводили средой Игла МЕМ, вносили по 100 мкл в лунки планшета и культивировали клетки в течение 4 ч. Количество ОДН подбирали согласно условиям экспе-

римента. Затем среду заменяли обычной ростовой с ампициллином и культивировали еще 24–72 ч, после чего стекла с клетками помещали на 10 мин в 4%-ный раствор формалина для фиксации, трижды отмывали в однократном фосфатном буфере (137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄×2H₂O, 2 mM KH₂PO₄, pH = 7,4). Далее вносили по 1 мкл 1000-кратного раствора DAPI (4,6-диамидино-2-фенилиндол) «Invitrogen» (США) на 15 мин для окрашивания ядер и вновь трижды отмывали в фосфатном буфере. После этого проводили микроскопию образцов на люминесцентно-инверсионном микроскопе СКХ41 «Olympus» (Япония). При микроскопии делали отдельно снимки ядер клеток (DAPI, синее свечение) и метки на олигонуклеотидах (FAM, зеленое свечение), затем при помощи компьютерной обработки фотографии совмещали и оценивали распределение меченых ОДН в клетке.

Исследование цитотоксичности и ингибирующей активности ОДН. Монослой культуры клеток L-68, HeLa и CaSki выращивали в лунках плоскодонных 96-луночных планшетов. Экспозиция ингибиторов составляла 4 ч, после чего клетки культивировали в течение 24 ч. Затем среду удаляли, а монослой прокрашивали витальным красителем нейтральным красным. После удаления красителя и отмывки лунок добавляли лизирующий буфер. Количество красителя, адсорбированного живыми клетками монослоя, измеряли на планшетном спектрофотометре Emax «MolecularDevices» (США) на длине волны 540 нм. В качестве контролей использовали лунки планшета, в которые препараты не вносили, а также лунки без ингибиторов, но с добавлением липофектамина. Зависимости количества живых клеток (А) от концентрации ингибиторов (I) анализировали с помощью программы для нелинейного регрессионного анализа Origin 8.0 «OriginLab» (США), значения 50%-ных цитотоксических концентраций (TC₅₀) препаратов рассчитывали по формуле

$$A = \frac{A_{\max}}{1 + \left(\frac{[I]}{TC_{50}} \right)^n},$$

где n – коэффициент Хилла. Статистическую обработку полученных результатов проводили по U-критерию Манна–Уитни.

Олигодезоксирибонуклеотидные ингибиторы. ОДН синтезированы ЗАО «Биосан» (Новосибирск). При получении фосфотиоатов на стадии окисления использовали реактив Beaucage «GlenResearch» (США) как сульфорирующий агент. Шпильчатые ДНК-структуры получали отжигом олигонуклеотидов – нагревом до 85°C с последующим плавным охлаждением до комнатной температуры.

Результаты исследования и обсуждение

Локализация ОДН в клетках карцином шейки матки. Для исследования способности ОДН проникать в клетки HeLa и CaSki и сохраняться в них длительное время синтезированы меченные FAM олигонуклеотиды ОДН-1F

(FAM-GAAATGGATCCGCTCTAAACTGCCCCGCC) и ОДН-2F (FAM-GAAA TGGATCCGCTCTAAACTGCCCCCCCAGTTTAGAGCGGATCCATTTC), в которых все фосфаты заменены фосфотиоатами.

На рис. 1 приведены фотографии флуоресценции ОДН-1F в клетках HeLa после экспозиции 100 нМ олигонуклеотида. Использование ОДН-2F вместо ОДН-1F, а также снижение концентрации препарата в среде, вплоть до 10 нМ, не приводило к значительному изменению картины флуоресценции. Аналогичная картина наблюдалась и на клетках CaSki для обеих исследованных структур.

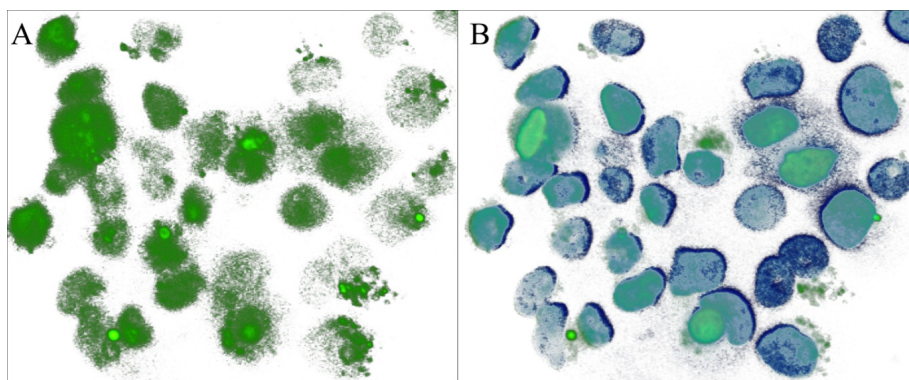


Рис. 1. Оценка проникновения и преимущественной локализации олигонуклеотида ОДН-1F в клетках HeLa: *A* – флуоресценция ОДН; *B* – то же, но с наложением свечения ядер клеток, окрашенных DAPI

[Fig. 1. The oligonucleotide localization in HeLa cells.

A - fluorescence of oligonucleotide, *B* - the same with DAPI stained nuclei fluorescence overlay]

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что условия эксперимента обеспечивают эффективную доставку синтетических структур в клетки. При этом интенсивность флуоресценции (а следовательно, и концентрация ОДН) в подавляющем большинстве (до 90–100%) клеточных ядер практически одинакова. Следовательно, трансфецированные ОДН локализуются непосредственно там, где происходит реакция метилирования ДНК.

При изучении деградации олигонуклеотида ОДН-1F в клетках HeLa в течение 72 ч выявлено постепенное снижение интенсивности свечения в цитоплазме с первого дня эксперимента, тогда как флуоресценция в клеточных ядрах начинала снижаться только после трех дней культивации (рис. 2; для ОДН-2F получены аналогичные результаты). В клетках CaSki оба олигонуклеотида продемонстрировали схожие результаты, однако окрашивание ядер на третий день интенсивнее, чем в клетках HeLa. Это можно объяснить расходом ОДН в результате деления клеток, а различия во флуоресценции на третий день являются следствием неодинакового темпа клеточных делений, что подтверждается литературными данными [8]. Таким образом,

можно предполагать, что в суточных экспериментах с немечеными ОДН не происходит значимой деградации ингибитора в клетках.

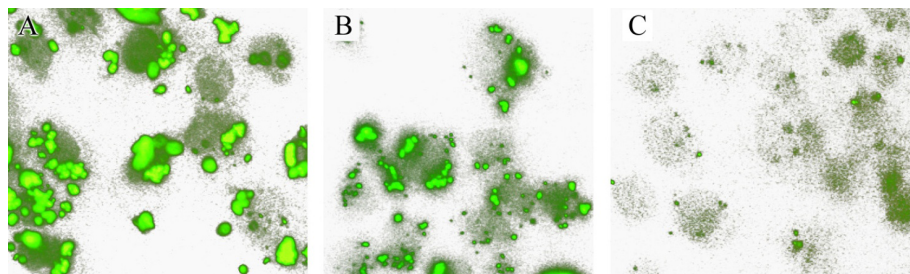


Рис. 2. Устойчивость ОДН-1F в клетках HeLa (*A* – 24 ч, *B* – 48 ч, *C* – 72 ч)
[Fig. 2. The oligonucleotide stability in HeLa cells over time. *A* - 24 hours, *B* - 48 hours, *C* - 72 hours]

Оценка цитотоксичности олигонуклеотидных ингибиторов Dnmt1.
Проведены эксперименты по изучению влияния различных концентраций ОДН в среде (от 1,25 до 1280 нМ) на жизнеспособность клеток HeLa, CaSki и L-68. Значения 50%-ных токсических концентраций (TC_{50}) приведены в таблице.

Оценка цитотоксического действия олигонуклеотидных ингибиторов Dnmt1 в отношении клеточных линий HeLa, CaSki и L-68
[Cytotoxicity of the oligonucleotide Dnmt1 inhibitors measured on HeLa, CaSki and L-68 cells]

Лиганд [Ligand]	Структура (5'→3') [Structure (5'→3')]	TC_{50} , нМ		
		HeLa	CaSki	L-68
ОДН-К	GAAATGGATCATCTCTAAACTG	>10 ⁴	>10 ⁴	>10 ⁴
ОДН-1	GAAATGGATC MG CTCTAAACTGCC MG CC	285±15*	147±5*	>10 ⁴
ОДН-2	GAATGGATC MG CTCTAACTG ^C _C CTTACCTAG GC GAGATTGAC ^C _C	408±9*	170±5*	>10 ⁴
ОДН-3	GAATGGATC ^C G CTCTAACTG ^C _C CTTACCTAG ^A M GAGATTGAC ^C _C	236±10*	118±3*	>10 ⁴
ОДН-4	GAATGGATC MA CTCTAACTG ^C _C CTTACCTAG GC GAGATTGAC ^C _C	290±18*	136±5*	>10 ⁴

Примечание. М – 5-метилцитозин. Жирным шрифтом выделены нативные либо модифицированные участки 5'-CG. * $p < 0,01$.

[Note. M - 5-methylcytosine. Native or modified Dnmt1 sites 5'-CG are in bold. * $p < 0.01$].

Для исследованных синтетических ингибиторов получены весьма низкие значения TC_{50} в отношении раковых клеток (118–408 нМ, см. таблицу), в то время как для здоровых фибробластов TC_{50} оказалась на уровне контроля (>10⁴ нМ). Различие с контролем более чем в 100 раз указывает на неплохой

терапевтический потенциал сконструированных олигонуклеотидов. Наиболее эффективным оказался ОДН-3 ($TC_{50, HeLa} = 236$ нМ, $TC_{50, CaSki} = 118$ нМ, см. таблицу), содержащий полуметилированный сайт с С:А некомплементарностью. Максимальная ингибирующая активность ОДН-3 может быть обусловлена наиболее выгодным пространственным расположением шпильки структуры относительно фермента. Dnmt1 является высокопроцессивным ферментом и характеризуется строгой направленностью перемещения ($3' \rightarrow 5'$) по неметилированной цепи ДНК [9–11], а в случае с ОДН-2 и ОДН-4 шпилька располагается по ходу движения Dnmt1 (см. таблицу), что, видимо, снижает эффективность взаимодействия олигонуклеотида с аллостерическим сайтом в регуляторном домене белка.

Сравнивая эффективность ингибирования роста клеток HeLa ($TC_{50} = 236\text{--}408$ нМ) и CaSki ($TC_{50} = 118\text{--}170$ нМ), можно предположить, что выявленное различие в чувствительности клеточных линий к ОДН обусловлено неодинаковым функциональным значением aberrантного гиперметилирования ДНК для прогрессии различных типов рака шейки матки.

Для исследования влияния Липофектамина 2000 на жизнеспособность клеток в ростовую среду вносили липофектамин в количествах, необходимых для транспортировки ингибиторов ОДН-1–ОДН-4, взятых в аналогичных опыту концентрациях. Полученные значения TC_{50} для липофектамина более чем на порядок отличались от TC_{50} ингибиторов, что позволило считать его вклад в цитотоксический эффект ОДН незначительным.

Заключение

В настоящем исследовании проведена работа по изучению влияния олигонуклеотидных ингибиторов Dnmt1 на рост клеток карциномы шейки матки HeLa и CaSki. Исследована их способность проникать в раковые клетки и сохраняться в них с течением времени. Оценен также токсический эффект влияния ингибиторов на здоровые фибробласты и клетки карцином HeLa и CaSki. Нами показано, что замена фосфатов на фосфотиоаты способствовала длительному нахождению ингибитора в ядре клеток, а сочетание структурных особенностей, таких как С : А некомплементарность и «шпилька», имели кумулятивный эффект. Так, наилучшие показатели IC_{50} получены у соединений ОДН-3 и ОДН-4, которые обладают всеми перечисленными модификациями. Стоит отметить, что наличие неспаренных нуклеотидов в сайте узнавания двуцепочечной ДНК значительно усиливает способность ингибировать реакцию метилирования. В подтверждение: одноцепочечная структура ОДН-1 с двумя сайтами **MG** проявляет лучшую активность по сравнению со шпильчатой структурой ОДН-2, содержащей сайт $5'\text{-MG-}3'/3'\text{-GC-}5'$. Несмотря на то, что обе исследуемые карциномы шейки матки ассоциированы с вирусом папилломы человека (HeLa с ВПЧ-18, CaSki с ВПЧ-16), влияние ингибиторов происходит с разной эффективностью: зна-

чения TC_{50} для исследуемых ОДН варьировали в диапазоне 236–408 нМ – для клеточной линии HeLa и 118–170 нМ для клеточной линии CaSki. В то же время показатель TC_{50} для фибробластов линии L-68 превысил значение 10 мкМ для всех испытуемых ингибиторов. Подобное отличие в половинных токсических концентрациях, вкупе с преимущественным накоплением ингибитора в ядре клетки и долгим временем жизни, дает возможность (при потенциальном клиническом применении) существенно повысить дозу препарата, не опасаясь сильных токсических эффектов. Дальнейшее изучение подобного рода структур является привлекательным и перспективным с точки зрения терапии раковых заболеваний, ассоциированных aberrантным метилированием генома.

Литература

1. Jurkowska R.Z., Jurkowski T.P., Jeltsch A. Structure and function of mammalian DNA methyltransferases // *Chembiochem*. 2011. Vol. 12, № 2. P. 206–222.
2. Delpu Y., Cordelier P., Cho W.C., Torrisani J. DNA methylation and cancer diagnosis // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14, № 7. P. 15029–15058.
3. Moore L.D., Le T., Fan G. DNA methylation and its basic function // *Neuropsychopharmacology*. 2013. Vol. 38, № 1. P. 23–38.
4. Jones P.A., Baylin S.B. The epigenomics of cancer // *Cell*. 2007. Vol. 128, № 4. P. 683–692.
5. Акишев А.Г., Гончар Д.А., Абдурашитов М.А., Дегтярев С.Х. Эпигенетическое типирование малигнанных клеточных линий человека с помощью BIs- и Glai-ПЦР анализа // *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2011. Т. 5, № 7. P. 5–12.
6. Singh V., Sharma P., Capalash N. DNA methyltransferase-1 inhibitors as epigenetic therapy for cancer // *Curr. Cancer Drug Targets*. 2013. Vol. 13, № 4. P. 379–399.
7. Евдокимов А.А., Зиновьев В.В., Кузнецов В.В., Нетесова Н.А., Малыгин Э.Г. Конструирование олигонуклеотидных ингибиторов ДНК-метилтрансферазы 1 человека // *Молекулярная биология*. 2009. Т. 43, № 3. С. 455–463.
8. Радаева И.Ф., Нечаева Е.А., Дроздов И.Г. Коллекция культур клеток ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Новосибирск : ЦЭРИС, 2009. 251 с.
9. Goyal R., Reinhardt R., Jeltsch A. Accuracy of DNA methylation pattern preservation by the Dnmt1 methyltransferase // *Nucleic Acids Res.* 2006. Vol. 34, № 4. P. 1182–1188.
10. Hermann A., Goyal R., Jeltsch A. The Dnmt1 DNA-(cytosine-C5)-methyltransferase methylates DNA processively with high preference for hemimethylated target sites // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279, № 46. P. 48350–48359.
11. Vilkaitis G., Suetake I., Klimasauskas S., Tajima S. Processive methylation of hemimethylated CpG sites by mouse Dnmt1 DNA methyltransferase // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280, № 1. P. 64–72.

Поступила в редакцию 13.01.2015 г.; принята 17.02.2015 г.

Авторский коллектив:

Кузнецов Виталий Викторович – н.с. отдела разработки средств ПЦР-диагностики вирусных и риккетсиозных заболеваний ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия). E-mail: kuznetsov_vv@vector.nsc.ru

Евдокимов Алексей Альбертович – канд. биол. наук, с.н.с. отдела разработки средств ПЦР-диагностики вирусных и риккетсиозных заболеваний ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия).

E-mail: evdokimov@vector.nsc.ru

Нетесова Нина Александровна – д-р биол. наук, зав. отделом разработки средств ПЦР-диагностики вирусных и риккетсиозных заболеваний ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (р. п. Кольцово, Новосибирская обл.).

E-mail: ninanet@vector.nsc.ru

Kuznetsov VV, Evdokimov AA, Netesova NA. Oligonucleotide inhibitors of Dnmt1: penetration and HeLa and Caski cells growth inhibition. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;1(29):155-163. doi: 10.17223/19988591/29/10. In Russian, English summary

Vitaliy V. Kuznetsov, Alexey A. Evdokimov, Nina A. Netesova

State Research Center of Virology and Biotechnology "VECTOR", Koltsovo, Novosibirsk Oblast, Russian Federation.

Oligonucleotide inhibitors of Dnmt1: penetration and HeLa and Caski cells growth inhibition

The use of Dnmt1 inhibitors allows reactivation of tumor suppressor genes which leads to tumor regression. Currently used drugs have potent toxic and mutagenic effect despite their high effectiveness. Thus, the development of Dnmt1 direct inhibitors with antitumor activity and moderate effect on normal cells remains relevant. Recently we have designed and synthesized competitive oligodeoxyribonucleotide inhibitors of human Dnmt1 demonstrating their ability to inhibit DNA methylation reaction *in vitro*. The aim of our work was to study the influence of the best of Dnmt1 inhibitors on the cervix carcinoma cells growth.

We used cell lines HeLa, CaSki and L-68 from SRC VB “Vector” (Russia) collection. Oligonucleotides were transfected using Lipofectamine 2000 “Invitrogen” (USA) according to the manufacturer’s instructions. The localization of fluorescent labeled oligonucleotides in the cells was evaluated by fluorescence microscopy. Toxic effect was evaluated by spectrophotometry. TC_{50} values (50% cytotoxic concentration) were calculated from the number of living cells depending on the inhibitor concentration in the medium.

We studied fluorescent labeled oligonucleotides localization with oligonucleotides which are similar to inhibitors but have no Dnmt1 inhibition properties. After transfection the oligonucleotides are localized in cell nuclei, and there is no apparent luminescence reduction within 48 hours. This was achieved due to phosphates tophosphothioates replacement that allows a long-term presence of the inhibitor in the cell nucleus. The combination of structural features, such as C: A non-complementary and “pin” had a cumulative effect. Thus, the best TC_{50} values were obtained from inhibitors that possess all of these modifications. The presence of unpaired nucleotides in the double-stranded DNA recognition site greatly enhances the ability to inhibit the methylation reaction. Despite the fact that both investigated cervical carcinomas are associated with human papillomavirus (HeLa with HPV-18, Caski with HPV-16), the effect of inhibitors occurs with different efficiency: TC_{50} values ranged 236-408 nM for HeLa cell line and 118-170 nM for CaSki cell line. At the same time, TC_{50} value for fibroblast cell line L-68 exceeded 10 μ M for all tested inhibitors which makes them promising for a further study as antitumor drugs.

The article contains 1 Table, 2 Figures, 11 References

Key words: DNA methylation; DNA methyltransferases inhibitors; cervical cancer.

References

1. Jurkowska RZ, Jurkowski TP, Jeltsch A. Structure and function of mammalian DNA methyltransferases. *ChemBiochem*. 2011;12(2):206-222. doi: [10.1002/cbic.201000195](https://doi.org/10.1002/cbic.201000195)
2. Delpu Y, Cordelier P, Cho WC, Torrisani J. DNA methylation and cancer diagnosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2013;14(7):15029-15058. doi: [10.3390/ijms140715029](https://doi.org/10.3390/ijms140715029)
3. Moore LD, Le T, Fan G. DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology*. 2013;38(1):23-38. doi: [10.1038/npp.2012.112](https://doi.org/10.1038/npp.2012.112)
4. Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell*. 2007;128(4):683-692. doi: [10.1016/j.cell.2007.01.029](https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.01.029)
5. Akishev AG, Gonchar DA, Abdurashitov MA, Degtyarev SKh. Epigeneticheskoe tipirovanie malignantlykh kletochnykh liniy cheloveka s pomoshch'yu Bls- i Glai-PTsR analiza [Epigenetic typing of human cancer cell lines by BlsI- and GlaiI-PCR assays]. *Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoy biologii imeni Yu. A. Ovchinnikova – Ovchinnikov bulletin of biotechnology and physical and chemical biology*. 2011;7(3):5-12. doi: [10.1134/S0026893309030108](https://doi.org/10.1134/S0026893309030108) In Russian. English version available at: <http://science.sibenzyme.com/papers/epigenetics/epigenetic-typing-of-human-cancer-cell-lines-by-blsi-and-glai-PCR-assays>
6. Singh V, Sharma P, Capalash N. DNA methyltransferase-1 inhibitors as epigenetic therapy for cancer. *Curr. Cancer Drug Targets*. 2013;13(4):379-399. PMID: [23517596](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23517596/)
7. Evdokimov AA, Zinoviev VV, Kuznetsov VV, Netesova NA, Malygin EG. Design of oligonucleotide inhibitors for human DNA methyltransferase 1. *Molecular Biology*. 2009;43(3):418-425. doi: [10.1134/S0026893309030108](https://doi.org/10.1134/S0026893309030108)
8. Radaeva IF, Nechaeva EA, Drozdov IG. Kolleksiya kul'tur kletok FGUN GNTs VB "Vektor" Rospotrebnadzora [Cell lines collection of SRC VB Vector]. Novosibirsk: TsERIS Publ.; 2009. 251 p. In Russian
9. Goyal R, Reinhardt R, Jeltsch A. Accuracy of DNA methylation pattern preservation by the Dnmt1 methyltransferase. *Nucleic Acids Res*. 2006;34(4):1182-1188. doi: [10.1093/nar/gkl002](https://doi.org/10.1093/nar/gkl002)
10. Hermann A, Goyal R, Jeltsch A. The Dnmt1 DNA-(cytosine-C5)-methyltransferase methylates DNA processively with high preference for hemimethylated target sites. *J. Biol. Chem*. 2004;279(46):48350-48359. doi: [10.1074/jbc.M403427200](https://doi.org/10.1074/jbc.M403427200)
11. Vilkaitis G, Suetake I, Klimasauskas S, Tajima S. Processive methylation of hemimethylated CpG sites by mouse Dnmt1 DNA methyltransferase. *J. Biol. Chem*. 2005;280(1):64-72. doi: [10.1074/jbc.M411126200](https://doi.org/10.1074/jbc.M411126200)

Received 13 January 2015;

Accepted 17 February 2015

Authors info:

Kuznetsov Vitaliy V, research associate, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russian Federation.

E-mail: kuznetsov_vv@vector.nsc.ru

Evdokimov Alexey A, Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russian Federation.

E-mail: evdokimov@vector.nsc.ru

Netesova Nina A, Dr. Sci. (Biol.), Head of department, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russian Federation.

E-mail: ninanet@vector.nsc.ru

ЭКОЛОГИЯ

УДК 547.747

doi: 10.17223/19988591/29/11

Л.П. Гашкова¹, А.А. Синюткина^{1,2}

¹ Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа,
г. Томск, Россия

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия

Оценка трансформации осушенного верхового болота (на примере участка Бакчарского болотного массива)

Проблема изучения последствий осушения верховых болот является очень важной вследствие того, что в настоящее время эти территории не используются и представляют потенциальную опасность возникновения пожаров. Объект исследования – участок верхового болота, расположенного в Бакчарском районе Томской области. Проведена оценка последствий осушения на основе покомпонентного сравнительного анализа осушенного и естественного участков болота. Исследования показали, что в период максимального снижения уровня болотных вод после осушения на глубине 30–40 см отложился слой торфа, степень разложения и ботанический состав которого резко отличаются от смежных слоёв. Влияние осушения сказалось также на росте размеров положительных форм микрорельефа, структуре растительности. Осушенный участок отличается увеличением высоты подроста сосны в полтора раза и повышением обилия кустарничков на 20%. В современном фитоценозе можно наблюдать восстановление болота, видовой состав мохообразных уже близок к таковому на аналогичном неосушенном участке.

Ключевые слова: верховое болото; осушительная мелиорация; ботанический состав; торф; микрорельеф; уровень болотных вод.

Введение

Гидролесомелиорация на избыточно увлажнённых почвах считается одним из основных способов повышения продуктивности лесов. Первые опыты по осушению лесных земель, основанные на работах М.В. Ломоносова, А.Т. Болотова, М.И. Афонина и др., начались ещё в XVIII в. Основоположителем современной гидролесомелиорации в нашей стране является А.Д. Дубах, который вместе с учениками и последователями уточнил лесопроизводственную эффективность осушения различных категорий земель лесного фонда и разработал рекомендации по эксплуатации осушенных земель [1]. Масштабное осушение болот, проведённое в СССР, оказалось уникальным экспериментом антропогенного влияния на болотные экосисте-

мы, последствия его неоднозначны и нуждаются в планомерном изучении и осмыслении. Осушение верховых болот практически не дает экономического выраженного прироста древесной биомассы из-за бедности минерального питания. По этим причинам в настоящее время гидролесомелиорация на таких болотах признана нецелесообразной [2–4]. Кроме того, осушение болот приводит к ряду негативных последствий, связанных с опасностью возникновения торфяных пожаров, изменением биогеохимических циклов и загрязнением почв, вод, атмосферы, увеличением эмиссии углекислого газа, изменением флоры и фауны [5–7]. Восстановление болот может нивелировать негативные последствия, а мониторинг нарушенных гидролесомелиораций болот представляет собой актуальную научную и прикладную задачи. Наибольшей степенью устойчивости к осушению, по сравнению с другими типами, обладают верховые болота [8]. Большинство исследований на осушенных болотах проводилось для оценки влияния осушения на рост древесного яруса [9–14], но практически нет работ по их комплексной оценке после осушения и в процессе восстановления.

Таким образом, целью исследования является оценка последствий осушительной гидролесомелиорации верхового болота и выявление закономерностей его последующего восстановления.

Материалы и методики исследования

Объектами исследования являлись осушенный и естественный участки Бакчарского болотного массива (восточный отрог Васюганского болота), расположенного на междуречье рек Бакчар и Икса. В пределах рассматриваемой территории в 1973–1979 гг. проведено осушение с целью лесомелиорации. Осушенный участок расположен в 4 км к югу от автотрассы Томск–Бакчар в 50 м от осушительного канала. Для сравнения выбран естественный участок, находящийся также в пределах Бакчарского болотного массива в 500 м за пределами осушительной сети. Выбранные участки имеют схожие характеристики растительного покрова и торфяной залежи и представляют собой сосново-кустарничково-сфагновое верховое болото.

Проведен сравнительный анализ показателей микрорельефа, характеристик современного растительного покрова и торфяной залежи, уровней болотных вод осушенного и естественного участков. Основными источниками информации явились материалы полевых исследований, проведенных в 2013 г. на опытных площадках (10 × 10 м) на естественном и осушенном участках, включающие в себя:

- определение типа микрорельефа, средней высоты и размеров положительных форм, а также съемка профиля вертикального сечения горизонта формирования микрорельефа с помощью нивелира (100 точек измерений с шагом 0,5 м) [15];

- геоботанические описания фитоценозов [16];

– отбор образцов торфа до минерального дна через 10 см (в 3 повторностях) и верхних слоев торфа (в 30 повторностях), сформировавшихся после осушения [17]. Глубина отбора верхних слоев торфа (до 40 см) рассчитана на основе данных о возрасте и скорости накопления торфа этого болотного массива [18];

– отбор образцов мохового очёса (30 повторностей);

– измерение уровней болотных вод относительно средней поверхности болота [15].

Последующая обработка материалов включала в себя:

– определение ботанического состава торфа [19–21] и видового состава мохообразных [22, 23];

– сравнение долей присутствия видов мха в торфе и очёсе посредством критерия Фишера;

– сравнение высоты сосен на двух участках с использованием теста Манна–Уитни;

– статистический анализ данных таксационных измерений микрорельефа модельных участков с расчётом средней ординаты профиля горизонта формирования микрорельефа (x) и построением дифференциальной кривой распределения высот микрорельефа $w(x)$ с параметрами среднеквадратическое отклонение (S) и коэффициент вариации (C_v), характеризующими степень расчленённости поверхности болота [15].

Статистический анализ собранных данных и графическое отражение результатов проведены общепринятыми методами [23] с использованием Statsoft STATISTICA for Windows 6.0. и Excel 7.0.

Результаты исследования и обсуждение

Результатом осушительной мелиорации является смена водного и воздушного режимов верхнего слоя торфа и как следствие – изменение растительного сообщества. В первые годы после осушения отмечается увеличение темпов прироста древесины на осушенных участках. В последующие годы темпы прироста обычно падают, из-за частых пожаров ожидаемый эффект не всегда ощутим. Осушение верховых болот вследствие бедности минерального питания практически не дает прироста древесной биомассы [4]. По этим причинам в настоящее время общая эффективность осушения таких болот подвергается сомнению. Кроме этого, осушение сопровождается комплексом негативных последствий для флоры, фауны и ландшафтов. Понижение уровня болотных вод вызывает процесс сработки торфяной залежи и изменение почвообразовательного процесса, происходит увеличение степени разложения торфа. Эффективность дренажной системы наблюдается в среднем в течение 20 лет после осушения [10], без реконструкции каналов болото начинает восстанавливаться, что приводит к вторичному заболачиванию территории [25, 14].

Проблема трансформации антропогенно измененных болот особенно актуальна для южных районов Томской области, где в 1970–1980 гг. на обширных площадях восточных отрогов Васюганского болота проведено осушение с целью лесомелиорации. По данным дешифрирования космических снимков участки гидролесомелиорации на территории Бакcharского и Иксинского болотных массивов занимают 77 и 70 км² соответственно [2]. В настоящее время многие осушенные болота Томской области не используются и представляют потенциальную опасность возгорания сухого торфа. Один из массовых торфяных пожаров произошел в пределах Иксинского болотного массива на общей площади 37 км² в 1998 г. [2, 26]. На осушенных болотах, особенно при наложении других антропогенных факторов, наблюдается накопление тяжёлых металлов в растениях [27].

Рассмотрим последствия осушительной мелиорации на примере осушенного и естественного участков, расположенных в пределах восточной окраины Бакcharского болотного массива, растительность которых представляет собой сосново-кустарничково-сфагновый фитоценоз. Мощность торфа на естественном участке составляет 250 см, на осушенном – 225 см; уровень болотных вод различается незначительно, средние значения в период наблюдения практически одинаковы – 8 см относительно средней поверхности болота, осушительные каналы перестали выполнять свою функцию, и гидрологические условия на естественном и осушенном участках в настоящее время становятся одинаковыми. Кроме того, в периоды интенсивного таяния снега или при выпадении осадков отметки уровня на осушенном участке выше, чем на естественном [28, 29].

Древесный ярус болота представлен сосной (*Pinus sylvestris* L. f. *litwinowii*). Проективное покрытие, средняя высота и диаметр взрослых деревьев примерно одинаковы на двух участках. Статистически значимые различия наблюдались только в высоте подроста (U test = 5,7; $p < 0,001$; рис. 1). На естественном участке вдвое меньше взрослых деревьев и примерно 5% деревьев погибших, подрост угнетён, в его составе преобладают сосны высотой 40–50 см; на осушенном – в подросте доминируют сосны высотой около 1 м в возрасте 20 лет. Следует отметить, что осушение не повлияло на прирост взрослых деревьев, однако положительно сказалось на росте молодых деревьев, это согласуется с данными других авторов [12].

Кустарничковый ярус естественного участка отличается присутствием *Andromeda polifolia* L. и *Vaccinium vitis-idaea* L. Кустарнички *Ledum palustre* L. и *Chamaedaphne calyculata* (L.) Moench. выше примерно на 10 см, но их проективное покрытие (70%) меньше, чем на осушенном участке (90%). Меньшая высота и большее обилие кустарничков, вероятно, связано со снижением уровня болотных вод в период их роста и формирования. *Vaccinium uliginosum* L. и *Oxycoccus microcarpus* Turcz. ex Rupr. встречаются единично на обоих участках. Травяной ярус более разрежен на осушенном участке, представлен в основном *Eriophorum vaginatum* L., единично встречаются *Rubus chamaemorus* L. и *Drosera rotundifolia* L.

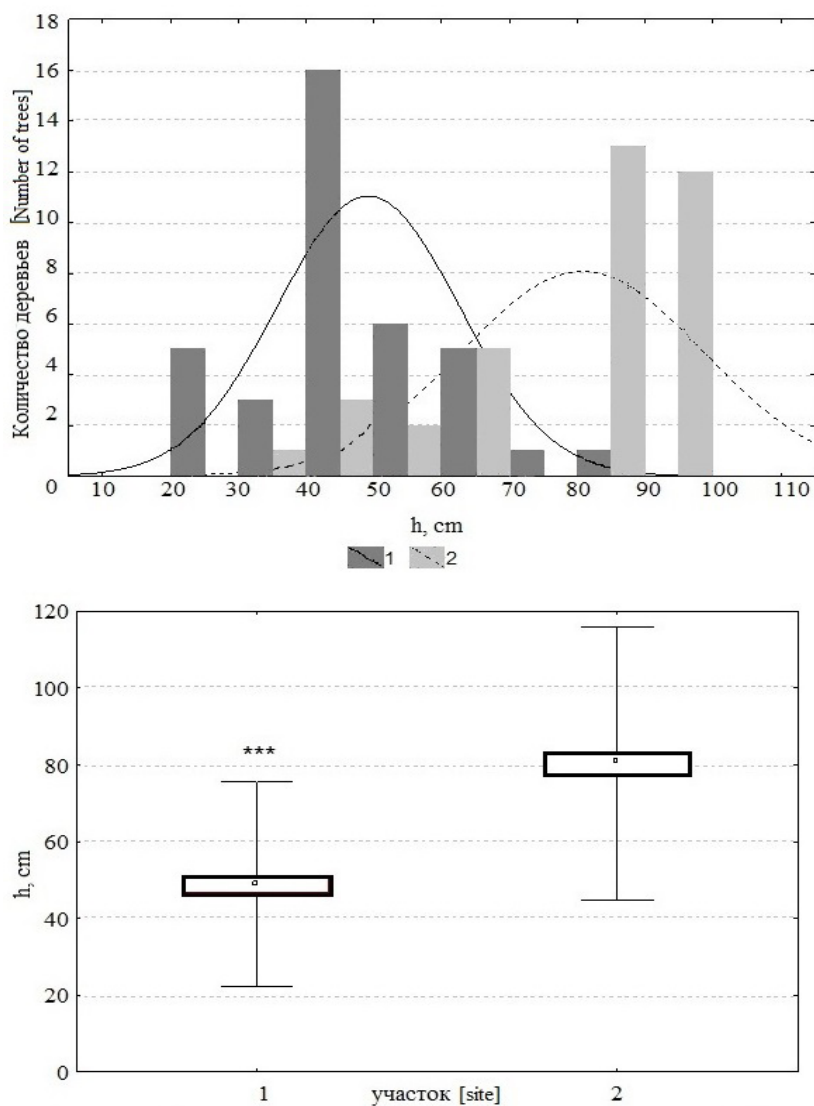


Рис. 1. Характер высотного распределения подроста сосны на естественном (1) и осушенном (2) участках верхового болота.

Данные представлены в виде средней с ошибкой и доверительными интервалами ($p < 0,01$).

[Fig. 1. Character of pine undergrowth altitudinal distribution in the native (1) and drained (2) bog sites. Data are presented as a mean with an error and confidence intervals ($p < 0.01$)]

Мохообразные наиболее чувствительны к изменению увлажнения [30], поэтому быстрее, чем другие растения, реагируют на изменение уровня бо-

лотных вод как при осушении, так и при восстановлении болота. Моховой ярус обоих участков представлен доминирующим видом *Sphagnum fuscum* (Schimp.) Klinggr., являющимся мезогигрофитом и занимающим положительные формы рельефа вместе с зелёными мхами *Dicranum polysetum* Sw., *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. Между кочками в воде преобладают гигрофиты *Sphagnum magellanicum* Brid., *S. angustifolium* (Russ. ex Russ.) C. Jens. *Calypogeia spagnicola* (H. Arnell et J. Perss.) Warnst. et Loeske встречается в дернине сфагновых мхов. Различные виды лишайника *Cladonia* занимают проплешины в понижениях. Различия наблюдаются в частоте встречаемости видов в моховом ярусе двух участков и выражаются в статистически значимом двукратном уменьшении ($p < 0,05$) доли *Pleurozium schreberi* и *Cladonia* sp. на осушенном участке (рис. 2).

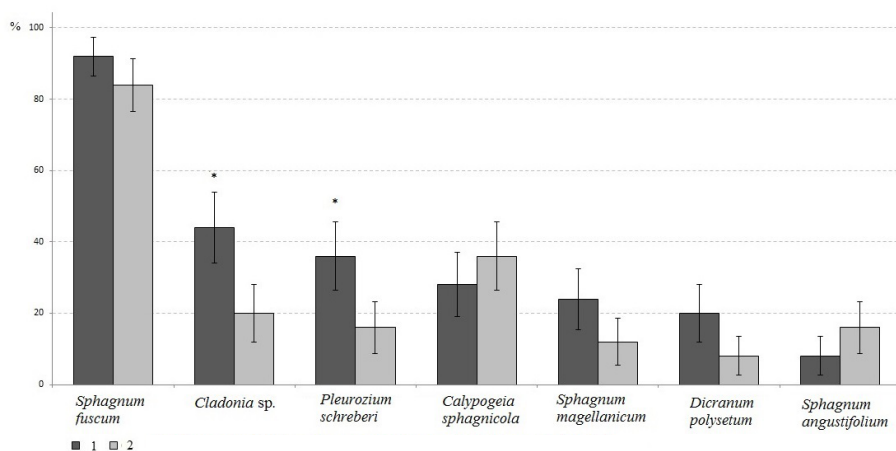


Рис. 2. Характер изменения частоты встречаемости видов мха естественного (1) и осушенного (2) участков ($p < 0,05$).

[Fig. 2. Nature of the change of moss species' occurrence frequency within native (1) and drained (2) sites ($p < 0.05$)]

Анализ частоты встречаемости видов сфагнума в верхних слоях торфа показал, что на осушенном участке доля *S. magellanicum* снижается в 5 раз по сравнению с естественным – с 18,7 до 3,5% ($p < 0,01$) (рис. 3). Причём в моховом очёсе различия сокращены до 1,5 раза (с 9,5 до 6,3%) и уже становятся незначимыми (см. рис. 2). Снижение частоты встречаемости *S. magellanicum* в верхнем слое торфа свидетельствует о вытеснении его в период действия осушения менее требовательным к влаге *S. fuscum*. Сокращение различий частоты встречаемости *S. magellanicum* на рассматриваемых участках свидетельствует о происходящем в настоящее время возвращении естественного соотношения видов на осушенном участке. Этот вид в данном случае является фитоиндикатором продолжительного повышения уровня болотных вод.

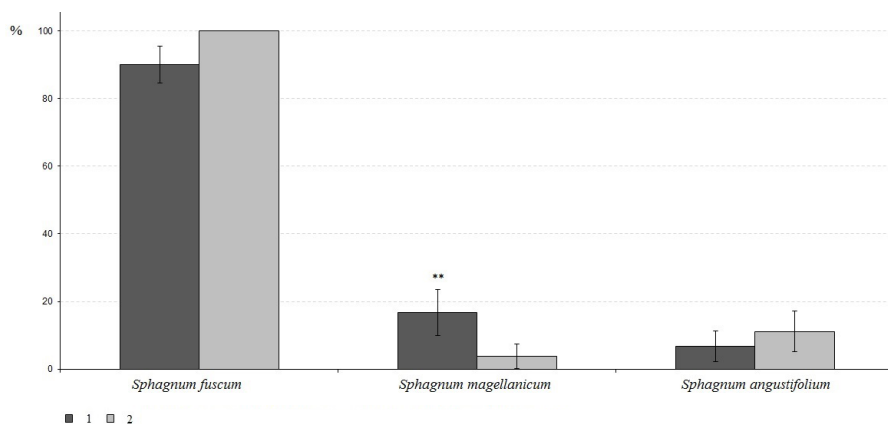


Рис. 3. Характер изменения частоты встречаемости видов мха в верхнем слое торфа на естественном (1) и осушенном (2) участках ($p < 0,01$).

[Fig. 3. Nature of the change of moss species' occurrence frequency in the upper peat layer within native (1) and drained (2) sites ($p < 0.01$)]

Ботанический состав торфяной залежи в целом сходен на двух участках (рис. 4). Нижние слои сложены осоковым низинным торфом, на глубине 175–200 см он сменяется переходным древесно-сфагновым, затем начинают преобладать *S. angustifolium* и *S. magellanicum*. С глубины 150 см и выше доминирует фускум-торф со степенью разложения до 10%. Наиболее заметны изменения в залежи осушенного участка на глубине 30–40 см, где резко увеличивается доля *Chamaedaphne calyculata* с 5 до 25%, что, вероятно, связано с усилением роли вересковых кустарничков в период понижения уровня болотных вод при осушении. Степень разложения этого слоя торфа возрастает до 28%. В верхнем слое торфа осушенного участка степень разложения вновь падает до 8%, а доля кустарничков вновь снижается до значений меньше 5%, что может быть свидетельством восстановления естественного соотношения видов в настоящий период.

Понижение уровней болотных вод после осушения отразилось на некоторых показателях микрорельефа. Микрорельеф на осушенных участках обычно видоизменяется и оказывает влияние на гидрологические условия на микроуровне и, как следствие, – на распределение растительности внутри фитоценоза, его характеристики можно использовать как один из показателей степени трансформации болотных геосистем в результате антропогенной нагрузки [31]. Проведенные исследования показали, что микрорельеф обоих участков крупнокочкватый, образован моховыми подушками, в понижениях между которыми расположены пушицевые кочки. Положительные формы занимают около 50% поверхности болота (рис. 5, 6).

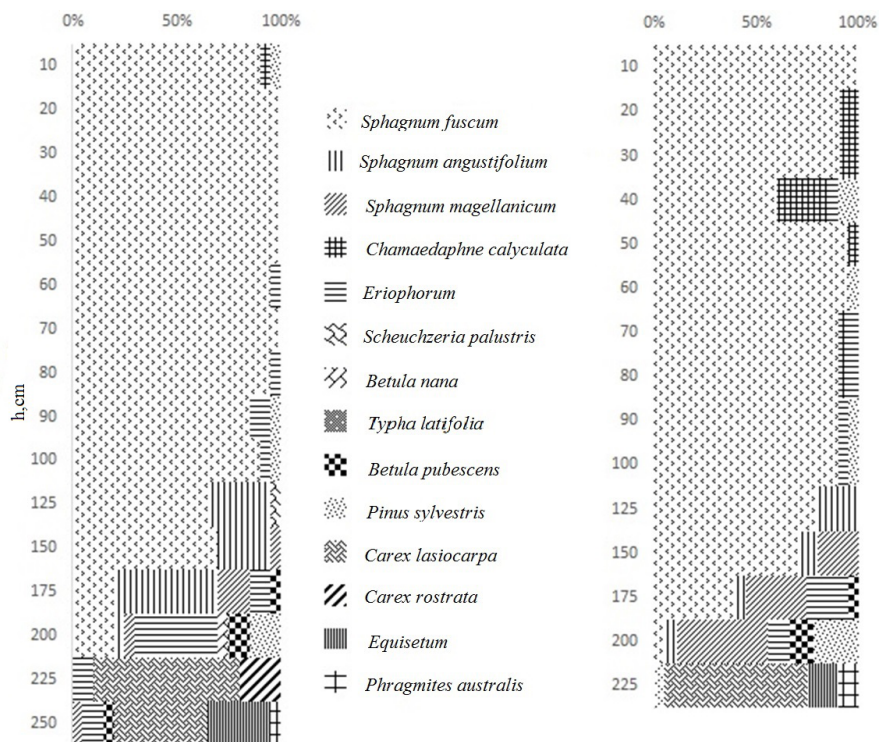


Рис. 4. Торфяная залежь естественного (слева) и осушенного (справа) участков
 [Fig. 4. Peat deposit of native (left) and drained (right) sites]

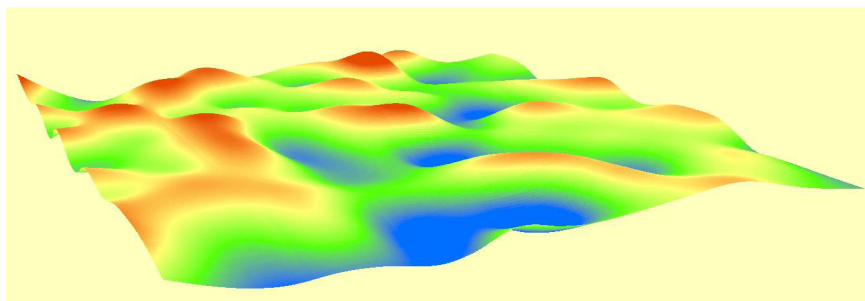


Рис. 5. Цифровая модель микрорельефа естественного участка
 (синим цветом показаны высоты ниже средней поверхности)
 [Fig. 5. Digital model of the microrelief of native sites
 (the average surface height is shown in blue below)]

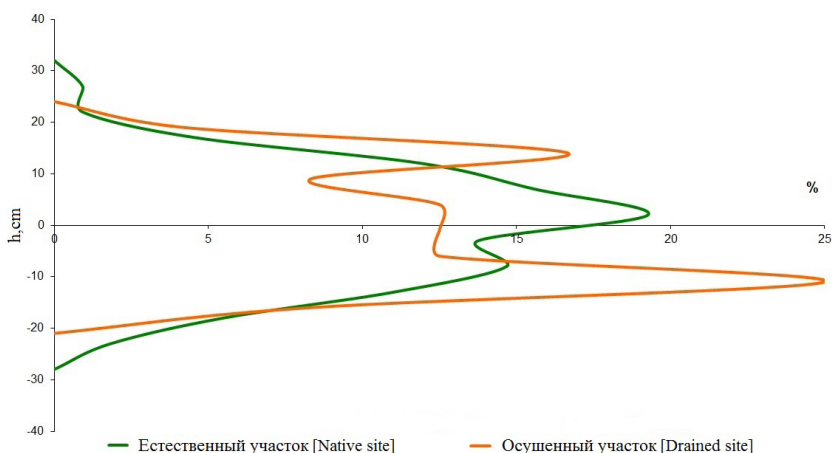


Рис. 6. Дифференциальные кривые распределения высот относительно средней поверхности
[Fig. 6. Differential height distribution curves relative to the average surface]

При общем сходстве осушенного и естественного участков детальные исследования позволили выявить следующие различия. Осушенный участок отличается более крупными размерами форм микрорельефа (таблица), что определяется более низким уровнем болотных вод в первые годы после осушения, увеличением продуктивности растительности в понижениях; следствие – увеличение скорости торфонакопления и слияние моховых подушек в единые формы крупных размеров.

**Количественные показатели микрорельефа осушенного
и естественного участков Бакчарского болота**
[Quantitative microrelief indicators of the drained and native sites of the Bakchar bog]

Показатели микрорельефа [Microrelief indicators]	Естественный участок [Native site]	Осушенный участок [Drained site]
Амплитуда, см [Amplitude, cm]	50	33
Высота моховых подушек, см [Height of moss cushions, cm]	20	30
Размер моховых подушек, см [Size of moss cushions, cm]	70×150	120×200
Высота пушицевых кочек, см [Height of cotton grass tussocks, cm]	10	30
Диаметр пушицевых кочек, см [Diameter of cotton grass tussocks, cm]	15–20	20

Анализ дифференциальных кривых распределения высот относительно средней поверхности позволил выявить различия между участками. Для осушенного участка характерно преобладание высот 10–15 см ниже

и 12–17 см выше средней поверхности, в отличие от естественного участка, где преобладают высоты около средней поверхности (см. рис. 6), что свойственно большинству ненарушенных болотных геосистем [29, 31]. Зарастание мелиоративных каналов в настоящее время препятствует сбросу болотных вод и способствует периодическому увеличению их уровня, что стало причиной образования крупных осоковых и пушицевых кочек в понижениях между моховыми подушками, которые отсутствуют на естественном участке.

Проведенный покомпонентный сравнительный анализ осушенного и естественного участков позволил оценить изменения болотной геосистемы, произошедшие в результате осушительной мелиорации, и выявить закономерности ее восстановления на современном этапе развития. При этом основными индикаторами состояния геосистемы в первые годы после осушения явились структура микрорельефа и верхний горизонт торфяной залежи. Процесс восстановления болота прослеживается главным образом в структуре современной растительности, которая в свою очередь определяется гидрологическим режимом территории.

Заключение

Проведенные исследования показали, что понижение уровня болотных вод вследствие осушительной мелиорации оказало влияние на все компоненты болотной геосистемы – микрорельеф, растительный покров и ботанический состав слоя торфа, сформировавшегося в условиях снижения уровня болотных вод. При анализе микрорельефа осушенного участка наблюдаются различия в распределении высот относительно средней поверхности болота, преобладание положительных форм крупных размеров, образовавшихся при слиянии моховых подушек в результате снижения уровня болотных вод. В период максимального снижения уровня на глубине 30–40 см отложился слой торфа с большей степенью разложения и увеличением доли кустарничков в его составе. Влияние осушения также положительно сказалось на росте древесно-кустарничкового яруса, в особенности на увеличении высоты подроста сосны и обилии кустарничков, на составе мхов, сформировавшихся за период осушения верхние слои торфа, что проявилось в кратном снижении доли *S. magellanicum* в торфе. Этот вид выступает в роли фитоиндикатора – маркера продолжительного увеличения уровня болотных вод в фитоценозах с преобладанием в моховом покрове *S. fuscum*. В настоящее время в связи с неудовлетворительной работой осушительной сети происходит интенсивное восстановление болота, что выражается в появлении крупных кочек, образованных травяной растительностью в результате повышения уровня болотных вод, а также изменении состава современного фитоценоза. В очесе встречаемость *S. magellanicum* увеличивается и приближается к таковой на естественном участке.

Таким образом, в результате изучения последствий осушения можно сделать вывод, что в настоящее время наблюдается возвращение болота к естественному состоянию, что свидетельствует о высокой степени устойчивости верховых болот.

Литература

1. Великанов Г.Б., Константинов В.К., Кудряшев А.В. Гидролесомелиорация – осушение и лесохозяйственное освоение переувлажненных земель лесного фонда (к истории исследований в СПбНИИЛХ) // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства. 2014. № 2. С. 80–93.
2. Большое Васюганское болото. Современное состояние и процессы развития / под общ. ред. М.В. Кабанова. Томск : Изд-во Института оптики атмосферы СО РАН, 2002. 230 с.
3. Ефремова Т.Т., Аврова А.Ф., Ефремов С.П. Опыт построения бонитировочной шкалы местообитаний болотных сосняков южнотаёжной подзоны Западной Сибири // Хвойные бореальной зоны. 2008. Т. XXV, № 3–4. С. 269–276.
4. Матюшкин В.А., Мошников С.А., Бердников И.А. Формирование и продуктивность сосновых насаждений на осушенных болотах // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. Сер. Естественные и технические науки. 2010. № 4. С. 56–60.
5. Минаева Т.Ю., Сирин А.А. Торфяные пожары – причины и пути предотвращения // Наука и промышленность России. 2002. № 9. С. 3–8.
6. Więcek M., Martin P., Lipinski A. Water mites as potential long-term bioindicators in formerly drained and rewetted raised bogs // Ecological Indicators. 2013. № 34. P. 332–335. doi: [10.1016/j.ecolind.2013.05.019](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.05.019)
7. Hommeltenberg J., Schmid H.P., Droesler M., Werle P. Can a bog drained for forestry be a stronger carbon sink than a natural bog forest? // Biogeosciences Discuss. 2014. № 11. P. 2189–2226. doi: [10.5194/bgd-11-2189-2014](https://doi.org/10.5194/bgd-11-2189-2014)
8. Синюткина А.А. Классификация болотных геосистем Томской области // Вестник Томского государственного университета. 2012. № 357. С. 192–195.
9. Красильников Н.А. Биологические особенности мелиорированных лесных земель. Минск : Изд-во В.М. Скакун, 1998. 216 с.
10. Корепанов Д.А., Корепанов С.А. Влияние состояния осушительной сети на водный режим и рост леса // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2005. № 6. С. 90–93.
11. Бех И.А., Данченко А.М. Лесоводственные возможности повышения продуктивности сосновых лесов Западной Сибири // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2009. № 4 (8). С. 62–65.
12. Солнцев Р.В., Гулин А.Н. Реакция соснового древостоя и трансформация свойств лесоболотного торфа на экстенсивное осушение сфагнового болота в условиях Среднего Урала // Аграрный вестник Урала. 2010. Т. 67, № 1. С. 72–74.
13. Cedro A., Lamentowicz M. Contrasting responses to environmental changes by pine (*Pinus sylvestris* L.) growing on peat and mineral soil: An example from a Polish Baltic bog // Dendrochronologia. 2011. Т. 29, № 4. P. 211–217. doi: [10.1016/j.dendro.2010.12.004](https://doi.org/10.1016/j.dendro.2010.12.004)
14. Ракевич В.А., Ратникова О.Н. Восстановление нарушенного мелиорацией лесного болота Червенское (Галое) // Природопользование. 2012. Вып. 21. С. 155–165.
15. Наставления гидрометеорологическим станциям и постам. Вып. 8: Гидрометеорологические наблюдения на болотах. Л. : Гидрометеиздат, 1990. 360 с.
16. Воронов А.Г. Геоботаника. М. : Высшая школа, 1973. 384 с.

17. ГОСТ 17644–83 Торф. Методы отбора проб из залежи и обработки их для лабораторных испытаний. М. : Издательство стандартов, 1983. 14 с.
18. *Прейс Ю.И., Бобров В.А., Сороковенко О.Р.* Современная аккумуляция торфа в южнотаежных рьях Западной Сибири // Восьмое Сибирское совещание по климатозоологическому мониторингу : материалы науч. конф. / под ред. М.В. Кабанова. Томск : Аграф-Пресс, 2009. С. 249–251.
19. *Домбровская Ф.В., Коренева М.М., Тюремнов С.Н.* Атлас растительных остатков, встречаемых в торфе. М. ; Л. : Гос. энергет. изд-во, 1959. 90 с.
20. *Кац Н.Я., Кац С.В., Скобеева Е.И.* Атлас растительных остатков в торфах. М. : Недра, 1977. 376 с.
21. ГОСТ 28245-89 Торф. Методы определения ботанического состава и степени разложения. 2-е изд. М. : Стандартиформ, 2006. 7 с.
22. *Мульдияров Е.Я.* Определитель листостебельных мхов Томской области : учеб. пособие. Томск : Изд-во Том. ун-та, 1990. 208 с.
23. *Игнатова Е.А., Игнатов М.С., Федосов В.Э., Константинова Н.А.* Краткий определитель мохообразных Подмосквья. М. : КМК, 2011. 320 с.
24. *Ивантер Э.В., Коросов А.В.* Основы биометрии: Введение в статистический анализ биологических явлений и процессов. Петрозаводск : Изд-во Петрозаводского ун-та, 1992. 168 с.
25. *Linden M., Geel B.* Late Holocene climate change and human impact recorded in a south Swedish ombrotrophic peat bog // *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 2006. Vol. 240, № 3–4. P. 649–667. doi: [10.1016/j.palaeo.2006.03.039](https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2006.03.039)
26. *Хакимов И.Р., Синюткина А.А.* Комплексная система оценки пожароопасности заболоченных территорий (на примере Шегарского района Томской области) // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. Т. 16, № 1 (3). С. 688–691.
27. *Гашкова Л.П., Иванова Е.С.* Аккумуляция тяжёлых металлов в растениях-доминантах антропогенно нарушенных участков болот на территории Томской области // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. Т. 16, № 1 (3). С. 732–735.
28. *Харанжевская Ю.А.* Оценка современных процессов восстановления болот в южно-таежной подзоне Западной Сибири на основе многолетних данных о водном режиме // Современные проблемы генезиса, географии и картографии почв: сборник материалов V Всероссийской конференции с международным участием (1–5 октября 2011 г.). Томск : ООО «Копи-М», 2011. С. 237–240.
29. *Ландшафты болот Томской области* / под ред. Н.С. Евсеевой. Томск : Изд-во НТЛ, 2012. 400 с.
30. *Бабешина Л.Г., Дмитрук В.Н., Дмитрук С.Е.* Экологические группы сфагновых мхов Томской области // Доклады ТУСУРа. Томск : Изд-во ТУСУРа, 2004. № 1(9). С. 61–63.
31. *Синюткина А.А.* Особенности микрорельефа болот таежной зоны Западной Сибири // География, история и геоэкология на службе науки и инновационного образования : материалы Всероссийской научно-практической конференции. Красноярск, 2012. С. 63–65.

Поступила 25.10.2014 г.; повторно 15.01.2015 г.; принята 17.02.2015 г.

Авторский коллектив:

Гашкова Людмила Павловна — м.н.с. лаборатории торфа и экологии Сибирского научно-исследовательского института сельского хозяйства и торфа (г. Томск, Россия).

E-mail: gashkova-lp@rambler.ru

Синюткина Анна Алексеевна – канд. геогр. наук, с.н.с. лаборатории торфа и экологии Сибирского научно-исследовательского института сельского хозяйства и торфа (г. Томск, Россия); ассистент кафедры географии Национального исследовательского Томского государственного университета (г. Томск, Россия).
E-mail: ankalaeva@yandex.ru

Gashkova L, Sinyutkina AA. Estimation of drained oligotrophic bog transformation (the example of the Bakchar bog area). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;1(29):164-179. doi: 10.17223/19988591/29/11. In Russian, English summary

Lyudmila P. Gashkova¹, Anna A. Sinyutkina^{1,2}

¹ Siberian Research Institute of Agriculture and Peat, Tomsk, Russian Federation

² Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

Estimation of drained oligotrophic bog transformation (the example of the Bakchar bog area)

The vast area of the eastern part of the Vasugan bog was drained for the purpose of forest melioration in the 1970-1980s. So, the problem of the ecological state of anthropogenically modified mires is particularly relevant for these territories. Currently, many Tomsk Oblast drained mires are not used and there is a potential danger of dry peat fire. In addition, over time channels of drainage systems are overgrown and destroyed and this leads to territory swamping. Restoring mires may neutralize these negative effects, and monitoring hydro melioration of disturbed wetlands is an important scientific and applied problem. Thus, the aim was to estimate hydro melioration consequence for the part of the Bakchar bog in the first year after drainage and reveal patterns of regeneration now.

Our study showed that the water level decreased in the bog because drainage melioration had an impact on all components of mire ecosystems - micro relief, plant cover and botanical composition of peat deposits, formed in the period after drainage. The influence of drainage was positive for the growth of trees and shrubs. This reflected in increasing the height of undergrowth and shrub abundance, the composition of moss formed the upper layers of peat deposit after drying. This resulted in a decrease in *Sphagnum magellanicum* share in the peat. This species can be attributed to plant indicators - markers extending mire water level changes. Intensive mire restoration occurs due to unsatisfactory work of the drainage network now. This is reflected in the appearance of large clumps formed by herbaceous vegetation due to mire water increasing, as well as changes in the composition of modern phytocenosis. Occurrence of *Sphagnum magellanicum* in moss differs unreliably at two sites, although the impact of drainage still continues to affect.

Thus, studying the characteristics of micro relief botanical composition of peat deposits and modern vegetation we can conclude that, in general, drainage melioration of the oligotrophic bog had no significant effect on the extent of mire ecosystems transformation and currently mire restoration to its original state is observed. Such recovery is typical of oligotrophic bogs having a greater degree of stability compared to the eutrophic and mesotrophic bog ecosystems of the taiga zone in Western Siberia.

The article contains 1 Table, 6 Figures, 31 References.

Key words: bog; drainage melioration; botanical composition; peat; micro relief; bog water level

References

1. Velikanov GB, Konstantinov VK, Kudryashev AV. Forest hydromelioration - drainage and silvicultural development of wetlands in forest fund (on the history of research in St. Petersburg Forestry Research Institute). *Trudy Sankt-Peterburgskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta lesnogo hozyaystva*. 2014;2:80-93. In Russian, English summary
2. Great Vasyugan bog. Current state and development processes. Kabanov MV, editor. Tomsk: Institut optiki atmosfery SO RAN Publ.; 2002. 230 p. In Russian
3. Efremova TT, Avrova AF, Efremov SP. Opyt postroeniya bonitirovochnoy shkaly mestoobitaniy bolotnyh sosnyakov yuzhnotaеzhnoy podzony Zapadnoy Sibiri [Experience in building Bonitation scale of south-taiga pine subzone wetland habitat in West Siberia]. *Khvoynye boreal'noy zony*. 2008; XXV(3-4):269-276. In Russian, English summary
4. Matyushkin VA, Moshnikov SA, Berdnikov IA. Formirovanie i produktivnost' sosnovykh nasazhdeniy na osushennykh bolotakh [Formation and productivity of pine forests on drained bogs]. *Uchenyye zapiski Petrozavodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Yestestvennyye i tekhnicheskiye nauki*. 2010;4:56-60. In Russian
5. Minaeva TYu, Sirin AA. Torfyanye pozhary – prichiny i puti predotvrashcheniya [Peat fires - causes and ways of prevention]. *Nauka i promyshlennost' Rossii*. 2002;9:3-8. In Russian
6. Więcek M, Martin P, Lipinski A. Water mites as potential long-term bioindicators in formerly drained and rewetted raised bogs. *Ecological Indicators*. 2013;34:332-335. doi: [10.1016/j.ecolind.2013.05.019](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.05.019)
7. Hommeltenberg J, Schmid HP, Driesler M, Werle P. Can a bog drained for forestry be a stronger carbon sink than a natural bog forest? *Biogeosciences Discuss*. 2014;11:2189-2226. doi: [10.5194/bgd-11-2189-2014](https://doi.org/10.5194/bgd-11-2189-2014)
8. Sinyutkina AA. Mire geosystem classification of Tomsk region. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta – Tomsk State University Journal*. 2012;357:192-195. In Russian
9. Krasil'nikov NA. Biologicheskie osobennosti meliorirovannykh lesnykh zemel' [Biological features of reclaimed forestland]. Minsk: VM Skakun Publ.; 1998. 216 p. In Russian
10. Korepanov DA, Korepanov SA. Vliyaniye sostoyaniya osushitel'noy seti na vodnyy rezhim i rost lesa [Influence of drainage channels on water regime and forest growth]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*. 2005;6:90-93. In Russian
11. Beh JA, Danchenko AM. Forestry potential of increasing pine forests productivity in Western Siberia. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2009;4(8):62-65. In Russian
12. Solntsev RV, Gulin AN. Reaktsiya osnovnogo drevostoya i transformatsiya svoystv lesobolotnogo torfa na ekstensivnoe osushenie sfagnovogo bolota v usloviyakh Srednego Urala [Reaction of the pine stand and the transformation of forest-swamp peat properties due to extensive drainage of sphagnum bogs under conditions of the Middle Urals]. *Agrarnyy vestnik Urala*. 2010;67(1):72-74. In Russian
13. Cedro A, Lamentowicz M. Contrasting responses to environmental changes by pine (*Pinus sylvestris* L.) growing on peat and mineral soil: An example from a Polish Baltic bog. *Dendrochronologia*. 2011;29(4):211-217. doi: [10.1016/j.dendro.2010.12.004](https://doi.org/10.1016/j.dendro.2010.12.004)
14. Rakovich VA, Ratnikova ON. Reclamation of the disturbed amelioration of the forest bog Chervenskoye (Galoye). *Prirodopol'zovaniye*. 2012;21:155-165. In Russian
15. Nastavleniya gidrometeorologicheskimi stantsiyami i postami. Gidrometeorologicheskie nablyudeniya na bolotakh [Manual for hydrometeorological stations and centers. Vol. 8. Hydro-meteorological observations in the mires]. Leningrad: Gidrometeoizdat Publ.; 1990. 360 p. In Russian

16. Voronov AG. Geobotanika [Geobotany]. Moscow: Vysshaya shkola Publ.; 1973. 384 p. In Russian
17. GOST 28245-89 20 Turf. Methods for determining botanical composition and decomposition degree. 2nd ed. Moscow: Standartinform Publ.; 2006. 7 p. In Russian
18. Preys YuI, Bobrov VA, Sorokovenko OR. Sovremennaya akkumulyatsiya torfa v yuzhnotaеzhnykh ryamakh Zapadnoy Sibiri [Modern accumulation of peat in the southern taiga ryam in Western Siberia]. In: *Vos'moe Sibirskoe soveshchanie po klimatoekologicheskoy monitoringu*. Materialy nauch. konf. [Siberian eighth meeting on climatic and ecological monitoring. Proc. of the Sci. Conf.]. Kabanov MV, editor. Tomsk: Agraf-Press Publ.; 2009. pp. 249-251. In Russian
19. Dombrovskaya FV, Koreneva MM, Tyuremnov SN. Atlas rastitel'nykh ostatkov, vstrechaemykh v torfe [Atlas of plant residues in peat]. Moscow, Leningrad: Gosudarstvennoe energeticheskoe Publ.; 1959. 90 p. In Russian
20. Kats NYa, Kats SV, Skobeeva EI. Atlas rastitel'nykh ostatkov v torfah [Atlas of plant residues in peat]. Moscow: Nedra Publ.; 1977. 376 p. In Russian
21. GOST 28245-89 20 Turf. Methods for determining botanical composition and decomposition degree. 2nd ed. Moscow: Standartinform Publ.; 2006. 7 p. In Russian
22. Mul'diyarov EYa. Opredelitel' listostebel'nykh mхов Tomskoy oblasti. Uchebnoe posobie [Key to mosses of Tomsk Oblast. Study guide]. Tomsk: Tomsk State University Publ.; 1990. 208 p. In Russian
23. Ignatova EA, Ignatov MS, Fedosov VE, Konstantinova NA. Bryophytes of Moscow Oblast: a guide. Moscow: KMK Publ.; 2011. 320 p. In Russian.
24. Ivanter EV, Korosov AV. Osnovy biometrii: Vvedenie v statisticheskiy analiz biologicheskikh yavleniy i protsessov [Fundamentals of biometrics: Introduction to statistical analysis of biological phenomena and processes]. Petrozavodsk: Petrozavodsk State University Publ.; 1992. 168 p. In Russian
25. Linden M, Geel B. Late Holocene climate change and human impact recorded in a south Swedish ombrotrophic peat bog. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 2006;240(3-4):649-667. doi: [10.1016/j.palaeo.2006.03.039](https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2006.03.039)
26. Khakimov IR, Sinyutkina AA. Complex system of the assessment of fire danger at wetlands (the example of Shegarskiy region in Tomsk oblast). *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk*. 2014;16(1-3):688-691. In Russian
27. Gashkova LP, Ivanova ES. Accumulation of heavy metals in plants-dominants anthropogenically damaged areas of wetlands at the territory of Tomsk oblast. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk*. 2014;16(1-3):732-735. In Russian
28. Kharanzhevskaya YuA. Otsenka sovremennykh protsessov vosstanovleniya bolot v yuzhno-taеzhnoy podzone Zapadnoy Sibiri na osnove mnogoletnih dannykh o vodnom rezhime [Assessment of current processes of restoration of wetlands in the southern taiga subzone of Western Siberia on the basis of long-term data on water regime]. In: *Sovremennyye problemy genezisa, geografii i kartografii pochv*. Materialy nauch. konf. (1-5 oktyabrya 2011). [Modern problems of genesis, geography and cartography of soils. Proc. of the Sci. Conf.]. Tomsk: OOO "Kopi-M" Publ.; 2011. pp. 237-240. In Russian
29. Landshafty bolot Tomskoy oblasti [Mire landscapes of Tomsk Oblast]. Evseeva NS, editor. Tomsk: NTL Publ.; 2012. 400 p. In Russian
30. Babeshina LG, Dmitruk VN, Dmitruk SE. Ekologicheskie gruppy sfagnovykh mхов Tomskoy oblasti [Environmental groups of sphagnum mosses in Tomsk Oblast]. *Doklady TUSURa*. 2004;1(9):61-63. In Russian
31. Sinyutkina AA. Osobennosti mikrol'efa bolot taеzhnoy zony Zapadnoy Sibiri [Features of mire microreliefs in the taiga zone of Western Siberia]. In: *Geografiya, istoriya i*

geoekologiya na sluzhbe nauki i innovatsionnogo obrazovaniya. Materialy nauch. konf. [Geography, history and geo-ecology in the service of science and innovative education. Proc. of the Sci. Conf.]. Krasnoyarsk. 2012. pp. 63-65. In Russian

Received 24 October 2014;

Revised 15 January 2015;

Accepted 17 February 2015

Authors info:

Gashkova Lyudmila P., junior researcher, Laboratory of Peat and Ecology, Siberian Research Institute of Agriculture and Peat, 3 Gagarina Str., Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: gashkova-lp@rambler.ru

Sinyutkina Anna A., Cand. Sci. (Geogr.), senior research, Laboratory of Peat and Ecology, Siberian Research Institute of Agriculture and Peat, 3 Gagarina Str., Tomsk 634050, Russian Federation; Department of Geography, Faculty of Geology and Geography, Tomsk State University, 36 Lenina Prospekt, Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: ankalaeva@yandex.ru