

ВЕСТНИК ТОМСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

БИОЛОГИЯ

Tomsk State University Journal of Biology

Научный журнал

2014

№ 1 (25)

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

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

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

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 (Пушино, Россия); *Васильева Е.Д.* Зоомузей МГУ (Москва, Россия); *Дюбуа А.* Национальный музей естественной истории (Париж, Франция); *Кингма Г.* Маастрихтский университет (Маастрихт, Нидерланды); *Кузнецов Вл.В.* Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (Москва, Россия); *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.* Королевский музей Британской Колумбии (Виктория, Британская Колумбия, Канада); *Чжанг Д.* Синц-зянский Институт экологии и географии КАН (Урумчи, Китай); *Шарахов И.В.* Политехнический университет Вирджинии (Вирджиния, США)

Tomsk State University Journal of Biology. 2014. № 1 (25)

EDITORIAL COUNCIL

Sergey P. Kulizhskiy – Editor-in-Chief (Tomsk State University, Tomsk, Russia)

Elena E. Akimova – executive secretary (Tomsk State University, Tomsk, Russia)

EDITORIAL BOARD

Ananjeva N.B. Zoological Institute, RAS (St. Petersburg, Russia); *Aftanas L.I.* State Research Institute of Physiology, SB RAMS (Novosibirsk, Russia); *Bobrovsky M.V.* Institute of Physical Chemical and Biological Problems of Soil Science, RAS (Pyschino, Russia); *Vasil'eva E.D.* Zoological Museum, Moscow State University (Moscow, Russia); *Dubois A.* National Museum of Natural History in Paris (Paris, France); *Kingma H.* Maastricht University (Maastricht area, Netherlands); *Kuznetsov Vl.V.* Timiryazev Institute of Plant Physiology, RAS (Moscow, Russia); *Lupashin V.V.* University of Arkansas for Medical Sciences (Arkansas, USA); *Pokrovsky O.S.* National Centre for Scientific Research (Toulouse, France); *Smirnova O.V.* Center of Ecology and Productivity of Forests, RAS (Moscow, Russia); *Sokolova Y.Y.* Louisiana State University (Baton Rouge, Louisiana, USA); *Hebda R.J.* Royal British Columbia Museum (Victoria, BC, Canada); *Zhang D.* Xinjiang Institute of Ecology and Geography, CAS (Urumqi, China); *Sharakhov I.V.* Virginia Polytechnic Institute and State University (Blacksburg, Virginia, USA)

СОДЕРЖАНИЕ

АГРОХИМИЯ И ПОЧВОВЕДЕНИЕ

- Белоусова Е.Н.** Влияние многолетних трав и пара на структурный состав и мобилизацию минеральных форм азота чернозема Красноярской лесостепи ..7
Якименко В.Н., Малюга А.А. Зависимость агроэкологического состояния почвы от баланса калия в агроценозе.....26

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

- Леяк А.А., Штерншис М.В.** Антагонистический потенциал сибирских штаммов *Bacillus* spp. в отношении возбудителей болезней животных и растений.....42

БОТАНИКА

- Корзников К.А.** Растительные сообщества Южно-Сахалинского грязевого вулкана56
Лапиров А.Г. Особенности онтогенеза частухи подорожниковой *Alisma plantago-aquatica* L. (Alismataceae).....66
Тупицына Н.Н., Кузьмин И.В. *Polygonum ramosissimum* Michx. (Polygonaceae Juss.) – новый адвентивный вид в Сибири90

ЗООЛОГИЯ

- Бабенко А.С., Нужных С.А.** Фауна и сезонная динамика активности хищных герпетобионтов ягодных насаждений экспериментального участка Сибирского ботанического сада. Сообщение 2. Фауна и сезонная динамика активности стафилинид (Coleoptera: Staphylinidae)97
Триликаускас Л.А. О населении пауков (Arachnida: Aranei) зарослей багульника болотного (*Ledum palustre* L.) в лиственничниках бореально-лесного пояса Буреинского заповедника 111

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

- Артемов Г.Н., Бондаренко С.М., Стегний В.Н.** Взаиморасположение точек прикрепления XL и 3R хромосом на ядерной оболочке в клетках соматической и генеративной систем малярийного комара *Anopheles messeae* Fall.121
Омелина Е.С., Коханенко А.А. Поиск новых генов-мишеней транскрипционного фактора GAGA в ходе оогенеза *Drosophila melanogaster*.....132

СЕЛЬСКОЕ И ЛЕСНОЕ ХОЗЯЙСТВО

Габышева Л.П. Роль пожаров в возобновлении лесов центральной Якутии 154

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

**Карташов А.В., Пашковский П.П., Иванов Ю.В., Иванова А.И.,
Савочкин Ю.В.** Морфогенез ассимилирующих органов сеянцев
сосны обыкновенной и ели европейской при действии красного
и синего света 167

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

**Томова Т.А., Просекина Е.Ю., Замощина Т.А., Матюхина М.В.,
Фатюшина О.А.** Влияние иммобилизации на показатели стресс-реакции
у крыс и собак 183

**Халиуллин Т.О., Кисин Е.Р., Мюррэй Э., Залялов Р.Р., Шведова А.А.,
Фатхутдинова Л.М.** Токсические эффекты углеродных нанотрубок
в культурах клеток макрофагов и бронхиального эпителия 199

ЭКОЛОГИЯ

Волкова И.И., Волков И.В. Ландшафтно-экологическая
характеристика мерзлотного седловинного болота у г. Саганы
(хребет Иолго, Центральный Алтай) 211

CONTENTS

AGROCHEMISTRY AND SOIL SCIENCE

- Beloysova E.N.** Effect of perennial grasses and fallow on the structural composition and mobilization of mineral nitrogen of chernozem soil of Krasnoyarsk forest steppe.....7
- Yakimenko V.N., Malyuga A.A.** Dependence of agro-environmental soil constitution on potassium balance in agrocenosis26

BIOTECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY

- Lelyak A.A., Shternshis M.V.** Antagonistic potential of siberian strains of *Bacillus* spp. towards agents causing animal and plant diseases.....42

BOTANY

- Korznikov K.A.** Plant communities of the Yuzhno-Sakhalinsk mud volcano56
- Lapirov A.G.** Peculiarities of the ontogenesis of *Alisma plantago-aquatica* L. (Alismataceae)66
- Tupitsyna N.N., Kuzmin I.V.** *Polygonum ramosissimum* Maxim. (Polygonaceae Juss.) as a new adventive species in Siberia90

ZOOLOGY

- Babenko A.S., Nuzhnyh S.A.** Fauna and seasonal dynamics of activity of ground beetles on the berry plantations of Siberian Botanical Garden experimental. Plot. 2. Fauna and seasonal dynamics of activity of rove beetles (Coleoptera: Staphylinidae)97
- Trilikauskas L.A.** On the spider population (Arachnida: Aranei) of the brushwood of marsh labrador tea (*Ledum palustre* L.) in larch taiga forest of the boreal-forest zone of the Bureinski Reserve (Russian Federation) 111

CELL BIOLOGY AND GENETICS

- Artemov G.N., Bondarenko S.M., Stegny V.N.** The interposition of attachment points of XL and 3R chromosomes on the nuclear envelope in the cells of somatic and generative systems of malarial mosquito *Anopheles messeae* Fall.121
- Omelina E.S., Kokhanenko A.A.** Identification of the new GAGA transcription factor target genes during *Drosophila melanogaster* oogenesis132

AGRICULTURE AND FORESTRY

Gabysheva L.P. Reforestation role of fire in Central Yakutia	154
---	-----

PLANT PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY

Kartashov A.V., Pashkovskiy P.P., Ivanov Yu.V., Ivanova A.I., Savochkin Yu.V. Morphogenesis of Norway spruce and Scots pine seedlings assimilating organs under the influence of red and blue LED light.....	167
---	-----

HUMAN AND ANIMALS PHYSIOLOGY

Tomova T.A., Prosekina E.Ju., Zamoschina T.A., Matyuhina M.V., Fatyushina O.A. The influence of immobilization on indices of stress reaction in rats and dogs	183
Khaliullin T.O., Kisin E.R., Murray R.A., Zalyalov R.R., Shvedova A.A, Fatkhutdinova L.M. Toxic effects of carbon nanotubes in macrophage and bronchial epithelium cell cultures	199

ECOLOGY

Volkova I.I., Volkov I.V. Landscape-ecological characteristics of the permafrost mire massif situated near Tsagany Mountain (the Iolgo mountain ridge, Central Altai).....	211
---	-----

АГРОХИМИЯ И ПОЧВОВЕДЕНИЕ

УДК 631.8 (571.51)

doi: 10.17223/19988591/25/1

Е.Н. Белоусова

Красноярский государственный аграрный университет, г. Красноярск, Россия

Влияние многолетних трав и пара на структурный состав и мобилизацию минеральных форм азота чернозема Красноярской лесостепи

*Рассмотрено влияние многолетних бобовых трав и чистого пара на структурный состав и содержание мобильных форм азота. Выявлен «отличный» структурный состав под посевами галеги восточной и люцерны гибридной 10–11-го и 5–6-го годов использования соответственно. Почва под чистым паром уступала травяным агроценозам и соответствовала «хорошему» уровню структуры. Показано, что в почве под галегой восточной формируется максимальный пул легкогидролизуемого азота в сравнении с люцерной и чистым паром. Установлено, что степень влияния факторов на мобилизацию легкогидролизуемых соединений азота располагается в следующей убывающей последовательности: взаимодействие (культуры*сроки) > сроки > культуры. По уровню обеспеченности аммонийным азотом варианты были равнозначны и соответствовали низкому уровню обеспеченности. Интенсивность образования окисленных соединений азота определялась агротехническими и биоклиматическими факторами.*

Ключевые слова: структура почвы; *Medicago hybridum*; *Galega orientalis*; азот почвы.

Введение

Исследования почвенной структуры всегда были и остаются одним из приоритетных направлений в почвоведении и земледелии. За последние десятилетия получена значительная информация в различных аспектах исследования агрофизических свойств почв. Большое внимание уделяется роли полевых культур в реорганизации почвенной массы и их влиянию на пищевой режим (эффект последействия). В земледелии этот вопрос приобретает особую актуальность в связи с тем, что сельскохозяйственные растения, а также паровое поле являются предшественниками друг для друга в структуре севооборота. В условиях Красноярской лесостепи достаточно полно изучены вопросы влияния разных культур и пара на структурный состав [1–3] и азотный режим [4–7] почв. Однако такие факторы почвообразования, как время и климат, вносят существенные коррективы в почвенную систему. Поэтому информация, полученная ранее, нуждается в дополнении.

Также необходимо оценивать роль относительно новых культур, появляющихся в структуре растениеводства края. К таким растениям относится галега восточная. Сведений о ее кормовых достоинствах и продуктивности достаточно, а информации о влиянии на свойства почвы не хватает.

Цель работы – исследовать влияние многолетних бобовых трав и чистого пара на структурный состав и содержание подвижных форм азота в черноземной пятнистости Красноярской лесостепи.

Материалы и методики исследования

Исследования проводились на многолетнем полевым стационаре УНПК «Борский», расположенного на территории Сухобузимского района в пределах Чулымо-Енисейского денудационного плато юго-западной окраины Средней Сибири. Его географическое положение определяется координатами 93° в.д. и 56°30' с.ш. Объектом исследования послужили агроценозы двух видов многолетних бобовых трав: люцерны гибридной (*Medicago hybridum* L.) сорта Вега – 5-го и 6-го года использования, галеги восточной (*Galega orientalis* L.) сорта Горноалтайская-87 – 10–11-го годов использования и парового стерневого поля (стерня яровой пшеницы). Закладка опыта и ботаническое описание исследуемых культур были проведены канд. с.-х. наук, доц. Красноярского государственного аграрного университета А.Т. Аветисяном. Площадь делянки – 250 м², повторность в опыте 9-кратная.

В годы наблюдений распределение тепла и влаги было неодинаковым. За теплый период 2011 г. выпало 274 мм осадков. Среднесуточная температура составила 14,3°C. Достаточно засушливым оказался вегетационный сезон 2012 г. Количество осадков было на 65 мм меньше среднемноголетней нормы. Необходимо отметить неравномерное распределение осадков на протяжении периода май – сентябрь. В мае – июне, а также сентябре количество осадков не соответствовало средней многолетней норме. В мае осадков выпало меньше на 10,7 мм; в июне и сентябре – на 9,8 и 5,5 мм соответственно. Максимальное количество осадков выпало лишь в августе – 68 мм. Это определило характер увлажнения исследуемой почвы в вариантах опыта. Почвенный покров представлен черноземом выщелоченным высокогумусным среднемощным тяжелосуглинистым иловато-пылеватым, сформированным на коричнево-бурых тяжелых суглинках. Основные физико-химические и химические показатели объекта исследования отражены в табл. 1.

Химические и физико-химические показатели получены по общепринятым прописям современных методов [8]. Структурный состав почвы изучали по методу Н.И. Саввинова. Отбор почвенных проб проводили из слоя 0–20 см. Далее почвенный образец фракционировали через набор сит (10–0,25 мм) в полевых условиях при естественной влажности.

Т а б л и ц а 1

**Химические и физико-химические свойства чернозема выщелоченного
в годы наблюдений**

Вариант, слой 0–20 см	Гумус, %	pH _{H₂O}	S	H _r	ЕКО	V, %	Содержание фракций, %: размер частиц, мм	
			ммоль (+) /100 г				< 0,01	< 0,001
Галега	10,1	6,9	55,2	1,2	56,4	97,8	57,3	24,4
Люцерна	8,6	6,8	55,4	1,1	56,5	98,1	56,9	23,8
Чистый пар	7,7	7,7	61,9	—	61,9	100	54,9	21,8

Влажность определяли термостатно-весовым методом. Сроки отбора почвенных образцов приурочены к фазам развития многолетних растений: ветвление – цветение – отава трав. Гранулометрический и микроагрегатный состав почвы был определен методом пипетки по Н.А. Качинскому. Содержание нитратного азота (N-NO₃) определяли по Грандваль – Ляжу в модификации [9] с дисульфифеноловой кислотой, аммонийного азота (N-NH₄) – колориметрически с реактивом Несслера, щелочногидролизуемого азота (N_щ) по Корнфилду. Статистический анализ данных проводился с использованием пакета программ MS Excel и StatSoft STATISTICA 6.0.

Результаты исследования и обсуждение

Известно, что структурность почв тесно связана не только с содержанием в них органического вещества, но и с гранулометрическим составом. Особенности распределения элементарных частиц определяют механизмы агрегирования, образования разных по морфологическим и физико-химическим свойствам агрегатов [10]. Организующим компонентом агрегатов являются минералы илистых и коллоидных размерностей. В свою очередь влажность служит основным фактором, определяющим силу коагуляционных контактов и прочность агрегатов.

Одним из главных факторов формирования агрегатов является гранулометрический состав почвы. Рассматриваемый показатель в почве под посевами галеги восточной, люцерны и чистого пара характеризуется как тяжелосуглинистый иловато-пылеватый. Наибольшее содержание илистой фракции в гумусово-аккумулятивном горизонте сосредоточивается под галегой восточной – 24,4%, минимальное – в почве под паром – 21,8%. Доля фракции песка колеблется от 3,8% под люцерной до 6,4% под галегой. Остальная твердая фаза почвы приходится на пыль – 69,1–72,4% (рис. 1).

Микроагрегатный состав, характеризуя качественно новый структурный уровень организации твердой фазы почв, в значительной степени предопределяет характер макроструктуры (см. рис. 1). Устойчивость агрегирующих связей микроструктуры по отношению к воде довольно высокая в почве всех рассматриваемых вариантов. Содержание ила незначительное и указывает на его участие в формировании микроагрегатов.

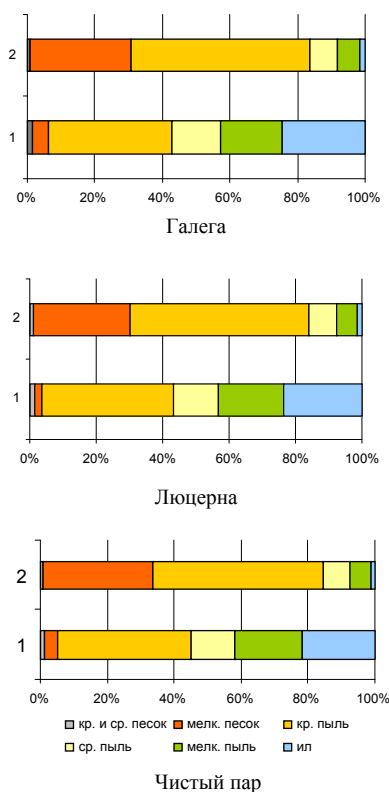


Рис. 1. Гранулометрический и микроагрегатный состав чернозема выщелоченного, %: 1 – гранулометрический состав; 2 – микроагрегатный состав

Коэффициент дисперсности на вариантах опыта незначительно изменяется: для почвы парового поля и люцерны он составляет 5,5%, а под галегой восточной – 6,1%, что соответствует высокой микроструктуренности. В составе почвенной массы преобладают водопрочные агрегаты размером крупнее 0,05 мм. Следовательно, и степень агрегированности (по Бэйверу) отражает высокие значения для парового поля и люцерны (84,3 и 87,4% соответственно), а для галеги (79,2%) входит в интервал «хорошая». Данные диаграммы в области песчаных частиц свидетельствуют о преобладании микроагрегатов над гранулометрическими частицами, которые образовались в результате агрегирования из более мелких гранулометрических фракций.

Воздействие на почву многолетних трав и почвообрабатывающих орудий изменяет характер динамики почвенной структуры. Механическая обработка почвы может быть фактором разрушения и восстановления структуры – в зависимости от условий влажности, при которой она проводится. Материалы табл. 2 отражают сезонные изменения структурного состояния

в вариантах опыта в течение вегетационных сезонов 2011–2012 гг. В пахотном 0–20 см слое почвы парового поля количество фракций размером 10–0,25 мм незначительно изменялось в период июнь – сентябрь и соответствовало «хорошему» состоянию по [11]. Процессы увлажнения и высыхания происходят в почве непрерывно. Особенно значительные колебания в степени влажности проявляются в самом верхнем слое почвы. Они обуславливают наибольшие объемные изменения, ведущие к образованию крупных структурных отдельностей.

Т а б л и ц а 2

Динамика структурного состава чернозема выщелоченного, %

Варианты	Фракции, мм										АЦФ, 10– 0,25	K _{стр}
	>10	10–7	7–5	5–3	3–2	2–1	1–0,5	0,5– 0,25	<0,25	>10		
Июнь 2011												
Галега	13,3	10,8	11,6	17,2	14,1	26,9	1,5	2,8	1,7	84,9	5,7	13,3
Люцерна	15,2	10,4	9,7	14,1	12,8	28,3	1,7	4,7	3,0	81,8	4,5	15,2
Чистый пар	27,4	12,0	9,9	13,3	10,5	20,3	1,9	3,5	0,9	71,5	2,5	27,4
Июль 2011												
Галега	14,1	10,5	11,7	17,0	14,1	25,4	1,2	4,3	1,9	84,1	5,3	14,1
Люцерна	18,1	10,9	10,3	14,3	12,1	25,7	1,4	4,7	2,4	79,4	3,8	18,1
Чистый пар	28,9	11,2	10,3	13,6	10,7	19,2	1,5	3,7	0,9	70,2	2,4	28,9
Сентябрь 2011												
Галега	10,7	9,8	10,7	19,8	21,0	25,6	1,1	0,9	0,2	88,9	8,2	10,7
Люцерна	14,3	10,3	10,2	15,0	15,3	30,9	1,6	1,9	0,4	85,3	5,8	14,3
Чистый пар	31,7	9,8	8,4	11,2	9,4	24,2	2,1	2,7	0,4	67,8	2,1	31,7
Июнь 2012												
Галега	16,9	11,3	14,2	19,2	4,0	17,9	11,1	4,5	1,2	82,2	4,5	16,9
Люцерна	19,5	11,9	12,9	16,3	2,8	16,1	12,2	5,8	2,3	78,1	4,3	19,5
Чистый пар	21,8	10,9	11,2	14,8	3,7	16,2	13,5	5,8	2,0	76,1	3,2	21,8
Июль 2012												
Галега	10,7	9,0	11,9	18,0	4,2	19,4	15,3	7,4	3,7	85,3	5,9	10,7
Люцерна	16,6	11,7	12,3	15,2	3,6	16,9	14,3	6,6	2,7	80,7	4,2	16,6
Чистый пар	18,1	8,1	8,1	11,9	3,9	21,6	18,6	7,1	2,4	79,4	3,9	18,1
В среднем за 2 года (n = 45)												
Галега	13,1	10,2	11,9	18,2	11,4	23,0	6,0	3,9	1,7	85,1	5,7	13,1
Люцерна	16,7	11,0	11,1	15,0	9,3	23,5	6,2	4,7	2,1	81,0	4,3	16,7
Чистый пар	25,5	10,4	9,5	12,9	7,6	20,3	7,5	4,5	1,3	73,0	2,7	25,5
LSD ₀₅	3,4	–	–	1,1	1,1	–	–	–	–	p < 0,05	–	3,4

Примечание. LSD (least significant difference) – наименьшая существенная разница.

Структурный состав почвы слагался крупнокомковатыми (3–10 мм) и мелкозернистыми (2–1 мм) отдельностями. На долю глыбистых педов приходилось 27–31,7%. Поэтому значения коэффициента структурности характеризуют почву парового поля минимальными величинами в сравнении с делянками, занятыми многолетними травами. Формирование агрегатов в июне – июле находилось в средней обратной зависимости от степени увлаж-

нения ($r = -0,27-0,35$). По-видимому, проведение механических обработок (культиваций) в летний период способствовало разрушению поверхностной почвенной корки, повышению аэрируемости и потере некоторого количества влаги почвой на испарение. Как отмечали [14], механическое воздействие на почву определяет изменение упаковки частичек в сторону более совершенной укладки, где влажность способствует снижению трения между частицами.

К концу вегетационного сезона (сентябрь) увеличение уровня полевой влажности до 29,3% способствовало снижению доли крупнокомковатых отдельностей и увеличению глыбистых и мелкозернистых агрегатов.

Во второй год наблюдений ход распределения структурных агрегатов верхнего слоя почвы парового участка обнаружил некоторые отличия. Содержание агрегатов ценного размера незначительно изменялось в период июнь – июль и соответствовало «отличному» уровню. В июне среди агрегатов крупнее 0,25 мм на долю комковатых отдельностей приходилось 37%, тогда как на фракцию диаметром 2–1 мм – 16%. Выход агрономически ценных фракций находился в обратной зависимости от уровня полевой влажности. Позднее в структурном составе почвы парового поля существенно снижается формирование отдельностей > 3 мм, но возрастает количество агрегатов величиной 1–0,5 мм, что существенно выше по сравнению с предыдущим годом. Корреляционная зависимость образования почвенных макроагрегатов от влажности ослабевает. Очевидно, основная обработка почвы разрушает связи между и внутри агрегатов, способствуя переупаковке почвенных компонентов. Высокие среднесуточные температуры, отсутствие атмосферного увлажнения способствовали снижению влаги в почве, что повлекло за собой уменьшение размера образующихся агрегатов. Таким образом, устойчивость структурного состояния почвы парового поля реализуется за счет взаимодействия различных специфических почвенных механизмов, и в большей степени за счет способности почвы к переагрегации в результате многократно повторяющихся в природе циклов набухания-усадки при увлажнении и высыхании, промораживании и оттаивании [13]. В результате этих процессов происходит формирование новых почвенных агрегатов и порового пространства.

Создание почвенных агрегатов под воздействием сельскохозяйственных растений различно и зависит от развития корневой системы. Проникая в почву, корни дробят ее на отдельности, сдавливают частицы вокруг себя, сближают их, что ведет к образованию почвенных агрегатов различного размера. Рассмотрим поведение почвенных макроструктурных компонентов под влиянием культуры многолетних бобовых растений. Воздействие на почву посевов люцерны 5 г.п (2011 г.) обнаружило значимое превышение агрономически ценных фракций лишь в пахотном слое почвы парового поля. Содержание агрегатов $> 0,25$ мм незначительно колеблется в течение вегетационного сезона и находится в слабой обратной зависимости от сте-

пени увлажнения ($r = -0,13$). Коэффициент структурности варьировал, достигая максимальных значений в сентябре (см. табл. 2). Среди отдельностей ценного размера господствует зернистая фракция размером 3–1 мм. Корни люцерны принимают активное участие в формировании агрегатов. По мере роста они развивают осевое давление, увеличиваясь в объеме, раздвигают почвенные частицы в тех местах, где распространяются. Одновременно они уплотняют прилегающие к ходу корней участки [14]. К фазе бутонизации люцерны доля глыбистых отдельностей незначительно возростала, что сопровождалось снижением доли агрегатов ценного размера. Коэффициент структурности в этот период имеет минимальные значения. Значительная густота растений, созданная мощной надземной массой трав, уменьшала расход влаги на испарение с поверхности почвы и способствовала увеличению уровня почвенной влаги под люцерной (от 16,8% в июне до 23,3% в июле). Это обуславливало обратную зависимость формирования почвенных отдельностей ($r = -0,37$).

Последовавшее за фазой цветения скашивание зеленой массы люцерны обнаружило значительное увеличение в структурном составе почвы доли крупнозернистых и зернистых агрегатов. Их содержание существенно превышало таковое в почве под паровым полем. Скашиванием трав в фазу бутонизации достигается удвоенное количество корневой массы [15, 16]. Прижизненное влияние функционирующих корней и ризосферных микроорганизмов способствует разложению органического материала практически в анаэробных условиях. Как свидетельствуют данные [17], обогащение почвы пожнивно-корневыми остатками люцерны насыщает ее углеродсодержащими соединениями лабильной группы. Поэтому накопление в почве частично метаболизированных органических соединений, обладающих склеивающей способностью и устойчивостью к дальнейшей микробиологической трансформации в условиях анаэробнозиса, определяет условия для агрегатообразования.

Структурный состав почвы под агрофитоценозом люцерны шестого года использования соответствует «отличному» уровню. Характер распределения макроагрегатов выявил существенное снижение доли комочков величиной 3–2, 2–1 мм и накопление агрегатов размером 1–0,5, 0,5–0,25 мм. Вероятно, засушливые условия вегетационного сезона, когда количество осадков в самый теплый месяц составило лишь 53 мм, сказались на характере увлажнения почвы под многолетними культурами. Содержание влаги в почве под люцерной в июле опустилось с 20,7 до 14%. Мощная стержневая корневая система люцерны как «арматурный каркас» оказывала расчленяющее действие на почвенную массу, что дополнялось высоким водопотреблением и иссушением и выразилось сменой направления корреляционной зависимости с прямой на обратную ($r = -0,4$). При чрезмерном подсыхании почвы проявляется наибольшее ее уплотнение за счет разрушения крупных пор и пустот, что сопровождается сближением агрегатов и образованием трещин.

Процесс образования почвенных агрегатов под посевами галеги восточной имеет свои особенности. Структурный состав почвы на протяжении вегетационного периода 2011 г. оценивается как «отличный». Когда многолетние растения находились в фазе ветвления, в структурном составе пахотного слоя почвы наибольшая доля приходилась на комочки величиной 2–1 мм. После второго укоса зеленой фитомассы галеги восточной в распределении структурных отдельностей обнаруживается укрупнение агрегатов. Содержание отдельностей диаметром 5–3, 3–2 мм значительно возрастает и количественно превосходит таковое в почве под паром и люцерной. При корневом оструктурировании размеры агрегатов определяются ходами корней [18–20]. Поэтому расстояние корней друг от друга («корневая сетка») обуславливает размеры агрегатов. Наибольшие значения коэффициента структурности (8,2) приурочены к этому сроку.

Почва под посевами галеги восточной 11-го года пользования также характеризовалась отличным структурным состоянием. Здесь количество агрегатов ценного размера достигает максимума в июле и напрямую определяется режимом влаги ($r = 0,35$). В макроагрегатном составе почвы под этой бобовой культурой наблюдается та же тенденция, что и в поле под люцерной. Содержание агрегатов диаметром 3–2, 2–1 мм вдвое сокращается при возрастании доли тонких фракций 1–0,5 и 0,5–0,25 мм. Коэффициент структурности почвы снижается относительно предыдущего года, но превышает его значения для люцерны. Корреляционный анализ выявил зависимость формирования агрегатов ценного размера от уровня полевой влажности ($r = 0,4–0,67$). Полученные связи отражают проявление действия капиллярных сил, способствующих удержанию частиц между собой. Таким образом, оптимальный размер макроструктурных отдельностей почвы в условиях парования и под многолетними травами изменяется в зависимости от условий увлажнения и при его недостатке приобретает меньшие значения, обуславливая сохранение почвенной влаги.

Структурный «портрет» (рис. 2) демонстрирует распределение структурных фракций в слое почвы 0–20 см в среднем за 2 года исследований. Эти данные отражают основное статистическое преимущество каждой фракции, направленность их изменения (см. табл. 2). Фракционный состав почвы парового поля обнаружил преобладание отдельностей размером > 10 мм и 2–1 мм. В почве под люцерной статистическая оценка выявила значимое снижение доли глыбистых отдельностей и значимое преобладание агрегатов диаметром 5–3 мм в сравнении с почвой под паром. В свою очередь структурный состав почвы под галегой восточной отличался существенным доминированием педов величиной 5–3 и 3–2 мм и наименьшим содержанием крупных отдельностей (> 10 мм) в сравнении с агрофитоценозом люцерны и паровым полем ($p < 0,05$).

Благоприятное соотношение между влагой и воздухом обеспечивает увеличение подвижных форм элементов питания. Для каждого типа почв характерен свой режим и особенности трансформации азота. Изучение форм

азота и их превращения в почве в результате таких агротехнических приемов, как севооборот, представляет интерес для познания путей метаболизма азота в агроценозах.

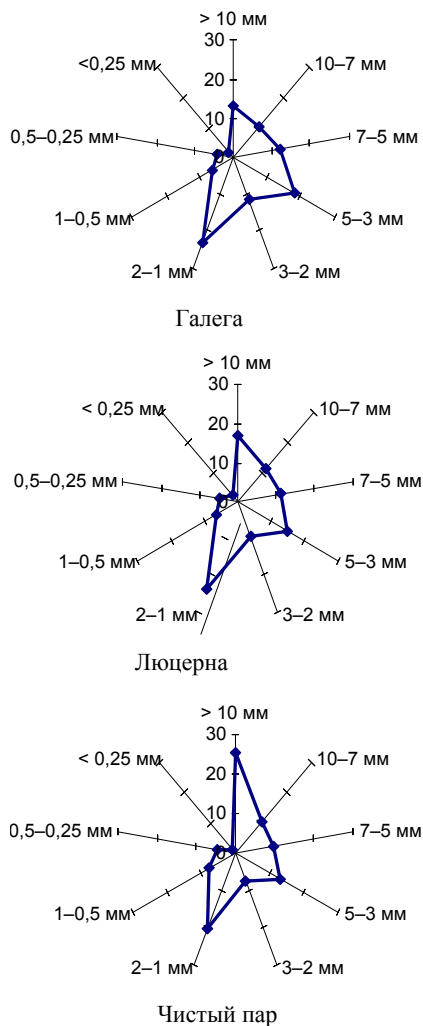


Рис. 2. Распределение структурных фракций чернозема выщелоченного в среднем за 2011–2012 гг.

Этот вопрос особенно актуален для черноземных почв, имеющих значительные запасы азота в биологически инертном состоянии. Использование галеги восточной и люцерны в качестве предшественника, по мнению [21], способствует повышению продуктивности пашни при одновременном сохранении плодородия почвы. С другой стороны, одним из наиболее распро-

страненных предшественников для лесостепной зоны является чистый пар. Все его преимущества как предшественника хорошо известны – накапливается влага, уничтожаются сорные растения, мобилизуются минеральные формы азота. Однако наряду с плюсами обычно выделяют и недостатки. К ним можно отнести повышенную вероятность эрозии, усиление минерализации гумуса, сокращение источников органического вещества в виде растительных остатков, деградацию почвенной структуры. Таким образом, при выборе структуры севооборота перед агрономом обычно стоит задача: чем пожертвовать, а что должно быть в приоритете? Наши исследования направлены на сравнение двух многолетних бобовых трав и чистого пара с точки зрения их азотмобилизующей способности. Легкогидролизуемая фракция азотистых веществ в почве представлена амидами, аминокислотами, аминосохарамии и некоторыми другими лабильными азотсодержащими органическими соединениями и является ближайшим резервом для питания растений [22, 23].

В течение 2011 г. под многолетними культурами характер превращения $N_{\text{гид}}$ свидетельствует о снижении его количества к середине лета и накоплении в осенний период. Обнаруженный спад в летний период, вероятно, обусловлен переходом этой формы в мобильные минеральные соединения, поглощением их растениями, ослаблением процессов гидролиза органических веществ вследствие слабой протеолитической активности. В целом по всем срокам наблюдений 2011 г. выявлена тенденция роста концентрации $N_{\text{гид}}$ под покровом галеги восточной в сравнении с люцерной гибридной и, в большей степени, полем чистого пара (табл. 3).

Т а б л и ц а 3

**Динамика содержания щелочногидролизуемого азота
в слое 0–20 см чернозема выщелоченного, мг/кг**

Сроки наблюдений	Варианты								
	Галега			Люцерна			Чистый пар		
	$\bar{x}$	s_x	$V, \%$	$\bar{x}$	s_x	$V, \%$	$\bar{x}$	s_x	$V, \%$
Июнь 2011	244	9,4	11,5	223	9,8	13,1	207	12,9	18,6
Июль 2011	208	7,9	11,4	192	13,1	20,5	179	8,6	14,4
Сентябрь 2011	217	11,6	16,0	194	9,6	14,8	179	8,0	13,4
Июнь 2012	141	5,2	11,0	148	10,1	18,1	209	15,3	22,0
Июль 2012	210	10,6	15,4	207	13,2	19,0	206	9,5	13,8

Примечание. $\bar{x}$ – средняя арифметическая; s_x – ошибка средней; $V, \%$ – коэффициент вариации.

Тренд увеличения азотсодержащих органических соединений в почве под галегой восточной вызван вовлечением в процесс минерализации поступившего свежего растительного вещества, усилением деятельности корневой системы (образование корневых экссудатов) в результате скашивания. В течение вегетационного сезона 2012 г. в почве под многолетними травами

выявлена противоположная тенденция. К середине вегетационного сезона содержание $N_{\text{шг}}$ существенно возрастало. По-видимому, повышенные температуры воздуха, наблюдаемые в июне – июле, сдерживали минерализационные процессы, способствуя формированию пула легкогидролизуемых соединений. Это согласуется с полученной зависимостью между содержанием $N_{\text{шг}}$ и влажностью почвы (особенно под люцерной – $r = 0,84-0,94$). Согласно ориентировочной шкале ВИУА [24], содержание $N_{\text{шг}}$ под многолетними бобовыми травами соответствовало высокому уровню. В почве стернового парового поля содержание $N_{\text{шг}}$ существенно превышало значения, соответствующие высокой оценке, но уступало многолетним травам в полевой сезон 2011 г. Однако на следующий год эти различия были нивелированы: в июне почва чистого пара существенно превосходила травяные агроценозы по содержанию легкогидролизуемых форм азота. По-видимому, послеуборочное пополнение почвы пожнивно-корневыми остатками однолетнего злака и смена условий увлажнения ($r = 0,9$) способствовали увеличению доли щелочногидролизуемых соединений. Азот является типичным биофильным элементом, и его поведение в почве в первую очередь связано с процессом гумусообразования и биохимической активностью. Являясь подвижным элементом, он быстро реагирует на разнообразные явления в агроценозе, к числу которых можно отнести степень увлажнения, температуру, ритмичность в поглотительно-выделительной деятельности растений, микроорганизмов и др. Это затрудняет выявление общих закономерностей в поведении соединений азота почвы.

Процесс аммонификации, выполняемый многочисленными группами почвенных микроорганизмов, может проходить в широком диапазоне экологических условий. Появление аммония связано не только с биохимическими, но и с физико-химическими процессами, а также с гидротермическими условиями. Многочисленными исследованиями установлено, что интенсивность биохимических процессов, определяющих формирование запасов минерального азота в черноземах Красноярской лесостепи, зависит от гидротермических условий.

Результаты наших исследований обнаружили отсутствие статистически значимой разницы в количестве обменного аммония в почве под многолетними травами (табл. 4).

Обеспеченность аммиачной формой азота, согласно шкале [25], соответствовала низкому уровню. Максимальные количества $N-NH_4$ под посевами трав отмечены в июньские периоды отбора образцов. По мнению [26], крайне низкое содержание аммиачного азота может быть обусловлено высокой нитрификационной способностью почвы и вовлечением аммиачного азота в процессы окисления. Таким образом, ход накопления аммиачного и нитратного азота взаимосвязаны. Это явление отмечено многими исследователями [27, 28]. Оценивая характер изменчивости значений, отметим, что степень варьирования аммиачного азота под галегой была значительнее, чем под люцерной (см. табл. 4).

Т а б л и ц а 4

**Динамика содержания аммонийного азота
в слое 0–20 см чернозема выщелоченного, мг/кг**

Сроки наблюдений	Варианты								
	Галега			Люцерна			Чистый пар		
	x	s_x	$V, \%$	x	s_x	$V, \%$	x	s_x	$V, \%$
Июнь 2011	8,0	0,7	23,4	8,3	0,9	9,1	21,7	2,9	40,5
Июль 2011	4,4	0,7	47,9	7,7	0,9	9,9	4,9	0,4	21,6
Сентябрь 2011	7,8	0,9	33,5	6,4	0,6	7,8	4,3	0,2	15,3
Июнь 2012	8,6	5,1	43,0	7,8	1,0	9,1	4,1	0,5	39,1
Июль 2012	4,4	0,3	38,6	6,9	0,1	14,5	4,1	0,5	33,7

Степень изменчивости содержания восстановительных соединений азота в пределах делянок парового поля превышала 30%. Причем интенсивность накопления обменного аммония в почве под галегой в течение летних месяцев напрямую определялась полевой влажностью ($r = 0,64–0,72$). К осени эта зависимость ослабевала. Тогда как под люцерной в середине вегетации напряженность процессов аммонификации в средней ($r = 0,46$), а в сентябре – в сильной ($r = -0,94$) степени коррелировала с влажностью почвы.

Амплитуда колебаний азота обменного аммония в почве парового поля несколько иная, чем под посевами трав. Самое высокое его значение наблюдалось в июне 2011 г. и свидетельствует об активизации процессов минерализации азотсодержащих органических соединений, способствующих накоплению высоких запасов нитратного азота (табл. 5). По абсолютным значениям $N-NH_4$ в почве поле чистого пара, в частности в 2012 г., существенно уступало многолетним культурам, но его параметры находились в пределах одной градации шкалы обеспеченности.

Т а б л и ц а 5

Динамика содержания нитратного азота в черноземе выщелоченном, мг/кг

Сроки наблюдений	Варианты								
	Галега			Люцерна			Чистый пар		
	x	s_x	$V, \%$	x	s_x	$V, \%$	x	s_x	$V, \%$
Июнь 2011	15,1	1,6	32,3	10,7	0,8	22,0	16,4	1,5	28,4
Июль 2011	3,3	0,4	37,1	4,7	0,8	49,0	18,9	2,5	40,4
Сентябрь 2011	9,6	0,9	27,2	7,4	0,6	23,9	13,0	1,4	31,5
Июнь 2012	17,7	2,5	42,6	11,1	1,9	46,2	36,1	3,6	29,6
Июль 2012	5,8	1,5	75,5	4,3	1,3	93,7	53,1	4,8	27,0

Динамика нитратного азота в почве в значительной степени обусловлена потреблением его растениями. Сезонные изменения нитратонакопления, зафиксированные в 2011–2012 гг. в почве как под люцерной, так и под галегой, были идентичны. Максимум его содержания приходится на начало лета. Позднее его количество заметно сокращалось, что обусловлено расходом на биологическое поглощение. К сентябрю обнаруживалось значимое увеличе-

ние содержания окисленной формы азота. Этот вывод находит подтверждение в наших наблюдениях тем свидетельством, что в почве парового поля обнаруживается значительно большее содержание нитратного азота, чем в почве под многолетними травами. На наш взгляд, выявленные флуктуации связаны с биологическими особенностями изучаемых трав и характером связи с влажностью почвы. Темп и характер накопления нитратного азота в почве под посевами галеги в большей степени определялся запасами влаги ($r = -0,63$ в июне и $r = 0,72$ в сентябре), нежели в почве под люцерной ($r = -0,27$ в июне и $r = -0,44$ в сентябре). Аналогичная тенденция обозначилась и в летние месяцы 2012 г.

В почве парового поля создаются более благоприятные условия для процесса нитрификации. Во все периоды наблюдений выявлено статистически значимое увеличение $N-NO_3$ в сравнении с многолетними бобовыми травами. Причем в летний период 2012 г. содержание окисленных соединений азота существенно превышало «высокий» уровень обеспеченности предшествующего вегетационного сезона 2011 г. Это вызвано влиянием сложившихся гидротермических условий анализируемого периода на течение биохимических процессов в почве. Обозначенные условия практически полностью отражали ситуацию, сложившуюся в почве пара во второй год исследований. В сравнении с другими формами азота, степень варьирования показателей $N-NO_3$ на делянках была на очень высоком уровне, что не позволило рассчитать парные линейные коэффициенты корреляции.

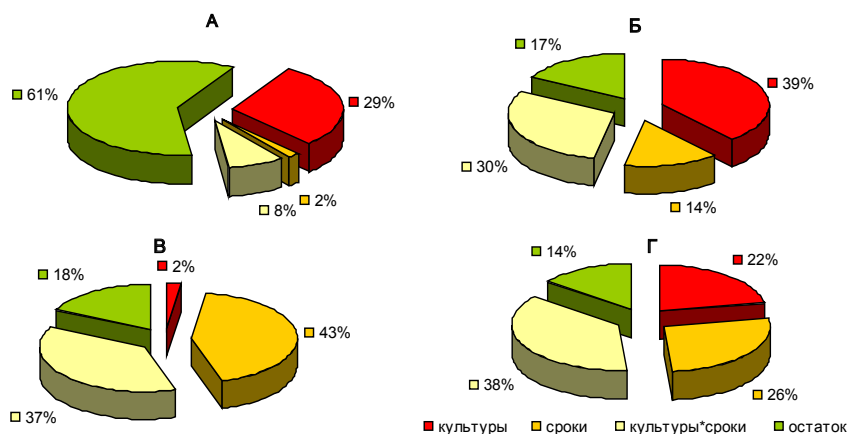


Рис. 3. Влияние исследуемых факторов на структурный состав (А), содержание нитратного (Б), аммонийного (В) и щелочногидролизующего (Г) азота чернозема выщелоченного, культуры – сельскохозяйственные растения изучаемые в опыте, сроки – фактор, указывающий уровень воздействия динамики наблюдений на параметры опыта, остаток – не исследуемые в опыте факторы (шум)

Двухфакторный дисперсионный анализ (ПСВ – показатель силы влияния, %) позволил выявить зависимость содержания структурных отдельно-стей и подвижных соединений азота от ряда изучаемых факторов (рис. 3).

Данные диаграммы иллюстрируют довольно значимый вклад в изменчивость структурного состава фактора «остаток» – не изучаемых в опыте переменных. На наш взгляд, столь существенное воздействие на формирование отдельностей оказал гранулометрический состав почвы: преобладание в его составе крупнопылевой фракции, несвоевременность обработки парового поля, которая, по мнению [29], даже при незначительном изменении от влажности физической спелости приводит к образованию глыб. Второе место по значимости влияния на структуру приходится на воздействие растений. Возможно, это объясняется особенностями развития корневой системы галеги восточной, которая в отличие от люцерны располагается неглубоко, у поверхности почвы. Основную массу корней галега формирует из корневых отпрысков на глубине до 10 см [30].

Степень влияния факторов на мобилизацию щелочногидролизующих соединений азота располагается в следующей убывающей последовательности: взаимодействие (культуры*сроки) > сроки > культуры. Таким образом, разложение органического вещества, с которым связана мобилизация минерального азота, в большой степени зависит от колебаний гидротермических условий и характера трансформации легкоминерализуемых органических соединений, накапливаемых предшествующей культурой. Существенное влияние на характер превращений обменного аммония оказывал фактор «сроки», по-видимому, отразивший колеблемость условий увлажнения и температуры вегетационных сезонов. Интенсивность образования окисленных соединений азота определялась агротехническими и биоклиматическими факторами, что подтверждается данными статистики (см. рис. 3).

Заключение

Результаты исследования позволяют сделать следующие выводы о влиянии многолетних трав и пара на структурный состав и мобилизацию форм азота чернозема Красноярской лесостепи.

1. Коэффициент структурности указывает на «отличный» под многолетними травами и «хороший» в паровом поле уровень структурного состава. Структурный состав почвы под галегой восточной отличался существенным доминированием педов величиной 5–3 и 3–2 мм и наименьшим содержанием крупных отдельностей (> 10 мм) в сравнении с агрофитоценозом люцерны и паровым полем. По-видимому, факторами, обусловившими наименьший выход агрегатов ценного размера в почве парового поля, являются меньшее содержание гумуса, относительно высокое содержание крупной пыли и отсутствие корневых систем растений.

2. По содержанию щелочногидролизующего азота галега восточная имеет преимущество перед люцерной в вегетационный сезон с оптимальным увлажнением. Почва пара уступала травяным агроэкосистемам, однако стер-

невой фон обуславливал повышение $N_{\text{шт}}$ до уровня многолетних трав в засушливых условиях второго вегетационного сезона (2012 г).

3. Содержание аммонийного азота в агроценозе многолетних трав и пара находилось в пределах одной градации и соответствовало низкому классу обеспеченности.

4. Динамика содержания нитратного азота обнаружила преимущества парового поля перед травами, а галеги восточной – перед люцерной.

Литература

1. Бекетов А.Д., Берзин А.М., Таскина В.М. Влияние различных культур в севообороте на структурность и плотность выщелоченного чернозема // Агрофизические исследования почв Средней Сибири : материалы науч. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. А.Г. Дояренко. Красноярск, 1975. С. 145–154.
2. Берзин А.М., Таскина В.М. Влияние обработки и севооборотов на плотность и структурность почв // Агрофизическая характеристика почв степной и сухостепной зон азиатской части СССР. М. : Колос, 1982. С. 93–98.
3. Кураченко Н.Л. Оценка и динамика агрофизического состояния черноземов и серых лесных почв Красноярской лесостепи : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Томск, 2010. 35 с.
4. Крупкин П.И. Агрохимическая характеристика почв // Агрохимическая характеристика почв СССР. Средняя Сибирь. М. : Наука, 1971. С. 69–95.
5. Попова Э.П., Лубите Я.И. Биологическая активность и азотный режим почв Красноярской лесостепи. Красноярск : Красноярское книжное изд-во, 1975. 272 с.
6. Кильби И.Я. Динамика накопления и разложения растительных остатков в поле пара и под яровой пшеницей при различных системах удобрения // Баланс органического вещества и плодородие почв в Восточной Сибири. Новосибирск, 1985. С. 26–32.
7. Чупрова В.В. Углерод и азот в агроэкосистемах Средней Сибири. Красноярск : КрасГУ, 1997. 166 с.
8. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М. : Изд-во МГУ, 1970. 487 с.
9. Иодко С.Л., Шарков И.Н. Новая модификация дисульфифенолового метода определения нитратов в почве // Агрохимия. 1994. № 4. С. 95–97.
10. Зубкова Т.А., Карпачевский Л.О. Матричная организация почв. М. : Рузаки, 2001. 296 с.
11. Долгов С.И. Агрофизические методы исследования почв. М. : Наука, 1966, 257 с.
12. Вершинин П.В. Почвенная структура и условия ее формирования. М. : Изд-во Академии наук СССР, 1958. 187 с.
13. Вередченко Ю.П. Агрофизическая характеристика почв центральной части Красноярского края. М. : Изд-во АН СССР, 1961. 175с.
14. Воронин А.Д. Физические особенности почвы как среды обитания живых существ // Экология и почвы: Избранные лекции I–VII Всероссийских школ. Пущино : ОНТИ ПНЦ РАН, 1998. С. 185–190.
15. Христенко Д.А. Влияние многолетних трав на агрегатный состав чернозема выщелоченного // Земледелие. 2007. № 3. С. 15–16.
16. Иванова Е.П. Динамика структурного состава почвы под люцерной в многолетнем цикле // Земледелие. 2012. № 1. С. 18–19.
17. Чупрова В.В. Поступление и разложение растительных остатков в агроценозах Средней Сибири // Почвоведение. 2001. № 2. С. 204–214.
18. Скрепинский А.И. Особенности оструктурирования почв на юго-востоке // Почвоведение. 1961. № 2. С. 45–51.

19. Пугачев Е.В. Роль компонентов органического вещества в оптимизации физических свойств светло-серых лесных почв пахотных угодий : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Киров, 2007. 22 с.
20. Глушков В.В., Макаров В.И., Юнусов Г.С., Маслова Н.Ф. Козлятник восточный – восстановитель плодородия почвы // Плодородие. 2010. № 4. С. 35–36.
21. Духанин О.А., Кишикаткина А.Н., Варламов В.А. Влияние козлятника восточного на плодородие почвы // Земледелие. 2002. № 4. С. 26–27.
22. Шконде Э.И., Королева И.Е. О природе и подвижности почвенного азота // Агрохимия. 1964. № 10. С. 17–35.
23. Адерихин П.Г., Щербаков А.П. Формы азота в серых лесных почвах Центрально-черноземной полосы // Агрохимия. 1967. № 12. С. 118–121.
24. Ягодин Б.А. Практикум по агрохимии. М. : Агропромиздат, 1987. 512 с.
25. Крупкин П.И. Пути прогнозирования эффективности минеральных удобрений : учеб. пособие. Красноярск : КрасГАУ, 2006. 94 с.
26. Кочергин А.Е., Остроумова О.А. Динамика аммиачного и нитратного азота в прииртышском черноземе под посевами яровой пшеницы // Почвоведение. 1957. № 8. С. 86–92.
27. Бурлакова Л.М. Плодородие Алтайских черноземов в системе агроценоза. Новосибирск : Наука, 1984. 197 с.
28. Славина Т.П. Азот в почвах элювиального ряда : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск, 1980. 54 с.
29. Бахтин П.У. Исследование физико-механических и технологических свойств основных типов почв СССР. М. : Колос, 1969. 272 с.
30. Макаров В.И., Михайлова А.Г. Козлятник восточный в Марий Эл. Йошкар-Ола : МарГУ, 2007. 167 с.

Поступила в редакцию 15.10.2013 г.

Белоусова Елена Николаевна – канд. биол. наук, доцент кафедры почвоведения и агрохимии Красноярского государственного аграрного университета (г. Красноярск, Россия). E-mail: svoboda57130@mail.ru

Tomsk State University Journal of Biology. 2014. № 1 (25). P. 7–25

doi: 10.17223/19988591/25/1

Elena N. Beloysova

Department of Soil and Agrochemistry, Krasnoyarsk State Agrarian University, Krasnoyarsk, Russian Federation. E-mail: svoboda57130@mail.ru

Effect of perennial grasses and fallow on the structural composition and mobilization of mineral nitrogen of chernozem soil of Krasnoyarsk forest steppe

The influence of perennial leguminous grasses and fallow on the structural composition and content of mobile forms of nitrogen of chernozem soil of Krasnoyarsk forest steppe is examined. An “excellent” structural composition was identified under eastern galega and hybrid alfalfa of the 10–11 and 5–6 years of use, respectively. The structural composition of the soil under eastern galega is dominated by pedov of magnitude 3–5 and 2–3 mm and the least content of the largest units (>10 mm), compared to alfalfa agrophitocenosis and fallow field. Two-factor analysis of variance revealed

the dependence of the content of structural units and mobile nitrogen compounds from a number of the studied factors. A significant contribution to the variability of the structural composition of the factor “not examine factors” was found out- not the studied variables in the experiment. Granulometric soil composition has a significant impact on the formation of separate units. Apparently, the factors contributing to the least flow of valuable-size aggregates in the soil of fallow field are smaller humus content, relatively high content of coarse dust and the lack of plant root systems. The soil under fallow gave way to the perennial grass agrocenoses and corresponded to “good” level of structure. The degree of the influence of factors on the mobilization of nitrogen alkaline-hydrolyzable compounds is in the following descending order: interaction (crop * period) > period > crop. It was shown that in the soil under eastern galega, maximum pool of easily hydrolyzable nitrogen is formed, in comparison with alfalfa and fallow in the growing season with optimum moistening. Fallow soil was inferior to herbal agro-ecosystems, but trash cover background conditioned an increase in nitrogen up to the level of perennial grasses under arid conditions of the second growing season (2012 y.). According to the content of ammonium nitrogen, the variants were equal and corresponded to low level. A significant impact on the nature of the transitions of ammonium exchange was made by a factor period”, apparently reflecting the variability of moistening conditions and temperature of growing seasons. The dynamics of nitric nitrogen revealed the advantages of the fallow field before grasses, whereas eastern galega – before alfalfa. The intensity of oxidized nitrogen compounds was determined by agrotechnical and bio-climatic factors, which is proved by statistics.

Key words: soil structure; *Galega orientalis*; soil nitrogen.

Received October, 15, 2013

References

1. Beketov A.D., Berzin A.M., Taskina V.M. Vliyanie razlichnykh kul'tur v sevooborote na strukturnost' i plotnost' vyshchelochennogo chernozema. Agrofizicheskie issledovaniya pochv Sredney Sibiri: Krasnoyarsk, 1975. PP. 145-154. [Beketov AD, Berzin AM, Taskina VM. Influence of various crops in crop rotation on structural properties and density of leached chernozem. In: Proceedings of the conference “*Agrophysical studies of soils of Middle Siberia*”. Krasnoyarsk, 1975. p.145-154] in Russian
2. Berzin A.M., Taskina V.M. Vliyanie obrabotki i sevooborotov na plotnost' i strukturnost' pochv. Agrofizicheskaya kharakteristika pochv stepnoy i sukhostepnoy zon aziatskoy chasti SSSR. M.: Kolos, 1982. PP. 93-98. [Berzin AD, Taskina VM. Influence of cultivation and crop rotation on density and structural properties of soils. In: Agrophysical characteristics of soils of steppe and dry steppe zones of the Asian part of the USSR. Moscow: Kolos; 1982. p. 93-98.] In Russian
3. Kurachenko N.L. Otsenka i dinamika agrofizicheskogo sostoyaniya chernozemov i serykh lesnykh pochv Krasnoyarskoy lesostepi : avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk. Tomsk, 2010. 35 pp. [Kurachenko NL. Evaluation and dynamics of agrophysical constitution of chernozems and gray forest soils in Krasnoyarsk forest-steppe [DrSci Dissertation abstract]. Tomsk: Tomsk State University; 2010. 35 p.] In Russian
4. Krupkin P.I. Agrokhimicheskaya kharakteristika pochv. Agrokhimicheskaya kharakteristika pochv SSSR. Srednyaya Sibir'. M.: Nauka, 1971. PP. 69-95. [Krupkin PI. Agrochemical characteristics of soils. In: *Agrochemical characteristics of the soils of the USSR. Middle Siberia*. Moscow: Nauka; 1971. p. 69-95.] In Russian

5. Popova E.P., Lubite Ya.I. Biologicheskaya aktivnost' i azotnyy rezhim pochv Krasnoyarskoy lesostepi. Krasnoyarsk: Krasnoyarskoe knizhnoe izd-vo, 1975. 272 pp. [Popova EP, Lubite YaI. Biological activity and nitrogen status of soils in Krasnoyarsk forest-steppe. Krasnoyarsk: Krasnoyarsk Publishing House; 1975. 272 p.] In Russian
6. Kil'bi I.Ya. Dinamika nakopleniya i razlozheniya rastitel'nykh ostatkov v pole para i pod yarovoy pshenitsey pri razlichnykh sistemakh udobreniya. Balans organicheskogo veshchestva i plodorodie pochv v Vostochnoy Sibiri. Novosibirsk, 1985. PP. 26-32. [Kilbi IYa. Dynamics of accumulation and decomposition of plant residues on fallow land and under spring wheat using different fertilizer systems. In: *Balance of organic matter and soil fertility in Eastern Siberia*. Novosibirsk: 1985. p. 26-32.] In Russian
7. Chuprova V.V. Uglerod i azot v agroekosistemakh Sredney Sibiri. Krasnoyarsk: KrasGU, 1997. 166 pp. [Chuprova VV. Carbon and nitrogen in agricultural ecosystems. Krasnoyarsk: Krasnoyarsk State University; 1997. 166 p.] In Russian
8. Arinushkina E.V. Rukovodstvo po khimicheskomu analizu pochv. M.: Izd-vo MGU, 1970. 487 pp. [Arinushkina EV. Manual on soil chemical analysis. Moscow: Moscow University Press; 1970. 487 p.] In Russian
9. Iodko S.L., Sharkov I.N. Novaya modifikatsiya disul'fopenolovogo metoda opredeleniya nitratov v pochve. *Agrokhimiya*. 1994. No 4. PP. 95-97. [Iodko SL. New modification of phenoldisulphonic method for determining nitrates in soil. *Agrokhimiya*. 1994;4:95-97.] In Russian
10. Zubkova T.A., Karpachevskiy L.O. Matrichnaya organizatsiya pochv. M.: Rusaki, 2001. 296 pp. [Zubkova TA, Karpachevsky LO. Matrix organization of soils. Moscow: Rusaki; 2001. 296 p.] In Russian
11. Dolgov S.I. Agrofizicheskie metody issledovaniya pochv. M.: Nauka, 1966, 257 pp. [Dolgov SI. Agrophysical soil examination methods. Moscow: Nauka; 1966. 257 p.] In Russian
12. Vershinin P.V. Pochvennaya struktura i usloviya ee formirovaniya. M.: Izd-vo Akademii nauk SSSR, 1958. 187 pp. [Vershinin PV. Soil structure and conditions of its formation. Moscow: Academy of Sciences of the USSR; 1958. 187 p.] In Russian
13. Veredchenko Yu.P. Agrofizicheskaya kharakteristika pochv tsentral'noy chasti Krasnoyarskogo kraya. M.: Izd-vo AN SSSR, 1961. 175 pp. [Veredchenko YP. Agrophysical characteristics of soils of the central part of Krasniyarsk krai. Moscow: Academy of Sciences of the USSR; 1961. 175 p.] In Russian
14. Voronin A.D. Fizicheskie osobennosti pochvy kak sredy obitaniya zhivyykh sushchestv. Ekologiya i pochvy: Izbrannye lektsii I–VII Vserossiyskikh shkol. Pushchino: ONTI PNTs RAN, 1998. PP. 185-190. [Voronin AD. Physical characteristics of soil as a habitat for living organisms. *Ecology and soils: Selected lectures of I–VII All-Russian schools*. Pushchino: ONTI PCS RAS; 1998. p. 185-190.] In Russian
15. Khristenko D.A. Vliyanie mnogoletnikh trav na agregatnyy sostav chernozema vyshchelochennogo. *Zemledelie*. 2007. No 3. PP. 15-16. [Khristenko DA. Influence of perennial grasses on leached chernozem aggregate composition. *Zemledelie*. 2007;3:15-16.] In Russian
16. Ivanova E.P. Dinamika strukturnogo sostava pochvy pod lyutsernoy v mnogoletnem tsikle. *Zemledelie*. 2012. No 1. PP. 18-19. [Ivanova EP. Dynamics of soil structure during lucerne cultivation in long-term cycle. *Zemledelie*. 2012;1:18-19.] In Russian
17. Chuprova V.V. Postuplenie i razlozhenie rastitel'nykh ostatkov v agrotsenozakh Sredney Sibiri. *Pochvovedenie*. 2001. No 2. PP. 204-214. [Chuprova VV. Supply and decomposition of plant residues in agro-ecosystems of Middle Siberia. *Pochvovedenie*. 2001;2:204-214.] In Russian
18. Skrepinskiy A.I. Osobennosti ostrukturivaniya pochv na yugo-vostoke. *Pochvovedenie*. 1961. No 2. PP. 45-51. [Skrepinsky AI. Particularities of soil conditioning in the south-east. *Pochvovedenie*. 1961;2:45-51] In Russian

19. Pugachev E.V. Rol' komponentov organicheskogo veshchestva v optimizatsii fizicheskikh svoystv svetlo-serykh lesnykh pochv pakhotnykh ugodiy: avtoref. dis. ... kand. biol.nauk. Kirov, 2007. 22 pp. [Pugachev EV. The role of organic matter components in optimization of physical properties of light-gray forest soils of arable lands [CandSci Dissertation abstract]. Kirov: 2007. 22 p.] In Russian
20. Glushkov V.V., Makarov V.I., Yunusov G.S., Maslova N.F. Kozlyatnik vostochnyy – vosstanovitel' plodorodiya pochvy. Plodorodie. 2010. No 4. PP. 35-36. [Glushkov VV, Makarov VI, Yunusov GS, Maslova NF. *Galega orientalis* as a soil fertility builder. *Plodorodie*. 2010;4:35-36.] In Russian
21. Dukhanin O.A., Kshnikatkina A.N., Varlamov V.A. Vliyanie kozlyatnika vostochnogo na plodorodie pochvy. *Zemledelie*. 2002. No 4. PP. 26-27. [Duchanin OA, Kshnikatkina AN, Varlamov VA. Influence of *Galega orientalis* on soil fertility. *Zemledelie*. 2002;4:26-27.] In Russian
22. Shkonde E.I., Koroleva I.E. O prirode i podvizhnosti pochvennogo azota. *Agrokhiimiya*. 1964. No 10. PP. 17-35. [Shkonde EI, Koroleva IE. On the nature and soil nitrogen mobility. *Agrokhiimiya*. 1964;10:17-35.] In Russian
23. Aderikhin P.G., Shcherbakov A.P. Formy azota v serykh lesnykh pochvakh Tsentral'no-chernozemnoy polosy. *Agrokhiimiya*. 1967. No 12. PP. 118-121. [Aderichin PG, Shcherbakov AP. Nitrogen forms in gray forest soils of Central Black Earth Region. *Agrokhiimiya*. 1967;12:118-121.] In Russian
24. Yagodin B.A. Praktikum po agrokhimii. M.: Agropromizdat, 1987. 512 pp. [Yagodin BA. Manual on agrochemistry. Moscow: Agropromizdat; 1987. 512 p.]
25. Krupkin P.I. Puti prognozirovaniya effektivnosti mineral'nykh udobreniy: ucheb. posobie. Krasnoyarsk: KrasGAU, 2006. 94 pp. [Krupkin PI. Ways of predicting fertilizer effectiveness: study guide. Krasnoyarsk: Krasnoyarsk State University; 2006. 94 p.] In Russian
26. Kochergin A.E., Ostroumova O.A. Dinamika ammiachnogo i nitratnogo azota v priirtyshskom chernozeme pod posevami yarovoy pshenitsy. *Pochvovedenie*. 1957. No 8. PP. 86-92. [Kochergin AE, Ostroumova OA. Dynamics of ammonia and nitrate nitrogen in Priirtyshsky chernozem under spring wheat. *Pochvovedenie*. 1957;8:86-92.] In Russian
27. Burlakova L.M. Plodorodie Altayskikh chernozemov v sisteme agrotsenoza. Novosibirsk: Nauka, 1984. 197 pp. [Burlakova LM. Soil fertility of Altai chernozems in agro-ecosystems. Novosibirsk: Nauka; 1984. 197 p.] In Russian
28. Slavnina T.P. Azot v pochvakh elyuvial'nogo ryada: avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk. Novosibirsk, 1980. 54 pp. [Slavnina TP. Nitrogen in sedentary soils [DrSci Dissertation abstract]. Novosibirsk: 1980. 54 p.] In Russian
29. Bakhtin P.U. Issledovanie fiziko-mekhanicheskikh i tekhnologicheskikh svoystv osnovnykh tipov pochv SSSR. M.: Kolos, 1969. 272 pp. [Bachtin PU. Study of physical, mechanical and technological properties of main soil types in the USSR. Moscow: Kolos; 1969. 272 p.] In Russian
30. Makarov V.I., Mikhaylova A.G. Kozlyatnik vostochnyy v Mariy El. Yoshkar-Ola: MarGU, 2007. 167 pp. [Makarov VI. *Galega orientalis* in Mari El. Yoshkar-Ola: Mari El State University; 2007. 167 p.] In Russian

УДК 631.41 : 631.81

doi: 10.17223/19988591/25/2

В.Н. Якименко¹, А.А. Малюга²

¹ *Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, г. Новосибирск, Россия*

² *Сибирский НИИ земледелия и химизации сельского хозяйства
Россельхозакадемии, р.п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия*

Зависимость агроэкологического состояния почвы от баланса калия в агроценозе

В длительном полевом опыте на серой лесной почве показано, что оптимизация минерального питания растений способствует существенному росту их продуктивности и повышению эффективного плодородия почвы. Выявлены закономерности изменения агрохимических свойств почвы при внесении возрастающих доз калийных удобрений (на фоне NP). Установлена зависимость изменения численности различных групп почвенных микроорганизмов от баланса калия в агроценозе. Показано значительное увеличение численности бактерий и актиномицетов в почве агроценоза при сбалансированном применении удобрений. Установлено, что одностороннее внесение азотных удобрений при истощенном калийном фонде почвы способствует резкому возрастанию популяции грибов, в том числе патогенных; оптимизация почвенного калийного состояния обеспечивает значительное сокращение численности грибов в почве агроценоза.

Ключевые слова: агроценоз; почва; калий; агрохимические свойства почвы; почвенные микроорганизмы.

Введение

Современная парадигма природопользования вообще и земледелия в частности обуславливает необходимость учета экологических законов и принципов. Экологизация земледелия предусматривает оптимизацию циклов биогенных элементов в агроландшафтах с их активным балансом, повышение продуктивности и экологической устойчивости агроценозов, сохранение и восстановление биоразнообразия. Эти важные, экологически обусловленные задачи земледелия могут быть решены только при научно обоснованном использовании средств химизации, в том числе минеральных удобрений [1–3].

В многочисленных исследованиях, проведенных как в нашей стране, так и за рубежом, показана существенная роль агрохимических средств в регулировании круговорота питательных элементов в агроэкосистемах, сохранении плодородия почвы, повышении адаптационного потенциала растений к неконтролируемым факторам внешней среды, изменении биологической активности и структуры почвенного микробиоценоза, а также в решении других важных агрономических и экологических задач.

Использование минеральных удобрений в отечественном земледелии в целом и особенно в сибирском в настоящее время находится на весьма невысоком уровне; при этом соотношения вносимых макроэлементов далеки от оптимальных [4–6]. Наименьшее внимание уделяется регулированию режима калия в агроценозах – калийные удобрения зачастую практически не применяются, баланс элемента является перманентно сильнодефицитным. Очевидно, что имеет место недоучет или даже игнорирование важных экологических законов – равнозначности и незаменимости факторов жизни растений, возврата, минимума, что, несомненно, может самым негативным образом отразиться на агрохимическом и экологическом состоянии пахотных почв.

Значение калия в функционировании антропогенных и естественных экосистем показано в ряде работ [5, 7–9 и др.]. Отмечается роль калия в повышении продуктивности культур и качества продукции, усилении эффекта от других средств химизации, улучшении фитосанитарного состояния агроэкосистем, снижении поступления радионуклидов в растения; рассматриваются геохимические особенности поведения калия в различных почвах, а также некоторые иные функции элемента. Однако в Западной Сибири работы, посвященные выявлению влияния калийного режима на почвенно-геохимическое, агрохимическое, микробиологическое, экологическое состояние агроценозов, в целом немногочисленны, что обуславливает актуальность и необходимость проведения подобных исследований.

Цель нашей работы – в длительных полевых стационарных опытах исследовать влияние баланса калия на агрономическое, агрохимическое и экологическое состояние агроценоза.

Материалы и методики исследования

Полевой стационарный мелкоделяночный опыт по изучению влияния минеральных удобрений на эколого-агрохимическую ситуацию в агроценозе был заложен в 1988 г. на исходно целинной серой лесной почве со следующими характеристиками (слой 0–20 см): содержание гумуса – 4,9%, физической глины – 30,8%, емкость катионного обмена – 21,1 мг-экв./100 г; валовое содержание азота – 0,22%, фосфора – 0,15% (подвижного – 18 мг/100 г), калия – 1,5% (обменного – 12 мг/100 г). Опыт проводится на научном стационаре ИПА СО РАН, расположенном в Искитимском районе Новосибирской области. Закладку и проведение опыта осуществляли по общепринятой методике [10]; первые годы выращивали овощные культуры в севообороте, а с 2000 г. картофель в монокультуре [5].

Опыты проводили по следующей схеме: вариант 0 – непрерывный многолетний пар (без растений и удобрений), 1 – без удобрений (контроль), 2 – NP (фон – вносили азотные и фосфорные удобрения из расчета 100% компенсации выноса элементов планируемым урожаем выращиваемой культуры), 3 – NP + K, 25% (калий в дозе 25% от выноса планируемым уро-

жаем), 4 – NP + K, 50%, 5 – NP + K, 75%, 6 – NP + K, 100%, 7 – NP + K, 125%. Повторность в опытах – четырехкратная. Удобрения в форме аммиачной селитры, двойного суперфосфата и хлористого калия вносили ежегодно весной перед посевом семян, высадкой рассады или клубней. Конкретные дозы удобрений под каждую выращиваемую культуру, данные по продуктивности культур в зависимости от уровня их минерального питания, а также по содержанию элементов в основной и побочной продукции опубликованы нами ранее [5]. Дозы вносимых в опыте минеральных удобрений под картофель, а также полученные урожаи клубней за последние годы показаны в табл. 1.

Т а б л и ц а 1

**Ежегодные дозы минеральных удобрений и урожайность картофеля
в полевом стационарном опыте**

Вариант опыта	Дозы, кг д.в./га			Урожай клубней, ц/га				
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	2009 г.	2010 г.	2011 г.	2012 г.	Сред- нее
Без удобрений	–	–	–	78	62	81	84	76
NP	100	60	–	125	78	95	80	95
NPK _{25%}	100	60	30	203	135	178	92	157
NPK _{50%}	100	60	60	291	182	239	133	216
NPK _{75%}	100	60	90	298	187	253	144	226
NPK _{100%}	100	60	120	309	187	274	148	235
NPK _{125%}	100	60	150	342	202	312	162	260
HCP ₀₅				32	23	24	22	

Почвенные образцы анализировали стандартными методами [11]: гумус определяли по Тюрину, pH – на потенциометре, емкость поглощения почвы – по Бобко и Аскинази, легкогидролизуемый азот – по Тюрину и Кононовой, нитратный азот – на иономере, обменный аммоний – с реактивом Несслера, фиксированный аммоний – по Могилевкиной, подвижный фосфор – по Чирикову, степень подвижности фосфатов – по Карпинскому и Замятиной, фракционный состав минеральных фосфатов – по Гинзбург и Лебедевой, обменные катионы (Ca, Mg, K) – в вытяжке 1 М раствора CH₃COONH₄, легкообменный калий – в 0,0025 М CaCl₂, необменный калий – в 1 М HNO₃.

Определение численности бактерий, актиномицетов и грибов в почвенных образцах проводили стандартными методами [12]. Заселенность почвы пропágaулами гриба *R. solani* определяли методом множественных почвенных таблеток [13]. Пораженность растений картофеля ризоктониозом – по методике [14].

Результаты исследования и обсуждение

Важнейшей проблемой агрохимии является обеспечение экологически и экономически оптимального баланса биогенных элементов в агроценозах.

Результаты проведенных нами исследований показали, что длительная эксплуатация естественного плодородия почвы без использования удобрений в контрольном варианте опыта привела к формированию в агроценозе резко отрицательного баланса элементов питания растений (табл. 2). В фоновом варианте сложился профицитный баланс азота и фосфора, однако сильный дефицит даже одного элемента – калия – существенно ограничивал урожайность культур до уровня, близкого к контрольному варианту. Отметим, что безлимитное азотно-фосфорное питание культур в фоновом варианте не способствовало значительной дополнительной мобилизации почвенных запасов калия по сравнению с контролем; баланс калия на этих вариантах опыта был близким.

Баланс азота, равно как и фосфора, в вариантах с внесением возрастающих доз калийных удобрений (кроме наименьшей дозы – К 25%) был примерно одинаковым, несмотря на прогрессивный рост урожайности культур. Очевидно, это свидетельствует о более рациональном использовании растениями элементов при оптимизированном питании. Профицит баланса калия закономерно нарастал по мере повышения вносимых его доз.

Урожайность выращиваемых культур в опыте (табл. 1, 2) варьировала по годам в связи с различной тепло- и влагообеспеченностью, однако закономерность повышения продуктивности растений по мере оптимизации условий их минерального питания очевидна.

Различный уровень минерального питания растений в вариантах многолетнего опыта заметно отразился на ряде параметров эколого-агрохимического состояния почвы.

Важным интегральным показателем почвенного состояния является содержание гумуса, который улучшает физико-химические свойства почвы, ее биологическую активность и структуру микробиоценоза. Содержание гумуса в почве, отражающее общий уровень ее потенциального плодородия, снизилось за время проведения опытов в варианте «бессменный пар» примерно на 20% по сравнению с целиной (табл. 3). Это снижение произошло главным образом за первые 8–10 лет эксплуатации почвы и в дальнейшем практически прекратилось, что свидетельствует об установившемся в условиях агроценоза новом стационарном уровне гумуса. Выращивание растений и, соответственно, увеличение числа различных обработок почвы (рыхление и т.п.) привело к дальнейшему снижению содержания гумуса. Однако в этих вариантах четко прослеживается тенденция роста содержания гумуса в почве по мере увеличения урожайности выращиваемых на ней культур, очевидно за счет большего поступления корневых и послеуборочных остатков. Оптимизация минерального питания растений способствовала поддержанию содержания гумуса в почве агроценоза на заметно более высоком уровне по сравнению с вариантом экстенсивного использования почвы (контроль).

Таблица 2

**Общий урожай культур и баланс элементов питания
в полевом опыте за 1988–2012 гг.**

Вариант	Урожай, ц к.е./га	Азот, кг/га			Фосфор, кг/га			Калий, кг/га		
		Вы- нос	Посту- пление	Ба- ланс	Вы- нос	Посту- пление	Ба- ланс	Вы- нос	Посту- пле- ние	Баланс
Без удобрений	1 793	2 102	–	–2 102	615	–	–615	1 728	–	–1 728
NP	2 082	2 829	3 120	292	858	1 800	942	1 800	–	–1 800
NPК _{25%}	2 610	3 497	3 120	–377	1 067	1 800	733	2 399	1 304	–1 095
NPК _{50%}	2 962	3 756	3 120	–636	1 145	1 800	655	2 997	2 608	–389
NPК _{75%}	2 975	3 803	3 120	–683	1 155	1 800	645	3 443	3 912	469
NPК _{100%}	3 126	3 784	3 120	–664	1 152	1 800	648	3 855	5 216	1 361
NPК _{125%}	3 233	3 793	3 120	–673	1 157	1 800	643	4 631	6 520	1 889

Таблица 3

Изменение агрохимических свойств почвы в агроценозе

Вариант	Гумус, %	рН водн.	Емкость по- глощения почвы, мг-экв / 100 г	Обменные катионы			Калий	
				Са	Mg	К	легкооб- менный	необмен- ный
				мг/ 100 г почвы				
Целина	4,89	7,3	21,3	402	17	11	1,7	118
Пар	4,05	7,2	21,5	343	15	13	1,5	120
Без удобрений	3,69	7,2	21,1	326	12	8	0,5	90
NP	3,74	6,9	21,8	375	12	8	0,5	90
NPК _{25%}	3,85	6,9	21,7	369	10	10	0,8	103
NPК _{50%}	3,86	6,9	21,4	358	9	13	1,0	110
NPК _{75%}	3,88	6,9	21,4	359	9	18	1,5	123
NPК _{100%}	3,92	6,9	21,5	358	8	21	2,8	144
NPК _{125%}	3,96	6,9	21,5	341	8	40	6,8	183
HCP ₀₅	0,4	0,2	0,5	18	4,4	7,1	1,5	12

Реакция почвенного раствора при сельскохозяйственном использовании почвы без применения минеральных удобрений (пар, контроль) практически не изменилась по сравнению с целиной (табл. 3). Длительное же применение азотных удобрений вызвало некоторое подкисление почвы, при этом дополнительное внесение возрастающих доз калия не повлияло на показатель pH.

Емкость катионного обмена почвы (ЕКО) мало изменилась при ее сельскохозяйственном освоении и различной интенсивности применения мине-

ральных удобрений (табл. 3). Очевидно, что базовые почвенные свойства, в основном определяющие ЕКО, – минералогический и гранулометрический состав – довольно устойчивы к антропогенной нагрузке.

Длительное применение калийных удобрений в агроценозе, а также их неиспользование, как и можно было ожидать, заметно повлияли на содержание форм калия в почве (табл. 3). В вариантах с сильным калийным дефицитом содержание обменного калия в почве, снизившись примерно до 8 мг/100 г за первые несколько лет сельскохозяйственного использования участка, в дальнейшем стабилизировалось и не отражало убыль почвенных запасов элемента в связи с их потреблением выращиваемыми культурами. Аналогичная ситуация была и с легкообменной формой калия. Снижение же содержания необменного калия в почве этих вариантов было более плавным, однако замедление его темпов в последние годы свидетельствует о достижении и этой формой элемента определенного стабильно низкого уровня. Растения, выращиваемые на почве с «минимальным» уровнем содержания калия, испытывали явный дефицит этого элемента, что самым негативным образом влияло на их рост и развитие.

Содержание форм калия в почве на уровне, близком к целинному, сохранялось при небольшом дефиците калийного баланса в агроценозе. Очевидно, внесение калийных удобрений (на фоне NP) и оптимизация питания культур способствовали дополнительной мобилизации почвенных запасов калия, более прочно связанного с минеральной основой почвы и не извлекаемого экстрагентами, используемыми в наших исследованиях. При положительном калийном балансе по мере роста его профицита содержание всех форм калия в почве заметно увеличивалось (табл. 3). Следует отметить, что изменение уровня всех форм калия произошло главным образом в верхнем пахотном горизонте почвы [15].

Сельскохозяйственное освоение целинной почвы и систематическое внесение в нее минеральных удобрений отразились на почвенном содержании обменных катионов (табл. 3). Содержание обменного кальция в почве пара очень существенно уменьшилось по сравнению с целинным участком, по-видимому, за счет выщелачивания этого элемента. Выращивание растений на контрольном варианте опыта привело к дальнейшему понижению уровня кальция в почве, однако очевидно, что потери этого элемента от выщелачивания значительно превосходят его вынос урожаями культур (по крайней мере при невысокой их продуктивности). Содержание обменного кальция в почве фонового варианта существенно возросло по сравнению с контролем, несмотря на близкую урожайность культур на этих участках, что связано, вероятно, с систематическим применением двойного суперфосфата, содержащего значительное количество этого элемента. При внесении возрастающих доз калийных удобрений на фоне NP отмечалась явная тенденция снижения в почве уровня обменного кальция. Причиной этого явления послужил, с одной стороны, прогрессивный рост урожайности культур

по мере улучшения условий их минерального питания, а с другой стороны, калий, при высоких дозах его внесения (К 125%), видимо, вытеснял некоторую часть ионов кальция из почвенного поглощающего комплекса.

Снижение содержания обменного магния в почве агроценоза было, на наш взгляд, в большей степени обусловлено выносом этого элемента урожаями выращиваемых культур, нежели процессом выщелачивания. Оптимизация калийного состояния почвы и сопутствующий ей рост урожайности растений привели к заметному уменьшению почвенного уровня обменного магния (табл. 3). Учитывая важность магния для сбалансированного питания растений и его намного меньшие по сравнению с кальцием почвенные запасы, обеспеченности выращиваемых культур этим элементом в интенсивных агроценозах следует уделять дополнительное внимание.

Эффективное плодородие почвы в отношении азота и фосфора характеризуется прежде всего содержанием в ней подвижных форм этих элементов [16, 17]. В связи с тем, что внесение NP-удобрений служило фоном при изучении калийного режима в агроценозе, изменения некоторых показателей азотного и фосфорного состояния почвы в опыте показаны для наиболее контрастных вариантов (табл. 4, 5).

Перманентная минерализация органического вещества почвы при ее длительном паровании привела к заметному повышению содержания в ней легкогидролизуемого и сопряженного с ним нитратного азота (табл. 4). В то же время при обеспечении потребностей растений в азоте только за счет его почвенных запасов на контрольном варианте опыта уровень этих форм азота в почве существенно упал. Отметим, что содержание легкогидролизуемого и нитратного азота в почве отражало как степень ее удобренности, так и эффективность использования внесенного азота удобрений.

Таблица 4

Содержание форм азота в почве полевого опыта, мг N /кг

Вариант	Азот		Аммоний	
	легкогидролизуемый	нитратный	обменный	фиксированный
Целина	85	7	12	165
Пар	98	21	9	164
Без удобрений	67	8	9	151
NP	138	43	14	145
NPK _{100%}	102	17	9	209
HCP ₀₅	17	11	3	28

Содержание обменного аммония в почве агроценоза было достаточно стабильным, что свидетельствует о слабых диагностических возможностях этого показателя. Лишь при положительном балансе азота и дефиците калия (вариант NP) уровень обменного аммония в почве агроценоза существенно возрос (табл. 4). Фиксация аммония почвой в сильной степени зависела от ее калийного состояния [18]; в почве с истощенными запасами калия содер-

жание необменного аммония заметно снизилось (вероятно, до «минимального» уровня), тогда как при бездефицитном калийном балансе в агроценозе количество фиксированного аммония в почве значительно увеличилось. В целом очевидно, что оптимизация калийного состояния почвы существенно влияла на почвенный фонд минерального азота, усиливая потребление растениями нитратов [15] и регулируя процессы фиксации-мобилизации аммония [18].

Фракционный состав минерального фосфора почвы является информативным показателем ее фосфорного состояния [17]. Изменение фосфорного фонда почвы агроценозов в наших опытах отразилось на составе минеральных форм фосфатов (табл. 5). Самой динамичной была фракция наиболее растворимых форм фосфатов щелочных и щелочноземельных металлов (Ca-P_I) – при дефицитном балансе фосфора ее содержание в почве снизилось в несколько раз по сравнению с паром, а при положительном балансе – значительно возросло. Содержание фракций разноосновных фосфатов кальция (Ca-P_{II}) и фосфатов полуторных окислов (Al-P и Fe-P) варьировало существенно меньше, причем по мере снижения степени растворимости отдельных форм минерального фосфора различия в их содержании между вариантами опыта сглаживались. Количество фракции высокоосновных фосфатов кальция типа апатита (Ca-P_{III}) в почве при различной агрогенной нагрузке на нее практически не изменилось, фиксации внесенного с удобрением фосфора в труднодоступной форме не наблюдалось. Очевидно, что трансформация фонда минеральных фосфатов почвы при ее сельскохозяйственном использовании происходила прежде всего за счет наиболее доступной растениям фракции Ca-P_I , вызывая соответствующие изменения эффективного почвенного плодородия. Внесение повышенных доз фосфорных удобрений способствовало накоплению запасов доступного растениям фосфора и, вероятно, повышению степени мобильности имевшихся почвенных фосфатов [17].

Таблица 5

Изменение фосфорного состояния почвы в агроценозе

Вариант	Фракционный состав минеральных фосфатов					Подвижный фосфор	Степень подвижности фосфатов
	Ca-P _I	Ca-P _{II}	Al-P	Fe-P	Ca-P _{III}		
	мг/100 г почвы						мг/л
Пар	12,5	6,3	4,6	5,5	47,2	18	0,3
Без удобрений	2,5	2,3	2,6	3,4	47,2	9	следы
NP	32,9	7,4	6,8	8,2	46,9	44	2,0
NPK _{100%}	26,6	7,3	5,8	7,2	46,8	43	1,9
НСП ₀₅	5,4	2,6	2,2	1,3	6,1	4,4	0,2

Содержание подвижного фосфора (по Чирикову) в почве контрольного варианта опыта снизилось примерно в два раза по сравнению с паром и целиной; этот уровень оставался достаточно стабильным в течение последних ряда лет. При положительном балансе фосфора в агроценозе содержание его подвижной формы в почве существенно повысилось (табл. 5).

Важным показателем способности твердой фазы почвы отдавать в раствор ионы фосфора является степень подвижности почвенных фосфатов. В почве агроценоза, где потребность культур в фосфоре обеспечивалась за счет естественного плодородия, степень подвижности фосфатов снизилась до минимального уровня. Очевидно, что при таком фосфорном состоянии почвы питание выращиваемых на ней культур было сильно лимитировано. В вариантах с внесением фосфорных удобрений показатель степени подвижности почвенных фосфатов демонстрировал высокую обеспеченность выращиваемых культур доступным фосфором.

Проведенные исследования показали, что длительное сельскохозяйственное использование почвы оказало значительное воздействие на различные компоненты агроэкосистемы, в том числе микробиологический комплекс. Интенсивность использования удобрений и уровень минерального питания растений в агроценозе заметно повлияли на структуру микробоценоза и численность основных групп микроорганизмов (табл. 6–8).

Численность бактерий в почве вариантов опыта существенно различалась (табл. 6). В почве контрольного и фонового вариантов количество бактерий (800–840 тыс. КОЕ/г абсолютно-сухой (а.с.) почвы в среднем за вегетацию) несколько уменьшилось относительно пара (960 тыс.), что связано, очевидно, как со значительным снижением содержания подвижных форм макроэлементов, так и с их неблагоприятным соотношением, прежде всего N и K. По мере улучшения условий калийного питания растений (на фоне NP) в опыте прогрессивно увеличивалась и численность почвенных бактерий. Максимальное количество этих микроорганизмов (1,9 млн) отмечено в варианте NPK_{100%}, что свидетельствует о сложившихся относительно оптимальных условиях функционирования почвенного бактериального ценоза. При дальнейшем увеличении дозы вносимых калийных удобрений численность этой группы микроорганизмов несколько снижалась (до 1,6 млн), вероятно, из-за повышения концентрации солей в почвенном растворе. Статистическая обработка данных свидетельствует о статистически значимом увеличении численности бактерий в вариантах с оптимизированным фоном минерального питания по сравнению с контрольными вариантами.

Общая численность бактерий в почве всех вариантов опыта существенно возрастала в течение периода вегетации растений (табл. 6). Наименьшей (по срокам наблюдения) эта величина была в фазу всходов картофеля и составляла в среднем по опыту около 700 тыс. КОЕ/г почвы. К середине вегетации число бактерий в почве возросло почти в два раза, а в конце периода – в фазу созревания клубней картофеля – достигло 1,9 млн КОЕ/г почвы.

Т а б л и ц а 6

**Общая численность бактерий в пахотном слое почвы агроценоза,
тыс. КОЕ /г а.с. почвы**

Вариант	Период отбора почвенных проб			Среднее по фону минерального питания
	1	2	3	
Пар	541	1 122	1 227	963
Без удобрений	552	885	990	809
NP	526	768	1 220	838
NPK _{25%}	582	1 138	1 830	1 183
NPK _{50%}	592	1 714	1 953	1 419
NPK _{75%}	644	1 660	2 530	1 611
NPK _{100%}	1122	1 426	3 120	1 889
NPK _{125%}	968	1 424	2 364	1 585
Среднее по периоду	691	1 267	1 904	
HCP ₀₅ по факторам	фон – 646; период отбора – 395			

Примечание. Здесь и далее. Периоды отбора проб: 1 – полные всходы картофеля, 2 – полная бутонизация, 3 – созревание.

Численность актиномицетов в почве различных вариантов опыта колебалась в среднем за вегетацию от 70 тыс. до 130 тыс. КОЕ/г почвы (табл. 7). Закономерность изменения их количества в зависимости от уровня минерального питания растений в агроценозе была аналогична таковой для бактериального ценоза. Наименьшее число актиномицетов в почве отмечалось в вариантах без внесения минеральных удобрений или с несбалансированными их дозами. Численность этой группы микроорганизмов достигала максимума в почве с оптимальным калийным состоянием и статистически значимо превышала таковую в контрольном и фоновом вариантах. Следует отметить, что актиномицеты, в отличие от бактерий, не столь негативно реагировали на NP-удобрение – их численность в почве фонового варианта (NP) имела тенденцию к увеличению по сравнению с контролем.

Таким образом, проведенные исследования показали, что численность почвенных прокариот – бактерий и актиномицетов – хорошо отражает уровень эффективного почвенного плодородия, который формируется в результате длительного применения (или неприменения) минеральных удобрений. Наивысшая в опытах численность этих групп микроорганизмов отмечалась в почве вариантов со сбалансированным минеральным питанием растений, на которых была достигнута и наиболее высокая урожайность выращиваемых культур. В то же время минимальное количество прокариот содержалось в почве агроценозов с экстенсивным ее использованием или длительным внесением только азотно-фосфорных удобрений; продукционный процесс растений на этих почвенных участках был явно лимитирован.

Характер изменения численности грибов в почве агроценоза на различных фонах минерального питания в нашем опыте (табл. 8) был диаметрально-

но противоположен характеру варьирования других групп микроорганизмов – бактерий и актиномицетов. Наивысшая численность грибов (7,7 тыс. КОЕ/г в среднем за вегетацию) отмечалась в почве варианта с внесением только NP-удобрений и, соответственно, повышенным (избыточным) содержанием подвижных форм минерального азота при истощенном калийном фонде. Оптимизация калийного состояния почвы при сбалансированном применении минеральных удобрений приводила к статистически значимому снижению (до 4,1–4,2 тыс. КОЕ/г почвы) популяции этой группы микроорганизмов в почве агроценоза.

Таблица 7

**Общая численность актиномицетов в пахотном слое почвы агроценоза,
тыс. КОЕ /г а.с. почвы**

Вариант	Период отбора почвенных проб			Среднее по фону минерального питания
	1	2	3	
Пар	91	44	54	63
Без удобрений	42	66	70	59
NP	60	96	100	85
NPK _{25%}	44	92	164	101
NPK _{50%}	48	137	158	114
NPK _{75%}	84	182	163	143
NPK _{100%}	113	146	174	144
NPK _{125%}	96	136	190	142
Среднее по периоду	72	112	134	
HCP ₀₅ по факторам	фон – 64; период отбора – 58			

Наиболее рельефные различия по численности почвенных грибов между вариантами нашего опыта (более чем в 4 раза) наблюдались в самом начале вегетации. В это время в почве варианта NP их содержалось около 10 тыс. КОЕ/г, тогда как в вариантах NPK_{50–125%} – 2,2–2,4 тыс. Очевидно, что в этот период концентрация в почвенном растворе элементов, внесенных с удобрениями, была наиболее высока, что отчетливо отразилось на популяции грибов. По мере потребления растениями в течение вегетации питательных веществ и снижения, соответственно, их концентрации в почвенном растворе разница между вариантами по численности грибов в почве сглаживалась, а в конце вегетации различий практически не было.

Известно, что многие грибы являются патогенными организмами, ведущими паразитарный образ жизни и вызывающими ряд болезней на растениях, например, ризоктониоз – распространенное и вредоносное заболевание картофеля. Определение численности пропагул ризоктонии в почве вариантов нашего опыта (табл. 9) показало, что изменение популяции этого гриба в зависимости от уровня азотного и калийного питания подчиняется общей

закономерности, характерной для всего грибного ценоза. При одностороннем применении азотных удобрений численность ризоктонии в почве резко увеличивалась, а по мере дополнительного внесения возрастающих доз калийных удобрений – существенно снижалась. В начале и середине вегетации в почве вариантов с повышенными дозами калийных удобрений пропагул ризоктонии вообще обнаружить не удалось. Лишь в конце вегетационного периода, в фазу созревания клубней, при общем возрастании численности гриба в почве всех вариантов опыта, небольшое количество пропагул отмечалось и в почве с повышенным содержанием калия.

Т а б л и ц а 8

**Общая численность грибов в пахотном слое почвы агроценоза,
тыс. КОЕ /г а.с. почвы**

Вариант опыта	Период отбора почвенных проб			Среднее по фону минерального питания
	1	2	3	
Пар	3,40	1,97	6,90	4,09
Без удобрений	2,09	1,84	5,18	3,04
NP	9,98	5,66	7,40	7,67
NPK _{25%}	4,92	4,76	7,38	5,69
NPK _{50%}	2,38	3,08	7,58	4,35
NPK _{75%}	2,34	2,20	7,76	4,10
NPK _{100%}	2,26	2,70	7,58	4,18
NPK _{125%}	2,24	2,85	7,74	4,28
Среднее по периоду	3,70	3,13	7,19	
HCP ₀₅ по факторам	фон – 2,70; период отбора – 2,88			

Т а б л и ц а 9

Общая численность пропагул ризоктонии в пахотном слое почвы, шт./100 г

Вариант	Период отбора почвенных проб			Среднее по фону минерального питания
	1	2	3	
Пар	0	0	0	0
Без удобрений	12,5	12,1	4,3	9,6
NP	24,3	15,5	46,0	28,6
NPK _{25%}	19,7	12,7	14,0	15,5
NPK _{50%}	14,4	4,3	21,2	13,3
NPK _{75%}	6,0	0	13,0	6,3
NPK _{100%}	0	0	4,2	1,4
NPK _{125%}	0	0	4,4	1,5
Среднее по периоду	9,6	5,6	13,4	
HCP ₀₅ по факторам	фон – 3,3; период – 2,0; частные средние – 5,7			

Поражаемость растений картофеля ризоктониозом в вариантах опыта закономерно возрастала с повышением численности ризоктонии в почве. Так, в варианте NP распространенность ризоктониоза на растениях в фазу уборки урожая составляла: на ботве – 45%, на клубнях – 95%, тогда как в вариантах NPK_{100–125%} болезнью было поражено не более 7% растений.

Заключение

Исследования, проведенные в многолетнем стационарном полевом опыте, показали, что бездефицитный баланс калия в агроценозе существенно улучшает агрохимическое и экологическое состояние как почвы, так и агроценоза в целом. Оптимизация калийного статуса почвы агроценоза, при достаточной ее обеспеченности азотом и фосфором, способствовала значительному росту урожайности выращиваемых культур и повышению эффективности использования растениями элементов питания. Длительное внесение возрастающих доз калийных удобрений не оказало отрицательного воздействия на почвенные агрохимические свойства по сравнению с NP-фоном: емкость поглощения и кислотность почвы практически не изменились, а содержание гумуса несколько возросло. Уровень калия в почве в определенной степени влиял на ее азотный режим, регулируя процессы фиксации – мобилизации аммония и масштабы потребления нитратного азота. Интенсивность использования калийных удобрений наибольшее влияние оказала на почвенный состав обменных катионов – при повышенных дозах вносимого калия содержание в почве магния и особенно кальция заметно снижалось.

Различная интенсивность использования минеральных удобрений в агроценозе отразилась на функционировании микробного сообщества почвы. Систематическое внесение научно обоснованных и сбалансированных доз удобрений оказало заметное положительное действие на численность и структуру почвенного микробоценоза. Оптимизация эффективного плодородия почвы и условий минерального питания растений в агроценозе способствовала значительному росту численности почвенных бактерий и актиномицетов. Дефицит в почве подвижных форм хотя бы одного из макроэлементов (например калия) негативным образом отражался на популяции прокариот.

Одностороннее использование азотных удобрений при сильнодефицитном балансе калия и истощенном калийном фонде почвы вызывало резкий рост почвенной популяции грибов, в том числе фитопатогенных, повышая тем самым инфекционный потенциал почвы. Оптимизация калийного состояния почвы способствовала значительному сокращению численности почвенных грибов и улучшению фитосанитарной ситуации в агроценозе. Численность различных групп микроорганизмов в почве и структура всего микробоценоза является информативным показателем оценки агроэкологического состояния пахотных почв, отражая как уровень эффективного почвенного плодородия, так и почвенный инфекционный потенциал.

Литература

1. Кирюшин В.И. Теория адаптивно-ландшафтного земледелия. М. : КолосС, 2011. 443 с.
2. Кудеяров В.Н., Башкин В.Н., Кудеярова А.Ю., Бочкарев А.Н. Экологические проблемы применения минеральных удобрений. М. : Наука, 1984. 214 с.
3. Минеев В.Г. Химизация земледелия и природная среда. М. : Агропромиздат, 1990. 287 с.
4. Кудеяров В.Н., Семенов В.М. Оценка современного вклада удобрений в агрогеохимический цикл азота, фосфора и калия // Почвоведение. 2004. № 12. С. 1440–1446.
5. Якименко В.Н. Калий в агроценозах Западной Сибири. Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2003. 231 с.
6. Минеев В.Г., Бычкова Л.А. Состояние и перспективы применения минеральных удобрений в мировом и отечественном земледелии // Агрохимия. 2003. № 8. С. 5–12.
7. Прокопьев В.В., Дерюгин И.П. Калий и калийные удобрения. М. : Ледум, 2000. 185 с.
8. Середина В.П. Резервы калия в почвах Западно-Сибирской равнины // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. № 1 (21). С. 7–21.
9. Минеев В.Г. Агрохимия и экологические функции калия. М. : Изд-во МГУ, 1999. 332 с.
10. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М. : Агропромиздат, 1985. 351 с.
11. Агрохимические методы исследования почв / под ред. А.В. Соколовой. М. : Наука, 1975. 656 с.
12. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии. М. : Колос, 1983. 296 с.
13. Henis Y. A new pellet soil-sample and its use for the study of population dynamics of *Rhizoctonia solani* // Phytopathology. 1978. Vol. 19. P. 1269–1273.
14. Frank J., Leach S.S., Webb R.E. Evaluation of potato clone reaction to *Rhizoctonia solani* // Plant dis. reporter. 1976. Vol. 60, № 11. P. 910–912.
15. Якименко В.Н. Изменение содержания форм минерального азота и калия в профиле почвы агроценоза // Вестник Томского государственного университета. 2009. № 328. С. 202–207.
16. Гамзиков Г.П. Азот в земледелии Западной Сибири. М. : Наука, 1981. 267 с.
17. Гинзбург К.Е. Фосфор основных типов почв СССР. М. : Наука, 1981. 242 с.
18. Якименко В.Н. Трансформация форм калия и аммония в почве агроценоза // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2011. № 1. С. 19–27.

Поступила в редакцию 15.10.2013 г.

Авторский коллектив:

Якименко Владимир Николаевич – д-р биол. наук, доцент, в.н.с. лаборатории агрохимии Института почвоведения и агрохимии СО РАН (г. Новосибирск, Россия). E-mail: yakimenko@issa.nsc.ru

Малюга Анна Анатольевна – д-р с/х наук, с.н.с., зав. лабораторией интегрированной защиты зерновых культур и картофеля от болезней и вредителей Сибирского НИИ земледелия и химизации сельского хозяйства Россельхозакадемии (р.п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия). E-mail: anna_malyuga@mail.ru

Tomsk State University Journal of Biology. 2014. № 1 (25). P. 26–41

doi: 10.17223/19988591/25/2

Vladimir N. Yakimenko¹, Anna A. Malyuga²

¹ Laboratory of Agrochemistry, Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry, Siberian Division of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation. E-mail: yakimenko@issa.nsc.ru

² Siberian Research Institute of Soil Management and Chemicalization of Agriculture, Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russian Federation. E-mail: anna_malyuga@mail.ru

**Dependence of agro-environmental soil constitution
on potassium balance in agroecosis**

The studies conducted during a long-term field experiment showed that self-supporting potassium balance in agroecosis improved essentially both agrochemical

and environmental state of the soil and agrocenosis as a whole. Optimization of soil potassium status at sufficient level of nitrogen and phosphorus favored an increase in crop capacity of growing cultures and efficient use of nutritive elements by plants. Prolonged application of increasing doses of potassic fertilizers did not influence negatively on soil agrochemical properties as compared to N-background: soil exchange capacity and acidity practically did not change, as for humus content it increased to some extent. The level of soil potassium influenced, to some degree, soil nitrogen regime regulating the processes of fixation and mobilization of ammonium and the scale of consumption of nitrate nitrogen. The intensity of the use of potassic fertilizers most greatly influenced the composition of soil cations: the content of soil magnesium and especially calcium decreased considerably when applying elevated doses of potassium.

Different intensity of use of mineral fertilizers in agrocenosis had an effect on functioning of soil microbial communities. Systematic application of science-based doses of fertilizers had a positive effect on the number and structure of soil microbiocenosis. Optimization of effective soil fertility and condition of mineral nutrition of plants in agrocenosis favored a considerable increase in the number of soil bacteria and actinomycetes. Deficiency of movable forms (at least of one of macroelements, for example, potassium) had a negative effect on populations of prokaryotes.

One-sided use of nitrogenous fertilizers at serious deficiency of potassium and scanty potassic fund of soil caused a strong growth of populations of soil fungi, including phytopathogenous ones, increasing soil infectious potential at the same time. Optimization of soil potassic state favored a considerable decrease in the number of soil fungi and improvement of phythosanitary situation in agrocenosis. The number of different groups of soil microorganisms and structure of the whole of microbiocenosis is an informative index of assessment of agro environmental state of ploughlands reflecting both the level of soil effective fertility and soil infectious potential.

Key words: agrocenosis; soil; potassium; soil properties; soil microorganisms.

Received October, 15, 2013

References

1. Kiryushin V.I. *Teoriya adaptivno-landshaftnogo zemledeliya*. M.: KolosS, 2011. 443 pp. [Kirjushin VI. Theory of adaptive landscape agriculture. Moscow: KolosS; 2011, 443 p.] In Russian
2. Kudiyarov V.N., Bashkin V.N., Kudiyarova A.Yu., Bochkarev A.N. *Ekologicheskie problemy primeneniya mineral'nykh udobreniy*. M.: Nauka, 1984. 214 pp. [Kudiyarov VN, Bashkin VN, Kudiyarova AY, Bochkarev A.N. Ecological problems of using mineral fertilizers. Moscow: Nauka; 1984, 214 p.] In Russian
3. Mineev V.G. *Agriculture chemisation and natural environment*. M.: Agropromizdat, 1990. 287 pp. [Mineev VG. Khimizatsiya zemledeliya i prirodnaya sreda. Moscow: Agropromizdat, 1990. 287 p.] In Russian
4. Kudiyarov V.N., Semenov V.M. *Otsenka sovremennogo vklada udobreniy v agrogeokhimicheskiy tsikl azota, fosfora i kaliya*. Pochvovedenie. 2004. No 12. PP. 1440-1446. [Kudiyarov VN, Semenov VM. Assessment of the current contribution of fertilizers to the agrogeochemical cycles of nitrogen, phosphorus, and potassium. *Pochvovedenie*. 2004;12:1440-1446.] In Russian, English summary
5. Yakimenko V.N. *Kaliy v agrotsenozakh Zapadnoy Sibiri*. Novosibirsk: Izd-vo SO RAN, 2003. 231 pp. [Yakimenko VN. Potassium in agrocenoses of Western Siberia. Novosibirsk: Publishing House of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; 2003, 231 p.] In Russian

6. Mineev V.G., Bychkova L.A. Sostoyanie i perspektivy primeneniya mineral'nykh udobreniy v mirovom i otechestvennom zemledelii. *Agrokimiya*. 2003. No 8. PP. 5-12. [Mineev VG, Bychkova LA. Condition and prospects of applying mineral fertilizers in world and domestic agriculture. *Agrochimija*. 2003;8:5-12.] In Russian, English summary
7. Prokoshev V.V., Deryugin I.P. Kaliy i kaliynye udobreniya. M.: Ledum, 2000. 185 pp. [Prokoshev VV, Deryugin IP. Potassium and potassium fertilizers. Moscow: Ledum; 2000, 185 p.] In Russian
8. Seredina V.P. Rezervy kaliya v pochvakh Zapadno-Sibirskoy ravniny. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya*. 2013. No 1 (21). PP. 7-21. [Seredina VP. Reserve of potassium in soils of the West Siberian plain. *Tomsk State University Journal of Biology*. 2013;1(21):7-21.] In Russian, English summary
9. Mineev V.G. *Agrokimiya i ekologicheskie funktsii kaliya*. M.: Izd-vo MGU, 1999. 332 pp. [Mineev VG. Agrochemistry and ecological functions of potassium. Moscow: Moscow university press; 1999, 332 p.] In Russian
10. Dospekhov B.A. *Metodika polevogo opyta*. M.: Agropromizdat, 1985. 351 pp. [Dospekhov BA. Techniques for field experiment. Moscow: Agropromizdat; 1985, 351 p.] In Russian
11. *Agrokhimicheskie metody issledovaniya pochv / pod red. AV Sokolovoi*. M.: Nauka, 1975. 656 pp. [Agrochemical methods of soil examination / Ed. AV Sokolova. Moscow: Nauka; 1975, 656 p.] In Russian
12. Segi Y. *Metody pochvennoy mikrobiologii*. M.: Kolos, 1983. 296 pp. [Segi Y. Methods of soil microbiology. Moscow: Kolos; 1983, 296 p.] In Russian
13. Henis Y. A new pellet soil-sample and it use for the study of population dynamics of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*. 1978;19:1269-1273.
14. Frank J, Leach SS, Webb RE. Evaluation of potato clone reaction to *Rhizoctonia solani*. *Plant dis reporter*. 1976; 60(11):910-912.
15. Yakimenko V.N. Izmenenie sodержaniya form mineral'nogo azota i kaliya v profile pochvy agrotsenoza. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2009. No 328. PP. 202-207. [Yakimenko VN. The change of mineral nitrogen forms and potassium content in the soil profile of agrocenoses. *Tomsk State University Journal*. 2009;328:202-207.] In Russian, English summary
16. Gamzikov G.P. *Azot v zemledelii Zapadnoy Sibiri*. M.: Nauka, 1981. 267 pp. [Gamzikov GP. Nitrogen in agriculture of Western Siberia. Moscow: Nauka; 1981, 267 p.] In Russian
17. Ginzburg K.E. *Fosfor osnovnykh tipov pochv SSSR*. M.: Nauka, 1981. 242 pp. [Ginsburg KE. Phosphorus of basic soil types of the USSR. Moscow: Nauka; 1981, 242 p.] In Russian
18. Yakimenko V.N. Transformatsiya form kaliya i ammoniya v pochve agrotsenoza. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya*. 2011. No 1(21). PP. 19-27. [Yakimenko VN. The transformation of potassium and ammonium forms in the soil agrocenoses. *Tomsk State University Journal of Biology*. 2011;1(21):19-27.] In Russian, English summary

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 579.26 +632.937

doi: 10.17223/19988591/25/3

А.А. Леляк¹, М.В. Штерншиц²

¹ Научно-производственная фирма «Исследовательский центр»,
научоград Кольцово, Новосибирская обл., Россия

² Новосибирский государственный аграрный университет, г. Новосибирск, Россия

Антагонистический потенциал сибирских штаммов *Bacillus* spp. в отношении возбудителей болезней животных и растений

Установлено, что наибольшую антагонистическую активность сибирские штаммы бактерий *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* и *Bacillus licheniformis* проявляют в отношении *St. aureus*. Высокой активностью в отношении *C. albicans* обладали штаммы *B. subtilis* БКПМ В-16041, DSM 24613, *B. amyloliquefaciens* БКПМ В-10642, DSM 24614 и *B. amyloliquefaciens* БКПМ В-10643, DSM 24615. Все штаммы показали наличие бактерицидного действия средней и слабой степени в отношении других использованных в опыте грамотрицательных бактерий – *C. freundii*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Sh. sonnei*, *Sh. flexneri* Па. Эти же штаммы бактерий-антагонистов проявили ингибирующие свойства в отношении большинства использованных в опыте фитопатогенов. На возбудителя альтернариоза *A. solani* наибольшее ингибирующее действие оказали штаммы *B. amyloliquefaciens* Ba-1 и Ba-2, *B. licheniformis* БКПМ В-10561, DSM 24609 и *B. subtilis* Bs-1. В подавлении роста возбудителя корневых гнилей *B. sorokiniana* высокую активность проявили штаммы *B. subtilis* Bs-1, *B. amyloliquefaciens* Ba-1 и Ba-2, которые также были максимально активными по сравнению с остальными по отношению к возбудителю серой гнили растений *B. cinerea*. В то же время установлено, что штаммы *B. licheniformis* не подавляли роста *B. cinerea*. Против фитопатогенных грибов рода *Fusarium* и возбудителя фитофтороза пасленовых культур *Ph. infestans* все изученные бактерии *Bacillus* spp. показали высокий уровень ингибирующей активности. У бактерий *B. licheniformis* Bl-1, БКПМ В-10562, DSM 24610 и БКПМ В-10564, DSM 24612 отсутствовала антагонистическая активность в отношении *F. solani* БКПМ В-163.

Ключевые слова: антагонистическая активность; *Bacillus subtilis*; *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus licheniformis*; патогенные бактерии; фитопатогенные грибы.

Введение

Спорообразующие бактерии рода *Bacillus* являются продуцентами широкого спектра биологически активных веществ (БАВ), в том числе ферментов, липопептидных и других антибиотиков, спектр которых зависит от геогра-

фического происхождения изолятов [1, 2]. Продукция БАВ обуславливает высокую бактерицидную и бактериостатическую активность *Bacillus* spp. в отношении патогенных грамположительных (*Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus aureus*) и грамотрицательных (*Treponema pallidum*, *Neisseria meningitis*) бактерий [3], а также фунгицидную (фунгистатическую) активность в отношении фитопатогенных грибов – *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger* [4, 5]. Таким образом, представители рода *Bacillus* обладают бактерицидной и фунгицидной активностью и рассматриваются как перспективные биологические агенты для создания противомикробных препаратов. Пробиотики на основе бактерий *B. subtilis* успешно применяют в медицине для терапии инфекций различной этиологии [6–8]. В ветеринарной медицине препараты и кормовые добавки, включающие в качестве действующего начала бактерии рода *Bacillus*, используют для снижения падежа, повышения привесов, снижения конверсии кормов в свиноводстве [9, 10], птицеводстве [11], при выращивании крупного рогатого скота [12]. В защите растений от возбудителей болезней была показана эффективность штаммов *B. subtilis* в качестве биофунгицидов для культур открытого и защищенного грунта [13, 14], а также в технологии хранения овощей [15].

Цель работы – оценить антагонистическую активность сибирских природных штаммов бактерий рода *Bacillus* как потенциальной основы биопрепаратов для управления здоровьем животных и растений.

Материалы и методики исследования

Культуры микроорганизмов. Штаммы бактерий-антагонистов патогенной микрофлоры – *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* и *Bacillus licheniformis* – были выделены из почвы лесных биоценозов Новосибирской области и депонированы во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ, Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, г. Москва) и Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany). Чистые культуры фитопатогенных грибов (*Bipolaris sorokiniana* ВКПМ В-532, *Botrytis cinerea* ВКПМ В-1006, *Fusarium graminearum* ВКПМ В-147, *Fusarium solani* ВКПМ В-163, *Fusarium chlamydosporum* ВКПМ В-899, *Fusarium oxysporum* ВКПМ В-349, *Fusarium avenaceum* ВКПМ В-623) были получены в ВКПМ. Остальные тест-объекты (штаммы *Alternaria solani* А7 АКТЛ 112, А7 НКЛ 2в, А7 АКТЛ 125 3б, *Botrytis cinerea* М-01, М-4-2, *Fusarium solani* К 6, *Phytophthora infestans*, расы 3,4 и 1-11) выделены авторами из инфицированных растений, а чистые культуры патогенных бактерий (*Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *choleraesuis*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *enteritidis*, *Salmonella*

enterica subsp. enterica serovar paratyphi B, Salmonella enterica subsp. enterica serovar typhimurium, Shigella sonnei, Shigella flexneri IIa, *Staphylococcus aureus*) – из патологического органного материала, полученного от павших сельскохозяйственных животных (молодняк крупного рогатого скота, свиньи).

Изучение антагонизма. Антагонистическую активность в отношении патогенов определяли методом перпендикулярных штрихов на чашках Петри с мясо-пептонным агаром (МПА, Meat Infusion Agar (Standart Infusion Agar), HiMedia) и выражали в мм зоны полного угнетения роста патогена [16]. Для оценки антагонистической активности штаммов в отношении *S. albicans*, с целью формирования одинаково благоприятных условий для роста и развития и патогена, и штамма-антагониста, в МПА добавляли 1% глюкозы (α -D глюкоза (декстроза) моногидрат, Cerestar). Испытуемый штамм бактерии-антагониста высевали штрихом (полоской) по диаметру чашки Петри с МПА, посевы инкубировали в термостате при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 48 ± 1 ч. По окончании времени инкубации перпендикулярно к штриху антагониста подсевали тест-культуры патогенов, после чего посевы помещали в термостат при указанной ранее температуре еще на 20 ± 1 ч. Если изучаемый штамм-антагонист оказывал антимикробное действие в отношении изучаемых патогенов, то последние росли на расстоянии от его штриха, которое и являлось количественной мерой антагонистической активности. Антагонистическую активность в отношении фитопатогенов определяли модифицированным методом агаровых блоков и выражали в виде ингибирующей активности [17]. Фитопатогенные грибы выращивали на картофельно-глюкозном агаре. Поверхность агаризованной питательной среды в чашках Петри засеивалась бактериальными штаммами для получения равномерных газонов. Чашки инкубировали 48 ч при 28°C , затем на их поверхность в центр помещали грибные блоки диаметром 1 см, вырезанные из колоний грибов. В контроле среда использовалась без внесения бактерий. Измерение диаметров выросших грибных колоний проводилось на 5 сутки сокультивирования при 25°C . Ингибирующую активность вычисляли, исходя из диаметров колоний в контрольном и опытном вариантах, по формуле $(D_k - D_o)/D_k$, где D_k – диаметр колоний в контроле, D_o – в опыте, выражая в %.

Данные в таблицах представлены в виде средней арифметической с доверительными интервалами. Статистическая обработка полученных данных выполнена в программе StatSoft STATISTICA for Windows 6.0.

Результаты исследования и обсуждение

Анализ антагонистической активности в отношении патогенных бактерий. Результаты определения антагонистической активности изученных штаммов в отношении патогенов представлены в табл. 1.

В зависимости от ширины зоны угнетения роста микробных тест-объектов можно выделить высокую (от 11 до 30 мм), среднюю (в пределах 4–10 мм) и слабую (до 4 мм) антагонистическую активность.

Наибольшее антагонистическое действие бацилл отмечено в отношении *St. aureus*.

Т а б л и ц а 1

**Антагонистическая активность бактерий в отношении патогенов,
зона угнетения роста, мм**

Наименование патогенного тест-микроорганизма	Штаммы бактерий-антагонистов						
	<i>Bs-1</i>	<i>Ba-1</i>	<i>Ba-2</i>	<i>Bl-1</i>	<i>Bl-2</i>	<i>Bl-3</i>	<i>Bl-4</i>
<i>C. albicans</i> 359	18±2,35	20±3,06	20±3,12	5±0,49	4±1,08	5±0,54	12±1,41
<i>C. albicans</i> 604	12±0,87	30±2,19	13±1,50	8±0,76	10±0,82	10±0,90	6±0,54
<i>C. albicans</i> 616	30±2,28	30±2,06	15±2,04	10±1,88	10±1,16	5±0,66	6±0,49
<i>C. freundii</i> 1	2±0,12	5±0,27	7±0,60	2±0,17	2±0,28	2±0,09	2±0,32
<i>C. freundii</i> 2	4±0,40	5±0,61	5±0,58	2±0,20	3±0,44	2±0,18	4±0,60
<i>C. freundii</i> 17	10±0,70	5±0,56	5±0,70	2±0,19	2±0,22	3±0,30	4±0,41
<i>E. coli</i> 582	6±0,61	8±0,72	10±0,86	2±0,13	2±0,21	2±0,24	2±0,20
<i>E. coli</i> 2	6±0,44	10±1,09	10±1,23	2±0,33	2±0,30	2±0,22	2±0,38
<i>E. coli</i> 457	7±0,50	6±1,15	11±1,42	2±0,28	3±0,46	3±0,51	5±0,67
<i>K. pneumonia</i> 995	1±0,11	9±0,94	15±1,63	6±1,06	4±0,53	3±0,40	4±0,59
<i>K. pneumonia</i> 47	8±0,61	8±0,70	8±0,65	6±0,49	5±0,44	6±0,56	0
<i>K. pneumonia</i> 3/3	5±0,40	5±0,33	6±0,44	5±0,37	4±0,22	2±0,19	2±0,20
<i>P. vulgaris</i> 14	6±0,59	3±0,27	6±0,65	2±0,20	4±0,39	2±0,30	0
<i>P. vulgaris</i> 222	7±0,84	7±0,69	6±0,70	29±1,39	10±1,06	12±1,11	10±0,90
<i>P. vulgaris</i> 88	6±0,70	7±0,84	10±0,93	3±0,12	3±0,29	2±0,21	2±0,31
<i>P. aeruginosa</i> 884	15±1,04	2±0,19	6±0,70	3±0,31	2±0,22	2±0,19	2±0,34
<i>P. aeruginosa</i> 17	8±0,92	2±0,20	6±0,45	3±0,41	3±0,32	4±0,57	4±0,60
<i>P. aeruginosa</i> 12	2±0,12	4±0,30	3±0,32	3±0,27	4±0,36	3±0,19	3±0,29
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>choleraesuis</i>	5±0,40	6±0,53	6±0,50	5±0,44	2±0,20	2±0,23	3±0,31
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>enteritidis</i>	8±0,66	13±1,14	30±1,43	20±1,70	20±1,65	18±1,40	20±1,59
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>paratyphi B</i>	5±0,39	7±0,69	6±0,65	2±0,15	2±0,22	2±0,13	3±0,31
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>typhimurium</i>	5±0,41	10±1,02	10±1,14	4±0,52	3±0,33	3±0,30	2±0,20
<i>Sh. sonnei</i>	7±0,60	11±0,97	7±0,60	10±1,06	10±1,14	2±0,16	4±0,24
<i>Sh. flexneri</i> IIa	12±0,71	21±1,48	18±2,03	4±0,44	2±0,35	2±0,30	2±0,19
<i>St. aureus</i> 209	22±1,36	20±1,19	25±1,46	27±1,66	20±1,39	26±1,40	20±1,06
<i>St. aureus</i> 211	23±1,41	24±1,56	25±1,17	28±1,69	22±1,54	24±1,19	20±1,05
<i>St. aureus</i> 12	24±1,70	30±2,48	29±2,07	30±1,90	24±1,27	30±1,90	22±1,88

Высокой активностью в отношении *C. albicans* обладали штаммы *B. subtilis* ВКПМ В-16041, DSM 24613 (далее по тексту Bs-1), *B. amyloliquefaciens* ВКПМ В-10642, DSM 24614 (далее по тексту Ba-1) и *B. amyloliquefaciens* ВКПМ В-10643, DSM 24615 (далее по тексту Ba-2). Остальные штаммы бацилл проявили к данному патогену среднюю антагонистическую активность.

Таблица 2

Ингибирующая активность бактерий в отношении фитопатогенов, %

Наименование фитопатогенного тест-микроорганизма	Штаммы бактерий-антагонистов						
	<i>Bs-1</i>	<i>Ba-1</i>	<i>Ba-2</i>	<i>Bl-1</i>	<i>Bl-2</i>	<i>Bl-3</i>	<i>Bl-4</i>
<i>A. solani</i> A7 АКТЛ 112	68,5±1,19	71,4 +2,07	71,4±1,55	71,4±1,80	65,7±2,19	68,6±2,23	37,1±1,07
<i>A. solani</i> A7 НКЛ 2в	66,7±2,09	50,0 +1,85	56,7±1,90	66,7±2,44	66,7±2,70	66,7±2,19	66,7±2,17
<i>A. solani</i> A7 АКТЛ 125 36	66,7±2,03	66,7 +2,12	66,7±2,09	66,7±2,11	66,7±2,10	66,7±2,09	60,0±1,90
<i>B. sorokiniana</i> ВКПМ В-532	81,8±2,49	81,8 +2,29	81,8±2,47	36,4±1,16	41,8±1,50	67,3±2,07	27,3±1,26
<i>B. cinerea</i> М-01	62,5±1,92	62,5 +2,05	62,5±2,13	53,3±1,88	51,1±1,80	55,6±1,94	22,2±0,98
<i>B. cinerea</i> ВКПМ В-1006	50,0±2,24	50,0 +2,17	50,0±2,01	0	0	0	0
<i>B. cinerea</i> М-4-2	68,7±2,30	68,7 +2,46	68,7±2,41	68,8±2,03	48,6±2,11	68,7±1,95	37,5±0,88
<i>Fusarium graminearum</i> ВКПМ В-147	54,5±1,74	54,5 +1,83	54,5±1,80	50,0±1,75	31,8±1,40	45,4±1,66	31,8±1,19
<i>Fusarium solani</i> ВКПМ В-163	44,4±1,33	44,4 +1,40	44,4±1,37	0	0	33,3±1,18	0
<i>A. solani</i> A7 АКТЛ 112	68,5±2,20	71,4 +2,69	71,4±2,55	71,4±2,71	65,7±2,38	68,6±2,30	37,1±1,15
<i>A. solani</i> A7 НКЛ 2в	66,7±2,07	50,0 +1,92	56,7±1,84	66,7±2,04	66,7±2,12	66,7±2,29	66,7±2,31
<i>A. solani</i> A7 АКТЛ 125 36	66,7±2,18	66,7 +2,81	66,7±2,60	66,7±2,55	66,7±2,74	66,7±2,15	60,0±2,18
<i>B. sorokiniana</i> ВКПМ В-532	81,8±2,96	81,8 +2,70	81,8±2,66	36,4±1,18	41,8±1,60	67,3±2,00	27,3±0,93
<i>B. cinerea</i> М-01	62,5±2,45	62,5 +1,97	62,5±2,17	53,3±1,70	51,1±1,64	55,6±1,50	22,2±0,98
<i>B. cinerea</i> ВКПМ В-1006	50,0±1,74	50,0 +1,66	50,0±1,54	0	0	0	0
<i>B. cinerea</i> М-4-2	68,7±2,15	68,7 +2,26	68,7±2,33	68,8±2,40	48,6±1,83	68,7±2,01	37,5±1,14
<i>Fusarium graminearum</i> ВКПМ В-147	54,5±1,59	54,5 +1,60	54,5±1,83	50,0±1,19	31,8±1,62	45,4±1,18	31,8±0,87
<i>Fusarium solani</i> ВКПМ В-163	44,4±0,75	44,4 +1,13	44,4±1,04	0	0	33,3±0,60	0
<i>Fusarium chlamydosporum</i> ВКПМ В-899	76,2±2,29	76,2 +2,61	64,3±2,16	52,4±1,67	47,6±1,32	61,9±1,70	16,7±0,29
<i>Fusarium solani</i> К 6	68,9±2,09	77,8 +2,73	77,8±2,44	40,0±1,90	40,0±1,33	48,9±1,12	0
<i>Fusarium oxysporum</i> ВКПМ В-349	76,2±2,09	76,2 +2,40	76,2±2,33	47,6±2,19	64,3±1,96	52,4±1,47	23,8±0,85
<i>Fusarium avenacium</i> ВКПМ В-623	76,1±2,44	76,2 +3,85	76,2±2,41	59,5±1,94	64,3±1,87	64,3±2,03	23,8±0,70
<i>Ph. infestans</i> расы 3,4	80,0±2,55	80,0 +2,79	80,0±2,64	66,0±1,95	66,0±2,04	68,0±2,17	50,0±1,03
<i>Ph. infestans</i> расы 1-11	70,0±2,69	75,0 +2,70	75,0±2,13	62,5±1,98	57,5±1,72	67,5±2,03	25,0±0,81

Все штаммы показали наличие бактерицидного действия средней и слабой степени в отношении других использованных в опыте грамотрицательных бактерий – *C. freundii*, *E. coli*, *K. pneumonia*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Sh. sonnei*, *Sh. flexneri* Па. Зона угнетения роста составляла в среднем 2–10 мм в зависимости от вида тест-объекта.

Таким образом, все изученные штаммы бактерий *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* и *B. licheniformis* подавляли рост патогенных бактерий, хотя и в различной степени.

Анализ антагонистической активности в отношении фитопатогенных грибов. Штаммы бактерий-антагонистов проявили ингибирующие свойства в отношении большинства использованных в опыте фитопатогенов (см. табл. 2).

На возбудителя альтернариоза *A. solani* наибольшее ингибирующее действие оказали штаммы *B. amyloliquefaciens* Ba-1 и Ba-2, *B. licheniformis* ВКПМ В-10561, DSM 24609 (далее по тексту Bl-1) и *B. subtilis* Bs-1. В подавлении роста возбудителя корневых гнилей *B. sorokiniana* высокую активность проявили штаммы *B. subtilis* Bs-1, *B. amyloliquefaciens* Ba-1 и Ba-2. Эти же штаммы были максимально активными по сравнению с остальными по отношению к возбудителю серой гнили растений *B. cinerea*. В то же время установлено, что штаммы *B. licheniformis* не подавляли роста *B. cinerea* (штамм ВКПМ В-1006). Против фитопатогенных грибов рода *Fusarium* и возбудителя фитофтороза пасленовых культур *Ph. infestans* все изученные нами бактерии *Bacillus* spp. показали высокий уровень ингибирующей активности. У бактерий *B. licheniformis* Bl-1; ВКПМ В-10562, DSM 24610 (далее по тексту Bl-2) и ВКПМ В-10564, DSM 24612 (далее по тексту Bl-4) отсутствовала антагонистическая активность в отношении *F. solani* ВКПМ В-163.

Проведенные исследования показали, что помимо бактерицидного действия, которое штаммы *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* и *B. licheniformis* оказывали на патогенные бактерии, они проявляют ингибирующую активность в отношении фитопатогенных грибов. Ряд авторов указывал на подобное антибактериальное и фунгистатическое действие спорообразующих бактерий [18–21]. Как отмечено выше, это связано с тем, что перечисленные бактерии в процессе жизнедеятельности выделяют антимикробные вещества широкого спектра действия [22, 23]. Поэтому спорообразующие бактерии применяют в качестве действующего начала как лекарственных препаратов [24, 25], так и экологически безопасных средств защиты растений от болезней [26, 27].

Нами установлено наличие антагонизма изученных штаммов бактерий рода *Bacillus* в опытах *in vitro* в отношении бактерий – возбудителей болезней животных и человека – *C. freundii*, *E. coli*, *K. pneumonia*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Sh. sonnei*, *Sh. flexneri* Па, *St. aureus* и *C. albicans*. Что касается антагонистической активности в отношении фитопатогенных грибов, то добавление изученных штаммов в питательную среду подавляло рост опасных возбудителей болезней растений *A. solani*, *B. sorokiniana*, *Ph. infestans* и грибов рода *Fusarium* в большей или меньшей степени в за-

висимости от штамма тест-микроорганизма. Для одного из использованных в эксперименте штаммов – *B. cinerea* ВКПМ В-1006 – не выявлено ингибирующего действия со стороны бактерий-антагонистов *B. licheniformis*. Наши результаты согласуются с данными, полученными другими авторами в работах, касающихся патогенных бактерий *Corynebacterium diphtheriae*, *St. aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *P. aeruginosa* [28] и фитопатогенных грибов [29, 30]. Так, Н.И. Габриэлян с соавторами [28] показали, что штамм бактерии *B. subtilis*, входящий в состав препарата споробактерин, обладает высокой антагонистической активностью в отношении стафилококков (*St. aureus*, *St. epidermidis*, *St. saprophyticus*), дрожжеподобных грибов *Candida* spp. и энтерококков (*Enterococcus faecium*). В то же время авторы отмечают, что среди изученных штаммов другого вида энтерококка – *E. faecalis* – лишь 50% были чувствительны к штамму-антагонисту. Авторы указывают, что изученный ими штамм *B. subtilis* эффективно подавлял лишь 36,8% штаммов патогенных бактерий, среди которых были *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Serratia* spp. и др., тогда как изученные в нашей работе штаммы бактерий-антагонистов *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* и *B. licheniformis* в 100% случаев ингибировали перечисленных патогенов.

Продемонстрировано наличие у *B. subtilis* ингибирующей активности по отношению к таким фитопатогенным грибам, как *A. alternata*, *B. cinerea*, *B. sorokiniana*, *Cladosporium* sp., *F. avenacium*, *F. oxysporum* и др. [31]. При этом отмечено, что некоторые из изученных авторами штаммов обладали 100%-ной ингибирующей активностью в отношении *B. cinerea* и *F. oxysporum*, чего не наблюдалось в наших экспериментах.

Наблюдающиеся различия в оценке антагонистической активности бактериальных штаммов, представленные в разных работах, могут быть связаны с разным географическим происхождением изучаемых культур [32]. Различия в антагонистической активности против штаммов патогенов одного вида можно объяснить вариабельным составом пептидогликана бактериальной клетки, который является регулятором взаимоотношений в системе «прокариот – прокариот», а также регулятором внутривидового и межвидового антагонизма в условиях межмикробных взаимодействий [33].

Заключение

Таким образом, в результате проведенных исследований был выявлен антагонистический потенциал природных сибирских штаммов бактерий рода *Bacillus*. Все изученные штаммы бактерий-антагонистов *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* и *B. licheniformis* проявили бактерицидное и фунгистатическое действия *in vitro* на чистых культурах патогенных бактерий и фитопатогенных грибов. Подавление штаммами-антагонистами роста патогенов, вызывающих болезни сельскохозяйственных животных и растений, перспективно для создания биопрепаратов, обеспечивающих получение экологически

безопасной продукции животноводства и растениеводства, что важно для решения проблем здорового питания населения.

Литература

1. Price N.P.J., Rooney A.P. et al. Mass spectrometric analysis of lipopeptides from *Bacillus strains* isolated from diverse geographical locations // FEMS Microbiology Letters. 2007. №. 271. P. 83–89.
2. Balaban N.P., Mardanova A.M., Malikova L.A. et al. Isolation and characterization of *Bacillus amyloliquefaciens* H2 glutamyl endopeptidase that is secreted in stationary phase of culture growth // Annals Microbiology. 2008. Vol. 58. № 4. P. 697–704.
3. Бала С.С. Антагонистическая активность пробиотиков на основе аэробных спорообразующих бактерий // Успехи современного естествознания. 2004. № 12. С. 84.
4. Chiou A.L., Wu W.S. Formulation of *Bacillus amyloliquefaciens* B190 for control of lily grey mould (*Botrytis elliptica*) // Journal of Phytopathology. 2003. Vol. 151, № 1. P. 13–18.
5. Chebotar V.K., Makarova N.M., Shaposhnikov A.I. Antifungal and phytostimulating characteristics of *Bacillus subtilis* Ch-13 rhizospheric strain, producer of biopreparations // Appl. Biochem. Microbiol. 2009. № 4. P. 419–423.
6. Пушкарев А.М., Туйгунова В.Г., Зайнуллин Р.Р. и др. Использование антагонистических свойств бактерий *Bacillus subtilis* в терапии госпитальной инфекции мочевых путей // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2007. № 2. С. 90–93.
7. Бондаренко В.М., Воробьев А.А. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией // Журнал микробиологии. 2004. № 3. С. 84–92.
8. Лазовская А.Л., Гришина Н.В., Воробьева З.Г. и др. Антагонистическая активность споровых пробиотиков и влияние на лекарственную чувствительность микобактерий туберкулеза // Вестник Российского университета дружбы народов. Сер. Медицина. 2010. № 1. С. 18–24.
9. Ушакова Н.А., Котенкова Е.В., Козлова А.А., Нифатов А.В. Изучение механизмов пробиотического действия штамма *Bacillus subtilis* 8130 // Прикладная биохимия и микробиология. 2006. Т. 42, № 3. С. 285–291.
10. Федорова М.П., Тарабукина Н.П., Неустроев М.П., Кириллина В.И. Применение пробиотиков из штаммов бактерий *Bacillus subtilis* для получения здоровых поросят // Зоотехния. 2011. №2. С. 16–17.
11. Беркольд Ю.И., Иванова А.Б. Влияние пробиотических препаратов на основе *Bacillus subtilis* на физиологические показатели роста цыплят-бройлеров // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2006. № 4. С. 45–48.
12. Хазиахметов Ф.С., Башаров А.А., Нугуманов Г.О. Оценка эффективности комплексного препарата пробиотика с биологически активными веществами при выращивании телят // Проблемы биологии продуктивных животных. 2011. № 2. С. 106–109.
13. Хайруллин Р.М., Егоршина А.А., Лукьянцев М.А. и др. Биологические особенности эндодитных штаммов *Bacillus subtilis* как перспективной основы новых биопрепаратов // Аграрная Россия. 2011. №1. С. 49–53.
14. Пусенкова Л.И., Глез В.М., Зейрук В.Н. и др. Биопрепараты для защиты картофеля от болезней // Защита и карантин растений. 2010. № 10. С. 26–28.
15. Рудаков В.О., Морозов Д.О., Седых А.Н. Способ, позволяющий сократить потери сахарной свеклы в кагатах // Защита и карантин растений. 2010. № 6. С. 66–67.
16. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М. : МГУ, Наука, 2004. 528 с.

17. Соколова М.В. Хитинолитическая и антигрибная активность трех штаммов бактерий рода *Serratia* // Современная биотехнология в решении проблем защиты растений. СПб., 1995. С. 214–224.
18. Волков М.Ю., Ткаченко Е.И., Воробейников Е.В. и др. Метаболиты *Bacillus subtilis* как новые перспективные пробиотические препараты // Ж. микробиол. эпидемиол. и иммунобиол. 2007. № 2. С. 75–80.
19. Бойко Н.В., Туряница А.И., Попович Е.П. и др. Антагонистическое действие культур *Bacillus subtilis* на бактерии рода *Klebsiella* // Микробиологический журнал. 1989. № 1. С. 87–91.
20. Актуганов Г.Э., Мелентьев А.И., Кузьмина Л.Ю. и др. Хитинолитическая активность бактерий *Bacillus Cohn*. – антагонистов фитопатогенных грибов // Микробиология. 2003. Т. 72, № 3. С. 356–360.
21. Оришак Е.А., Бойцов А.Г., Нилова Л.Ю. Изучение антагонистической активности спороносителей пробиотиков // Профилактическая и клиническая медицина. 2009. № 3. С. 199–202.
22. Кудрявцева, В.А., Осадчая А.И., Сафронова Л.А. Аэробы рода *Bacillus* как источник продуцентов литических ферментов // Биотехнология. 2004. № 4. С. 24–33.
23. Михайлова Н.М., Блинкова Л.П., Гатауллин А.Г. Биологические свойства новых изолятов *Bacillus subtilis* // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии. 2007. № 4. С. 41–46.
24. Осипова И.Г., Михайлова Н.А., Сорокулова И.Б. и др. Споровые пробиотики // Журнал микробиологии. 2003. № 3. С. 113–119.
25. Никитенко В.И. Медицинский институт Оренбурга представляет препарат споробактерин // JAMA. 1991. Vol. 64. № 1. P. 31.
26. Кузьмина Л.Ю., Логинов О.Н., Бойко Т.Ф. и др. Эффективность бактериальных препаратов при защите растений яровой пшеницы от твердой головни // Сельскохозяйственная биология. 2003. № 5. С. 69–73.
27. Белов Л.П., Шкаликов В.А., Дунаева Ю.С. Возможности использования препарата на основе *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* в растениеводстве // АГРО XXI. 2008. № 4–6. С. 35.
28. Габриэлян Н.И., Давыдов Д.С., Горская Е.М. и др. Антагонизм *in vitro* споробактерина в отношении нозокомиальных штаммов микробов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2008. № 6. С. 12–18.
29. Agarry O.O., Akinyosoye F.A., Adetuyi F.C. Antagonistic properties of microorganisms associated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) products // African Journal of Biotechnology. 2005. Vol. 4. P. 627–632.
30. Chan Yiu-Kwok, Savard M.E., Reid L.M. et al. Identification of lipopeptide antibiotics of a *Bacillus subtilis* isolate and their control of *Fusarium graminearum* diseases in maize and wheat // BioControl. 2009. Vol. 54. P. 567–574.
31. Минуца Т.С., Захарова Р.Ш., Уразбахтина Н.А. и др. Новые эндофитные штаммы *Bacillus subtilis* как основа биофунгицидов // Вестник Казанского ГАУ. 2009. № 2. С. 118–123.
32. Beric T., Kojic M., Stancovic S., Topisirovic L. et al. Antimicrobial Activity of *Bacillus* sp. natural isolates and their potential use in the biocontrol of phytopathogenic bacteria // Food Technology and Biotechnology. 2012. Vol. 50. P. 25–31.
33. Семенов А.В. Характеристика антагонистической активности *Staphylococcus aureus* при межмикробных взаимодействиях // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2011. № 3 (15). С. 56–66.

Авторский коллектив:

Леляк Анастасия Александровна – канд. биол. наук, зав. лабораторией НПФ «Исследовательский центр» (научград Кольцово, Новосибирская область, Россия). E-mail: leliak2@yandex.ru

Штерншис Маргарита Владимировна – д-р биол. наук, профессор кафедры энтомологии и биологической защиты растений Новосибирского государственного аграрного университета (г. Новосибирск, Россия). E-mail: shternshis@mail.ru

Tomsk State University Journal of Biology. 2014. № 1 (25). P. 42–55

doi: 10.17223/19988591/25/3

Anastasya A. Lelyak¹, Margarita V. Shternshis²

¹ *Research Center, Ltd, Scientific Town Koltsovo, Novosibirsk region, Russian Federation. E-mail: leliak2@yandex.ru*

² *Department of Entomology and Biological Control, Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russian Federation. E-mail: shternshis@mail.ru*

**Antagonistic potential of siberian strains of *Bacillus* spp.
towards agents causing animal and plant diseases**

Bacteria of *Bacillus* genus are known as the producers of biologically active substances (BAS) including enzymes and antibiotics, whose diversity depends on geographical origin of isolation. BAS production causes high bactericidal and bacteriostatic activity of *Bacillus* spp. towards zoopathogenic Gram-positive and Gram-negative bacteria and also fungicidal and fungistatic activity towards phytopathogenic fungi. In veterinary, preparations and fodder additives, including bacteria of *Bacillus* genus are used for cattle-plague decrease and weight increase of animals. In plant protection against agents causing diseases the efficacy of *Bacillus* spp. as the basis of biological fungicides is shown in fields and greenhouses.

The aim of this article is to evaluate Siberian wild strains of *Bacillus* genus bacteria as potential basis of biological formulations for animal and plant health management. The bacterial strains *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus licheniformis* were isolated from forest soil of Novosibirsk region and were registered in All-Russian collection of industrial microorganisms (VKPM) and German collection of microorganisms and cell cultures (DSMZ). Pure cultures of phytopathogenic fungi *Bipolaris sorokiniana* VKPM B-532, *Botrytis cinerea* VKPM B-1006, *Fusarium graminearum* VKPM B-147, *F. solani* VKPM B-163, *F. chlamydosporum* VKPM B-899, *F. oxysporum* VKPM B-349 and *F. avenaceum* VKPM B-623 were received from VKPM. Other test-cultures including the strains of phytopathogenic fungi *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani* and *Phytophthora infestans*, were isolated by authors from infected plants, and the strains of zoopathogenic bacteria *Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosae*, *Salmonella choleraesuis*, *S. enteritidis*, *S. perityphi*, *S. typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Sh. flexneri* Iia and *Staphylococcus aureus* were isolated from biological material of animal origin.

The strongest antagonistic action of Siberian *Bacillus* strains towards zoopathogens was observed against *St. aureus*. Towards *C. albicans*, the strains *B. subtilis* VKPM B-16041, DSM 24613, *B. amyloliquefaciens* VKPM B-10642, DSM 24614, VKPM B-10643 and DSM 24615 were shown to possess high activity. The rest of the bacteria revealed moderate antagonistic activity towards this pathogen. To-

wards other Gram-negative bacteria used in the experiments – *C. freundii*, *E. coli*, *K. pneumonia*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Sh. sonnei*, *Sh. flexneri* IIa all *Bacillus* strains revealed bactericidal action of moderate and weak degree. These very strains of antagonistic bacteria were shown to have inhibitory properties towards most phytopathogens used in the experiments. The highest inhibitory effect towards *A. solani* causing agent was observed by strains *B. amyloliquefaciens* Ba-1 and Ba-2, *B. licheniformis* VKPM B-10561, DSM 24609 and *B. subtilis* Bs-1. The strains *B. subtilis* Bs-1, *B. amyloliquefaciens* Ba-1 and Ba-2B revealed high activity in growth suppression of root rot causing agent *B. sorokiniana*. The same strains were very active compared with others towards plant grey mold causing agent *B. cinerea*. Simultaneously, the strains *B. licheniformis* did not suppress *B. cinerea* growth. All *Bacillus* spp., studied here, showed a high level of inhibitory activity towards Solanaceae phytophthora causing agent *Ph. infestans*. No antagonistic activity towards *F. solani* VKPM B-163 was displayed by bacterial strains *B. licheniformis* Bl-1; VKPM B-10562, DSM 24610, VKPM B-10564 and DSM 24612. The antagonistic potential of Siberian strains of bacteria of *Bacillus* genus towards zoopathogenic and phytopathogenic microorganisms revealed in this work testify of promising study of isolated antagonistic bacteria as a basis of ecologically safe biopreparations for plant and animal health management.

Key words: *Bacillus subtilis*; *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus licheniformis*; antagonistic activity; zoopathogenic bacteria; phytopathogenic fungi.

Received, October 01, 2013

References

1. Price NPJ, Rooney AP et al. Mass spectrometric analysis of lipopeptides from *Bacillus* strains isolated from diverse geographical locations. *FEMS Microbiology Letters*. 2007;271:83-89.
2. Balaban NP, Mardanov AM, Malikova LA et al. Isolation and characterization of *Bacillus amyloliquefaciens* H2 glutamyl endopeptidase that is secreted in stationary phase of culture growth. *Annals Microbiology*. 2008;58(4):697-704.
3. Bala SS. Antagonisticheskaya aktivnost' probiotikov na osnove aerobnykh sporoobrazuyushchikh bakteriy. Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. 2004. No 12. PP. 84. [Bala SS. Antagonistic activity of probiotics on the basis of aerobic spore-forming bacteria. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya*. 2004;12:84.] In Russian
4. Chiou AL, Wu WS. Formulation of *Bacillus amyloliquefaciens* B190 for control of lily grey mould (*Botrytis elliptica*). *J of Phytopathology*. 2003;151(1):13-18.
5. Chebotar VK, Makarova NM, Shaposhnikov AI. Antifungal and phytostimulating characteristics of *Bacillus subtilis* Ch-13 rhizospheric strain, producer of biopreparations. *Appl Biochem Microbiol*. 2009;4:419-423.
6. Pushkarev A.M., Tuygunova V.G., Zaynullin R.R. i dr. Ispol'zovanie antagonisticheskikh svoystv bakteriy *Bacillus subtilis* v terapii gospital'noy infektsii mochevykh putey. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii. 2007. No 2. PP. 90-93. [Pushkarev AM, Tuygunova VG, Zaynullin RR, Kuznetsova TN, Gabidullin YuZ. Use of antagonistic properties of *Bacillus subtilis* bacteria for treating nosocomial urinary tract infections. *J. of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2007;2:90-93.] In Russian
7. Bondarenko V.M., Vorob'ev A.A. Disbiozy i preparaty s probioticheskoy funktsiey. Zhurnal mikrobiologii. 2004. No 3. PP. 84-92. [Bondarenko VM, Vorobyev AA. Dysbiosis and probiotic preparations. *Journal of Microbiology*. 2004;3:84-92.] In Russian
8. Lazovskaya A.L., Grishina N.V., Vorob'eva Z.G. i dr. Antagonisticheskaya aktivnost' sporyvykh probiotikov i vliyaniye na lekarstvennyuyu chuvstvitel'nost' mikobakteriy tuberkuleza.

- Vestnik Rossiyskogo universiteta družby narodov. Ser. meditsina. 2010. No 1. PP. 18-24. [Lazovskaya AL, Grishina NV, Vorobyeva ZG, Slinina KN, Kulchidskaya MA, Vasilieva EA. Antagonistic activity of bacterial spore former probiotics and effects on tuberculosis mycobacteria drug susceptibility. *PFUR Bulletin. Medicine*. 2010;1:18-24.] In Russian
9. Ushakova N.A., Kotenkova E.V., Kozlova A.A., Nifatov A.V. Izuchenie mekhanizmov probioticheskogo deystviya shtamma *Bacillus subtilis* 8130. Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. 2006. Vol. 42, No 3. PP. 285-291. [Ushakova NA, Kotenkova EV, Kozlova AA, Nifatov AV. Study of the mechanisms of *Bacillus subtilis* 8130 probiotic activity. *Appl Biochem Microbiol*. 2006;42(3):285-291.] In Russian
 10. Fedorova M.P., Tarabukina N.P., Neustroev M.P., Kirillina V.I. Primenenie probiotikov iz shtammov bakteriy *Bacillus subtilis* dlya polucheniya zdorovykh porosyat. Zootekhniya. 2011. No 2. PP. 16-17. [Fedorova MP, Tarabukina NP, Neustroev MP, Kirillina VI. Application of antibiotics from *Bacillus subtilis* strains in growing healthy hoglings. *Zootechniya*. 2011;2:16-17.] In Russian
 11. Berkol'd Yu.I., Ivanova A.B. Vliyanie probioticheskikh preparatov na osnove *Bacillus subtilis* na fiziologicheskie pokazateli rosta tsyplyat-broylerov. Sibirskiy vestnik sel'skokhozyaystvennoy nauki. 2006. No 4. PP. 45-48. [Berkold YuI, Ivanova AB. Effect of probiotic preparations on the basis of *Bacillus subtilis* on physiological growth indices of chicken broilers. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2006;4:45-48.] In Russian
 12. Khaziakhmetov F.S., Basharov A.A., Nugumanov G.O. Otsenka effektivnosti kompleksnogo preparata probiotika s biologicheskimi aktivnymi veshchestvami pri vyrashchivaniitelyat. Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh. 2011. No 2. PP. 106-109. [Khaziakhmetov PhS, Basharov AA, Nugumanov GO. Efficacy assessment of complex probiotic preparation with bioactive substances for milk fed calves. *Problems of Productive Animal Biology*. 2011;2:106-109.] In Russian
 13. Khayrullin R.M., Egorshina A.A., Luk'yantsev M.A. i dr. Biologicheskie osobennosti endofitnykh shtammov *Bacillus subtilis* kak perspektivnoy osnovy novykh biopreparatov. Agrarnaya Rossiya. 2011. No 1. PP. 49-53. [Khairullin RM, Egorshina AA, Luk'yantsev MA, Urazbakhtina NA, Irgalina RSh, Sakhabutdinova AR. Biological features of *Bacillus subtilis* endophytic strains as the perspective base of new biopreparations. *Agrarnaya Russia*. 2011;1:49-53.] In Russian
 14. Pusenkova L.I., Glez V.M., Zeyruk V.N. i dr. Biopreparaty dlya zashchity kartofelya ot bolezney. Zashchita i karantin rasteniy. 2010. No 10. PP. 26-28. [Pusenkova LI, Gles VM, Zeiruk VN. Biopreparations for potato protection from diseases. *Zashchita I Karantin Rasteniy*. 2010;10:26-28.] In Russian
 15. Rudakov V.O., Morozov D.O., Sedykh A.N. Sposob, pozvolyayushchiy sokratit' poteri sakharnoy svekly v kagatakh. Zashchita i karantin rasteniy. 2010. No 6. PP. 66-67. [Rudakov VO, Morozov DO, Sedykh AN. Method allowing to reduce losses of sugar beet in clamps. *Zashchita I Karantin Rasteniy*. 2010;6:66-67.] In Russian
 16. Egorov N.S. Osnovy ucheniya ob antibiotikakh. M.: MGU, Nauka, 2004. 528 pp. [Egorov NS. Fundamentals of antibiotics theory. Moscow: Moscow state university; Nauka, 2004. 528 p.] In Russian
 17. Sokolova M.V. Khitinoliticheskaya i antigribnaya aktivnost' trekh shtammov bakterii roda *Serratia*. Sovremennaya biotekhnologiya v reshenii problem zashchity rasteniy. SPb., 1995. PP. 214-224. [Sokolova MV. Chitinolytic and antifungal activity of three *Serratia* strains. *Modern biotechnology in solving plant protection problems*. Saint-Petersburg: 1995. p. 214-224.] In Russian
 18. Volkov M.Yu., Tkachenko E.I., Vorobeynikov E.V. i dr. Metabolity *Bacillus subtilis* kak novye perspektivnye probioticheskie preparaty. Zh. mikrobiol. epidemiol. i immunobiol. 2007. No 2. PP. 75-80. [Volkov MYu, Tkachenko EI, Vorobeichikov EV, Sinitsa AV. *Bacillus subtilis* metabolites as a novel promising probiotic preparation. *J. of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2007;2:75-80.] In Russian

19. Boyko N.V., Turyanitsa A.I., Popovich E.P. i dr. Antagonisticheskoe deystvie kul'tur *Bacillus subtilis* na bakterii roda *Klebsiella*. *Mikrobiologicheskii zhurnal*. 1989. No 1. PP. 87-91. [Bojko NV, Turianitsa AI, Popovich EP, Viunitskaia VA. Antagonistic action of *Bacillus subtilis* cultures on bacteria of the genus *Klebsiella*. *Mikrobiologicheskii zhurnal*. 1989;1:87-91.] In Russian
20. Aktuganov G.E., Melent'ev A.I., Kuz'mina L.Yu. i dr. Khitinoliticheskaya aktivnost' bakteriy *Bacillus Cohn*. – antagonistov fitopatogennykh gribov. *Mikrobiologiya*. 2003. Vol. 72, No 3. PP. 356-360. [Aktuganov GE, Melentiev AI, Kuzmina LY, Galimzyanova NF, Shirokov AV. Chitinolytic activity of bacteria *Bacillus Cohn*. as antagonists of phytopathologic fungi. *Mikrobiologiya*. 2003;72(3):356-360.] In Russian
21. Orishak E.A., Boytsov A.G., Nilova L.Yu. Izuchenie antagonisticheskoy aktivnosti sporosoderzhashchikh probiotikov. *Profilakticheskaya i klinicheskaya meditsina*. 2009. No 3. PP. 199-202. [Orishak EA, Boitsov AG, Nilova LY. Study of antagonistic activity of spore-containing probiotics. *Preventivnaya I klinicheskaya medizina*. 2009;3:199-202.] In Russian
22. Kudryavtseva, V.A., Osadchaya A.I., Safronova L.A. Aeroby roda *Bacillus* kak istochnik produktentov liticheskikh fermentov. *Biotehnologiya*. 2004. No 4. PP. 24-33. [Kudryavtseva VA, Osadchaya AI, Safronova LA Aerobic organisms of the genus *Bacillus* as a source of lytic enzymes producers. *Biotechnologiya*. 2004;4:24-33.] In Russian
23. Mikhaylova H.M., Blinkova L.P., Gataullin A.G. Biologicheskie svoystva novykh izolyatov *Bacillus subtilis*. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, immunobiologii*. 2007. No 4. PP. 41-46. [Mikhailova NM, Blinkova LP, Gataulhn A.G. Biologic characteristics of new *Bacillus subtilis* isolates. *J. of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2007;4:41-46.] In Russian
24. Osipova I.G., Mikhaylova N.A., Sorokulova I.B. i dr. Sporovye probiotiki. *Zhurnal mikrobiologii*. 2003. No 3. PP. 113-119. [Osipova IG, Mikhailova NA, Sorokulova IB, Vasilieva EA, Gaiderov AA. Spore probiotics. *Zhurnal mikrobiologii*. 2003;3:113-119.] In Russian
25. Nikitenko V.I. Meditsinskiy institut Orenburga predstavlyaet preparat sporobakterin. *JAMA*. 1991. Vol. 64. No 1. PP. 31. [Nikitenko VI. Orenburg medical institute presents preparation "sporobakterin". *JAMA*. 1991;64(1):31.] In Russian
26. Kuz'mina L.Yu., Loginov O.N., Boyko T.F. i dr. Effektivnost' bakterial'nykh preparatov pri zashchite rasteniy yarovoy pshenitsy ot tverдой golovni. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya*. 2003. No 5. PP. 69-73. [Kuzmina LY, Loginov ON, Bojko TF, Isaev RF, Sveshnikova EV, Melentiev AI. Effectiveness of bacterial preparations at protecting spring wheat plants from stinking smut. *Selskokhoziastvennaia biologiya*. 2003;5:69-73.] In Russian
27. Belov L.P., Shkalikov V.A., Dunaeva Yu.S. Vozmozhnosti ispol'zovaniya preparata na osnove *Bacillus subtilis* i *Bacillus licheniformis* v rastenievodstve. *AGRO XXI*. 2008. No 4-6. PP. 35. [Belov LP, Shkalikov VA, Dunaeva YS. Possibilities of using preparations on the basis of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* in plant science. *Agro XXI*. 2008;4-6:35.] In Russian
28. Gabrielyan N.I., Davydov D.S., Gorskaya E.M. i dr. Antagonizm in vitro sporobakterina v otnoshenii nozokomial'nykh shtammov mikrobov. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2008. No 6. PP. 12-18. [Gabrielyan NI, Davydov DS, Gorskaya EM, Spirina TS, Osipova IG. *In vitro* antagonism of *Sporobacterin* against nosocomial strains of microbes. *Vestnik transplantologii I iskusstvennykh organov*. 2008;6:12-18.] In Russian
29. Agarry OO, Akinyosoye FA, Adetuyi FC. Antagonistic properties of microorganisms associated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) products. *African J. Biotechnol*. 2005;4:627-632.
30. Chan Yiu-Kwok, Savard ME, Reid LM et al. Identification of lipopeptide antibiotics of a *Bacillus subtilis* isolate and their control of *Fusarium graminearum* diseases in maize and wheat. *BioControl*. 2009;54:567-574.

31. Minina T.S., Zakharova R.Sh., Urazbakhtina N.A. i dr. Novye endofitnye shtammy *Bacillus subtilis* kak osnova biofungitsidov. Vestnik Kazanskogo GAU. 2009. No 2. PP. 118-123. [Minina TS, Zakharova RS, Urazbakhtina NA, Khairulin RM. Novel endophytic *Bacillus subtilis* strains as biofungicide basis. *Vestnik of Kazan State Agrarian University*. 2009;2:118-123.] In Russian
32. Beric T, Kojic M, Stancovic S, Topisirovic L. et al. Antimicrobial activity of *Bacillus* sp. natural isolates and their potential use in the biocontrol of phytopathogenic bacteria. *Food Technology and Biotechnology*. 2012;50:25-31.
33. Semenov A.V. Kharakteristika antagonistscheskoy aktivnosti *Staphylococcus aureus* pri mezhmikrobnnykh vzaimodeystviyakh. Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya. 2011. No 3(15). PP. 56-66. [Semenov AV. Characteristic of antagonistic activity of *Staphylococcus aureus* in cross-species interaction between microorganisms. *Tomsk State University Journal of Biology*. 2011;3(15):56-66.] In Russian, English summary

БОТАНИКА

УДК 574.42 + 574.472 + 581.524.3 (571.642)

doi: 10.17223/19988591/25/4

К.А. Корзников

Московский государственный университет им М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия

Растительные сообщества Южно-Сахалинского грязевого вулкана

Южно-Сахалинский грязевой вулкан – один из трех центров развития грязевого вулканизма на Сахалине. Постоянная эруптивная активность вулкана и необычный химизм выбрасываемого субстрата обуславливают формирование специфических экотопов. Вулкан является памятником природы, однако о его растительном покрове в научной литературе сведений до сих пор нет. Изучение состава и структуры сообществ грязевых вулканов важно с точки зрения охраны природы и сохранения биоразнообразия. Всего на грязевых полях Южно-Сахалинского вулкана обнаружено 33 вида сосудистых растений. Мохообразные и лишайники значительной роли в сложении растительного покрова не играют. Растительные сообщества грязевых полей, образовавшиеся в ходе сильных извержений в разные годы, относятся к разным сериальным стадиям сукцессионного ряда. Пионерное сообщество сложено единственным видом *Triglochin palustre*. Следующий этап развития растительного покрова представляет сообщество *Triglochin palustre* – *Phragmites australis*, его сменяет сообщество *Phragmites australis* – *Aster glehnii*, последним из серии нелесных сообществ на отложениях грязевого вулкана является сообщество *Phragmites australis* – *Salix caprea*. Завершается сукцессия формированием зонального лесного сообщества с доминированием *Abies sachalinensis*. По мере увеличения возраста субстрата происходит увеличение видового богатства, флористической насыщенности, проективного покрытия. Динамическая смена сообществ вулкана не является автогенетической, поскольку сукцессия протекает на фоне постоянного изменения химизма изверженного субстрата – вымывания из него токсичных для растений соединений.

Ключевые слова: грязевой вулкан; растительный покров; сообщество; сукцессия.

Введение

Явление грязевого вулканизма в какой-то мере является аналогом вулканизма магматического, однако в отличие от магматических грязевые вулканы извергают на дневную поверхность не раскаленные лавы, а в разной степени разжиженные осадочные породы – сопочные брекчии [1]. Всего в мире насчитывается 44 района развития грязевого вулканизма [2], в которых

сосредоточено в общей сложности 926 надводных грязевых вулканов площадью 2 880 км² и 300 подводных [3], по другим оценкам, число грязевых вулканов может составлять около 1700 [4]. В России грязевые вулканы находятся только на Таманском полуострове и острове Сахалин. Помимо Южно-Сахалинского грязевого вулкана на Сахалине действует группа Пугачевских грязевых вулканов, центральным из которых является вулкан Магунтан, и Дагинские грязевые вулканы вблизи одноименных термоминеральных источников. Проявивший активность в 1986 г. Лесновский грязевой вулкан [5] к настоящему моменту прекратил функционировать. Все грязевые вулканы Сахалина имеют статус региональных памятников природы [6].

Южно-Сахалинский грязевой вулкан расположен в южной части Западно-Сахалинских гор, в 20 км к северо-западу от областного центра и в 500 м к северу от ныне не действующей ветки железной дороги Южно-Сахалинск – Холмск. Центру нынешней активности вулкана отвечает северная пологая вершина сдвоенного холма, вытянутого в субмеридиональном направлении, ограниченного с запада и востока небольшими долинами [7, 8]. Вулканическая постройка сложена сравнительно однородной глинистой массой серого цвета, одинаковой консистенции, с обломками разных пород и минералов – продуктами наложившихся друг на друга и наращивающих постройку грязевых выбросов вулкана. Абсолютная отметка высоты вулкана достигает 300 м, окружающих его вершин – от 350 до 550 м [8]. Географические координаты центра вулкана: N 47° 04' 53" E 142° 34' 43".

Достоверно известно о трех сильных извержениях вулкана – в 1959, 1979 и 2001 гг. Слабые извержения происходят с периодичностью раз в несколько лет. Периоды активности чередуются с продолжительными периодами покоя, когда активность проявляется лишь в слабом истечении разжиженной глинистой массы из грязевых конусов – грифонов. Конфигурация и размеры грязевых полей вулкана сильно менялись от извержения к извержению, постоянно наращивая лишь привершинную часть холма-вулкана. Размеры грязевого поля, образовавшегося в ходе извержения 1959 г., покрыли площадь около 60 тыс. м², объем выбросов составил 150–200 тыс. м³ [9]. Извержение 1979 г. было менее сильным, продукты извержения не вышли за пределы поля, образовавшегося в 1959 г., покрыли площадь 50 тыс. м², объем выбросов составил 40–50 тыс. м³. В ходе извержения 2001 г. выброшенная на дневную поверхность водо-грязевая масса в значительной мере перекрыла грязевые поля былых извержений. При образовании нового грязевого поля возникли два сильных потока, более сильный северо-западный сполз вниз по склону холма, внедрился в окружающий вулкан лес и остановился, достигнув русла реки. Объем выброшенного материала во время эрупции 2001 г. вполне сопоставим с извержением 1959 г. [8].

Постоянная активность Южно-Сахалинского вулкана, вызывающая механическое уничтожение растений, засоленность субстрата и насыщенность его редкими элементами и веществами, а также постоянную эмиссию газов,

обуславливает формирование своеобразных экотопов. Температура грязевых выбросов не превышает 16°C и повышается до 28–32°C лишь в краткие периоды бурных извержений [10]. Соленость свежего водо-грязевого субстрата достигает 27 г/л, из катионов преобладают натрий и калий (8,36 г/л), из анионов – гидрокарбонаты (9,96 г/л) и хлориды (5,0 г/л). Значение pH превышает 8 [10, 5]. Воды грязевого вулкана насыщены борной кислотой [11]. Газовые выбросы грязевого вулкана состоят из метана (его доля варьирует от 12 до 54,4% в зависимости от фазы активности вулкана), углекислого газа (25,9–86%), кислорода и аргона (0,1–7,4%), азота (1,2–5,2%) и незначительного количества углеводородных газов [12].

В научной литературе особенностям растительных сообществ грязевых вулканов уделено недостаточно внимания. Вместе с тем Южно-Сахалинский грязевой вулкан является уникальным объектом природы, а сообщества, сформировавшиеся на его грязевых полях, могут быть определены как редкие по экотопическому критерию [13]. Изучение флоры и растительности грязевого вулкана важно с точки зрения охраны природы и резервирования биоразнообразия. Возникшие в ходе извержений разных годов грязевые поля дают возможность наблюдения за динамикой растительного покрова, являются хорошей площадкой для изучения закономерностей сукцессионных процессов. Целью работы стало установление особенностей состава, структуры и динамики растительного покрова Южно-Сахалинского грязевого вулкана.

Материалы и методики исследования

Полевой этап исследования состоялся в летне-осенний период 2012 и 2013 гг. Учет геоботанических показателей проводили на пробных площадях размерами 1×1, 5×5 и 10×10 м. Всего заложили 105 площадок. Дополнительно организовали 3 постоянные пробные площади размерами 10×10 м в сообществах разных сукцессионных стадий для оценки долговременных изменений их состава и структуры. На пробных площадях устанавливали видовой состав и участие видов по 7-балльной шкале проективного покрытия. Для каждого вида в пределах грязевых полей разных генераций определяли константность, долю описаний, в которых этот вид присутствует: I – 0–20%; II – 21–40%; III – 41–60%; IV – 61–80%; V – 81–100%. Местоположение всех площадок привязывали к географическим координатам с помощью GPS-навигатора «Garmin eTrex30». Участки растительного покрова, на которых проводили описание, соотносили с космическими снимками вулкана в программе GoogleEarth и картой-схемой грязевых полей вулкана, выполненной О.А. Мельниковым [8]. Возраст деревьев определяли по годичным отметкам на кернах, взятых у модельных деревьев с помощью возрастного бурава «Haglof».

Результаты исследования и обсуждение

Привязка описаний с учетных площадок позволила составить таблицу частоты встречаемости видов в сообществах, приуроченных к грязевым полям, образовавшимся в ходе сильных извержений (таблица).

Константность видов на грязевых полях разных генераций

Вид	Год генерации грязевого поля (номер сообщества)			
	1959 (4)	1979 (3)	2001 (2)	2009–2013 (1)
	Число описаний (1/25/100 м ²)			
	30/10/1	22/10/2	18/10/2	–
<i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.	V	V	III	
<i>Picris japonica</i> Thunb.	IV	II		
<i>Triglochin palustre</i> L.		I	V	I
<i>Aster glehnii</i> F. Schmidt	IV	III	I	
<i>Taraxacum</i> sp.	IV	III	I	
<i>Hieracium aurantiacum</i> L.	III	II	I	
<i>Salix caprea</i> L.	III (j, im, v)	II (j, im)		
<i>Senecio cannabifolius</i> Less.	III	II		
<i>Betula platyphylla</i> Sukaczew	III (j, im, v)	I (j, im)		
<i>Calamagrostis extremiorientalis</i> (Tzvelev) Prob.	II	I		
<i>Filipendula camtschatica</i> (Pall.) Maxim.	II			
<i>Sonchus arvensis</i> L.	II			
<i>Cuscuta japonica</i> Choisy	I	I		
<i>Tussilago farfara</i> L.	I	I	I	
<i>Artemisia montana</i> (Nakai) Pamp.	I	I	I	
<i>Elymus woroschilowii</i> Prob.	I	I		
<i>Equisetum arvense</i> L.	I	I		
<i>Plantago major</i> L.		I	I	
Общее проективное покрытие, %	90	70	20	< 0,01

С константностью I в сообществе № 4 найдены виды: *Salix udensis* Trautv. & C.A. Mey. (j, im, v), *Anaphalis margaritacea* (L.) A. Gray, *Carex cespitosa* L., *Cirsium kamtschaticum* Ledeb. ex DC., *Picea ajanensis* (Lindl. & Gordon) Fisch. & Carr. (j, im, v), *Spiraea salicifolia* L., *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop., *Rosa acicularis* Lindl., *Dactylorhiza aristata* (Fisch. ex Lindl.) Soo, *Sorbus commixta* Hedl. (j, im, v), *Agrostis scabra* Willd., *Angelica ursina* (Rupr.) Maxim., *Heracleum lanatum* Michx., *Alnus hirsuta* (Spach) Turcz. ex Rupr. (j, im, v), *Petasites amplus* Kitam. A.A. Таран указывает для периферии грязевых полей еще один вид: *Neottianthe cucullata* (L.) Schlechter [14], мы обнаружили его только на окружающих вулкан сопках.

Недавно извергнутый грязевой субстрат, располагающийся в центральной части вулкана, почти полностью лишен покрова из растений, имеет трещиновато-бугристый облик. Из жерл грифонов постоянно истекает от-

носителем жидкая грязевая масса, но не распространяется от них дальше, чем на несколько метров. В этой зоне (№ 1) лишь изредка, с незначительным общим проективным покрытием, произрастают угнетенные растения *Triglochin palustre*.

Центральную зону свежих выбросов окружает сообщество, в котором доминирует *Triglochin palustre*, а на отдельных площадях встречаются группы *Phragmites australis*, редко растения других видов. Снятый с помощью GPS-навигатора контур сообщества *Triglochin palustre* – *Phragmites australis* (№2) совпадает с границами распространения продуктов извержения 2001 г. Грязевое поле 2001 г. испещрено следами водной эрозии, а на северо-западном грязевом шлейфе возникли овраги глубиной до 2,5 м, на их дне видны поваленные и погребенные в ходе извержения стволы деревьев. Вне грязевых отложений 2001 г. растения *Triglochin palustre* почти не встречаются, а доминирующим видом становится *Phragmites australis*.

Визуально отличной зоне растительного покрова с доминированием *Phragmites australis* соответствуют два сообщества *Phragmites australis* – *Aster glehnii* (№3) – на грязевом поле извержения 1979 г. и *Phragmites australis* – *Salix caprea* (№4) – на отложениях, возникших в ходе извержения 1959 г. В сообществе *Phragmites australis* – *Aster glehnii* виды деревьев представлены исключительно ювенильными и имматурными особями, в то время как в составе сообщества *Phragmites australis* – *Salix caprea* наряду с всходами присутствуют и молодые деревца высотой до 6–7 м, преимущественно ближе к краю грязевого поля у границы с окружающим вулкан лесом.

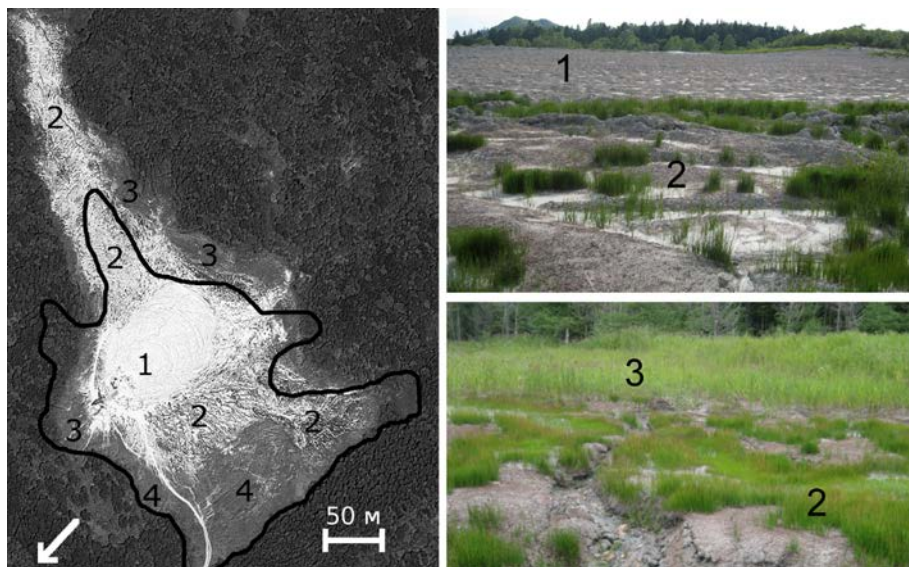


Рис. 1. Зоны растительного покрова Южно-Сахалинского вулкана в 2013 г. Черная линия – граница распространения грязевых потоков извержения 1959 г. [8]. Цифрами обозначены номера сообществ. Снимок Google Earth

Вместе с увеличением богатства видового состава по мере «старения» грязевых полей происходит и увеличение флористической насыщенности. Для сообщества *Triglochin palustre* – *Phragmites australis* она составляет 1,81 вида на 1 м²; *Phragmites australis* – *Aster glehnii* – 3,89; *Phragmites australis* – *Salix caprea* – 6,92. По мере развития сукцессии из состава сообществ выпадает пионерный вид *Triglochin palustre*, что говорит о его фитоценотическом оптимуме в растительном покрове вулкана в условиях наивысшего экотопического стресса. Согласно нашим наблюдениям, два доминанта растительного покрова – *Triglochin palustre* и *Phragmites australis* – местами доминируют и в растительных сообществах группы Пугачевских грязевых вулканов, другого центра развития грязевого вулканизма на Сахалине.

По мнению геологов [8], темнохвойный лес к юго-западу от нынешней вулканической постройки сформировался на выбросах древнего эруптивного центра. Его центр находился в 200 м к юго-западу от нынешних границ вулкана, на южной вершине нынешнего сдвоенного холма-вулкана (на рис. 1 направление показано стрелкой). Затухающую активность единственного грифона на вершине холма отмечал еще М. Уэда в 30-х гг. прошлого столетия, а позднее О.А. Мельников [8, 15]. В 2013 г. былая активность угадывалась лишь по наличию слегка газирующей небольшой грязевой лужи-сальзы, почти скрытой под слоем опада. На расстоянии 2–3 м от сальзы обильно встречаются *Phragmites australis*, *Aster glehnii* и *Senecio cannabifolius* – характерное сочетание видов для грязевых полей вулкана, но не характерное для окружающих вулкан сообществ. Площади последнего грязевого поля, почти правильной округлой формы диаметром около 35 м, соответствует монодоминантный древостой из *Alnus hirsuta* высотой 8–10 м, диаметром 16–18 см и возрастом 30–35 лет, с массовым развитием *Filipendula camtschatica* под пологом. Принимая во внимание скорость сукцессии на субстрате вулкана и возраст деревьев, можно заключить, что с момента возникновения последнего грязевого поля должно было пройти не менее 80 лет. О.А. Мельников придерживался мнения, что последнее грязевое поле возникло в интервале между 1930 и 1940 гг. [15]. Склоны этого «затухшего» холма-вулкана занимает темнохвойный лес с доминированием *Abies sachalinensis* F. Schmidt. Возраст пихт на границе с контуром последнего грязевого поля составляет 45 лет, диаметр 18 см, высота 12 м. Вниз по склону возраст деревьев увеличивается. Это лесное темнохвойное сообщество флористически менее разнообразно, чем те, что расположены в окрестностях грязевого вулкана, но находятся вне зоны его средообразующего воздействия. Отличия от коренных лесов заключаются в обедненном видовом составе и слабой развитой вертикальной структуре.

Заключение

Обогащение флористического состава сообществ и спектра жизненных форм, рост проективного покрытия растений свидетельствуют о снижении

суровости условий произрастания и снятии экотопического стресса вместе с увеличением возраста субстрата. Рассмотренные сообщества являются этапами сукцессии растительного покрова Южно-Сахалинского грязевого вулкана. В отличие от первичных автогенетических сукцессий, подобных тем, которые происходят на застывших лавах магматических вулканов, на первых стадиях сукцессии доминируют не мхи и лишайники, а сосудистые растения. Участие бессосудистых растений в сообществах грязевого вулкана незначительно. Сукцессия на грязевых полях проходит не только за счет преобразования биотопа в ходе жизнедеятельности организмов. Ведущим фактором динамики растительного покрова является изменение химизма субстрата за счет вымывания солей и других токсичных веществ дождевыми и талыми водами. Развитие растительного покрова, биотическая трансформация местообитаний, формирование почвы на грязевых полях протекают на фоне экзогенных процессов выветривания, геохимической трансформации субстрата [16]. В случае если участки растительного покрова на длительное время выходят из зоны средообразующего влияния грязевого вулкана, после смены ряда сериальных сообществ формируются участки квази-климаксовых зональных темнохвойных лесов с доминированием *Abies sachalinensis*.

За ценные советы и критические замечания, позволившие сделать статью лучше, благодарю профессора кафедры геоботаники МГУ В.Н. Павлова. За помощь в определении видов знаков выражаю признательность сотруднику Гербария Московского университета С.В. Дудову.

Литература

1. Лимонов А.Ф. Грязевые вулканы // Сетевой образовательный журнал. 2004. Т. 8, № 1. С. 63–69.
2. Kopf A.J. Significance of mud volcanism // Reviews of Geophysics. 2002. Vol. 40, № 2. P. 1–52.
3. Etiope G., Milkov A.V. A new estimate of global methane flux from onshore and shallow submarine mud volcanoes to the atmosphere // Environmental Geology. 2004. Vol. 46, № 8. P. 997–1002.
4. Холодов В.Н. О природе грязевых вулканов // Природа. 2002. № 11. С. 47–58.
5. Мельников О.А., Ильев А.Я. О новых проявлениях грязевого вулканизма на Сахалине // Тихоокеанская геология. 1989. № 3. С. 42–49.
6. Государственный кадастр особо охраняемых природных территорий регионального значения Сахалинской области. Южно-Сахалинск : Министерство лесного и охотничьего хозяйства Сахалинской области, 2012. 170 с.
7. Гурьева З.И., Шарков В.В. Изучение грязевых вулканов о. Сахалин по материалам аэрофотосъемки // Тихоокеанская геология. 1987. № 4. С. 58–65.
8. Мельников О.А. Южно-Сахалинский газоводолитокластитовый («грязевой») вулкан — уникальный объект природы на Дальнем Востоке России : путеводитель экскурсии на вулкан для участников междунар. науч. симп. 24–28 сент. 2002 г. Южно-Сахалинск : ИМГиГ ДВО РАН, 2002. 46 с.
9. Шилов В.Н., Захарова М.А., Ильев А.Я., Подзоров А.В. Извержение Южно-Сахалинского грязевого вулкана весной 1959 г. // Труды СахКНИИ СО АН СССР. Южно-Сахалинск, 1961. Вып. 10. С. 83–99.

10. Сырык И.М. Грязевые вулканы // Геология СССР. Остров Сахалин. М., 1976. Т. 23. С. 355–369.
11. Аверьев В.В. Углекислые мышьяковистые Синегорские воды на Южном Сахалине // Бюл. МОИП. Отдел. Геологический. 1957. Т. 32 (3). С. 143–149.
12. Сорочинская А.В., Шакиров Р.Б., Обжиров А.И. Грязевые вулканы о. Сахалин (газогеохимия и минералогия) // Региональные проблемы. 2009. № 11. С. 39–44.
13. Крестов П.В., Верхолат В.П. Редкие растительные сообщества Приморья и Приамурья. Владивосток : ДВО РАН, 2003. 200 с.
14. Красная книга Сахалинской области: Растения / отв. ред. В.М. Ерёмин. Южно-Сахалинск : Сахалинское книжное издательство, 2005. 348 с.
15. Мельников О.А., Сабиров Р.Н. Новые данные о современном состоянии бывлой активности Южно-Сахалинского газодогрязевого вулкана (о. Сахалин) // Тихоокеанская геология. 1999. Т. 18, № 3. С. 37–46.
16. Иванов В.Ф., Молчанов Е.Ф., Корженевский В.В. Растительность и почвообразование на извержениях грязевых вулканов // Почвоведение. 1989. № 2. С. 5–12.

Поступила в редакцию 11.11.2013 г.

Корзников Кирилл Александрович – аспирант кафедры геоботаники биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (г. Москва, Россия). E-mail: korzkir@mail.ru

Tomsk State University Journal of Biology. 2014. № 1 (25). P. 56–65

doi: 10.17223/19988591/25/4

Kirill A. Korznikov

Department of Geobotany, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation. E-mail: korzkir@mail.ru

Plant communities of the Yuzhno-Sakhalinsk mud volcano

The Yuzhno-Sakhalinsk mud volcano is one of three centers of mud volcanism in Sakhalin Island. Regular eruptions and high salinity of substrates (exceed 27 g/l, pH 11) form specific conditions for ecosystems. The Yuzhno-Sakhalinsk Mud Volcano is a protected natural area, but there is still no data on its vegetation cover in scientific literature. The study of composition, structure and dynamics of the mud volcano plant community is important for nature conservation and biodiversity protection. Vegetation cover on the mud volcano surface was explored in summer-autumn seasons 2012–2013, 105 sample plots were formed. We found 33 vascular plants species of community's on the mud surface, generated after the violent eruptions in 1959, 1979 and 2001. These plant communities are different stages of vegetation succession. Pioneer community formed on the recently erupted mud (1–4 years) is composed of one species *Triglochin palustre* and the total coverage is less than 0.01%. The next stage in the succession is *Triglochin palustre-Phragmites australis* community on the surface created by eruption in 2001. Average plants cover of this community is 20%, mean floristic richness (mean number of species at 1×1 m plot) is 1.81. *Phragmites australis-Aster glehnii* community develops on the surface which was generated after the eruption in 1979. Mean floristic richness is 3.89, plants coverage is about 70%. The next *Phragmites australis-Salix caprea* community formed on the mud field appeared during the violent eruption in 1959. In contradistinction to younger communities *Phragmites australis-Salix caprea* are composed of plants at the first ontogenetic stages of trees (*Salix caprea*,

Salix udensis, *Betula platyphylla*, *Picea ajanensis*) and shrubs (*Rosa acicularis*, *Sorbus commixta*) species. The total plants coverage is about 90% and mean floristic richness is 6.92. Bryophytes and lichens do not play a significant role in the composition of vegetation cover. The study of vegetation on the slopes of an old, almost non active, mud volcano, which is located 200 meters south-west of the current volcano, suggests that the succession to the mud volcano substrate finish with formation of zonal quasi-climax forest-community dominated by *Abies sachalinensis*. In contrast to old-growth forests, the forest on the mud volcano sediments has a poor floristic diversity and abundance, simplified vertical (no shrubs canopy and liana species) and a horizontal structure. Dynamic changes of vegetation cover are associated with improved growing conditions and the disappearance of ecotopic stress by reducing salinity of the substrate, accumulation of nutrients and soil cover formation with increasing the mud surface age.

Key words: mud volcano; vegetation cover; community; succession.

Received November 11, 2013

References

1. Limonov A.F. Gryazeveye vulkany. Setevoy obrazovatel'nyy zhurnal. 2004. Vol. 8, No 1. PP. 63-69. [Limonov A.F. Mud volcanoes. *Network educational journal*. 2004;8(1):63-69.] In Russian
2. Kopf A.J. Significance of mud volcanism. *Reviews of Geophysics*. 2002;40(2);1-52.
3. Etiope G, Milkov A.V. A new estimate of global methane flux from onshore and shallow submarine mud volcanoes to the atmosphere. *Environmental Geology*. 2004;46(8):997-1002.
4. Kholodov V.N. O prirode gryazevykh vulkanov. *Priroda*. 2002. No 11. PP. 47-58. [Kholodov V.N. On the nature of mud volcanoes. *Priroda*. 2002;11:47-58.] In Russian
5. Mel'nikov O.A., Il'ev A.Ya. O novykh proyavleniyakh gryazevogo vulkanizma na Sakhaline. *Tikhookeanskaya geologiya*. 1989. No 3. PP. 42-49. [Melnikov O.A., Ilyev A.Y. On novel manifestations of mud volcanism on Sakhalin. *Pacific geology*. 1989;3:42-49.] In Russian
6. Gosudarstvennyy kadastr osobo okhranyaemykh prirodnnykh territoriy regional'nogo znacheniya Sakhalinskoy oblasti. Yuzhno-Sakhalinsk: Ministerstvo lesnogo i okhotnich'ego khozyaystva Sakhalinskoy oblasti, 2012. 170 pp. [National cadastre of specially protected natural reservations of regional significance of Sakhalin oblast. Yuzhno-Sakhalinsk: Ministry of forestry and hunting of Sakhalin oblast; 2012. 170 p.] In Russian
7. Gur'eva Z.I., Sharkov V.V. Izuchenie gryazevykh vulkanov o. Sakhalin po materialam aerofotos'emki. *Tikhookeanskaya geologiya*. 1987. No 4. PP. 58-65. [Guryeva ZI, Sharkov VV. Investigation of Sakhalin mud volcanoes basing on aerial survey. *Pacific geology*. 1987;4:58-65.] In Russian
8. Mel'nikov O.A. Yuzhno-Sakhalinskiy gazovodolitoklastitovyy («gryazevoy») vulkan – unikal'nyy ob'ekt prirody na Dal'nem Vostoke Rossii: putevoditel' ekskursii na vulkan dlya uchastnikov mezhdunar. nauch. simp. 24-28 sent. 2002 g. Yuzhno-Sakhalinsk: IMGIG DVO RAN, 2002. 46 pp. [Melnikov O.A. Yuzhno-Sakhalinsk mud volcano as a unique natural object on the Russian Far east. Yuzhno-Sakhalinsk: Institute of Marine Geology and Geophysics, Far Eastern branch of the Russian Academy of Sciences; 2002. 46 p.] In Russian
9. Shilov V.N., Zakharova M.A., Il'ev A.Ya., Podzorov A.V. Izverzhenie Yuzhno-Sakhalinskogo gryazevogo vulkana vesnoy 1959 g. *Trudy SakhKNII SO AN SSSR*. Yuzhno-Sakhalinsk, 1961. Vyp. 10. PP. 83-99. [Shilov V.N., Zakharova M.A., Ilyev A.Y., Podzorov A.V. Yuzhno-Sakhalinsk mud volcano eruption in spring of 1959. *Proceedings of Institute of Marine Ge-*

- ology and Geophysics, Sakhalin branch of the Academy of Sciences of the USSR. Yuzhno-Sakhalinsk, 1961;10:83-99.] In Russian
10. Siryk I.M. Gryazevye vulkany. Geologiya SSSR. Ostrov Sakhalin. M.: 1976. Vol. 23. PP. 355-369. [Siryk IM. Mud volcanoes. *Geology of the USSR*. Sakhalin island. Moscow. 1976;23:355-369.] In Russian
 11. Aver'ev V.V. Uglekislye mysh'yakovistye Sinegorskie vody na Yuzhnom Sakhaline. Byul. MOIP. Otdel. Geologicheskiiy. 1957. Vol. 32 (3). PP. 143-149. [Averyev VV. Carbonated arsenic Synegorye waters in South Sakhalin. *Bulletin MOIP. Geological department*. 1957;32(3):143-149.] In Russian
 12. Sorochinskaya A.V., Shakirov R.B., Obzhairov A.I. Gryazevye vulkany o. Sakhalin (gazo-geokhimiya i mineralogiya). Regional'nye problemy. 2009. No 11. PP. 39-44. [Sorochinskaya AV, Shakirov RB, Obzhairov AI. Sakhalin mud volcanoes (gas geochemistry and mineralogy). *Regional problems*. 2009;11.39-44.] In Russian
 13. Krestov P.V., Verkholat V.P. Redkie rastitel'nye soobshchestva Primor'ya i Priamur'ya. Vladivostok: DVO RAN, 2003. 200 pp. [Krestov PV, Verkholat VP. Rare plant communities of Primorye and Amur River Region. Vladivostok: Far Eastern branch of the Russian Academy of Sciences; 2003. 200 p.] In Russian
 14. Krasnaya kniga Sakhalinskoy oblasti: Rasteniya / otv. red. V.M. Eremin. Yuzhno-Sakhalinsk: Sakhalinskoe knizhnoe izdatel'stvo, 2005. 348 pp. [Red list of Sakhalin oblast: Plants / Ed. VM. Eryomin. Yuzhno-Sakhalinsk: Sakhalin publishing house; 2005. 348 p.] In Russian
 15. Mel'nikov O.A., Sabirov R.N. Novye dannye o sovremennom sostoyanii byloy aktivnosti Yuzhno-Sakhalinskogo gazovodogryazevogo vulkana (o. Sakhalin). Tikhookeanskaya geologiya. 1999. Vol. 18, No 3. PP. 37-46. [Melnikov OA, Sabirov RN. Novel data on modern state of former activity of Yuzhno-Sakhalinsk mud volcano (Sakhalin island). *Pacific geology*. 1999;18(3):37-46.] In Russian
 16. Ivanov V.F., Molchanov E.F., Korzhenevskiy V.V. Rastitel'nost' i pochvoobrazovanie na izverzheniyakh gryazevykh vulkanov. Pochvovedenie. 1989. No 2. PP. 5-12. [Ivanov VF, Molchanov EF, Korzhenevsky VV. Vegetation and soil formation on mud volcanoes eruptions. *Pochvovedenie*. 1989;2:5-12.] In Russian

УДК 582.536-114

doi: 10.17223/19988591/25/5

А.Г. Лапиров

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, п. Борок,
Ярославская обл., Россия

Особенности онтогенеза частухи подорожниковой *Alisma plantago-aquatica* L. (Alismataceae)

Обобщены многолетние материалы по онтогенезу частухи подорожниковой. Выделены и описаны 11 возрастных состояний: 1-й год жизни – проростки и ювенильные растения; 2-й год – взрослые вегетативные, скрытогенеративные и молодые генеративные; 3-й год – молодые и средневозрастные генеративные растения; 4-й год – средневозрастные и старые генеративные, а также сенильные растения. Выявлены особенности индивидуального развития и их изменения при переходе из одного онтогенетического состояния в другое.

Ключевые слова: *Alisma plantago-aquatica* L.; гелофиты; онтогенез; возрастные состояния.

Введение

Частуха подорожниковая (*Alisma plantago-aquatica* L.) – один из представителей семейства *Alismataceae* Vent., относится к экологической группе низкотравных гелофитов [1]. Это растение с евразийско-североафриканским ареалом [2], обладает широкой экологической амплитудой и встречается по берегам озёр, рек, на мелководьях водохранилищ, в прудах, канавах, каналах, кюветах, в местах с поверхностным и грунтовым подтоплением [3–6]. Частуха подорожниковая относится к пионерным растениям, появляющимся в массе на водоемах в первые годы их существования, однако вид конкурентно нестойкий [4, 6]. Это растение – индикатор эвтрофных пресноводных участков водоемов с аллювиальными отложениями, местообитаний, нарушенных вследствие выпаса, участков понижения уровня воды и наличия мощных иловых отложений [3].

Частуха подорожниковая – ценное лекарственное растение. Она обладает мочегонным действием. Настой и порошок листьев принимают при хроническом нефрите, отеках почечного происхождения, водянке, геморрое и для уменьшения выработки молока при отнятии детей от груди [7]. Кроме того, отмечается кормовое, декоративное и пищевое значение этого растения [3].

Ранее онтогенез этого растения описан в условиях Республики Марий Эл (территория Национального парка «Марий Чодра»: берега некоторых озёр и старицы р. Илеть [8–10]). Кроме того, некоторые морфологические

показатели различных возрастных групп частухи подорожниковой с целью выявления изменений их биомассы и продукции были получены Н.В. Васильевой [11] в экспериментальных прудах. Однако в этих работах слабо отражены особенности формирования вегетативной и генеративной сферы растений в каждом возрастном состоянии и их изменения при переходе из одного возрастного состояния в другое.

Наше исследование биологии (в широком смысле, включая и онтогенез) частухи подорожниковой было начато в конце XX в. (1996–1999 гг.) и продолжается в настоящее время. За этот период развитие *A. plantago-aquatica* изучалось не только в различные по уровню водности годы, но и в разных местообитаниях, характерных для произрастания этого вида.

Цель настоящей работы – обобщение материалов по онтогенезу *A. plantago-aquatica*.

Материалы и методики исследования

Исследование онтогенеза частухи подорожниковой проводилось в течение вегетационных сезонов 1996–1999, 2001–2003, 2005, 2008–2011 гг. на мелководьях Рыбинского водохранилища и впадающих в него малых рек Ильдь, Сутка и Корожечна; на увлажненном понижении вблизи копи в д. Григорово и на участке нарушенной луговины среди кустарника (ивняка) вблизи п. Борок; в придорожных понижениях вдоль автомобильных дорог. Для полевых исследований также использовались экспериментальные пруды, в которых были созданы условия, близкие к естественным. Грунтовые комплексы в местах произрастания варьировали от песчаных с наилком (мелководья водохранилища и малых рек) до песчано-глинистых и заиленного глинистого песка (понижения и пруды соответственно).

Степень обводнения мелководий Рыбинского водохранилища и малых рек зависела от водности года и режима регулирования стока водохранилища. Увлажнение понижений (в д. Григорово и вблизи п. Борок, а также вдоль автомобильных дорог) в значительной мере зависело от количества атмосферных осадков. Уровень обводненности экспериментальных прудов был связан с режимом подачи воды из водохранилища и имел ежедневные колебания: к утру (за ночь) глубина воды понижалась до 0 см (у края пруда) и 12 см (в центральной его части). После подачи воды (утром) глубина повышалась до 4 и 16 см соответственно и держалась на этом уровне в дневные и вечерние часы.

Кроме того, самые ранние этапы развития были изучены на проростках, выращенных из орешков, высеянных в грунт экспериментального пруда и в процессе проращивания их в лабораторных условиях. В последнем случае орешки проращивались в люминостате в трех чашках Петри между слоями фильтровальной бумаги, увлажненной отстаившейся водопроводной водой – по 50 орешков в каждой, фотопериод 9/15, освещенность 1200–1500 Лк.

В течение эксперимента колебания температур составляли от 21,5 до 31,2°C при отклонениях от средней в каждом месяце 0,9–2,5°C. Для наблюдений за прорастанием и дальнейшим развитием проростков брались только стратифицированные во влажных условиях орешки (хранение в холодильнике при температуре + 4...5°C в течение 8 мес.).

Последующие этапы развития были прослежены в природных условиях, а также на отобранных и аккуратно перенесенных в середине июня 1998 г. из увлажненного понижения в д. Григорово в экспериментальный пруд одинаковых по габитусу 55 растениях 1-го года жизни и 100 растениях 2-го года жизни (все экземпляры семенного происхождения). Растения были высажены на двух ступенях экспериментального пруда, сходных по планировке, характеру грунта, качеству поступающей воды и температурному режиму. Глубина воды на первой ступени была на 10 см меньше, чем на второй.

Для характеристики каждого возрастного состояния использовали 8(10)–15 растений. Для этого с конца мая – начала июня по октябрь два раза в месяц (в прудах один раз в две недели) растения аккуратно выкапывались для проведения тщательного морфологического анализа надземной и подземной сферы. Измерялись длина и ширина наибольшего листа, максимальная длина корней, цветоноса, диаметр клубневидного утолщения; подсчитывалось число придаточных корней, листьев и цветоносов. Дополнительно, для анализа морфологических признаков растений, использовались гербарные материалы ИБВВ РАН (IBIW).

Все данные были статистически обработаны при помощи пакета Excel, в таблицах и тексте приведены средние значения каждого показателя и отклонения от средней.

Описание онтогенеза проводили по схеме возрастной периодизации Т.А. Работнова [12] с некоторыми дополнениями [13, 14].

Результаты исследования и обсуждение

Онтогенез

Латентный период

Так же как и ряд исследователей [15–18], мы считаем, что плод *A. plantago-aquatica* – многоорешек, а не семянка [6] или сборная семянка [19, 20 и др.]. Определение «сборная семянка» неправомерно, поскольку гинецей частухи подорожниковой состоит из свободных плодолистиков (т.е. апокарпный [21]). Кроме того, термин «сборный» плод уже давно считается устаревшим [15, 16].

По нашим наблюдениям, период созревания орешков частухи подорожниковой длится с конца августа до конца сентября, что связано с растянутым сроком цветения и, как следствие, неодновременным развитием как отдель-

ных соцветий, так и цветков в пределах одного соцветия. На одном соцветии образуется от 130 до 6 181 орешков, при этом среднее число орешков в плоде $15,4 \pm 3,9$ с колебаниями от 11 до 24. Орешки мелкие, $2,2 \pm 0,4$ см длиной, ко-со-обратнойцевидные, на спинке выпуклые. По данным А.А. Смиренского [6], одна особь продуцирует 2 200 орешков, а по В.К. Богачеву [22] – 6 830, но на особенно мощных экземплярах число семян может достигать 30 000 [23]. Орешки имеют залегающий под эпидермисом пояс крупных воздухоносных клеток, который позволяет им плавать в течение 2–10 дней [15]. Семена мелкие, от 3 до 7–8 мм длиной, часто подковообразно изогнутые, семязачаток частухи, так же как и зародыш, в процессе формирования семени становится двусторонне изогнутым или подковообразным [17], семя защищено от намокания плотным эндокарпием и семенной кожурой [15].

Особенности анатомического строения орешков и семени оказывают серьезное влияние на состояние покоя и процессы прорастания.

На основании проведенных экспериментов мы, так же как и М.Г. Николаева и др. [18], считаем, что светочувствительным семенам *A. plantago-aquatica* свойствен комбинированный тип покоя ($A_\phi - B_2$), который связан не только с водонепроницаемостью покровов, но и с особым физиологическим состоянием самого зародыша. Для преодоления этого покоя, как считают некоторые авторы [18, 24], семена нуждаются в стратификации при температуре $+1 \dots 10^\circ\text{C}$ (оптимально $+5^\circ\text{C}$) в течение 1–2 месяцев или, возможно, в скарификации. Однако по нашим данным для нарушения покоя более эффективной оказалась холодная влажная стратификация орешков при температуре $+4 \dots 5^\circ\text{C}$ в течение 7–8 месяцев (процент прорастания 84–97). Отметим также, что свежие орешки имеют очень низкий процент прорастания (около 3,3%). Более подробные данные об особенностях прорастания орешков частухи подорожниковой изложены Н.В. Васильевой [12].

Виргинильный период

Проростки. По нашим наблюдениям, прорастание у *A. plantago-aquatica* надземное. Оно свойственно также большинству водных однодольных [25–28]. У набухших семян крупный зародыш, покрытый темной семенной кожурой, хорошо выделяется на светло-коричневом фоне околоплодника. На ранних этапах развития проростка зародыш дифференцирован, имеет подковообразную форму, слегка суженную к апикальному концу. У него разрастается утолщенная базальная часть гипокотилия, за счет чего происходит разрыв семенной кожуры в зоне микропиллярного отверстия. Посередине базальной части находится зачаток первичного корешка в виде бугорка $0,2\text{--}0,4$ мм длиной. В момент прорастания семядоля сильно увеличивается в размерах, выдвигается из оболочки семени и слегка прогибается в виде арки. В этот период семядоля имеет хорошо выраженное влагалище, внутри которого находится уже дифференцированная почка, первый зачаточный зе-

ленный лист которой (0,5 мм длиной) хорошо заметен через ткани влагалища. На утолщенном базальном конце гипокотилия на начальном этапе заметна щетка редких коротких волосков, число и длина которых в течение последующих двух дней существенно увеличиваются. Такой венец волосков отмечен и у других водных растений [26, 29, 30]. На ранних стадиях развития волоски служат для укрепления проростка в грунте и адсорбции питательных веществ (Klebs, 1885, цит. по: [25]; Goebel, 1889, цит. по: [31]). Семядоля на 2–3-й день зеленеет и «не “пропадает” для растения в качестве фотосинтезирующего органа», что обычно для проростков водных растений и растений сырых мест [32. С. 36–37]. А.П. Хохряков [32] предполагает, что позеленение семядоли не вызвано водным образом жизни, а является выражением общей тенденции к ускорению развития. Это замечание чрезвычайно важно при последующем рассмотрении развития проростков частухи подорожниковой.

В процессе дальнейшего развития семядоля значительно увеличивается в размерах и уже на 5-е сутки достигает максимальной величины, к этому же времени наибольших размеров достигают первичный¹ и первый придаточный корни (табл. 1). В начальный, наиболее ответственный период развития прежде всего именно эти органы обеспечивают проросток питательными веществами для последующего роста.

Следует также отметить более быстрые темпы формирования подземной сферы проростка по сравнению с надземной. Первая своего максимального развития достигла за 15 дней, вторая – за 23 дня (табл. 1). Исключение – первые три зеленых листа, которые, появившись на 2-й, 4-й и 7-й день (соответственно) от начала прорастания, достигают максимальных размеров за 7 (первые два листа) и 12 (третий лист) дней. Заметим также, что появление первых двух придаточных корней (на 2-й и 4-й день после прорастания) совпало по времени с появлением 1-го и 2-го зеленого листа (рис. 1, а).

Гипокотиль в течение всего периода развития остается укороченным, и его длина не превышает у проростка 2,0 см.

Это возрастное состояние растение проходит за 13(14)–20 дней (с конца мая – начала июня до конца июня²), семядоля и первичный корень отмирают. На побеге сохраняются 4–5(6) зеленых ассимилирующих листьев и 4 придаточных корня, имеющих петлеобразные изгибы, что говорит об их контрактильном характере. В верхушечной почке в этот период формируется 2(3) листовых зачатка в виде коротких валиков. На главном побеге проростка эпикотиль и следующие за ним междоузлия укороченные, т.е. побег I порядка – розеточный. Такая форма роста очень важна, поскольку, как отмечает М.В. Марков [33], это позволяет расходовать ассимиляты прежде всего на создание листьев и в меньшей степени – на формирование стебля как вспомогательной структуры.

Отметим, что уже у проростка базальная часть главного побега (3–5 междоузлий, включая эпикотиль) слегка утолщается, паренхиматизируется; образуется структура, напоминающая «облиственный клубень» [34] диаметром около 0,1 см. Влагалища семядоли и первых двух-четырех зеленых

листьев играют роль защитных чешуй, покрывающих верхушечную почку (почку возобновления) «клубня».

Т а б л и ц а 1

Сроки появления вегетативных органов проростка и достижения ими максимальной величины

Вегетативные органы	Срок появления органа, дни*	Срок достижения органом максимальной величины, дни	Максимальный размер, см
Семядоля	С начала прорастания	5	12,1 ± 3,4
Гипокотиль	С начала прорастания	3	2,0 ± 0,0
Первичный корешок	С начала прорастания	5	12,0 ± 0,4
Придаточные корни			
1	2	5	10,2±5,3
2	4	6	1,8±0,7
3	11	13	1,4±0,8
4	12	15	0,7 ±0,1
Зеленые листья			
1	2	7	9,9 ±1,3
2	4	7	4,8 ±0,5
3	7	12	4,4 ±1,0
4	8	18	4,0 ±0,7
5	14	19	3,8 ±0,9
6	17	23	2,7 ±0,7

* Все сроки указаны с момента прорастания семени.

В лабораторных условиях и в природе, при возможном пересыхании местообитаний в весенний период, на этом этапе развитие проростка прекращалось. В течение 2–5 последующих дней зеленые листья постепенно бурели, подгнивали и потом высыхали. В конечном итоге отмирал и весь побег.

В прудовых условиях и при благоприятном температурном режиме и уровне увлажнения местообитаний в природе процесс формирования структуры проростка проходил в той же последовательности, что и в лаборатории, только более быстрыми темпами. Подобную закономерность у проростков 4 видов *Alismataceae* и 2 видов *Limnocharitaceae* отмечал также R. Kaul [35]. Окончательные размеры проростков частухи подорожниковой в лабораторных и в природных условиях существенно не различались. Отметим только, что в первом случае (в лаборатории) у единичных экземпляров у 2-го зеленого листа (и только у него) мы наблюдали слабую дифференцировку на черешок и листовую пластинку (слегка расширена и сплющена верхушка листа), остальные листья – линейные. В природных условиях это явление нами отмечено либо также только у 2-го зеленого листа, либо у 2-го и 3-го, либо со 2-го по 5-й зеленый лист. 1-й зеленый лист у лабораторных и природных

растений всегда оставался линейным. Как писал С.Д. Sculthorpe [36. С. 225], у *A. plantago-aquatica* «...первые листья, формирующиеся каждый сезон, или у развивающихся проростков, часто содержат не более чем полуцилиндрический черешок, у которого дистальная часть может или не может быть сплюснута в небольшую, иногда плавающую псевдопластинку...». К сожалению, данный автор не уточняет, какое число, каких листьев и в какой последовательности образуется. У проростков *A. triviale* Pursh (вида, близкого к *A. plantago-aquatica*) S.V. Liev [37] отмечал образование от 3 до 5 линейных листьев перед черешковыми, независимо от глубины воды. Р.П. Манохина [31], выращивая частуху подорожниковую из орешков в Душанбинском ботаническом саду, показала, что в период между появлением первого настоящего узколинейного листа и появлением настоящего надводного листа у проростков развивается целый ряд листьев с переходной формой листовой пластинки. Подобные вариации она связывает с различиями в степени обводненности грунта. По нашему мнению, этим же объясняются различия в степени дифференцировки листа и у наших проростков в прудовых (на первом уровне экспериментального пруда) и в природных условиях с постоянно изменяющимся режимом увлажнения местообитания.

Ювенильные растения (рис. 1, б). В этом возрастном состоянии частуха подорожниковая завершает первый год жизни. У растений возрастает общее число придаточных корней: от 17 до 28, из них 7–8 толстых контрактильных и от 9 до 21 тонких. Последние образуют корешки II порядка, которые редко рассеяны вдоль придаточных корней, гораздо больше их ближе к верхушке корня. Число развернувшихся зеленых листьев также возрастает до 7–8, причем и у этих листьев степень дифференцировки может быть различна. В подавляющем большинстве случаев они имеют слабо развитую листовую пластинку, длина которой в 5–6,5 раз меньше длины черешка. При этом ширина листовой пластинки в процессе развития практически не меняется и достигает в среднем $0,5 \pm 0,2$ см.

В сентябре начинается процесс разрушения листьев. В начале месяца перегнивают первые три листа, частично обнажая клубневидно утолщенную базальную часть побега, которая достигает 0,2–0,3 см в длину и толщину. К октябрю разрушаются почти все листья, причем влагалища последних из них прикрывают верхушечную почку, которая в это время достигает емкости 6(7)–8 листовых зачатков. Таким образом, в первый год жизни у особи семенного происхождения развивается моноподиально нарастающий вегетативный розеточный ортотропный побег первого порядка. В таком состоянии растение зимует.

Р.П. Манохина [31] отмечает, что цветет частуха подорожниковая в год посева, т.е. в первый год жизни. Подобное наблюдалось нами в 1997 г. у семенных растений на обсохшей сплавине и в засушливом 1999 г. на мелководье Рыбинского водохранилища. Растения сформировали цветоносы, которые имели 4–5 мутовок с 2–3 веточками в каждой. Резкое ускорение ритма развития этих растений, по-видимому, стимулировала высокая температура. Кроме

того, цветение двух растений в первый год жизни отмечено нами в начале сентября на втором уровне пруда, на глубине 60 см. При этом один цветонос был очень слабо развит и имел 2 мутовки, другой находился на начальном этапе развития. Интересно, что эти растения имели по 7 зеленых листьев, причем 6 первых из них были уплощенными лентовидными, а 7-й имел слегка расширенную верхушку. Очевидно, что в экстремальных условиях отдельные наиболее сильные растения стремятся (и способны) переходить в генеративную фазу развития на первом году жизни.

Второй год развития

Нам не удалось найти имматурные и молодые вегетативные растения частухи подорожниковой. По-видимому, после перезимовки эти возрастные состояния растения проходят очень быстро. Кроме того, как отмечал еще Goebel (1928, цит. по: [38]), выделение имматурных и виргинильных растений представляет большие трудности, особенно у гомобластных³ растений. Возможно также, что в данном случае мы имеем дело с явлением временной поливариантности онтогенеза в форме ускоренного развития: пропуск одного или нескольких возрастных состояний [39].

Исходя из этого, в прегенеративном периоде онтогенеза на втором году жизни *A. plantago-aquatica* нами выделены и описаны только взрослые вегетативные (виргинильные) растения. Они сформировали от 7 до 11 листьев с максимальной длиной и шириной листовой пластинки $4,9 \pm 2,1$ и $1,7 \pm 0,4$ см соответственно. Генеративных органов у них обнаружено не было. Общее число придаточных корней – $34,8 \pm 9,6$, из них $30,2 \pm 6,9$ тонких питающих, остальные толстые контрактильные. Продолжительность взрослого вегетативного состояния – 12–15 дней (с конца мая до середины июня).

Растения, обнаруженные нами во второй половине июня, как мы полагаем, по внешним габитуальным признакам можно было бы также отнести к взрослому вегетативному возрастному состоянию, поскольку все наиболее значимые параметры изменились незначительно. Растения имели от 7 до 13 листьев типичной для вида формы, максимальная длина и ширина листовой пластинки которых варьировала от 2,9 до 7,5 см и от 1,3 до 3,9 см соответственно. Видимые генеративные органы отсутствовали, процессы отмирания почти не были выражены (за исключением побуревших 1–3 листьев). Общее число придаточных корней – $45,2 \pm 13,0$, из них $36,0 \pm 13,5$ – тонких питающих, остальные толстые контрактильные.

Однако подробный морфологический анализ показал наличие в структуре этих растений внешне незаметных генеративных органов. Все это позволяет нам вслед за Э.В. Шестаковой [40] и Л.А. Жуковой и Э.В. Шестаковой [41] считать данное возрастное состояние скрытогенеративным (СГ). Продолжительность этого онтогенетического состояния не превышает 15 дней и характеризует переход растений в генеративный период онтогенеза [41].

В связи с этим отметим следующие важные моменты.

1. С момента заложения генеративных органов нарастание главного побега частухи подорожниковой становится симподиальным. При этом некоторые авторы [36, 42, 43] считают, что это результат раздвоения апикальной меристемы, которое характерно для многих, если не всех таксонов *Alismatidae* [43]. Однако наши исследования, а также рисунки и описание этого процесса у предыдущих авторов показывают, что в данном случае мы имеем дело, скорее, с акросимподиальным нарастанием, которое, в понимании Л.Е. Гатцук, «...происходит за счет одной из верхних пазушных почек; если оно связано с образованием цветка или соцветия на верхушке моноподиального побега, это самая верхняя почка вегетативной сферы...» [44. С. 87].

2. У частухи подорожниковой нами [45, 46] отмечено явление «квантованности» роста (в понимании Т.И. Серебряковой [37]), при котором соцветие закладывается только после определенного числа не отдельных фитомеров, а целых «квантов». Заметим также, что у *A. triviale* (вида, близкого к *A. plantago-aquatica*) между соцветиями формируется 6 или, иногда, 5 листьев (включая мембранный профилл [37]); а у *A. subcordatum* максимально 3 листа [35]. Как отмечает Т.И. Серебрякова [37. С. 186], «...если же соцветие не заложилось, то “кванты” фитомеров соцветия становятся вегетативными...».

3. В типичном случае (при закладке генеративных органов) наличие профилла является не только показателем перехода к симподиальной форме роста. Он также разграничивает «кванты роста», которые, по сути, являются отдельными элементарными побегами (термин И.А. Грудзинской [47]).

4. Ежегодно на главном побеге, как правило, паренхиматизируются и утолщаются все метамеры, лежащие ниже соцветия (а при его отсутствии – ниже профилла). Число подобных метамеров зависит от возрастного состояния растения. При этом ось соцветия постепенно сдвигается в сторону (создается впечатление пазушного характера соцветия), и формируется подобие «цельного» укороченного клубневидного «корневища» (утолщенная «мнимая ось симподия» (термин – Сакс, 1870, цит. по: [44])). Причем довольно часто граница между отдельными клубневидными утолщениями (последовательными подиумами – элементарными побегами) становится трудноразличимой.

С учетом всего сказанного заметим, что у подавляющего большинства скрытогенеративных (СГ) растений первое зачаточное соцветие (максимальная длина до 1,0 см) обнаружено после формирования 4–6 фитомеров (один «квант» роста). У единичных СГ растений до первого соцветия развивается 8–10 метамеров, т.е. реализуется 2 «кванта» роста, равных 4–5 фитомерам. Вероятно, это происходит тогда, когда после первого «кванта» вегетативного роста соцветие не закладывается, и тогда, как мы отмечали выше, «кванты» фитомеров соцветия становятся вегетативными. При этом после первой порции, равной 4–5 листьям, как правило, формируется пленчатый двухки-

левой профилл, очень похожий на слабо развитый зеленый лист, представленный только влагалищной частью.

В пазухах всех листьев, от первого до предпоследнего перед формированием соцветия, имеются закрытые боковые почки длиной от 0,2 до 0,7 см. Все они, исключая почку в пазухе предпоследнего листа, содержат от 6 до 8 листовых зачатков. Емкость боковой почки, расположенной в пазухе предпоследнего листа, выше, чем у нижележащих почек, и достигает 12–15 листовых зачатков. Эта почка, так же как и нижележащие, спящая и лишь в редких случаях трогается в рост, выдвигая зеленые листья. На этой стадии ее развитие заканчивается. Нижележащие почки в рост не трогаются.

У молодых генеративных растений второго года жизни (МГР-2), в отличие от предыдущей группы (СГ), дальнейшее развитие претерпевает первый цветонос (табл. 2). У него сильно вытягивается междоузлие до первой мутовки (субфлоральное) (рис. 2), занимающее от 60 до 80% длины всего генеративного побега. На остальной части соцветия формируется не более 2–4 мутовок, в каждой по 3 боковых веточки, несущих цветки, а затем и плоды; либо мутовки не развиваются и вся остальная часть соцветия скрыта под тремя кожистыми брактеями (имеет вид закрытого бутона на длинной ножке). Кроме того, у наиболее сильных растений возможно заложение еще одного, крайне редко – двух зачаточных соцветий. Второе (0,4–0,5 см длиной) и третье (0,2–0,3 см длиной) соцветия находятся в зачаточном состоянии до конца вегетационного сезона и в таком виде отмирают. Следует отметить, что второй и третий зачаток соцветия (если имеются) закладываются только после того, как на побеге образуется 4–6 листьев, включая мембранный профилл (т.е. «квант» роста у этих растений равен 4–6 фитомерам). К концу вегетационного сезона первый цветонос достигает максимальной длины до 25 см. Цветение растянутое – с конца июня до середины августа, своего максимума достигает в июле. Плоды формируются в августе – начале сентября. Диссеминация происходит в течение сентября, хотя иногда плоды не опадают с растения и сохраняются на полностью высохшем цветоносе в течение октября. К этому моменту перегнивают и разрушаются листья, обнажая побуревшие почки. В конечном счете разрушается и сам цветонос, от него сохраняется лишь короткий «пенек». Открытая верхушечная почка побега, емкостью $11,2 \pm 2,2$ листовых зачатков, частично прикрыта побуревшими остатками влагалищ 3–5 листьев.

Как и у предыдущей группы, у МГР-2 корневая система представлена толстыми контрактильными ($15,2 \pm 7,4$) и тонкими питающими ($62,0 \pm 1,6$) корнями. Последние обильно ветвятся, формируя корни III порядка. Контрактильные корни ветвятся редко, хотя иногда и формируют малочисленные и редко расположенные корни II порядка.

Остаток побега первого года, как правило, отмирает, однако у некоторых растений он может сохраняться и на следующий год в виде небольшой плотной горошины или короткого пенька.

Продолжительность этого онтогенетического состояния – 11 месяцев.

Завершая описание второго года жизни частухи подорожниковой заметим, что в прегенеративном периоде онтогенеза (взрослые вегетативные растения) сохраняется розеточный характер роста главного побега, тогда как в генеративном периоде формируется вегетативно-генеративный полурозеточный побег.

Третий год развития

Возобновление растений в третий и последующие годы – симподиальное. Темп развития растений зависит от комплекса экологических условий, основные из которых – температура и уровень увлажнения. При оптимальном сочетании этих факторов, особенно в начале вегетационного сезона, развитие растений происходит быстро.

На третьем году жизни у частухи подорожниковой продолжается генеративный период онтогенеза, в котором нами выделено два возрастных состояния: молодые (МГР-3) и средневозрастные генеративные растения 3-го года жизни (СВГ-3) (табл. 2).

Первая группа растений (МГР-3) отличается от МГР-2 более мощным развитием вегетативной сферы; главный побег их состоит из клубневидного утолщения прошлого года со спящими почками и «пеньком» от цветоноса (часто эти структуры полностью перегнивают) и небольшого растущего участка текущего года. Последний также утолщен за счет паренхиматизации и разрастания 5–6 сближенных междоузлий в базальной части главного побега. Причем его диаметр ($1,3 \pm 0,1$ см) в 2–2,5 раза больше высоты, поэтому побег нынешнего года в начале развития имеет уплощенный вид. Он несет от 5 до 8(9) листьев. Максимальная длина черешка листа в 2–2,5 раза превышает максимальную длину листовой пластинки при колебаниях ширины от 2,6 до 4,8 см (табл. 2). К середине июля на главном побеге 3-го года сохраняется 4–6 зеленых листьев (в среднем $5,0 \pm 0,7$), остальные буреют и отмирают. Число листовых зачатков открытой верхушечной почки растущего побега к этому времени достигает $8,4 \pm 0,6$. Причем уже в ней в пазухе 12-го листа (считая от первого развернувшегося) закладывается второе по счету зачаточное соцветие. Первое же соцветие закладывается и развивается в пазухе 6-го (5-го) развернувшегося зеленого листа. К июлю оно достигает длины $39,7 \pm 4,1$ см, при этом, как и у МГР-2, длина субфлорального междоузлия в 3–10 раз превышает длину всей остальной части. Соцветие имеет $5,4 \pm 1,9$ мутовок с боковыми веточками, несущими цветки. Развитие их происходит не одновременно, поэтому соцветия отличаются большим разнообразием.

У большинства МГР-3 (как и у МГР-2) в пазухах листьев до первого соцветия формируется от 2 до 4 боковых почек, содержащих от 3 до 7 листовых зачатков. Из них наибольшего развития достигает почка в пазухе пред-

Т а б л и ц а 2

**Морфометрические показатели некоторых возрастных состояний
A. plantago-aquatica в генеративном периоде на 2–4-м году жизни**

Возрастное состояние	Диаметр клубневидного утолщения, см	Общее число зеленых листьев	Макс. длина: листа / черешка, см	Макс. дл. листовой пластинки / шир. листовой пластинки, см	Общее число придаточных корней	Общее число реализованных цветоносов	Число листовых зачатков в верхушечной почке главного побега текущего года
2-й год развития							
СГ	1,3±0,2	10,6±2,8	18,9±5,8 / 13,7±4,5	5,2±2,3 / 2,6±1,3	45,2±13,0	–	11,8±2,2
МГР-2	0,9±0,1	8,2±3,4	15,3±7,4 / 10,4±5,6	4,9±2,1 / 2,4±1,2	77,2±9,9	1	11,2±2,2
3-й год развития							
МГР-3	1,3±0,1	7,8±0,8	21,7±7,2 / 13,6±5,4	7,5±2,4 / 3,7±1,1	72,2±8,7	2	8,4±0,6
СВГ-3	2,3±0,2	22,0±0,8	25,2±7,7 / 18,9±5,6	6,0±2,7 / 2,7±1,4	190,4±26,2	2	18,0±1,7
4-й год развития							
СВГ-4	1,9±0,3	12,0±0,4	37,1±2,8 / 24,7±1,3	12,3±1,5 / 6,9±1,3	90,8±30,3	2(3)/1(2)*	12,7±1,2

* В знаменателе – на боковых побегах.

последнего листа перед формированием соцветия (в данном случае в пазухе 5(4) листа – П-1). К июлю число листовых зачатков в ней достигает 8(9).

У МГР-3 живые придаточные корни расположены лишь на утолщенном участке текущего года, причем на начальном этапе преобладают контрактильные корни (от 19 до 37), тонких питающих корней немного и они не ветвятся. К июлю число придаточных корней значительно возрастает ($72,2 \pm 8,7$) за счет увеличения питающих, контрактильные же корни приобретают бурый цвет и затем отмирают.

Продолжительность данного онтогенетического состояния – 40–45 дней.

У подавляющего большинства СВГ-3 отсутствует клубнеобразный участок прошлого (2-го) года. От предыдущей возрастной группы эти растения отличаются более мощным развитием: в 2 раза возрастают диаметр и длина клубневидного утолщения нынешнего года, в 2,5 раза – число придаточных корней (табл. 2), причем более $2/3$ из них короткие, не ветвящиеся, остальные достигают III порядка ветвления. Контрактильных корней немного – от 5 до 30; часть корней буреет и перегнивает. В 3 раза возрастает общее число ассимилирующих листьев (табл. 2), при этом с начала августа резко усиливается процесс их отмирания. Одни листья в это время уже полностью побуревшие, мягкие, спадающие, другие – с бурой листовой пластинкой, у третьих процесс разрушения захватил и черешок. К концу сентября число отмерших листьев в среднем равно $18,5 \pm 3,1$.

У этой возрастной группы хорошо развиты 2 соцветия. Продолжает развитие цветонос в пазухе 6-го (5-го) листа. Его длина возрастает, достигая максимум 80 см. Это соцветие имеет 7–8(9) мутовок, несущих от 4 до 6 веточек. С середины июля становится хорошо заметно и второе соцветие, которое формируется в пазухе 12-го листа (иногда 10–11-го листа). В это время его длина не превышает в среднем $5,4 \pm 1,9$ см, оно несет не более 2 мутовок с 2–3 боковыми веточками, которые к концу июля образуют цветки. К середине августа длина соцветия возрастает в 3–5 раз, а число мутовок в 2–2,5 раза.

Неодновременность развития как отдельных соцветий, так и цветков в пределах одного соцветия приводит к растянутым срокам плодоношения, которые длятся с конца августа до конца сентября. В конце сентября – начале октября соцветия с апикального конца начинают разрушаться, но часть растений уходит с неразрушенными высохшими соцветиями в зиму.

У единичных, наиболее сильных растений в пазухе 17–18 листа может заложиться и начать развитие третье соцветие.

Как мы отмечали ранее, в пазухах листьев до первого соцветия возможно развитие боковых почек. У СГР-3 число листовых зачатков в них по сравнению с предыдущей группой (МГР-3) несколько возрастает (до 8–9 фитомеров), хотя число почек остается тем же (от 2 до 4). Кроме того, у СГР-3 на участке главного побега от первого до второго соцветия развивается еще одна боковая почка (П-2) – в пазухе предпоследнего листа (в нашем случае 11-го) перед формированием второго соцветия.

К концу сентября емкость почки П-1 возрастает до 10–12 листовых зачатков. В это же время у почки П-2 число листовых зачатков несколько больше – (14)13–15(16–17). Обе почки закрытые, фитомеры прикрыты 1–2 длинными кожистыми чешуевидными листьями. При этом в местах образования этих двух наиболее развитых пазушных почек клубневидное утолщение главного побега приобретает овальную форму. Подобное явление отмечалось И.И. Андреевой [48] у клубнелуковиц шпажника гибридного на 5-м году жизни. По-видимому, это происходит вследствие неравномерного разрастания метамеров.

Крайне редко и только у наиболее сильных СГР-3 частухи подорожниковой в пазухе 17(16)-го листа может развиваться третья боковая почка.

Число листовых зачатков открытой верхушечной почки (почки возобновления) главного побега СВГ-3 к концу сентября равно $18,0 \pm 1,7$. Направление роста почки – апогеотропное или косоапогеотропное (термины по П.А. Смирнову [49]).

Продолжительность этого онтогенетического состояния – 10–10,5 месяцев.

Таким образом, на третьем году жизни у *A. plantago-aquatica* сохраняется полурозеточный характер развития главного побега и квантированность роста. До конуса нарастания реализуется развитие 2–3 «квантов» (равных 4–6 фитомерам), т.е. годичный побег состоит из 2–3(4) элементарных побегов.

Четвертый год развития. Продолжается генеративный период онтогенеза. Здесь нами выделено и описано два возрастных состояния: средневозрастное генеративное 4-го года жизни (СВГ-4) и позднее (старое) генеративное.

СВГ-4 имеют в составе побегового тела хорошо развитое клубневидное утолщение прошлого года (с почками и остатками цветоносов) и растущий участок текущего года. Причем на побеге прошлого года дальнейшее развитие претерпевают 2 наиболее крупные и хорошо развитые почки (П-1 и П-2), сформированные в предыдущем вегетационном сезоне – из них развиваются боковые побеги (БП-1 и БП-2, их описание представлено ниже). В отличие от всех остальных возрастных состояний, у СВГ-4 в основании главного побега нынешнего года и боковых побегов формируются короткие, плотные чешуевидные влагалищные листья. У главного побега их, как правило 4 или 10, у боковых побегов – 4. Боковых почек они не несут. Затем, до образования первого соцветия, следует формация ассимилирующих листьев, несущих в пазухах почки.

К началу июля главный побег нынешнего года достигает длины $38,6 \pm 2,9$ см, несет $12,0 \pm 1,4$ зеленых ассимилирующих листьев, у 5–8 из которых начинает желтеть и покрываться бурыми пятнами листовая пластинка. Кроме того, в это время на побеге еще сохраняются остатки 11(12) уже перегнивших листьев (в том числе все чешуевидные, остальные – ассимилирующие). Из общего количества придаточных корней тонких питающих ($62,8 \pm 19,3$) в 2 раза больше, чем контрактильных.

В пазухе 7-го и 13-го зеленых листьев хорошо развиты 2 цветоноса $66,0 \pm 6,9$ и $31,2 \pm 12,2$ см длиной, несущих до 6 (первый) и 3 (второй) мутовок, 2–4 из которых с боковыми веточками, несущими цветки. К началу августа длина цветоносов возрастает в 1,5–2 раза ($100,4 \pm 4,6$ и $76,3 \pm 13,2$ см соответственно), увеличивается и число мутовок ($7,2 \pm 0,8$ и $5,8 \pm 1,9$). Подавляющее большинство растений в это время переходит к плодоношению, хотя отдельные веточки еще несут цветки. У единичных наиболее сильных растений возможно развитие (в разной степени) третьего цветоноса.

Главный побег имеет 2–4 боковые почки в пазухах зеленых листьев до первого соцветия, содержащих 5–6 листовых зачатков. Причем, как и у предыдущих возрастных состояний, к середине июля наиболее сильно развита почка (П-3), расположенная в пазухе листа непосредственно перед первым соцветием (т.е. в пазухе 6-го листа). Число листовых зачатков в ней в этот период равно 7–9. У единичных растений у этих почек в пазухе 7-го листа уже закладывается зачаток соцветия. Почка в пазухе 12-го листа (т.е. перед вторым соцветием, П-4) развивается лишь у отдельных растений и содержит в это время 6(7) листовых зачатков. Число листовых зачатков в открытой верхушечной почке главного побега равно $12,7 \pm 1,2$.

Как мы отмечали выше, у СВГ-4 две наиболее крупные и хорошо развитые почки (П-1 и П-2) на побеге прошлого года (3-го) формируют боковые побеги: БП-1 и БП-2. Они, как и главный побег, до перехода в генеративное состояние нарастают моноподиально. Причем более крупный из них (БП-1) располагается на клубнеобразно утолщенном участке предыдущего года выше (т.е. ближе к основанию побега нынешнего года), чем более слабо развитый (БП-2). Первый несет в среднем в 1,5 раза больше зеленых ассимилирующих листьев ($17,0 \pm 1,7$), чем второй. Диаметр и высота базального клубневидного утолщения БП-1 также в 1,5–1,6 раза больше, чем у более слабо развитого (БП-2). Вместе с весенним ростом у этих побегов формируются зачатки генеративных органов, которые к началу июля реализуются в соцветия. Интересно отметить, что у БП-1 закладывается 2, а у БП-2 – 1 соцветие, причем, как правило, в пазухах тех же листьев (т.е. 7-го и 13-го зеленых листьев), что и у главного побега 4-го года. Вместе с тем, у 70% БП-1 нормально развивается только одно соцветие (в пазухе 7-го листа), и лишь у наиболее мощных из них возможно развитие и второго. У БП-2 всегда развивается только одно соцветие. Следует отметить, что у некоторых боковых побегов соцветия закладываются лишь после развития 2–3 вегетативных квантов роста, равных 6(5) фитомерам, включая мембранный двухкилевой профилл.

Число листовых зачатков в открытой верхушечной почке БП-1 достигает 9(10)–11 (в среднем $9,7 \pm 0,6$), а у БП-2 – (7)6–8(9) листовых зачатков (в среднем $7,3 \pm 0,6$).

К началу июля у этих боковых побегов на клубнеобразно утолщенном базальном участке образуется до 10–15 придаточных корней, $14,2 \pm 0,3$ см длиной, из них тонких питающих в 1,5–2 раза больше, чем контрактильных.

На 4-м году развития с середины июля у подавляющего большинства СВГ-4 начинает разрушаться, а к концу этого месяца полностью разрушается клубневидно утолщенный участок предыдущего года (иногда он полностью или частично сохраняется до первых чисел августа, а затем от него остается короткий «пенек»). У некоторых растений он легко отделяется от побега нынешнего года уже в середине июля. Таким образом, на этой стадии развития у частухи подорожниковой начинается поздняя частичная неспециализированная морфологическая дезинтеграция, в результате которой боковые (дочерние) побеги (БП-1 и БП-2) обособляются и переходят к самостоятельному существованию.

Утолщенный базальный участок главного побега нынешнего года приобретает вид небольшого клубневидного овального корневища, поскольку каждый следующий квант роста как бы слегка сдвигается в сторону за счет неравномерного разрастания междоузлий. Причем при приближении к апикальному концу диаметр и высота клубневидного утолщения уменьшаются.

Продолжительность этого онтогенетического состояния – 50–75 дней.

Поздние (старые) генеративные растения 4-го года жизни характеризуются тем, что у них процессы отмирания преобладают над процессами новообразования. И это несмотря на то, что у некоторых растений почки, расположенные до первого и второго (а иногда и до третьего) соцветия продолжают свое развитие, формируя (первые 2 почки – П-3 и П-4) боковые побеги (БП-3 и БП-4). Отмирает большая часть придаточных корней, разрушаются практически все зеленые ассимилирующие листья, сохраняется лишь бурый небольшой участок листового влагалища. Наблюдается резкое снижение генеративной функции. К середине августа завершают свое развитие 2(3) соцветия, которые начинают разрушаться с верхушки. Отметим, что у единичных растений нами обнаружен зачаток четвертого соцветия, которое иногда продолжает свое развитие, достигает длины до 34 см, несет 3 слабо сформированных мутовки. Это соцветие к цветению не переходит и, так же как и предыдущие, отмирает. Это не согласуется с данными S.M. Liev [37], отметившего, что у *A. triviale* после третьего соцветия продолжается только вегетативный рост.

Продолжительность этого онтогенетического состояния – около 30 дней.

Переход в постгенеративный период онтогенеза происходит на 4-м году жизни в начале сентября. У сенильных растений наблюдается предельное упрощение жизненной формы: начинается процесс перегнивания с базального конца клубнеобразного утолщения 4-го года. У одних растений этот процесс завершается полной неспециализированной морфологической дезинтеграцией, отделением БП-3 и БП-4 и переходом их к самостоятельному существованию. У других клубнеобразное утолщение, покрытое черными перегнившими корнями, еще сохраняется. Оно имеет почерневшую верхушечную почку и находящиеся в процессе развития 2 боковых побега (БП-3 и БП-4). Либо отделяется один из побегов, и тогда структура такого растения еще более упрощается.

Продолжительность этого онтогенетического состояния – 30–45 дней.

Таким образом, частуха подорожниковая в течение 4 лет реализует неполный онтогенез (термин [41]) от семени до сенильного возрастного состояния. На 4-м году жизни в результате частичной, а затем полной неспециализированной морфологической дезинтеграции происходит обособление боковых побегов (БП-1–БП-4) и переход их к самостоятельному существованию, приводящему к формированию клона. Заметим, что, по единичным литературным данным, продолжительность неполного онтогенеза этого растения может быть и больше – от 5 до 15 лет [9]. Однако по нашим наблюдениям в течение 12 лет в разных экологических условиях (мелководья водоемов и водотоков Ярославской обл. и др.) и в разные по уровню водности годы неполный онтогенез *A. plantago-aquatica* не превышал 4 лет. Реализации полного онтогенеза у этого растения нами не наблюдалось, и определить его длительность на настоящий момент не представляется возможным.

Заключение

В онтогенезе *A. plantago-aquatica* нами выделено 11 возрастных состояний: 1-й год жизни – проростки и ювенильные растения; 2-й год – взрослые вегетативные, скрытогенеративные и молодые генеративные; 3-й год – молодые и средневозрастные генеративные растения; 4-й год – средневозрастные, старые генеративные и сенильные растения. Кроме того, в процессе индивидуального развития выявлены следующие особенности:

- структура первых листьев, развивающихся у проростка, зависит от степени обводненности грунта: от линейных при развитии в воде до дифференцированных на черешок и листовую пластинку при развитии на суше;

- до цветения (проростки, ювенильные и взрослые вегетативные растения) главный побег частухи подорожниковой нарастает моноподиально, затем – симподиально. Таким же образом развиваются и боковые побеги, формирующиеся у растений различных возрастных групп. «Перевершинивание» происходит путем акросимподиального нарастания;

- с момента развития генеративных органов наблюдается четко выраженная квантированность роста. Величина квантов зависит, по-видимому, от возрастного состояния растения. В подавляющем большинстве случаев она равна 4–6 фитомерам;

- морфологическая дезинтеграция растения, как частичная неспециализированная, так и полная, наступает на 4-м году жизни особи, что приводит к образованию клона из обособившихся и перешедших к самостоятельному существованию разновозрастных боковых побегов.

Примечания

¹ Наши многочисленные эксперименты с орешками частухи подорожниковой показывают, что при их прорастании в подавляющем большинстве случаев главный (первичный)

корень хорошо развивается, что не согласуется с данными Klebs (1885, цит. по [25]), отмечающего отсутствие его развития у водных однодольных различных семейств, в том числе и Alismataceae.

² Здесь и далее заметим, что сроки и длительность прохождения разных возрастных состояний растениями подвержены колебаниям и существенным образом зависят от изменений экологических условий (температурный режим, уровень увлажнения и т.д.).

³ По И.Г. Серебрякову [30], гомобластным называется такой тип развития, когда ювенильные растения незначительно отличаются от взрослых.

Литература

1. Папченков В.Г. Растительный покров водоемов и водотоков Среднего Поволжья. Ярославль : ЦМП МУБиНТ, 2001. 200 с.
2. Цвелев Н.Н. Определитель сосудистых растений северо-западной России (Ленинградская, Псковская и Новгородская области). СПб. : Изд-во СПХВА, 2000. 780 с.
3. Дубына Д.В., Сытник С.М., Тасенкевич Л.А. и др. Макрофиты-индикаторы изменения природной среды. Киев : Наукова Думка, 1993. 434 с.
4. Лисицына Л.И. Флора волжских водохранилищ // Флора и продуктивность пелагических и литоральных фитоценозов водоемов бассейна Волги. Л. : Наука, 1990. С. 3–49.
5. Лисицына Л.И., Папченков В.Г., Артеменко В.И. Флора водоемов волжского бассейна. Определитель цветковых растений. СПб. : Гидрометеиздат, 1993. 220 с.
6. Смирнский А.А. Водные кормовые и защитные растения в охотничье-промысловых хозяйствах. М. : Гос. издат. технической и экономической литературы по вопросам заготовок, 1952. 183 с.
7. Махлаюк В.П. Лекарственные растения в народной медицине. Саратов : Приволжское книжное издательство, 1993. 534 с.
8. Алябьева Е.А. Онтогенез и особенности организации ценопопуляций некоторых гигрофитов Республики Марий Эл : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Сыктывкар, 2001. 21 с.
9. Алябьева Е.А. Частуха подорожниковая (*Alisma plantago-aquatica* L.) // Биоразнообразие растений в экосистемах национального парка «Марий Чодра». Йошкар-Ола : МарГУ, 2005. Ч. 2. С. 115–120.
10. Алябьева Е.А., Жукова Л.А., Воскресенская О.Л. Онтогенез частухи подорожниковой (*Alisma plantago-aquatica* L.) // Онтогенетический атлас лекарственных растений. Йошкар-Ола : МарГУ, 2000. Т. II. С. 123–129.
11. Васильева Н.В. Экология размножения частухи подорожниковой (*Alisma plantago-aquatica* L.) : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саранск, 2004. 19 с.
12. Работнов Т.А. Жизненный цикл многолетних травянистых растений в луговых ценозах // Труды Ботанического института АН СССР. Сер. 3. Геоботаника. 1950. Вып. 6. С. 7–204.
13. Смирнова О.В., Заугольнова Л.Б., Торопова Н.А., Фаликов Л.Д. Объем счетной единицы при изучении ценопопуляции растений разных биоморф // Ценопопуляции растений (Основные понятия и структура). М. : Наука, 1976. 216 с.
14. Уранов А.А. Возрастной спектр фитоценопопуляции как функция времени и энергетических процессов // Научные доклады высшей школы. Биол. науки. 1975. № 2 (134). С. 7–35.
15. Левина Р.Е. Плоды. Саратов : Приволжское книжное издательство, 1967. 216 с.
16. Левина Р.Е. Морфология и экология плодов. Л. : Наука, 1987. 160 с.
17. Мелихан А.П. Семейство Alismataceae // Сравнительная анатомия семян. Т. 1 : Однодольные. Л. : Наука, 1985. С. 36–38.
18. Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.И. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л. : Наука, 1985. 347 с.
19. Александрова Л.А. Материалы к систематике видов *Alisma* L. // Ботанический журнал. 1967. Т. 52, № 3. С. 362–370.

20. Палибин И.В. Alismataceae // Труды Ботанического института АН СССР. 1956. Сер. 8. Вып. 1. С. 59–60.
21. Тахтаджян А.Л. Подкласс Алисматида (Alismatidae) // Жизнь растений. Цветковые растения. М. : Просвещение, 1982. Т. 6. С. 7–9.
22. Богачев В.К. О развитии водной растительности в Рыбинском водохранилище // Труды биологической станции «Борок» АН СССР. Борок, 1950. № 1. С. 302–316.
23. Богачев В.К. Формирование водной растительности Рыбинского водохранилища // Ученые записки Ярославского гос. пед. ун-та. Естествознание. Ярославль, 1952. Вып. XIV(XXIV). С. 5–106.
24. Крокер В. Рост растений. М. : Изд-во иностранной литературы, 1950. 359 с.
25. Васильченко И.Т. О значении морфологии прорастания для систематики растений и истории их происхождения // Труды Ботанического института АН СССР. Сер. 1. Флора и систематика высших растений. 1936. Вып. 3. С. 7–66.
26. Лапиров А.Г., Тусов Б.А. Онтогенез *Butomus umbellatus* (Butomaceae). Развитие из семян в первый год жизни // Ботанический журнал. 1993. Т. 78, № 11. С. 45–53.
27. Boyd L. D.Sc. Monocotylous seedlings (morphological studies in the post-seminal development of the embryo) // Transactions and Proceedings of the Botanical Society of Edinburgh. 1932. Vol. 31. P. 5–224.
28. Kaul R.B. Reproductive phenology and biology in annual and perennial Alismataceae // Aquatic Botany. 1985. Vol. 22, № 2. P. 153–165.
29. Васильченко И.Т. О значении морфологии прорастания // Советская ботаника. 1938. № 3. С. 19–41.
30. Серебряков И.Г. Морфология вегетативных органов высших растений. М. : Советская наука, 1952. 391 с.
31. Манохина Р.П. Интродукция декоративных прибрежно-водных растений в Таджикистане : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Душанбе, 1984. 21 с.
32. Хохряков А.П. Закономерности эволюции растений. Новосибирск : Наука, 1975. 202 с.
33. Марков М.В. Структура и популяционная биология малолетних растений центра Русской равнины : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1992. 35 с.
34. Васильев А.Е., Воронин Н.С., Еленевский А.Г., Серебрякова Т.И. Ботаника. Анатомия и морфология растений. М. : Просвещение, 1978. 480 с.
35. Kaul R.B. Reproductive phenology and biology in annual and perennial Alismataceae // Aquatic Botany. 1985. Vol. 22, № 2. P. 153–165.
36. Sculthorpe C.D. The biology of aquatic vascular plants. London : Arnold, 1967. 610 с.
37. Liev S.M. Growth forms in Alismatales. I *Alisma triviale* and species *Sagittaria* with upright vegetative axes // Canadian Journal of Botany. 1979. Vol. 57, № 21. P. 2325–2352.
38. Серебрякова Т.И. Морфогенез побегов и эволюция жизненных форм злаков. М. : Наука, 1971. 358 с.
39. Жукова Л.А. Поливариантность онтогенеза луговых трав // Жизненные формы в экологии и систематике растений. М. : МГПИ, 1986. С. 104–114.
40. Шестакова Э.В. Тмин обыкновенный // Изучение проблем популяционной экологии растений. Популяционно-онтогенетические аспекты экологического мониторинга: Отчет НИР № 01910056055. Йошкар-Ола, 1991. С. 13–15.
41. Жукова Л.А., Шестакова Э.В. Введение // Онтогенетический атлас лекарственных растений. Йошкар-Ола : МарГУ, 1997. С. 3–27.
42. Charlton W.A., Ahmed A. Studies in the Alismataceae IV. Developmental morphology of *Ranalisma humile* and comparisons with two members of the Butomaceae, *Hydrocleis nymphoides* and *Butomus umbellatus* // Canadian Journal of Botany. 1973. Vol. 51, № 15. P. 899–910.
43. Wilder G.I. Phylogenetic trends in the Alismatidae (Monocotyledonae) // Botanical Gazette. 1975. Vol. 136, № 2. P. 159–170.

44. Гатиук Л.Е. К методам описания и определения жизненных форм в сезонном климате // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отд. биол. 1974. Т. 79, вып. 3. С. 84–100.
45. Лапиров А.Г. Особенности онтогенеза частухи подорожниковой // Гидробиотика 2000. V Всероссийская конференция по водным растениям. Борок, 2000. С. 174–175.
46. Лапиров А.Г. Явление квантированности роста в метамерной организации побега некоторых представителей семейства Alismataceae Vent. // Вестник Тверского государственного университета. 2008. № 25(85). С. 122–127.
47. Грудзинская И.А. Летнее побегообразование у древесных растений и его классификация // Ботанический журнал. 1960. Т. 45, № 7. С. 968–978.
48. Андреева И.И. Жизненный цикл шпажника гибридного *Gladiolus x hybridus* Hort. (Iridaceae) // Ботанический журнал. 1977. Т. 62, № 8. С. 1183–1196.
49. Смирнов П.А. Флора Приокско-Террасного государственного заповедника // Труды Приокско-Террасного гос. заповедника. 1958. Вып. 2. С. 1–247.

Поступила в редакцию 24.10.2013 г.

Лапиров Александр Григорьевич – канд. биол. наук, доцент, зав. лабораторией высшей водной растительности ФГБУН Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН (п. Борок, Ярославская обл., Россия). E-mail: lapir@ibiw.yaroslavl.ru

Tomsk State University Journal of Biology. 2014. № 1 (25). P. 66–89

doi: 10.17223/19988591/25/5

Alexandr G. Lapirov

Department of Higher Aquatic Vegetation, I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Russian Federation. E-mail: lapir@ibiw.yaroslavl.ru

Peculiarities of the ontogenesis of *Alisma plantago-aquatica* L. (Alismataceae)

Long-term data on the ontogeny of *A. plantago-aquatica* L. are summarized. Eleven age stages are identified and described: the 1st year of life – seedlings and juvenile; the 2nd year – adult vegetative, latent generative and young-generative; the 3rd year – young and middle-generative plants; the 4th year – middle-generative, old generative and senile plants. Patterns of individual development are identified. Special attention is paid to the formation of vegetative and generative sphere of plants and their changes during the transition from one ontogenetic state to another. This study of ontogenesis of *A. plantago-aquatica* was conducted during the vegetation seasons of 1996–1999, 2001–2003, 2005, 2008–2011 in shallows of the Rybinsk reservoir and inflowing small rivers Ild, Sytka and Korozchna; a moist depression near the excavated pond in the village of Grigorovo and a section of disturbed meadows, among willow shrubs near the town of Borok; in roadside depressions along the roads.

Alisma plantago-aquatica L. is a representative of the family Alismataceae Vent. It belongs to the ecological group of short grass helophytes. This plant has the Eurasian-North African range, wide ecological amplitude and is found along the shores of lakes, river banks, in shallows of reservoirs, in ponds, trenches, canals, ditches, and areas with surface and groundwater flooding. *A. plantago-aquatica* is a pioneer plant which appears in mass in water bodies during the first years of their existence. However, the competitive ability of this species is low. This plant is an indicator of eutrophic freshwater areas with alluvial sediments, habitats disturbed due to grazing, low water areas and the presence of thick deposits of silt.

Our research has shown that:

– The structure of the first leaves, which develop from seedling, depends on the water content in soil and varies from linear, when developed in water, to differentiated into the petiole and leaf blade, when developed on land.

– Before flowering (seedlings, juvenile and adult vegetative plants) the primary shoot of *A. plantago-aquatica* grows monopodially, then – sympodially. Side shoots, which are formed in plants of different age groups, develop in the same way. “Metacoryphismus” occurs through acrosimpodial growth.

– From the moment of the generative organs development, clearly expressed quantitative growth is observed. Apparently, the value of quanta depends on the age of the plant. In most cases, it is equal to 4–6 phytomers.

– Morphological fragmentation of the plant, both partial non-specialized and complete, occurs in the 4-th year of life of the individual, which leads to the formation of a clone from isolated uneven lateral shoots that passed to an independent existence.

Key words: *Alisma plantago-aquatica* L.; helophytes; ontogenesis; age stages.

Received October 24, 2013

References

1. Papchenkov V.G. Rastitel'nyy pokrov vodoemov i vodotokov Srednego Povolzh'ya. Yaroslavl': TSMP MUBiNT, 2001. 200 s. [Papchenkov V.G. Vegetation cover of water reservoirs and water passages of the Middle Povolzhye. Yaroslavl: TSMP MUBiNT, 2001. 200 p.] In Russian
2. Tsvelev N.N. Opredelitel' sosudistyykh rasteniy severo-zapadnoy Rossii (Leningradskaya, Pskovskaya i Novgorodskaya oblasti). SPb.: Izd-vo SPKhVA, 2000. 780 pp. [Tsvelev N.N. Indicator of vascular plants of North-West Russia (Leningrad, Pskov and Novgorod Oblasts). Saint-Petersburg: SPHVA; 2000. 780 p.] In Russian
3. Dubyna D.V., Sytnik S.M., Tassenkevich L.A. i dr. Makrofity-indikatory izmeneniya prirodnoy sredy. Kiev: Naukova Dumka, 1993. 434 pp. [Dubyna DV, Sytnik SM, Tassenkevich LA, Shelyag-Sosonko YV, Geyny S, Groudova Z, Gusak M, Otyagekova G, Erzhabkova O. Macrophytes-indicators of natural environment changes: Naukova Dumka; 1993. 434 p.] In Russian
4. Lisitsyna L.I. Flora volzhskikh vodokhranilishch. Flora i produktivnost' pelagicheskikh i litoral'nykh fitotsenozov vodoemov basseyna Volgi. L.: Nauka, 1990. PP. 3-49. [Lisitsyna LI. Flora of Volga water-storage basins. *Flora and productivity of pelagic and littoral phytocenoses of the Volga river basin water reservoirs*. Leningrad: Nauka; 1990. p. 3-49.] In Russian
5. Lisitsyna L.I., Papchenkov V.G., Artemenko V.I. Flora vodoemov volzhskogo basseyna. Opredelitel' tsvetkovykh rasteniy. SPb.: Gidrometeoizdat, 1993. 220 pp. [Lisitsyna LI, Papchenkov VG, Artemenko VI. Flora of the Volga basin water reservoirs. Indicator of flowering plants. Saint-Petersburg: Gidrometeoizdat; 1993. 220 p.] In Russian
6. Smirenskiy A.A. Vodnye kormovye i zashchitnye rasteniya v okhotnich'e-promyslovykh khozyaystvakh. M.: Gos. izdat. tekhnicheskoy i ekonomicheskoy literatury po voprosam zagotovok, 1952. 183 pp. [Smirenskiy AA. Water fodder and protective plants in hunting and commercial farms. Moscow: State publishing house of technical and economic literature regarding stocks; 1952. 183 p.] In Russian
7. Makhlayuk V.P. Lekarstvennyye rasteniya v narodnoy meditsine. Saratov: Privolzhskoe knizhnoe izdatel'stvo, 1993. 534 pp. [Makhlayuk VP. Medical plants in alternative medicine. Saratov: Privolzhye publishing house; 1993. 534 p.] In Russian
8. Alyabyшева E.A. Ontogenez i osobennosti organizatsii tsenopopulyatsiy nekotorykh gigrofitov Respubliki Mariy El: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Syktyvkar, 2001. 21 pp. [Alyabyшева EA. Ontogeny and organisation features of some hygrophytes cenopopulations of the Mari El Republic: [CandSci dissertation abstract. Syktyvkar: Mari State University; 2001. 21 p.] In Russian

9. Alyabysheva E.A. Chastukha podorozhnikovaya (*Alisma plantago-aquatica* L.). Bioraznoobrazie rasteniy v ekosistemakh natsional'nogo parka «Mariy Chodra». Yoshkar-Ola: MarGU, 2005. Ch. 2. PP. 115-120. [Alyabysheva EA. Water plantain (*Alisma plantago-aquatica* L.). *Plant biodiversity in ecosystems of the National Park "Mari Chodra"*. Part 2. Yoshkar-Ola: Mari State University; 2005. p. 115-120.] In Russian
10. Alyabysheva E.A., Zhukova L.A., Voskresenskaya O.L. Ontogenez chastukhi podorozhnikovoy (*Alisma plantago-aquatica* L.). Ontogeneticheskiy atlas lekarstvennykh rasteniy. Yoshkar-Ola: MarGU, 2000. Vol. II. PP. 123-129. [Alyabysheva EA, Zhukova LA, Voskresenskaya OL. Water plantain (*Alisma plantago-aquatica* L.) ontogeny. *Ontogenetic atlas of medical plants*. Vol. II. Yoshkar-Ola: Mari State university, 2000. p. 123-129.] In Russian
11. Vasil'eva N.V. Ekologiya razmnzheniya chastukhi podorozhnikovoy (*Alisma plantago-aquatica* L.): avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Saransk, 2004. 19 pp. [Vasilyeva NV. Ecology of water plantain (*Alisma plantago-aquatica* L.) propagation [CandSci dissertation abstract. Saransk: Ogarev Mordova State University; 2004. 19 p.] In Russian
12. Rabotnov T.A. Zhiznennyy tsikl mnogoletnikh travyanistyykh rasteniy v lugovykh tsenozakh. Trudy Botanicheskogo instituta AN SSSR. Ser. 3. Geobotanika. 1950. Vyp. 6. PP. 7-204. [Rabotnov TA. Life cycle of perennial plants in pratal cenoses. *Proceedings of the Botanical institute of the Academy of Sciences of the USSR. Geobotany*. 1950;6:7-204.] In Russian
13. Smirnova O.V., Zaugol'nova L.B., Toropova N.A., Falikov L.D. Ob'em schetnoy edinitsy pri izuchenii tsenopopulyatsii rasteniy raznykh biomorf. Tsenopopulyatsii rasteniy (Osnovnye ponyatiya i struktura). M.: Nauka, 1976. 216 pp. [Smirnova OV, Zaugolnova LB, Toropova NA, Falikov LD. Measurement unit volume while studying plant cenopopulations of different biomorphes. *Plant cenopopulations* (Main concepts and structure). Moscow: Nauka; 1976. 216 p.] In Russian
14. Uranov A.A. Vozrastnoy spektr fitotsenopopulyatsii kak funktsiya vremeni i energeticheskikh protsessov. Nauchnye doklady vysshey shkoly. Biol. nauki. 1975. No 2(134). PP. 7-35. [Uranov AA. Age spectrum of phytocenopopulation as a function of time and energetic processes. *Proceedings of High school. Biological sciences*. 1975;2(134):7-35.] In Russian
15. Levina R.E. Plody. Saratov: Privolzhskoe knizhnoe izdatel'stvo, 1967. 216 pp. [Levina RE. Fruits. Saratov: Privolzhye publishing house, 1967. 216 p.] In Russian
16. Levina R.E. Morfologiya i ekologiya plodov. L.: Nauka, 1987. 160 pp. [Levina RE. Morphology and ecology of fruits. Leningrad: Nauka; 1987. 160 p.] In Russian
17. Melikyan A.P. Semeystvo Alismataceae. Sravnitel'naya anatomiya semyan. Vol. 1: Odnodol'nye. L.: Nauka, 1985. PP. 36-38. [Melikyan AP. Alismataceae family. Comparative seed anatomy. Part 1. Monocotyledones. Leningrad: Nauka; 1985. p. 36-38.] In Russian
18. Nikolaeva M.G., Razumova M.V., Gladkova V.I. Spravochnik po prorashchivaniyu pokoyaschikhhsya semyan. L.: Nauka, 1985. 347 pp. [Nikolaeva MG, Rasumova MV, Gladkova VI. Dormant seeds germination. Reference book. Leningrad: Nauka; 1985. 347 p.] In Russian
19. Aleksandrova L.A. Materialy k sistematike vidov *Alisma* L. Botanicheskii zhurnal. 1967. Vol. 52, No 3. PP. 362-370. [Aleksandrova LA. Materials for species *Alisma* L. systematics. *Botanical journal*. 1967.52(3):362-370.] In Russian
20. Palibin I.V. Alismataceae. Trudy Botanicheskogo instituta AN SSSR. 1956. Ser. 8. Vyp. 1. PP. 59-60. [Palibin IV. Alismataceae. *Proceedings of the Botanical institute of the Academy of Sciences of the USSR*. 1956;8(1):59-60.] In Russian
21. Takhtadzhyan A.L. Podklass Alismatidy (Alismatidae). Zhizn' rasteniy. Tsvetkovye rasteniya. M.: Prosveshchenie, 1982. Vol. 6. PP. 7-9. [Takhtadzhyan AL. Subclass Alismatidae. *Plant life. Flowering plants*. Vol. 6. Moscow: Prosveshchenie; 1982. p. 7-9.] In Russian
22. Bogachev V.K. O razvitii vodnoy rastitel'nosti v Rybinskom vodokhranilishche. Trudy biologicheskoy stantsii «Borok» AN SSSR. Borok, 1950. No 1. PP. 302-316. [Bogachev VK. On water vegetation development in Rybinsk water-storage basin. *Proceedings of the biological station "Borok" of the Academy of Sciences of the USSR*. Borok: 1950;1:302-316.] In Russian

23. Bogachev V.K. Formirovanie vodnoy rastitel'nosti Rybinskogo vodokhranilishcha. Uchenye zapiski Yaroslavl'skogo gos. ped. un-ta. Estestvoznaniye. Yaroslavl', 1952. Vyp. XIV(XXIV). PP. 5-106. [Bogachev VK. Water vegetation formation in Rybinsk water-storage basin. *Proceedings of Yaroslavl State Pedagogical University. Natural science*. XIV(XXIV). Yaroslavl: 1952, pp.5-106.] In Russian
24. Kroker V. Rost rasteniy. M.: Izd-vo inostrannoy literatury, 1950. 359 pp. [Kroker V. Plant growth. Moscow: Foreign Literature; 1950. 359 p.] In Russian
25. Vasil'chenko I.T. O znachenii morfologii prorastaniya dlya sistematiki rasteniy i istorii ikh proiskhozhdeniya. Trudy Botanicheskogo instituta AN SSSR. Ser. 1. Flora i sistematika vysshikh rasteniy. 1936. Vyp. 3. PP. 7-66. [Vasilchenko IT. On the significance of germination morphology for plants systematics and the history of their origin. *Proceedings of the Botanical institute of the Academy of Sciences of the USSR*. Part 1. Flora and systematics of higher plants. 1936;3:7-66.] In Russian
26. Lapirov A.G., Trusov B.A. Ontogenez Butomus umbellatus (Butomaceae). Razvitie iz semyan v pervyy god zhizni. Botanicheskiy zhurnal. 1993. Vol. 78, No 11. PP. 45-53. [Lapirov AG, Trusov BA. Ontogeny of *Butomus umbellatus* (Butomaceae). Development from seeds in the first year of life. *Botanical Journal*. 1993;11(78):45-53.] In Russian
27. Boyd LDSc. Monocotylous seedlings (morphological studies in the post-seminal development of the embrio). *Transactions and Proceedings of the Botanical Society of Edinburgh*. 1932;31:5-224.
28. Kaul RB. Reproductive phenology and biology in annual and perennial Alismataceae. *Aquatic Botany*. 1985;2(22):153-165.
29. Vasil'chenko I.T. O znachenii morfologii prorastaniya. Sovetskaya botanika. 1938. No 3. PP. 19-41. [Vasilchenko IT. On the significance of germination morphology. *Soviet botany*. 1938;3:19-41.] In Russian
30. Serebryakov I.G. Morfologiya vegetativnykh organov vysshikh rasteniy. M.: Sovetskaya nauka, 1952. 391 pp. [Serebryakov IG. Morphology of higher plants vegetative organs. Moscow: Sovetskaya nauka; 1952. 391 p.] In Russian
31. Manokhina R.P. Introduktsiya dekorativnykh pribrezhno-vodnykh rasteniy v Tadzhikistane: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Dushanbe, 1984. 21 pp. [Manokhina RP. Introduction of ornamental littoral plants in Tadjikistan [CandSci Dissertation abstract]. Dushanbe: 1984. 21 p.] In Russian
32. Khokhryakov A.P. Zakonomernosti evolyutsii rasteniy. Novosibirsk: Nauka, 1975. 202 pp. [Khokhryakov AP. Patterns of plant evolution. Novosibirsk: Nauka; 1975. 202 p.] In Russian
33. Markov M.V. Struktura i populyatsionnaya biologiya maloletnikh rasteniy tsentra Russkoy ravniny: avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk. M., 1992. 35 pp. [Markov MV. Structure and population biology of short-lived perennial plants of the Russian plain centre [DrSci abstract]. Moscow: 1992. 35 p.] In Russian
34. Vasil'ev A.E., Voronin N.S., Elenevskiy A.G., Serebryakova T.I. Botanika. Anatomiya i morfologiya rasteniy. M.: Prosveshchenie, 1978. 480 pp. [Vasilyev AE, Voronin NS, Elenevsky AG, Serebryakova TI. Botany. Plants anatomy and morphology. Moscow: Prosveshcheniye; 1978. 480 p.] In Russian
35. Kaul RB. Reproductive phenology and biology in annual and perennial Alismataceae. *Aquatic Botany*. 1985;2(22):153-165.]
36. Sculthorpe CD. The biology of aquatic vascular plants. London: Arnold; 1967. 610 p.
37. Liev SM. Growth forms in *Alismatales*. I *Alisma triviale* and species *Sagittaria* with upright vegetative axes. *Canadian Journal of Botany*. 1979;21(57):2325-2352.
38. Serebryakova T.I. Morfogenez pobegov i evolyutsiya zhiznennykh form zlakov. M.: Nauka, 1971. 358 pp. [Serebryakova TI. Shoot morphogenesis and crop life forms evolution. Moscow: Nauka; 1971. 358 p.] In Russian

39. Zhukova L.A. Polivariantnost' ontogeneza lugovykh trav. Zhiznennyye formy v ekologii i sistematike rasteniy. M.: MGPI, 1986. PP. 104-114. [Zhukova L.A. Polyvariety of meadow grass ontogeny. Life forms in plant ecology and systematics. Moscow: Moscow State Pedagogical University; 1986. p. 104-114.] In Russian
40. Shestakova E.V. Tmin obyknovennyy. Izuchenie problem populyatsionnoy ekologii rasteniy. Populyatsionno-ontogeneticheskie aspekty ekologicheskogo monitoringa: Otchet NIR № 01910056055. Yoshkar-Ola, 1991. PP. 13-15. [Shestakova E.V. Caraway. In: *Problems of plant population ecology*. Population ontogenetic aspects of ecological monitoring: Research report № 01910056055. Yoshkar-Ola, 1991, p. 13-15.] In Russian
41. Zhukova L.A., Shestakova E.V. Vvedenie. Ontogeneticheskiy atlas lekarstvennykh rasteniy. Yoshkar-Ola: MarGU, 1997. PP. 3-27. [Zhukova L.A., Shestakova E.V. Introduction. *Ontogenetic atlas of medical plants*. Yoshkar-Ola: Mari State University; 1997. p. 3-27.] In Russian
42. Charlton W.A., Ahmed A. Studies in the Alismataceae IV. Developmental morphology of *Ranalisma humile* and comparisons with two members of the Butomaceae, *Hydrocleis nymphoides* and *Butomus umbellatus*. *Canadian Journal of Botany*. 1973;15(51):899-910.
43. Wilder G.I. Phylogenetic trends in the Alismatidae (Monocotyledonae). *Botanical Gazette*. 1975;2(136):159-170.
44. Gattsuk L.E. K metodam opisaniya i opredeleniya zhiznennykh form v sezonnom climate. Byulleten' Moskovskogo obshchestva ispytateley prirody. Otd. biol. 1974. Vol. 79, No. 3. PP. 84-100. [Gattsuk L.E. On methods of description and definition of life forms in seasonal climate. *Bulletin of Moscow society of Naturalists. Department of biology*. 1974;79(3):84-100.] In Russian
45. Lapirov A.G. Osobennosti ontogeneza chastukhi podorozhnikovoy. Gidrobotanika 2000. V Vserossiyskaya konferentsiya po vodnym rasteniyam. Borok, 2000. PP. 174-175. [Lapirov A.G. Features of water plantain ontogeny. *Gidrobotanika*. Borok: 2000. p. 174-175.] In Russian
46. Lapirov A.G. Yavlenie kvantirovannosti rosta v metamernoy organizatsii pobega nekotorykh predstaviteley semeystva Alismataceae Vent. Vestnik Tverskogo gosudarstvennogo universiteta. 2008. No 25(85). PP. 122-127. [Lapirov A.G. Quantitative growth in metameric shoot organisation of some representatives of Alismataceae Vent. Family. *Vestnik of Tver State University*. 2008;25(85):122-127.] In Russian
47. Grudzinskaya I.A. Letnee pobegoobrazovanie u drevesnykh rasteniy i ego klassifikatsiya. Botanicheskiy zhurnal. 1960. Vol. 45. No 7. PP. 968-978. [Grudzinskaya I.A. Summer shoot formation of woody plants and its classification. *Botanical Journal*. 1960;45(7):968-978.] In Russian
48. Andreeva I.I. Zhiznennyy tsikl shpazhnika gibridnogo *Gladiolus* kh *hybridus* Hort. (Iridaceae). Botanicheskiy zhurnal. 1977. Vol. 62, No 8. PP. 1183-1196. [Andreeva I.I. *Gladiolus x hybridus* Hort. (Iridaceae) life cycle. *Botanical journal*. 1977;62(8):1183-1196.] In Russian
49. Smirnov P.A. Flora Prioksko-Terrasnogo gosudarstvennogo zapovednika. Trudy Prioksko-Terrasnogo gos. zapovednika. 1958. Vyp. 2. PP. 1-247. [Smirnov P.A. Flora of the Prioksko-Terrasny Nature Reserve. *Proceedings of the Prioksko-Terrasny State Nature Reserve*. 1958;2:1-247.] In Russian

УДК 582.665.11 (571.1)
doi: 10.17223/19988591/25/6

Н.Н. Тупицына¹, И.В. Кузьмин²

¹ Красноярский государственный педагогический университет
им. В.П. Астафьева, г. Красноярск, Россия

² Тюменский государственный университет, г. Тюмень, Россия

***Polygonum ramosissimum* Michx. (Polygonaceae Juss.) – новый адвентивный вид в Сибири**

При изучении флоры Тюменской области в полевые сезоны 2006–2011 гг. был найден новый для Сибири заносный североамериканский вид – *Polygonum ramosissimum* Michx. В Восточной Европе это растение было обнаружено в конце прошлого и начале нынешнего века среди адвентивных растений Москвы, Московской и Ленинградской областей, а также в Украине. По морфологическим и молекулярно-генетическим признакам вид сближается с *P. aviculare* L. Гербарный материал по *P. ramosissimum*, собранный в пяти административных районах Тюменской области, расположенных в разных природных зонах (южная тайга, подтайга и переходная полоса между ними), а в Вагайском районе и в разные годы, свидетельствует о натурализации этого вида в Западной Сибири. Места обитания по обочинам дорог дают основание предполагать его более широкое, чем обнаружено, распространение в Тюменской области и продвижение в другие регионы Сибири.

Ключевые слова: *Polygonum*; *Polygonaceae*; Западная Сибирь.

Введение

Одним из путей пополнения видового состава флоры определенной территории является занос видов из других регионов.

Polygonum ramosissimum Michx. – спорыш многоветвистый – североамериканское растение, обитающее на песчаных берегах, засоленных почвах [1, 2]. В Восточной Европе вид был обнаружен в конце прошлого века. М.С. Игнатов и др. [3], приводя конспект флоры адвентивных растений Московской области, ссылаются на сбор В.Д. Бочкина, выполненный в г. Москве на курском направлении железной дороги. Очевидно, на данные этого же сбора опирается и Н.Н. Цвелёв [4], цитируя указанную работу. Позднее он приводит вид как заносный на железнодорожной насыпи и для второй точки – окр. Стрельны Ленинградской области [5]. Еще одна находка вида была зарегистрирована в Украине [6]. Включен вид и во «Флору Москвы» [7], хотя его нахождение в Москве вызывает у авторов «Адвентивной флоры Москвы и Московской области» [8] сомнения, основанные на том, что вид был определен по вегетативным особям, не имеющим цветков и плодов.

Для *P. ramosissimum* характерна широкая внутривидовая изменчивость, существует ряд форм и два подвида: subsp. *ramosissimum* – гетерофильное, обычно желто-зеленое в свежем и сухом состоянии растение, листовые пластинки на верхушке острые или заостренные, цветоножки 2,5–6 мм длиной; subsp. *prolificum* (Small) Costea et Tardif – гомофильное, обычно голубовато(бледно)-зеленое в свежем и бурое в сухом состоянии растение, листовые пластинки на верхушке округлые или притупленные, цветоножки 1–2 мм длиной. Кроме того, растения, относящиеся к этому виду, варьируют по окраске краев долей околоцветника (желтоватые, беловатые, редко розовые), характеру экзокарпия (блестящий или матовый, гладкий или мелкобугорчатый), величине плода относительно околоцветника (заключен в околоцветник или выставляется из него). На эти признаки указывают М. Costea et al. [2], пять раз отделяя этот вид от других в своем определительном ключе. Эти авторы находят выявленную морфологическую вариабельность *P. ramosissimum* сходной с вариабельностью *P. aviculare* s. l.

Материалы и методики исследования

При изучении флоры Тюменской области в полевые сезоны 2006–2011 гг. был собран материал (12 гербарных листов вместе с дублетным), определение видовой принадлежности которого позволило отождествить его с *P. ramosissimum*. Идентификация проводилась с помощью определительных ключей и описания этого вида, данного N.L. Britton, H.A. Brown [1] и М. Costea et al. [2]. Кроме того, был изучен материал в европейском секторе Гербария Ботанического института РАН им. В.Л. Комарова (LE), где имеются два листа сборов этого вида с территории Восточной Европы: окр. г. Киева, 17.10.1989, С.Л. Мосякин; окр. г. С.-Петербурга (Стрельна?), 2.10.2003, Г. Конечная.

Приведем данные о распространении *P. ramosissimum* в Тюменской области.

Нижнетавдинский р-н, правобережье р. Тавда, 35 км северо-западнее с. Нижняя Тавда, 27 км севернее с. Велижаны, на границе Тюменской и Свердловской обл., 6 км северо-западнее д. Калиновка, 1 км юго-восточнее д. Увал, обочина грунтовой дороги. N 57°47'51.94" E 065°36'5.27" alt. 80 m s m. 08. VIII. 2011. И.В. Кузьмин, И.С. Драчёв.

Вагайский р-н, с. Вагай, северная окраина села, от памятника природы «Окрестности села Вагай» до автомобильного моста в пойме р. Вагай, обочины дорог. N 57°59'27" E 068°55'54" alt. 50 m s m. 15. VIII. 2006. И.В. Кузьмин, Н.С. Драчёв.

Вагайский р-н, левобережье р. Вагай, с. Вагай, центральная и восточная части села, мусорные места, обочины дорог. N 57°56'4.34" E 069°1'23.86" alt. 55 m s m. 20. VIII. 2011. И.В. Кузьмин, А.С. Мочалов.

Викуловский р-н, северо-восточная граница заказника «Викуловский», 5 км к западу от д. Рябово, перед урочищем Михайловка, правобережье

р. Малый Ик, луг разнотравный сенокосный с сырыми понижениями. N 57°01'61,7" E 070°13'76,2" alt. 89 m s m. 13. VIII. 2007. И.В. Кузьмин, Н.Г. Ильминских.

Голышмановский р-н, пос. Голышманово, восточная часть посёлка от железной дороги Тюмень – Омск до пруда, обочины дорог. N 56°23'77.30" E 068°22'51.10" alt. 123 m s m. 10. VII. 2010. И.В. Кузьмин.

Аромашевский р-н, левобережье р. Вагай, 8 км северо-восточнее с. Аромашево, 2 км севернее д. Слободчики, по первому свёртку за деревней с дороги Голышманово – Вагай на северо-запад, обочины грунтовой дороги. N 56°56'38.66" E 068°45'36.97" alt. 90 m s m. 20. VIII. 2011. И.В. Кузьмин, А.С. Мочалов.

Цитированные гербарные образцы хранятся у основного коллектора И.В. Кузьмина (г. Тюмень), дублеты – в Гербарии Красноярского государственного педагогического университета им. В.П. Астафьева (KRAS).

Результаты исследования и обсуждение

Изучение признаков образцов *P. ramosissimum*, собранных в Тюменской области, позволило выполнить следующую морфологическую характеристику вида.

Однолетнее гетерофильное растение до 30–60 см высотой. Главный побег обычно прямостоячий жесткий, сильно ветвистый с довольно длинными, косо вверх направленными боковыми побегами. Листья на боковых побегах в верхней части превышают цветки. Листовые пластинки желто-зеленые, на черешках 0,3–0,6 см длиной, ланцетные, эллиптические, 0,8–3,0 см длиной и 0,4–1,0 см шириной, на верхушке острые или коротко заостренные, в основании оттянутые, по краю плоские, снизу с хорошо заметными боковыми жилками. Раструбы с 6–10 жилками, в нижней части буроватые, в верхней серебристые, расщепляющиеся. Цветки в парциальных соцветиях по 2–5 расположены в пазухах обычных и немного уменьшенных листьев, сближены на верхушке побегов. Цветоножка превышает околоцветник. Околоцветник при плоде 2,6–3,0 мм длиной, с желтоватыми по краям долями и слабыми или сильными жилками, надрезан немного больше, чем наполовину своей длины. Плод 2,5–2,8 (3,0) мм длиной, темно-бурый, блестящий, мелкобугорчатый, трехгранный, с гранями почти одинаковой ширины, заключен в околоцветник или немного выдаётся из него.

Как видно из описания, сибирские растения, очевидно, относятся к *subsp. ramosissimum*, они имеют в верхней части побегов хорошо развитые листья, значительно превышающие цветки, что не позволяет сближать вид с *P. bel-lardii* All. подсекции *Patula* Tzvel. типовой секции, как это было сделано М. Costea et al. [2]. Такой существенный признак, как величина листовых пластинок относительно цветков в верхней части побегов, в отечественной систематике не является внутривидовым, а позволяет обособлять виды в

ранге подсекций [9]. В совокупности с другими признаками он свидетельствует в пользу подсекции *Polygonum*. Молекулярно-филогенетические исследования рода на основании изучения нуклеотидного полиморфизма ITS1-2 ядерной рДНК показали, что *P. ramosissimum* можно выделить в особую секцию совместно с другими североамериканскими видами (*P. buxiforme* Small и *P. achoreum* S.F. Blake), либо включить в состав типовой секции [10]. *P. ramosissimum* сходен с *P. aviculare* L., что подтверждает Н.Н. Цвелёв [4, 5], расположивший эти виды рядом в ключе и поместивший их в одну (типовую) подсекцию. В то же время сибирские образцы *P. ramosissimum* хорошо отличаются от материала по *P. aviculare* (таблица).

**Сравнительная характеристика признаков сибирских популяций
P. aviculare и *P. ramosissimum***

Признаки	<i>P. aviculare</i>	<i>P. ramosissimum</i>
Окраска листовых пластинок	Зеленая	Желто-зеленая
Степень расчленения околоцветника	На 2/3–3/4 своей длины	На 2/5–3/5 своей длины, т.е. почти наполовину
Окраска края долей околоцветника	Розовые, красные, редко белые	Желто-зеленые, желтые, редко розовые
Поверхность экзокарпия	Матовая, продольно морщинистая	Блестящая, почти гладкая

Заключение

Гербарный материал по *P. ramosissimum*, собранный в пяти административных районах Тюменской области, расположенных в разных природных зонах (южная тайга, подтайга и переходная полоса между ними), а в Вагайском районе и в разные годы, на наш взгляд, свидетельствует о натурализации этого вида в Западной Сибири. Места обитания *P. ramosissimum* по обочинам дорог дают основание предполагать его более широкое, чем обнаружено, распространение в Тюменской области и продвижение в другие регионы Сибири.

Приносим глубокую благодарность Н.Н. Цвелёву за просмотр гербария и подтверждение видовой принадлежности определенных образцов.

Литература

1. Britton N.L., Brown H.A. Genus *Polygonum* // Illustrated Flora of the Northern United States and Canada. N.Y. : Dover Publication, 1970. Vol. 1. P. 660–664.
2. Costea M., Tardif F.J., Hinds H.R. Genus *Polygonum* // Flora of North America. New York ; Oxford : Oxford University Press, 2005. Vol. 5. P. 547–571.
3. Игнатов М.С., Макаров В.В., Чичев А.В. Конспект флоры адвентивных растений Московской области // Флористические исследования в Московской области. М., 1990. С. 5–105.
4. Цвелёв Н.Н. Род спорыш – *Polygonum* L. // Флора Восточной Европы. СПб : Мир и семья-95, 1996. Т. 9. С. 136–150.

5. Цвелёв Н.Н. Сем. *Polygonaceae* Juss. – Спорышевые (Гречиховые) // Конспект флоры Восточной Европы. СПб.; М. : Товарищество научных изданий КМК, 2012. Т. 1. С. 317–332.
6. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular Plants of Ukraine. A Nomenclatural Checklist. Kiev : 1999. 345 p.
7. Флора Москвы / Варлыгина Т.И., Головкин Б.Н., Киселева К.В. и др. ; под общ. ред. проф. В.С. Новикова. М. : Изд-во Голден-Би, 2007. 512 с.
8. Майоров С.Р., Бочкин В.Д., Насимович Ю.А., Щербаков А.В. Адвентивная флора Москвы и Московской области. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2012. 412 с.
9. Цвелёв Н.Н. О видах секции *Polygonum* рода *Polygonum* L. в европейской части СССР // Новости сист. высш. раст. 1979 (1978). Т. 15. С. 128–142.
10. Юрцева О.В., Боброва В.К., Войлокова В.Н., Троцкий А.В. Филогения рода *Polygonum* L. s. str. на основе анализа ITS1–2 ядерной рДНК // Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века : материалы Всерос. конф. (Петрозаводск, 22–27 сентября 2008 г.). Петрозаводск : Карельский научный центр РАН, 2008. Ч. 3. С. 83–85.

Поступила в редакцию 16.12. 2013 г.

Авторский коллектив:

Тупицына Наталья Николаевна – д-р биол. наук, профессор; профессор кафедры биологии и экологии факультета биологии, географии и химии Красноярского государственного педагогического университета им. В.П. Астафьева (г. Красноярск, Россия). E-mail: flora@krasmail.ru

Кузьмин Игорь Владимирович – зав. учебным ботаническим садом Тюменского государственного университета (г. Тюмень, Россия). E-mail: ivkuzmintgu@yandex.ru

Tomsk State University Journal of Biology. 2014. № 1 (25). P. 90–96

doi: 10.17223/19988591/25/6

Natalia N. Tupitsyna¹, Igor V. Kuzmin²

¹ Department of Biology and Ecology, V.P. Astafyev Krasnoyarsk State Pedagogical University, Krasnoyarsk, Russian Federation. E-mail: flora@krasmail.ru

² Educational Botanic Garden, Department of Biology, Tyumen State University, Tyumen, Russian Federation. E-mail: ivkuzmintgu@yandex.ru

***Polygonum ramosissimum* Maxim. (Polygonaceae Juss.) as a new adventive species in Siberia**

One of the ways to replenish species composition of the flora of a defined territory is bringing species from other regions. *Polygonum ramosissimum* Michx. is a North American plant that lives on sandy beaches and saline soils (Britton, Brown, 1970; Costea et al., 2005). The species was found in Eastern Europe at the end of the last century and among the adventive plants of Moscow, Moscow and Leningrad regions (Ignatov, 1990; Tsvelev, 1996, 2012) and also in Ukraine (Mosyakin, Fedoronchuk, 1999) at the beginning of the present one. *P. ramosissimum* is characterized by a broad intraspecific variation, there are a number of forms and two subspecies, which differ in leaf color, shape of the tops of leaves and the presence or absence of heterophylly. In addition, the plants belonging to this species vary in color of the edges of the parts of a perianth (yellowish, whitish, rarely pink), the nature of the fetus (shiny or matt, smooth or knobby), its size relative to a perianth (if it is enclosed in a perianth or sticks out of it) and even the size of leaves at the upper part of shoots which are sometimes so small that are not bigger than flowers.

M. Costea et al. (2005) point to these signs, separating this species from others in their identification way five times.

When studying the flora of Tyumen oblast in the field seasons of 2006–2011, there was collected the material, whose species identification definition made it possible to identify it with *P. ramosissimum*. Herbarium specimens are stored in the main collection of I.V. Kuzmin (Tyumen), doublets – in the Herbarium of V.P. Astafiev Krasnoyarsk State Pedagogical University (KRAS).

The plants of the Siberian population have well-developed leaves at the top of the shoots, much bigger than the flowers, which does not allow bringing together the species with *P. bellardii* All. from the subsection *Patula* Tzvel. of the typical section, as it was done by Costea et al. (2005). The molecular-phylogenetic studies based on the study of nucleotide polymorphism ITS1-2 of nuclear rDNA showed that *P. ramosissimum* can be isolated in a special section in conjunction with other North American species *P. buxiforme* Small, *P. achoreum* S.F. Blake, or they can be included in the sample section (Yurtseva et al. 2008). The species is similar to *P. aviculare* L., which is confirmed by N.N. Tsvelev (1996, 2012), who placed these species near in the key and put them in one (typical) subsection.

P. ramosissimum herbarium, collected in five administrative districts of Tyumen oblast, located in different natural zones (southern taiga, subtaiga and the transitional zone between them), and even in different years in the Vagaysky district, in our point of view, shows the naturalization of this species in Western Siberia. The habitats of *P. ramosissimum* along the roadsides give a reason to assume its more wide-spread occurrence in Tyumen oblast and expansion in other regions of Siberia.

Key words: *Polygonum*; Polygonaceae; West Siberia.

Received December, 12, 2013

References

1. Britton NL, Brown H.A. Genus *Polygonum*. *Illustrated Flora of the Northern United States and Canada*. N.Y.: Dover Publication; 1970. Vol. 1. p. 660-664.
2. Costea M, Tardif FJ, Hinds HR. Genus *Polygonum*. *Flora of North America*. New York;Oxford: Oxford University Press; 2005. Vol. 5. p. 547-571.
3. Ignatov MS, Makarov VV, Chichev AV. Konspekt flory adventivnykh rasteniy Moskovskoy oblasti. Floristicheskie issledovaniya v Moskovskoy oblasti. M., 1990. PP. 5-105. [Ignatov MS. List of adventive plants in Moscow oblast. *Floristic studies in Moscow oblast*. Moscow: Nauka; 1990. p. 5-105.] In Russian
4. Tsvelev N.N. Rod sporysh – *Polygonum* L. Flora Vostochnoy Evropy. SPb.: Mir i sem'ya-95, 1996. Vol. 9. PP. 136-150. [Tsvelev NN. Genus *Polygonum* L. *Flora of the Eastern Europe*. Vol. 9. Saint-Petersburg: Mir I semya-95; 1996. p. 136-150.] In Russian
5. Tsvelev N.N. Sem. Polygonaceae Juss. – Sporyshevye (Grechikhovye). Konspekt flory Vostochnoy Evropy. SPb.; M.: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK, 2012. Vol. 1. PP. 317-332. [Tsvelev NN. Family Polygonaceae Juss. *Flora of the Eastern Europe*. Vol. 1. Saint-Petersburg;Moscow: KMK Scientific Press Ltd; 2012. p. 317-332.] In Russian
6. Mosyakin SL, Fedoronchuk MM. Vascular Plants of Ukraine. A Nomenclatural Checklist. Kiev: 1999. 345 p.
7. Flora Moskvyy / Varlygina T.I., Golovkin B.N., Kiseleva K.V. i dr. / pod obshch. red. prof. V.S. Novikova. Moscow: Golden-Bi, 2007. 512 p. [*Flora of Moscow* / Varlygina TI, Golovkin BN, Kisileva KV, Mayorov SR, Nemchenko EP, Novikov VS, Shvetsov AN, Shcherbakov AV. / Ed. VS. Novilov. Moscow: Golden-Bi; 2007. 512 p.] In Russian

8. Mayorov S.R., Bochkin V.D., Nasimovich Yu.A., Shcherbakov A.V. Adventivnaya flora Moskvy i Moskovskoy oblasti. M. : Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK, 2012. 412 p. [Mayorov SR, Bochkin VD, Nasimovich YA, Shcherbakov AV. Adventive flora of Moscow and Moscow oblast. Moscow: KMK Scientific Press Ltd; 2012. 412 p.]
9. Tsvelev N.N. O vidakh seksii Polygonum roda Polygonum L. v evropeyskoy chasti SSSR. Novosti sist. vyssh. rast. 1979 (1978). Vol. 15. PP. 128-142. [Tsvelev NN. On Polygonum types of genus *Polygonum* L. in the European part of the USSR. *News of systematics of higher plants*. 1979(1978);15:128-142.]
10. Yurtseva O.V., Bobrova V.K., Voyloкова V.N., Troitskiy A.V. Filogeniya roda Polygonum L. s. str. na osnove analiza ITS1-2 yadernoy rDNK. Fundamental'nye i prikladnye problemy botaniki v nachale XXI veka: Materialy Vserossiyskoy konferentsii (Petrozavodsk, 22–27 sentyabrya 2008 g.). Petrozavodsk : Karel'skiy nauchnyy tsentr RAN, 2008. Ch. 3. PP. 83–85. [Yurtseva OV, Bobrova VK, Voyloкова VN, Troizky AV. Phylogeny of genus *Polygonum* L. s. str. analysing ITS1-2 of nuclear rDNA. *Fundamental and applied problems of botany in the beginning of the XXI century*: Proceedings of the all-Russian conference (Petrozavodsk, 22-27 September 2008). Petrozavodsk: Karelian research center of the Russian Academy of Sciences; 2008. Part 3. p. 83-85.]

ЗООЛОГИЯ

УДК 591.5:595.2: 595.763
doi: 10.17223/19988591/25/7

А.С. Бабенко, С.А. Нужных

Томский государственный университет, г. Томск, Россия

Фауна и сезонная динамика активности хищных герпетобионтов ягодных насаждений экспериментального участка Сибирского ботанического сада. Сообщение 2. Фауна и сезонная динамика активности стафилинид (Coleoptera: Staphylinidae)

Изучена фауна и сезонная динамика активности стафилинид на плантациях ягодных культур, в березовом лесу и на тополевых лесопосадках экспериментального участка Сибирского ботанического сада (СибБС), расположенного в окрестностях г. Томска. Население коротконадкрылых жуков представлено 29 видами при абсолютном доминировании *Drusilla canaliculata* F. в каждом обследованном биотопе. На посадках земляники к представителям данного вида относится почти половина учтенных ловушками стафилинид, в других биотопах его количество варьирует от 28,60 до 40,33%. Значительно уступают по численности вышеупомянутому виду *Xantholinus tricolor* F. и *Philonthus decorus* Grav. Доля *X. tricolor* была достаточно высока на посадках земляники (26,65%) и в тополевой лесополосе (24,66%), а активность *P. decorus* была относительно выше в более влажных местообитаниях – в березняках (18,80%) и на посадках смородины (16,30%). Видовое разнообразие стафилинид на всех обследованных участках относительно невелико: по 16 видов на посадках смородины и в тополевой лесополосе, 18 видов – в березовом лесу; на посадках земляники отмечено лишь 11 видов коротконадкрылых жуков.

Ключевые слова: стафилиниды; фауна; сезонная динамика активности.

Введение

Коротконадкрылые жуки – стафилиниды (Staphylinidae) – относятся к одной из крупнейших групп жесткокрылых; в настоящее время описано около 40 000 видов стафилинид; фауна этой группы жуков в ряде регионов, включая большую часть Сибири, изучена лишь фрагментарно [1]. Населяя верхние слои почвы и напочвенные субстраты, а также обладая широким спектром питания, стафилиниды играют важную роль в регуляции численности беспозвоночных в агроэкосистемах. Сведения об экологии представителей семейства приведены в многочисленных публикациях преимущественно западноевропейских и американских авторов, посвященных обитателям

почвы, лесной подстилки, грибов, разлагающихся органических остатков и других субстратов, где встречаются стафилиниды. Обзор данных работ приводится в монографиях, посвященных фауне и экологии коротконадкрылых жуков ряда стран Европы и некоторых регионов России [2–6]. В обзоре трофических связей хищных стафилинид [7] приводятся краткие сведения о питании 140 видов имаго и 30 видов личинок коротконадкрылых жуков.

Сведения о пространственно-временной структуре населения стафилинид агроэкосистем имеются в основном в публикациях, касающихся всего комплекса хищных герпетобиотов, а сведения по аутоэкологии большинства представителей семейства в агроценозах практически отсутствуют. Имеются публикации, посвященные изучению фауны стафилинид в различных агроценозах, преимущественно на территории Европы и Северной Америки; более подробно изучались герпетобионты на овощных и на картофельных полях, а также на полях злаковых культур [8–15]. В последние годы экология коротконадкрылых жуков изучалась на полях озимой пшеницы [16–18] и кукурузы [19]. Изучение фауны и некоторых сторон экологии стафилинид садовых агроценозов проводилось на плантациях малины в Канаде [20], а также в яблоневых садах в Чехии [21]. Более детально изучались стафилиниды в плодовых садах Венгрии, на примере яблоневых и грушевых насаждений рассмотрено влияние агротехники и особенностей структуры агроценоза на видовой состав, динамику активности стафилинид и выбор хищными жуками объектов питания [22–24].

На территории России отдельные исследования стафилинид в агроценозах проводились лишь на зерновых культурах в некоторых центральных и южных регионах страны [25–29], на орошаемых землях [30], а также на юге Западной Сибири [31–32]. В большинстве опубликованных работ отмечается, что, в отличие от обитателей естественных лесных и луговых экосистем, герпетобионты в агроценозах характеризуются очень нестабильной численностью. Показано, что основу фауны коротконадкрылых жуков всех сельскохозяйственных угодий составляют широко распространенные эвритопные виды. Формирование комплексов стафилинид сибирских агроценозов в большей степени идет за счет лесных элементов фауны; трофическая структура населения стафилинид агроценозов, окруженных лесными экосистемами, отличается от таковой в агроценозах степной и лесостепной зон [12, 27, 31]. На примере изучения системы «комплекс жужелиц и стафилинид – весенняя капустная муха» отмечено, что плотность популяции вредителя является важнейшим фактором, определяющим регуляторные возможности энтомофагов [33].

Следует отметить, что до настоящего времени прикладные аспекты использования коротконадкрылых жуков в агроценозах все еще слабо разработаны. Во многом это объясняется трудностью работы со скрыто живущими и в большинстве своем мелкими насекомыми, а также скудностью сведений об образе жизни имаго и особенно преимагинальных стадий жуков, отсут-

ствием региональных определителей по многим родам и подсемействам.

В данной работе приводятся материалы по фауне и сезонной динамике активности стафилинид в ягодных насаждениях и сопредельных естественных биотопах на территории экспериментального участка Сибирского ботанического сада (с 2013 г. получившего статус экосистемной дендрологической территории) Томского государственного университета (СибБС). Сведения о карабидах, также относящихся к доминирующей группе хищных напочвенных жесткокрылых, были приведены ранее [34].

Материалы и методики исследования

Сбор материала проводился на протяжении вегетационного периода (с середины мая по конец сентября) 2009 г. на территории опытного участка СибБС, расположенного в юго-восточной части г. Томска. Для сбора стафилинид использовались ловушки Барбера [35], подробно методика учета герпетобионтов приведена в нашем первом сообщении, посвященном анализу фауны и экологии жуужелиц СибБС [34]. За время полевых исследований было учтено около 1400 экземпляров имаго коротконадкрылых жуков. Для определения материала использовались современные сводки по отдельным группам стафилинид, таксономия в соответствии с каталогом Hermann [1].

Результаты исследования и обсуждение

На территории экспериментального участка СибБС отмечено 29 видов стафилинид, относящихся к 19 родам (таблица). В отличие от жуужелиц, население коротконадкрылых жуков изученной территории характеризуется явным доминированием одного вида – *Drusilla* (= *Astilbus*) *canaliculata* F. (рис. 1), как на плантациях ягодных культур, так и в соседних лесных местообитаниях. На посадках земляники к представителям данного вида относится почти половина учтенных ловушками стафилинид, в других биотопах его обилие варьирует от 28,60 до 40,33%. Этот вид коротконадкрылых жуков – один из наиболее часто встречающихся не только в агроценозах, но и в мелколиственных и светлохвойных лесах юга Западной Сибири; жуки также заселяют открытые местообитания (луга, лесные поляны), часто встречаются вблизи муравейников. Часто представителей данного вида относят к мирмекофилам, однако наши наблюдения показали, что жуки могут успешно развиваться и питаться без контакта с муравьями [36–37].

К числу доминантов, значительно уступающих по численности вышеупомянутому виду, относятся *Xantholinus tricolor* F. и *Philonthus decorus* Grav. В Томской области *X. tricolor* чаще населяет открытые места обитания, соновые и смешанные леса, в то время как *P. decorus* чаще встречается в лесных экосистемах, достигая высокой численности в осинниках, смешанных

сосново-березовых лесах и на участках черневой тайги [38]. На экспериментальном участке доля *X. tricolor* была достаточно высока на посадках земляники (26,65%) и в тополевой лесополосе (24,66%), а активность *P. decorus* была относительно выше в более влажных местообитаниях – в березняках (18,80%) и на посадках смородины (16,30%).



Рис. 1. *Drusilla canaliculata* F. (фото А.С. Бабенко)

Представители еще двух видов – *Tachinus rufipes* De Geer и *T. abdominalis* F. – так же, как и доминанты, отмечены во всех обследованных биотопах экспериментального участка. Их относительная доля была невелика, однако присутствие тахипорусов на смородиновых плантациях может объясняться их трофическими связями, так как ранее они были отмечены как афидофаги [7, 11, 14]. Еще один типичный обитатель лесной подстилки – *Quedius fuliginosus* F. – достигал относительно высокой численности как в березняках, так и на смородиновой плантации.

Среди других видов, ранее отмеченных нами в садовых насаждениях Бакcharского и Томского районов Томской области, следует отметить *Philonthus rotundicollis* Men. и *Ocyopus fuscatus* Grav. – потенциальных регуляторов численности личинок шелкоунов в садовых агроценозах [39].

В целом видовое разнообразие стафилинид на всех обследованных участках относительно невелико: по 16 видов на посадках смородины и в тополевой лесополосе, 18 видов – в березовом лесу; на посадках земляники отмечено лишь 11 видов коротконадкрылых жуков (таблица).

Стафилиниды на обследованной территории встречались в активном состоянии с конца апреля (после схода снега и прогревания поверхности почвы до 5–7°C) до начала октября. В начале проведения учетов (третья декада мая) активность жуков была невысокой как в насаждениях ягодников, так и в окружающих лесных биотопах, что объясняется относительно невысокой температурой почвы и припочвенного слоя (не выше 12°C вплоть до второй декады июня). Везде сезонная динамика активности стафилинид во многом определялась численностью доминирующего вида – *D. canaliculata*.

Видовой состав и биотопическое распределение стафилинид на территории экспериментального участка СибБС в 2009 г. (относительное обилие вида, %)

Виды стафилинид	Биотоп			
	Плантация земляники	Плантация смородины	Березовый лес	Тополевая лесополоса
<i>Megarthus hemipterus</i> Ill.	—	—	0,20	—
<i>Olophrum consimile</i> Gyll.	—	0,33	—	—
<i>Aploderus caelatus</i> Grav.	—	1,32	—	—
<i>Acidota crenata</i> F.	0,90	0,33	—	—
<i>Oxytelus rugosus</i> F.	1,35	3,30	—	—
<i>Tachinus laticollis</i> Grav.	2,70	1,32	—	—
<i>Tachinus marginatus</i> Gyll.	—	0,33	—	0,33
<i>Tachinus rufipes</i> De Geer	5,40	4,29	3,60	0,33
<i>Tachyporus macropterus</i> Steph.	—	3,63	1,20	0,99
<i>Tachyporus abdominalis</i> F.	1,35	3,30	1,60	2,64
<i>Drusilla canaliculata</i> F.	47,70	38,78	28,60	40,33
<i>Atheta fungi</i> Grav.	4,95	—	—	—
<i>Sipalia circellaris</i> Gyll.	—	—	4,20	1,32
<i>Oxypoda</i> sp.	—	—	0,40	—
<i>Lathrobium brunnipes</i> F.	—	—	0,40	0,33
<i>Gyrohypnus atratus</i> Heer	—	—	5,40	—
<i>Xantholinus tricolor</i> F.	26,65	16,30	18,80	24,66
<i>Leptacinus batychrus</i> Gyll.	—	0,33	0,40	—
<i>Philonthus politus</i> L.	—	—	1,60	0,33
<i>Philonthus rotundicollis</i> Men.	—	3,63	2,80	3,30
<i>Philonthus decorus</i> Grav.	7,20	13,20	20,60	8,15
<i>Philonthus setosus</i> Sahlb.	—	—	—	0,33
<i>Philonthus fuscipennis</i> Mannh.	—	—	—	1,32
<i>Philonthus varius</i> Gyll.	0,90	—	1,40	—
<i>Philonthus concinnus</i> Grav.	0,90	—	—	—
<i>Ocypus fuscatus</i> Grav.	—	3,30	2,20	8,15
<i>Staphylinus stercorarius</i> Ol.	—	—	—	0,33
<i>Quedius fuliginosus</i> F.	—	6,31	4,40	—
<i>Quedius boops</i> Grav.	—	—	2,20	7,16
Итого видов	11	16	18	16

На посадках ягодных культур характер активности стафилинид определялся подвижностью представителей трех доминирующих видов: *P. decorus*, *D. canaliculata* и *X. tricolor* (рис. 2). На посадках земляники активность жуков была невысокой на протяжении всего периода наблюдений, и здесь коротконадкрылые жуки значительно уступали по численности жужелицам в начале и середине вегетационного периода. Заметных периодов подъема активности, как это наблюдалось у карабид, у стафилинид также не было отмечено.

На смородине, где в целом активность коротконадкрылых жуков была значительно выше, чем на землянике, наблюдались значительные колебания численности стафилинид на протяжении вегетационного периода. Хорошо выраженный пик активности жуков отмечен здесь в начале августа (в основном за счет *D. canaliculata* и *X. tricolor*). Именно в начале августа в районе Томска у представителей этих видов наблюдается выход имаго летнего поко-

ления. Что касается *P. decorus*, то его максимальная численность в ловушках отмечена в первой половине июля, в период массового размножения представителей данного вида на юге Западной Сибири [6]. Осенью локомоторная активность коротконадкрылых жуков на плантациях ягодных культур падает практически до нуля, так же как и у жужелиц. Как правило, спад численности совпадает с периодом первых заморозков.

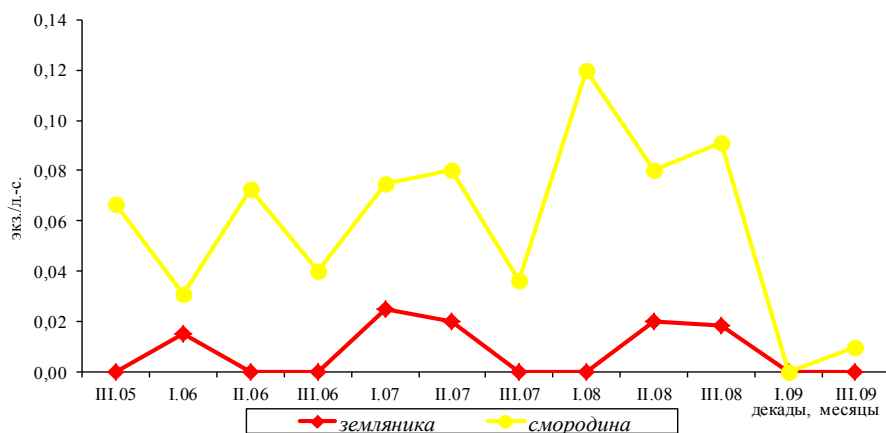


Рис. 2. Сезонная динамика активности стафилинид на ягодных культурах экспериментального участка СибБС

На участке березового леса уровень активности стафилинид в целом был значительно выше, чем в ягодниках. Здесь наблюдалось плавное повышение численности взрослых особей в ловушках в течение июня, резкий подъем их активности до максимальных значений в начале июля с последующим не менее резким снижением к концу месяца (рис. 3). В течение августа активность стафилинид в березняке поддерживалась на невысоком уровне. Примечательно то, что в первой половине лета более высокая активность отмечалась у *P. decorus*, в то время как со второй половины июля нарастала численность *D. canaliculata*. Обитающие в основном в лесных экосистемах *P. decorus* зимуют в фазе имаго, достаточно рано выходят с мест зимовки, и их раннелетний пик активности связан с периодом размножения жуков. У *D. canaliculata* здесь, как и в других местообитаниях, период размножения наступает чаще всего в середине лета, чем и вызван более поздний подъем активности у данного вида. Таким образом, у коротконадкрылых жуков в березняке отмечается лишь один пик активности, а не два, как это было у жужелиц [34].

Для стафилинид на участке тополевой лесополосы характерна относительно невысокая активность в первой половине лета, в основном за счет более влаголюбивых *O. fuscatus* и *Quedius boops* Grav., а также нарастание численности жуков в ловушках до максимальных значений в первой

декаде августа (до 0,65 экз./ловушко-сутки) за счет доминирующего здесь *D. canaliculata*.

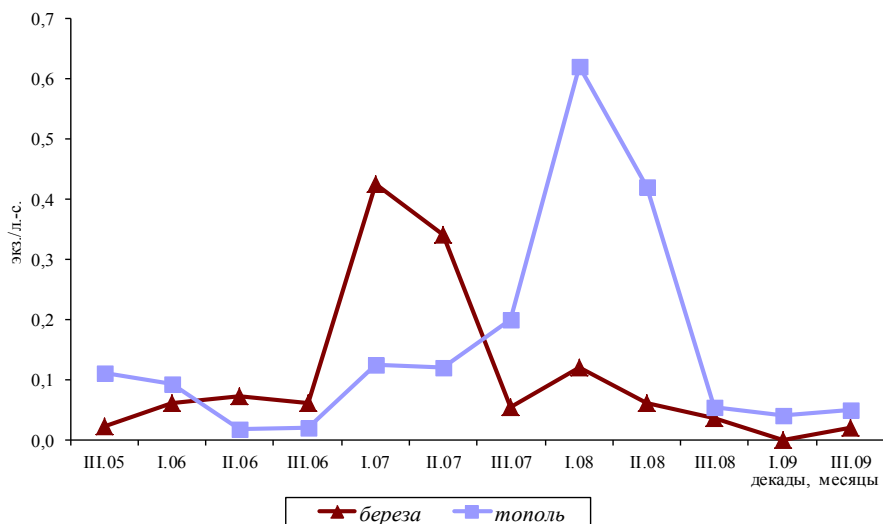


Рис. 3. Сезонная динамика активности стафилинид в березняке и в тополево-лесополосе экспериментального участка СибБС

В конце августа активность всех видов коротконадкрылых жуков значительно снижается и сохраняется в сентябре на стабильно низком уровне. Стафилиниды, обитающие в пределах лесополосы, значительно (более чем в пять раз) уступают по активности карабидам, однако в середине июля активность всех хищных герпетобионтов остается на приблизительно одинаковом низком уровне [34].

Заключение

Основные группы хищных жесткокрылых-герпетобионтов (жужелицы и стафилиниды) имеют как сходство, так и заметные различия в характере сезонной динамики активности. Как и у карабид, у коротконадкрылых жуков наблюдается более высокий уровень локомоторной активности жуков на «лесных» участках по сравнению с плантациями ягодных культур. Важнейшими факторами, определяющими подобное сходство, являются, по всей видимости, микроклиматические условия местообитания и наличие доступной добычи.

В то же время, в отличие от жужелиц, активно мигрирующих на плантации ягодных культур в середине и во второй половине вегетационного периода, большая часть стафилинид сохраняет верность местообитанию и в течение сезона населяет преимущественно те же биотопы, где проходила

зимовка жуков. На протяжении ряда лет проводя раскопки почвы для изучения мест зимовки герпетобионтов, мы убедились, что на территории экспериментального участка СибБС большинство видов жужелиц зимует в подстилке и верхних слоях почвы в древесных насаждениях, включая участки березового леса и тополевых посадок. В теплый период года они активно мигрируют, перемещаясь на десятки метров от мест зимовки. В то же время миграционные перемещения стафилинид в течение сезона незначительны и характерны в основном для хорошо летающих особей (представителей родов *Oxytelus*, *Platystethus* и др.), не входящих в число доминантов на изученной территории. Кроме того, стафилиниды ведут более скрытый образ жизни по сравнению с карабидами, и их более низкая численность в ловушках объясняется отсутствием там многих малоподвижных обитателей подстилki и верхних слоев почвы.

Авторы благодарны С.А. Сучковой за предоставленную возможность собирать материал на территории СибБС.

Литература

1. Hermann L. Catalog of the Staphylinidae (Ins., Col.) 1758 to the second millennium. Parts 1–7 // Bulletin American Museum National History. 2001. № 265. 4218 p.
2. Smetana A. Fauna CSSR. Vol. 12 : Staphylinidae. I. Staphylininae. Praha, 1958. 435 p.
3. Потоцкая В.А. Определитель личинок коротконадкрылых жуков (Coleoptera, Staphylinidae) Европейской части СССР. М. : Наука. 1967. 120 с.
4. Тихомирова А.И. Морфо-экологические особенности и филогенез стафилинид (с каталогом фауны СССР). М. : Наука. 1973. 191 с.
5. Szujewski A. Klucze do oznaczania owadów Polski. Vol. 19. Chrząszcze – Coleoptera. Kusakowate – Staphylinidae. Warszawa, 1980. 164 p.
6. Бабенко А.С. Экология стафилинид Кузнецкого Алатау. Томск : ТГУ, 1991. 189 с.
7. Good J., Giller P. The diet of predatory staphylinid beetles – a review of records // Entomological Montana Magazine. 1991. Vol. 126, № 1520–1523. P. 77–84.
8. Obrtel R. Carabidae and Staphylinidae occurring on soil surface in lucerne fields // Acta Entomologica Bohemoslovakia. 1968. Vol. 65. P. 5–32.
9. Finlayson D., Campbell C. Carabid and staphylinid beetles from agricultural land in the Lower Fraser Valley, British Columbia // Journal Entomological Society British Columbia. 1976. Vol. 73. P. 10–20.
10. Boiteau G. Activity and distribution of Carabidae, Arachnidae and Staphylinidae in New Brunswick potato fields // Canadian Entomology. 1983. Vol. 115, № 8. P. 1023–1030.
11. Bryan K., Wratten S. The responses of polyphagous predators to prey spatial heterogeneity: aggregation by carabid and staphylinid beetles to their cereal aphid prey // Ecological Entomology. 1984. Vol. 9, № 3. P. 251–259.
12. Andersen A. Carabidae and Staphylinidae (Coleoptera) in swede and carrot fields in northern and south-western Norway // Fauna Norway. 1985. № 3. P. 12–27.
13. Coombes D.S. The predatory potential of polyphagous predators in cereals in relation to timing of dispersal and aphid feeding // Ecology Aphidophaga. Vol. 2. 1986. P. 429–434.
14. Dennis P., Wratten S., Sotherton N. Feeding behaviour of the staphylinid beetle *Tachyporus hypnorum* in relation to its potential for reducing aphid numbers in wheat // Annals of Applied Biology. 1990. Vol. 117, № 2. P. 267–276.

15. Frank T., Reichhart B. Staphylinidae and Carabidae overwintering in wheat and sown wild-flower areas of different age // Bulletin of Entomological Research. 2004. Vol. 94. P. 209–217.
16. Krooss S., Schaefer M. The effect of different farming systems on epigeic arthropods: a five-year study on the rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) on winter wheat // Agriculture Ecosystems and Environment. 1998 a. Vol. 69. P. 121–133.
17. Krooss S., Schaefer M. How predacious are predators? A study of *Ocypus similis*, a rove beetle of cereal fields // Annals of Applied Biology. 1998 b. Vol. 133. P. 1–16.
18. Elliott N., Tao F.L., Giles K.L. et al. First quantitative study of rove beetles in Oklahoma winter wheat fields // Biocontrol. 2006. Vol. 51. P. 79–87.
19. Balog A., Szenasi A., Szekeres D., Palinkas Z. Analysis of soil dwelling soil rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) in cultivated maize fields containing the Bt toxin, Cry 34/35 Ab1 and Cry 1F x Cry 34/35 Ab1 // Bio-control Science and Technology. 2011. Vol. 21. P. 293–297.
20. Levesque C., Levesque G.-Y. Seasonal Dynamics of Rove Beetles (Coleoptera, Staphylinidae) in a Raspberry Plantation and Adjacent Sites in Eastern Canada // Journal Kansas Entomological Society. 1996. Vol. 69, № 4. P. 285–291.
21. Honek A., Kocian M., Martinkova Z. Rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) in an Apple Orchard // Plant Protection Science. 2012. Vol. 48, № 3. P. 116–122.
22. Balog A., Marko V. Chemical disturbances effects on community structure of rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) in Hungarian agricultural fields // North-Western Journal of Zoology. 2007. Vol. 3. P. 67–74.
23. Balog A., Marko V., Szarvas P. Dominance, activity density and prey preference of rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) in conventionally treated Hungarian agro-ecosystems // Bulletin of Entomological Research. 2008. Vol. 98. P. 343–353.
24. Balog A., Marko V., Imre A. Farming system and habitat structure effect on rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) assembly in Central European apple and pear orchards // Biologia (Bratislava). 2009. Vol. 64. P. 343–349.
25. Соболева-Докучаева И.И., Солдатова Т.А. Влияние экологических условий сельскохозяйственной культуры на хищных почвенных жесткокрылых (Coleoptera: Carabidae, Staphylinidae) // Фауна и экология почвенных беспозвоночных Московской области. М. : Наука. 1983. С. 120–130.
26. Солдатова Т.А., Соболева-Докучаева И.И., Черезова Л.Б. Пространственно-временная структура комплекса хищных почвенных жесткокрылых одного агроценоза (на примере посева кукурузы) // Фауна и экология почвенных беспозвоночных Московской области. М. : Наука. 1983. С. 130–137.
27. Богач Я., Поспишил Я. Жужелицы (Carabidae) и стафилиниды (Staphylinidae) пшеничного и кукурузного полей во взаимосвязи с окружающими биотопами // Экология. 1984. № 3. С. 22–34.
28. Душенков В.М., Козодой Е.М. О распределении стафилинид (Coleoptera, Staphylinidae) по полям с различными типами культур на юге Московской области // Научный доклад высшей школы. Биол. науки. 1988. № 9. С. 32–34.
29. Гусева О.Г., Коваль А.Г. Пространственное распределение жужелиц и стафилинид в агроценозах // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 1. С. 118–123.
30. Ломакин В.И., Миноранский В.А. Влияние орошения на видовой состав и численность стафилинид // Проблемы почвенной зоологии : материалы V Всесоюз. совещ. Вильнюс. 1975. С. 212–213.
31. Babenko A. Zonal peculiarities of the Staphylinid-fauna formation in agrocenoses // XX International Symposium Entomofaunistik in Mitteleuropa. Kurz. Vort. Kiev, 1988. P. 16.
32. Нужных С.А., Бабенко А.С. Массовые виды стафилинид (Coleoptera, Staphylinidae) крестоцветных культур на юге Западной Сибири // Мат. III (XIII) Всероссийского совещания по почвенной зоологии, посвященного 90-летию академика М.С. Гилярова

- «Разнообразие и функционирование почвенных сообществ». Йошкар-Ола. 1–5 октября 2002. М., 2002. С. 132–133.
33. Гусева О.Г., Коваль А.Г. Оценка роли напочвенных хищных жесткокрылых (Coleoptera: Carabidae, Staphylinidae) в регуляции плотности популяций вредителей в агроценозах // Энтомологическое обозрение. 2013. Т. 92, вып. 2. С. 241–250.
34. Бабенко А.С., Нужных С.А. Фауна и сезонная динамика активности хищных герпетобионтов ягодных насаждений экспериментального участка Сибирского ботанического сада г. Томска. Сообщение 1. Фауна и сезонная динамика активности жужелиц (Coleoptera: Carabidae) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2012. № 3 (19). С. 81–91.
35. Гиляров М.С. Учет крупных беспозвоночных (мезофауна) // Количественные методы в почвенной зоологии. М.: Наука. 1987. С. 9–26.
36. Бабенко А.С. Биология *Astilbus canaliculatus* F. (Coleoptera, Staphylinidae) на юге Западной Сибири // Зоологический журнал. 1985. Т. 64, вып. 7. С. 993–996.
37. Бабенко А.С., Нужных С.А., Крошко Ю.В. Фауна жесткокрылых-герпетобионтов в овощных агроценозах таежной зоны Западной Сибири // Проблемы экологической безопасности и природопользования в Западной Сибири: тр. Том. гос. ун-та. Сер. Биологическая. Томск, 2004. Т. 266. С. 10–13.
38. Бабенко А.С. Стафилиниды (Coleoptera, Staphylinidae) – герпетобионты лесных и лесостепных экосистем юга Сибири // Труды Русского энтомологического общества. СПб., 2007. Т. 78 (I). С. 7–18.
39. Бабенко А.С. Стафилиниды – энтомофаги в садовых насаждениях юга Западной Сибири // Тезисы докладов XIII съезд Р.Э.О. «Достижения энтомологии на службе агропромышленного комплекса, лесного хозяйства и медицины». Краснодар. 9–15 сентября 2007. Краснодар, 2007. С. 17–18.

Поступила в редакцию 11.10.2013 г.

Авторский коллектив:

Бабенко Андрей Сергеевич – профессор, д-р биол. наук, зав. кафедрой защиты растений Биологического института Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: quality_tsu@mail.ru

Нужных Светлана Анатольевна – канд. биол. наук, н. с. Сибирского ботанического сада; доцент кафедры защиты растений Биологического института Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: zuzelica@sibmail.com

Tomsk State University Journal of Biology. 2013. № 5 (25). P. 97–110

doi: 10.17223/19988591/25/7

Andrey S. Babenko¹, Svetlana A. Nuzhnyh²

¹ Department of Plant Protection, Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation. E-mail: quality_tsu@mail.ru

² Siberian Botanical Garden, Department of Plant Protection, Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation. E-mail: zuzelica@sibmail.com

Fauna and seasonal dynamics of activity of ground beetles on the berry plantations of Siberian Botanical Garden experimental plot. 2. Fauna and seasonal dynamics of activity of rove beetles (Coleoptera: Staphylinidae)

The peculiarities of fauna and seasonal dynamics of activity of rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) on the berry plantations and surrounding ecosystems of Siberian Botanical Garden (SBG) experimental plot nearby Tomsk have been shown. Rove beetles have been collected with the help of Barber pitfall trap on the territories of black-currant and strawberry plantation, in birch and poplar forests.

There are 29 species of ground beetles on the territory under study, and *Drusilla canaliculata* F. is the dominant species on each site under study. Approximately half of all rove beetles from the pitfall traps belong to *D. canaliculata*, and its proportion in different ecosystems varies from 28.60 to 40.33%. Other dominant species (*Xantholinus tricolor* F. and *Philonthus decorus* Grav.) significantly come short of activity in comparison with *D. canaliculata*. The proportion of *X. tricolor* is relatively high on the strawberry plantation (26.65%) and in the poplar forest (24.66%), but the activity of *P. decorus* is relatively higher in wetter habitats – in the birch forest (18.80%) and on the black-currant plantation (16.30%). The diversity of rove beetles on all the territories under study is relatively low: there are 16 species on the black-currant site, 16 – in the poplar forest, 18 – in the birch forest, and only 11 species on the strawberry plantation.

On the berry plantations the activity of rove beetles is supported by the three dominant species: *P. decorus*, *D. canaliculata* and *X. tricolor*. The activity of beetles was low on the strawberry site during the whole period of study, and staphylinids significantly come short of activity in comparison with carabids beetles in the first part of summer. The activity of rove beetles on the black-currant plantation was significantly high compared to strawberry plantations and there was one peak of activity here at the beginning of August (due to activity of *D. canaliculata* and *X. tricolor*).

The activity of rove beetles on forest territories was significantly high in comparison with the berry habitats. In the birch forest staphylinids' activity increases gradually during June, explosive growth of their activity is observed at the beginning of July, and explosive decrease in their activity is observed up to the end of July. In the poplar forest during the first part of summer activity of beetles was low, but explosive growth (due to activity of *D. canaliculata*) was in the first part of August.

There are some similarities and differences between seasonal dynamic activity of Carabidae and Staphylinidae beetles in the forests and berry plantations. Obviously, the representatives of both families prefer the same micro-climate conditions, but often they have different place of wintering and locomotion possibilities. Most rove beetles are active in summer in the place of wintering, but ground beetles often migrate from forests towards berry plantations.

Key words: Staphylinidae; Siberian Botanical Garden; fauna; seasonal dynamics of activity.

Received, October 11, 2013

References

1. Hermann L. Catalog of the Staphylinidae (Ins., Col.) 1758 to the second millennium. Parts 1–7. *Bulletin American Museum Natural History*. 2001;265:4218.
2. Smetana A. Fauna CSSR. Vol. 12: Staphylinidae. I. Staphylininae. Praha: Publishing House of Czechoslovak Academy of Sciences; 1958. 435 p.
3. Pototskaya V.A. Opredelitel' lichinok korotkonadkrylykh zhukov (Coleoptera, Staphylinidae) Evropeyskoy chasti SSSR. M.: Nauka. 1967. 120 pp. [Pototskaya V.A. Indicator of rove beetles larva (Coleoptera, Staphylinidae) of European part of the USSR. Moscow: Nauka; 1967. 120 p.] In Russian
4. Tikhomirova A.L. Morfo-ekologicheskie osobennosti i filogenez stafilinid (s katalogom fauny SSSR). M.: Nauka. 1973. 191 pp. [Tikhomirova A.L. Morphological-ecological features and phylogenesis of Staphylinidae (with the list of USSR fauna). Moscow: Nauka; 1973. 191 p.] In Russian
5. Szujewski A. Klucze do oznaczania owadów Polski. Vol. 19. Chrząszcze-Coleoptera. Kusakowate-Staphylinidae. Warszawa: 1980. 164 p.

6. Babenko A.S. Ekologiya stafilinid Kuznetskogo Alatau. Tomsk: TGU, 1991. 189 pp. [Babenko AS. Ecology of Staphylinidae of Kuznetskij Alatau. Tomsk: Tomsk State University; 1991. 189 p.] In Russian
7. Good J, Giller P. The diet of predatory staphylinid beetles – a review of records. *Entomological Montana Magazine*. 1991;(126(1520-1523)):77-84.
8. Obrtel R. Carabidae and Staphylinidae occurring on soil surface in lucerne fields. *Acta Entomologia Bohemoslovakia*. 1968;65:5-32.
9. Finlayson D, Campbell C. Carabid and staphylinid beetles from agricultural land in the Lower Fraser Valley, British Columbia. *J Entomological Society British Columbia*. 1976;73:10-20.
10. Boiteau G. Activity and distribution of Carabidae, Arachnidae and Staphylinidae in New Brunswick potato fields. *Canadian Entomology*. 1983;115(8):1023-1030.
11. Bryan K, Wratten S. The responses of polyphagous predators to prey spatial heterogeneity: aggregation by carabid and staphylinid beetles to their cereal aphid prey. *Ecological Entomology*. 1984;9(3):251-259.
12. Andersen A. Carabidae and Staphylinidae (Coleoptera) in swede and carrot fields in northern and south-western Norway. *Fauna Norway*. 1985;3:12-27.
13. Coombes DS. The predatory potential of polyphagous predators in cereals in relation to timing of dispersal and aphid feeding. *Ecology Aphidophaga*. 1986;2:429-434.
14. Dennis P, Wratten S, Sotherton N. Feeding behaviour of the staphylinid beetle *Tachyporus hypnorum* in relation to it's potential for reducing aphid numbers in wheat. *Annals of Applied Biology*. 1990;117(2):267-276.
15. Frank T, Reichhart B. Staphylinidae and Carabidae overwintering in wheat and sown wild-flower areas of different age. *Bulletin of Entomological Research*. 2004;94:209-217.
16. Krooss S, Schaefer M. The effect of different farming systems on epigeic arthropods: a five-year study on the rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) on winter wheat. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 1998;69:121-133.
17. Krooss S, Schaefer M. How predacious are predators? A study of *Ocypus similis*, a rove beetle of cereal fields. *Annals of Applied Biology*. 1998;133:1-16.
18. Elliott N, Tao FL, Giles KL et al. First quantitative study of rove beetles in Oklahoma winter wheat fields. *Biocontrol*. 2006;51:79-87.
19. Balog A, Szenasi A, Szekeres D, Palinkas Z. Analysis of soil dwelling soil rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) in cultivated maize fields containing the Bt toxin , Cry 34/35 Ab1 and Cry 1F x Cry 34/35 Ab1. *Bio-control Science and Technology*. 2011;21:293-297.
20. Levesque C, Levesque G-Y. Seasonal Dynamics of Rove Beetles (Coleoptera, Staphylinidae) in a Raspberry Plantation and Adjacent Sites in Eastern Canada. *J Kansas Entomological Society*. 1996;69(4):285-291.
21. Honek A, Kocian M, Martinkova Z. Rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) in an Apple Orchard. *Plant Protection Science*. 2012;48(3):116-122.
22. Balog A, Marko V. Chemical disturbances effects on community structure of rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) in Hungarian agricultural fields. *North-Western J of Zoology*. 2007;3:67-74.
23. Balog A, Marko V, Szarvas P. Dominance, activity density and prey preference of rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) in conventionally treated Hungarian agro-ecosystems. *Bulletin of Entomological Research*. 2008;98:343-353.
24. Balog A, Marko V, Imre A. Farming system and habitat structure effect on rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) assembly in Central European apple and pear orchards. *Biologia (Bratislava)*. 2009;64:343-349.
25. Coboleva-Dokuchaeva I.I., Soldatova T.A. Vliyanie ekologicheskikh usloviy sel'skokhozyaystvennoy kul'tury na khishchnykh pochvennykh zhestkokrylykh (Coleoptera: Carabidae, Staphylinidae). Fauna i ekologiya pochvennykh bespozvonochnykh Moskovskoy oblasti. M.: Nauka, 1983. PP. 120-130. [Soboleva-Dokuchaeva II Soldatova TA.

- Influence of agricultural environmental conditions on carnivorous soil beetles (Coleoptera: Carabidae, Staphylinidae). *Fauna and ecology of soil invertebrates of Moscow oblast*. Moscow: Nauka; 1983. p. 120-130.] In Russian
26. Soldatova T.A., Soboleva-Dokuchaeva I.I., Cherezova L.B. Prostranstvenno-vremennaya struktura kompleksa khishchnykh pochvennykh zhestkokrylykh odnogo agrotsenoza (na primere poseva kukuruzy). Fauna i ekologiya pochvennykh bespozvonochnykh Moskovskoy oblasti. M.: Nauka, 1983. PP. 130-137. [Soboleva-Dokuchaeva I.I., Soldatova T.A., Cherezova L.B. Spatial-temporal structure of carnivorous soil beetles community of the corn field. Fauna and ecology of soil invertebrates of Moscow oblast. Moscow: Nauka; 1983. p. 130-137.] In Russian
 27. Bogach Ya., Pospishil Ya. Zhuzhelitsy (Carabidae) i stafilinidy (Staphylinidae) pshenichnogo i kukuruznogo poleya vo vzaimosvyazi s okruzhayushchimi biotopami. Ekologiya. 1984. No 3. PP. 22-34. [Bogach Ya., Pospishil Ya. Ground-beetles (Carabidae) and rove-beetles (Staphylinidae) of wheat and corn fields in connection with surrounding ecosystems. *Ekologiya*. 1984;3:22-34.] In Russian
 28. Dushenkov V.M., Kozodoy E.M. O raspredelenii stafilinid (Coleoptera, Staphylinidae) po polyam s razlichnymi tipami kul'tur na yuge Moskovskoy oblasti. Nauchnyy doklad vysshey shkoly. Biol. nauki. 1988. No 9. PP. 32-34. [Dushenkov V.M., Kozodoy E.M. Distribution of rove-beetles (Coleoptera, Staphylinidae) on different agricultural ecosystems on the south part of Moscow oblast. Scientific reports of high school. *Biological Science*. 1988;9:32-34.] In Russian
 29. Guseva O.G., Koval' A.G. Prostranstvennoe raspredelenie zhuzhelits i stafilinid v agrotsenozakh. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya*. 2011. No 1. PP. 118-123. [Guseva O.G., Koval' A.G. Regional distribution of carabidae and staphylinidae in agroecosystems. *Agricultural Biology*. 2011;1:118-123.] In Russian
 30. Lomakin V.I., Minoranskiy V.A. Vliyanie orosheniya na vidovoy sostav i chislennost' stafilinid. Problemy pochvennoy zoologii: Materialy V Vsesoyuznogo soveshchaniya. Vil'nyus. 1975. PP. 212-213. [Lomakin V.I., Minoranskiy V.A. Influence of irrigation on the biodiversity and abundance of Staphylinidae. *Problems of Soil Zoology: Proceedings of V All-Union Conference*. Vilnius: 1975. p. 212-213.] In Russian
 31. Babenko A. Zonal peculiarities of the Staphylinid-fauna formation in agroecosystems. *XX International Symposium Entomofaunistik in Mitteleuropa*. Kurz. Vort. Kiev, 1988. p. 16.
 32. Nuzhnykh S.A., Babenko A.S. Massovye vidy stafilinid (Coleoptera, Staphylinidae) krestotsvetnykh kul'tur na yuge Zapadnoy Sibiri. «Raznoobrazie i funktsionirovanie pochvennykh soobshchestv». Yoshkar-Ola. 1-5 oktyabrya 2002. M., 2002. PP. 132-133. [Nuzhnykh S.A., Babenko A.S. The common species of rove-beetles (Coleoptera, Staphylinidae) of cruciferous plant on the south part of West Siberia. Proceedings of XIII All-Union Conference on soil zoology "Diversity and functioning of soil communities". Yoshkar-Ola. 1-5 October 2002. Moscow: 2002. p. 132-133.] In Russian
 33. Guseva O.G., Koval' A.G. Otsenka roli napochvennykh khishchnykh zhestkokrylykh (Coleoptera: Carabidae, Staphylinidae) v regulatsii plotnosti populyatsiy vreditely v agrotsenozakh. Entomologicheskoe obozrenie. 2013. Vol. 92, vyp. 2. PP. 241-250. [Guseva O.G., Koval' A.G. Estimation of the role of the epigeal predatory beetles (Coleoptera: Carabidae, Staphylinidae) in regulation of population density in agroecosystems. *Entomological Review*. 2013;92(2):241-250.] In Russian
 34. Babenko A.S., Nuzhnykh S.A. Fauna i sezonnaya dinamika aktivnosti khishchnykh gerpetobiontov yagodnykh nasazhdeniy eksperimental'nogo uchastka Sibirskogo botanicheskogo sada g. Tomsk. Soobshchenie 1. Fauna i sezonnaya dinamika aktivnosti zhuzhelits (Coleoptera: Carabidae). Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya. 2012. No 3(19). PP. 81-91. [Babenko A.S., Nuzhnykh S.A. Fauna and seasonal dynamics of activity of ground beetles on the berries plantations of Siberian Botanical Garden (Tomsk) experimental. Plot 1. Fauna and seasonal dynamics of activity of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). *Tomsk State University Journal of Biology*. 2012;3(19):81-91.] In Russian, English summary

35. Gilyarov M.S. Uchet krupnykh bespozvonochnykh (mezofauna). Kolichestvennye metody v pochvennoy zoologii. M.: Nauka, 1987. PP. 9-26. [Gilarov MS. Measurement of large soil invertebrates (mezo-fauna). *Quantitative methods in soil zoology*. Moscow: Nauka; 1987. p. 9-26.] In Russian
36. Babenko A.S. Biologiya Astilbus canaliculatus F. (Coleoptera, Staphylinidae) na yuge Zapadnoy Sibiri. Zoologicheskii zhurnal. 1985. Vol. 64, vyp. 7. PP. 993-996. [Babenko AS. Biology of *Astilbus canaliculatus* F. (Coleoptera, Staphylinidae) on the south part of West Siberia. *Zoological Journal*. 1985;64(7):993-996.] In Russian
37. Babenko A.S., Nuzhnykh S.A., Kroshko Yu.V. Fauna zhestkokrylykh-gerpetobiontov v ovoshchnykh agrotsenozakh taezhnoy zony Zapadnoy Sibiri. Problemy ekologicheskoy bezopasnosti i prirodopol'zovaniya v Zapadnoy Sibiri. Trudy Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya biologicheskaya. Tomsk, 2004. Vol. 266. PP. 10-13. [Babenko AS, Nuzhnykh SA, Kroshko YuV. Fauna of epigeous beetles of vegetable agricultural ecosystems of taiga zone of West Siberia. In: The problems of ecological safety and environmental management in West Siberia. *Proceedings of Tomsk State University. Biology*. Tomsk. 2004;266:10-13.] In Russian
38. Babenko A.S. Stafilinidy (Coleoptera, Staphylinidae) – gerpetobionty lesnykh i lesostepnykh ekosistem yuga Sibiri. Trudy Russkogo entomologicheskogo obshchestva. SPb., 2007. Vol. 78 (I). PP. 7-18. [Babenko AS. Epigeous rove-beetles (Coleoptera, Staphylinidae) of forest and forest-steppe ecosystems of West Siberia. *Proceedings of Russian Entomological Society*. Saint-Petersburg. 2007;78(I):7-18.] In Russian
39. Babenko A.S. Stafilinidy – entomofagi v sadovykh nasazhdeniyakh yuga Zapadnoy Sibiri. Tezisy dokladov XIII s'ezd R.E.O. «Dostizheniya entomologii na sluzhbe agropromyshlennogo kompleksa, lesnogo khozyaystva i meditsiny». Krasnodar. 9-15 sentyabrya 2007. Krasnodar. 2007. PP. 17-18. [Babenko AS. Entomophagous rove-beetles of gardens on the south part of West Siberia. Abstract of XIII RES conference: "Entomological service for agriculture, forestry and medicine". 9-15 September. 2007. Krasnodar. 2007. p. 17-18.] In Russian

УДК 595.44

doi: 10.17223/19988591/25/8

Л.А. Триликаускас

Институт систематики и экологии животных СО РАН, г. Новосибирск, Россия

О населении пауков (Arachnida: Aranei) зарослей багульника болотного (*Ledum palustre* L.) в лиственничниках бореально-лесного пояса Буреинского заповедника

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (грант № 13-05-00677).

*Представлены результаты многолетних исследований населения пауков в зарослях багульника болотного (*Ledum palustre* L.), который является важнейшим эдификатором кустарничкового яруса лиственничных лесов Буреинского заповедника. Выявлено 54 вида пауков из 12 семейств. На багульнике обитают пауки преимущественно мелких и средних размеров, а также молодь крупных видов. Число видов бродячих и тенетных пауков примерно одинаково. Наиболее разнообразны пауки-крабы (13 видов). Население пауков зарослей багульника в разных частях заповедника и различных условиях сходно по составу и структуре; доминирующий комплекс включает, как правило, 13 видов. По таксономическому разнообразию и плотности оно значительно превосходит население пауков травяно-кустарничкового яруса пойменных и подгольцовых лесов заповедника. Это обусловлено тем, что багульник является вечнозеленым растением, образует густые заросли, устойчив к пожарам. Его плотные и опушенные снизу листья используются многими видами для размещения кладок и в качестве укрытий для самих пауков.*

Ключевые слова: багульник; кустарничковый ярус; население; плотность; тенетники; бродячие пауки; доминанты.

Введение

Значение растительного покрова и его отдельных элементов в качестве главных факторов, определяющих среду жизни пауков, трудно переоценить, однако специальных исследований по этой проблематике выполнено совершенно недостаточно. Отчасти это связано с тем, что любое растительное сообщество оказывает многоплановое влияние на условия жизни представителей различных групп. Это требует разработки специальных подходов для исследований, что представляет собой очевидные сложности. Сама по себе среда, создаваемая растениями, очень динамична во времени, а факторы, ее составляющие, не всегда четко поддаются определению и количественной оценке. Пауки, кроме того, являются очень неоднородной по своим экологическим требованиям группой организмов, что еще более усложняет исследовательскую работу.

Большинство растительных сообществ образовано несколькими, нередко многими видами, значение которых в жизни пауков будет различным в зависимости от их количественного участия в сложении фитоценоза, а также от морфологических и фенологических особенностей конкретного вида растений. Роль отдельных видов растений в жизни пауков рассматривается в крайне ограниченном числе публикаций [1–3]. Очевидно, что наиболее значимым будет влияние видов-эдификаторов. Одним из таких видов является багульник болотный (*Ledum palustre* L.), который в районе проводимых нами исследований является важнейшим компонентом травяно-кустарничкового яруса лиственничных лесов – главной лесной формации Буреинского заповедника. Этот представитель вересковых (Ericaceae) играет значительную роль в напочвенном покрове широко представленных здесь лиственничников бруснично-багульниково-зеленомошных, кедровостланиковых зеленомошных, кедровостланиковых багульниково-зеленомошных, багульниково-сфагновых и ряде других классов растительности бореально-лесного пояса. Благодаря ряду особенностей, о которых подробно будет сказано ниже, багульник, произрастая на склонах разной крутизны и экспозиции, а также на надпойменных террасах, формирует для пауков среду обитания, обладающую набором привлекательных свойств. В результате именно население пауков в зарослях багульника оказывается сходным по многим ключевым параметрам. Первые данные о пауках, в том числе населяющих травяно-кустарничковый ярус лиственничников верховий Буреи, были опубликованы в 2005 г. [4]. Работа содержит сведения о пауках, населяющих различные ярусы лиственничных лесов в районе слияниялевой и Правой Буреи и на прилегающей к Буреинском заповеднику территории ниже по течению реки Бурей. Вопросы, касающиеся структуры, состава яруса и особенностей зарослей багульника как среды обитания пауков, в этой работе не рассматривались. Позднее была опубликована статья, где дана характеристика населения пауков в травяно-кустарничковом ярусе одного из типов лиственничников, произрастающих в южной части Буреинского заповедника; в ней рассмотрены также некоторые аспекты влияния количественных параметров яруса на состав и структуру населения пауков и, фрагментарно, взаимосвязи между багульником и отдельными видами, обитающими на его побегах [5].

Цель проведенного исследования – охарактеризовать состав и экологические особенности населения пауков зарослей багульника болотного в лиственничных лесах и сравнить с населением пауков травяно-кустарничкового яруса других лесных формаций Буреинского заповедника, а также выделить особенности экологии, морфологии и сезонного развития багульника, определяющие специфику его зарослей как среды обитания пауков.

Материалы и методики исследования

С 2005 по 2009 г. население пауков на побегах багульника в лиственничных лесах изучалось в разных частях бассейнов Правой илевой Буреи – от

истоков этих рек до района их слияния, что позволило максимально широко охватить территорию одного из самых крупных заповедников Приамурья. Места сборов отличались такими параметрами, как положение в рельефе, возраст, состав и структура различных ярусов, положение в сукцессионных рядах. Сбор и учет пауков проводились с использованием энтомологического сачка, а также при визуальном осмотре побегов багульника. В процессе исследований фиксировались стадии жизненного цикла пауков, собираемых на побегах багульника, и фенологические фазы растения.

В работе приведен аннотированный список из 54 видов пауков, собранных на побегах багульника. Дана характеристика экологических особенностей каждого вида, его размеров и количественной роли в населении пауков зарослей багульника. В некоторых случаях дана информация об использовании представителями вида отдельных органов растений на разных стадиях жизненного цикла.

К доминантам отнесены виды, обилие которых составляет не менее 5% от всего населения, к супердоминантам – составляющие количественно более 30%.

Результаты исследования и обсуждение

Аннотированный список выявленных видов:

Araneidae

Aculepeira packardii (Thorell, 1875) – паук-кругопряд крупных размеров. На багульнике в массе встречаются ювенильные экземпляры. Взрослые особи редки, так как плотность зарослей слишком велика для размещения их ловчих сетей большого диаметра.

Araneus wachingtoni Levi, 1971 – паук-кругопряд средних размеров. На багульнике редок. Отмечены экземпляры разного возраста.

Araneus yukon Levi, 1971 – крупный паук-кругопряд. На багульнике редок. Отмечены взрослые самцы и самки на крупных высоких побегах растения.

Araniella displicata (Hentz, 1847) – средних размеров паук-кругопряд. Обычный, местами многочисленный вид. Устраивает кладки на нижней поверхности листьев багульника.

Hypsosinga albobittata (Westring, 1851) – мелкий вид пауков-кругопрядов. Доминант в кустарничком ярусе, образованном багульником. На его побегах в массе встречаются как ювенильные, так и взрослые особи. Самки устраивают кладки на нижней поверхности листьев. На одном растении может размещаться до 5–8 ловчих сетей этого вида [5].

Hypsosinga pygmaea (Sundevall, 1831) – мелкий вид пауков-кругопрядов. На багульнике редок.

Hypsosinga sunginea (C.L. Koch, 1844) – мелкий вид пауков-кругопрядов. На багульнике обычен. Самки устраивают кладки на нижней поверхности листьев.

Cheiracanthiidae

Cheiracanthium erraticum (Walckenaer, 1802) – средних размеров бродячий паук. На багульнике редок. Отмечены особи разного возраста.

Clubionidae

Clubiona kulczynskii Lessert, 1905 – средних размеров бродячий паук-мешкопряд. На багульнике редок, местами обычен.

Clubiona propinqua L. Koch, 1879 – средних размеров бродячий паук-мешкопряд. На багульнике редок.

Dictynidae

Dictyna alaskae Chamberlin et Ivie, 1947 – мелкий вид крибеллятных тенетных пауков. На багульнике редок.

Dictyna arundinacea (Linnaeus, 1758) – мелкий вид крибеллятных тенетных пауков. Доминант в кустарничковом ярусе, образованном багульником. В течение сезона в массе отмечаются особи разного возраста.

Dictyna major (Menge, 1869) – мелкий вид крибеллятных тенетных пауков. На багульнике редок.

Dictyna pusilla (Thorell, 1856) – мелкий вид крибеллятных тенетных пауков. На багульнике редок.

Emblyna zherikhini (Marusik, 1988) – мелкий вид крибеллятных тенетных пауков. На багульнике редок.

Linyphiidae

Ceraticelus orientalis Eskov, 1987 – мелкий вид тенетников. На багульнике редок, местами обычен.

Estrandia grandaeva (Keyserling, 1886) – средних размеров тенетник. Доминант в кустарничковом ярусе, образованном багульником.

Gonatium pacificum Eskov, 1989 – мелкий вид тенетников. На багульнике обычен.

Hypomma bituberculatum (Wider, 1834) – мелкий вид тенетников. На багульнике редок.

Hypselistes jacksoni (O. Pickard-Cambridge, 1902) – мелкий вид тенетников. На багульнике редок, местами обычен.

Incestophantes laricetorum (Tanasevitch et Eskov, 1987) – мелкий вид тенетников. Доминант в кустарничковом ярусе, образованном багульником.

Nematogmus sanguinolentus (Walckenaer, 1841) – мелкий вид тенетников. На багульнике редок.

Neriere radiata (Walckenaer, 1841) – средних размеров тенетник. На багульнике обычен.

Tenuiphantes ateripes (Tanasevitch, 1988) – мелкий вид тенетников. На багульнике редок.

Oxyopidae

Oxyopes licenti Schenkel, 1953 – средних размеров бродячий паук. Один из доминантов кустарничкового яруса из багульника.

Oxyopes ramosus (Martini et Goeze, 1778) – средних размеров бродячий паук. На багульнике редок.

Pisauridae

Pisaura ancora Paik, 1969 – крупный бродячий паук. На багульнике редок, местами обычен. Самки используют апикальные побеги для подвешивания кокона перед выходом молоди. Взрослые самцы не отмечались.

Philodromidae

Philodromus cespitum (Walckenaer, 1802) – средних размеров бродячий паук-бокоход. На багульнике редок. Отмечены только ювенильные особи.

Philodromus mysticus Dondale et Redner, 1975 – средних размеров бродячий паук-бокоход. На багульнике редок и представлен преимущественно ювенильными экземплярами.

Thanatus arcticus Thorell, 1872 – средних размеров бродячий паук-бокоход. Один из доминантов кустарничкового яруса, образованного багульником. Самки охотятся на соцветиях.

Thanatus coloradensis (Keyserling, 1880) – средних размеров бродячий паук-бокоход. На багульнике редок.

Tibellus maritimus (Menge, 1875) – средних размеров бродячий паук-бокоход. На багульнике редок. Вид отмечен только в районе устья р. Чапхоз (нижнее течение Лево́й Бу́рей).

Tibellus oblongus (Walckenaer, 1802) – средних размеров бродячий паук-бокоход. Один из доминантов кустарничкового яруса из багульника. Самки охотятся на соцветиях.

Salticidae

Dendryphantus rudis (Sundevall, 1833) – средних размеров бродячий паук. На багульнике редок.

Evarcha arcuata (Clerck, 1758) – средних размеров бродячий паук. Один из доминантов кустарничкового яруса, образованного багульником. Самки устраивают гнезда среди сухих листьев этого растения.

Evarcha laetabunda (C.L. Koch, 1846) – средних размеров бродячий паук. На багульнике обычен, в отдельные годы может быть доминантом.

Evarcha proczynskii (Marusik et Logunov, 1998) – средних размеров бродячий паук. Один из доминантов кустарничкового яруса, образованного багульником. Самки устраивают гнезда среди листьев этого растения.

Heliophanus camtschadicus (Kulczyński, 1885) – мелких размеров бродячий паук. На багульнике редок.

Sitticus finschi (Banks, 1895) – средних размеров бродячий паук. На багульнике редок.

Tetragnathidae

Tetragnatha extensa (Linnaeus, 1756) – средних размеров паук-кругопряд. На багульнике редок.

Tetragnatha pinicola (L. Koch, 1870) – мелких размеров паук-кругопряд. Один из доминантов кустарничкового яруса, образованного багульником.

Theridiidae

Chrysso nordica (Chamberlin et Ivie, 1947) – мелких размеров тенетный паук. На багульнике редок.

Neottiura bimaculata (Linnaeus, 1767) – мелких размеров тенетный паук. На багульнике обычен, местами доминирует.

Ohlertidion ohlerti (Thorell, 1870) – мелких размеров тенетный паук. Один из доминантов кустарничкового яруса, образованного багульником.

Phylloneta impressa (L. Koch, 1881) – мелких размеров тенетный паук. На багульнике обычен.

Platnickina sterninotata (Bösenberg et Strand, 1906) – мелких размеров тенетный паук. На багульнике редок.

Theridion pictum (Walckenaer, 1802) – мелких размеров тенетный паук. На багульнике редок.

Thomisidae

Misumena vatia (Clerck, 1758) – средних (самки) и мелких (самцы) размеров бродячий паук-бокоход. На багульнике редок, местами обычен.

Ozyptila sincera (Kulczyński, 1926) – мелких размеров бродячий паук-бокоход. На багульнике редок.

Tmarus piger (Walckenaer, 1802) – мелких размеров бродячий паук-бокоход. На багульнике редок.

Xysticus britcheri Gertsch, 1934 – мелких размеров бродячий паук-бокоход. Один из доминантов кустарничкового яруса, образованного багульником.

Xysticus emertoni (Keyserling, 1880) – крупных размеров бродячий паук-бокоход. На багульнике редок.

Xysticus sibiricus (Kulczyński, 1908) – мелких размеров бродячий паук-бокоход. На багульнике редок.

Xysticus vachoni (Schenkel, 1963) – средних размеров бродячий паук-бокоход. Один из доминантов кустарничкового яруса, образованного багульником.

В ходе проведенных исследований в различных частях заповедника в кустарничковом ярусе на побегах багульника было обнаружено 54 вида пауков, относящихся к 12 семействам. Это свидетельствует об очень высоком

уровне таксономического разнообразия. Установлено, что население пауков, обитающих в багульнике, сопоставимо по числу таксонов с населением всех ярусов тополельников (58 видов) и долинных ельников (56 видов) Буреинского заповедника. Тенетные и бродячие пауки представлены примерно в равных соотношениях (29 и 25 видов соответственно). Подавляющее большинство встречающихся на багульнике пауков относятся к размерной группе мелких или средних видов. В населении пауков побегов багульника представлен практически весь спектр экологических групп пауков, встречающихся в районе исследований. Наиболее разнообразны пауки-крабы (13 видов), пауки-кругопряды (9 видов) и пауки-балдахинники (9 видов). Высокими значениями характеризуется и плотность пауков. В одном из хорошо исследованных лиственничников она составила в среднем около 36 экз./м². Аналогичный показатель для тополельника был на уровне около 5 экз./м² [5]. Общее число видов, населяющих травяно-кустарничковый ярус в пойменных лесах различного типа, составляет 15–19 таксонов. В кустарничковом ярусе подгольцовых ельников, который формирует рододендрон золотистый (*Rhododendron aureum* Georgi), таксономическое разнообразие пауков составляет около двух десятков видов. И хотя рододендрон золотистый также является представителем семейства вересковых, число общих видов (неопубликованные данные автора) невелико. Отметим лишь, что доминирующий в багульнике тенетник *Estrandia grandaeva* в зарослях рододендрона становится супердоминантом, а редкий вид мешкопрядов *Clubiona kulczynskii* входит в доминирующий комплекс.

Несмотря на горный характер местности, в которой проводились исследования, существенных различий в составе и структуре населения пауков в различных частях заповедника выявлено не было. В доминирующий комплекс, как правило, входят 13 видов, что составляет около 20% от их общего числа. Супердоминантов не выявлено. Все это говорит о том, что население кустарничкового яруса отличается не только таксономическим, но и экологическим разнообразием. При этом характеризуется однородностью состава и структуры на разных участках.

Очевидно, что заросли, образованные багульником, являются привлекательной средой для многочисленного и разнообразного аранеонаселения пауков. Багульник болотный – это вечнозеленый кустарничек (реже кустарник) с густо опушенными побегами и нижней поверхностью листьев. В Буреинском заповеднике это растение является важнейшим эдификатором кустарничкового яруса преобладающих здесь лиственничников. Багульник образует плотные, густые заросли, формирующие особый микроклимат и сравнительно однородную по своим свойствам среду – как на речных террасах, так и на склонах разной высоты и экспозиции. Произрастает он, как правило, на заболоченных из-за вечной мерзлоты участках.

Травяно-кустарничковый ярус тополевых, еловых и других лесов, формируемый в районе исследований злаками, осоками и папоротниками, ежегодно отмирает. В лиственничниках же, благодаря прежде всего багульнику,

он существует круглый год. Его проективное покрытие лишь незначительно снижается в осенний период благодаря опадению некоторой части листьев багульника и отмиранию надземной части осок. Таким образом, среда, образованная багульником, отличается значительной стабильностью при смене сезонов. Кроме того, багульник является обильно цветущим, опыляемым насекомыми видом с растянутым периодом цветения (фактически с июня по август). Его крупные соцветия привлекают массу насекомых-опылителей, а следовательно и пауков-крабов, для которых эти насекомые являются основной добычей. Покрытая густыми рыжими волосками нижняя поверхность листьев багульника активно используется пауками для размещения кладок, по-видимому, неплохо их маскируя. Плотные листья на жестких черешках защищают отложенные яйца от непогоды и служат надежным укрытием для самих пауков на разных стадиях жизненного цикла.

Еще одной важной чертой багульника, определяющей его широкое распространение, доминирующую роль и устойчивость, является способность благополучно переживать воздействие огня. «Во время пожара вся надземная часть обгорает, а основные скелетные оси полностью или частично остаются живыми. От них отрастают многочисленные системы побегов формирования. Уже спустя 5 лет после пожара образуются чистые густые заросли багульника» [6]. Устойчивость к частым в этом регионе пожарам делает средой обитания, образованную багульником, одной из самых стабильных и быстро восстанавливаемых, что становится дополнительным благоприятным фактором для формирования богатого и разнообразного населения пауков.

Заключение

Заросли багульника отличаются очень высоким уровнем таксономического разнообразия населения пауков и значительно превосходят по этому показателю население травяно-кустарничкового яруса других растительных сообществ Буреинского заповедника. Среди 54 видов, отмеченных на побегах этого растения, преобладают пауки средних и мелких размеров, представляющие широкий спектр экологических групп. Наиболее разнообразны пауки-крабы. В целом тенетные и бродячие пауки представлены примерно в равных соотношениях. Население пауков зарослей багульника однородно по составу и не имеет значительных структурных отличий в разных частях заповедника. По плотности оно значительно превосходит население пауков травяно-кустарничкового яруса пойменных лесов и подгольцовых ельников Буреинского заповедника. Доминирующий комплекс включает 13 видов.

Высокое таксономическое и экологическое разнообразие населения пауков обусловлено целым рядом экологических и морфологических особенностей самого багульника. Наиболее важными из них являются круглогодичность существования яруса без значительных колебаний проективного покрытия, его высокая плотность и устойчивость к воздействию огня.

Литература

1. Gunnarsson B. Spruce-living spiders and forest decline: the importance of needle-loss // Biological Conservation. 1988. Vol. 43. P. 309–319.
2. Gunnarsson B. Vegetation structure and the abundance and size distribution of spruce-living spiders // Journal of Animal Ecology. 1990. Vol. 59. P. 743–752.
3. Koponen S. Spiders (Araneae) on trunks and large branches of oak (*Quercus robur*) in SW Finland // Revue Suisse de Zoologie. 1996. Vol. 3. P. 335–340.
4. Триликаускас Л.А. Пауки лиственных лесов Буреинского заповедника и сопредельных территорий: аннотированный список видов // Исследование и конструирование ландшафтов Дальнего Востока и Сибири : сборник научных работ. Владивосток : Дальнаука, 2005. Вып. 6. С. 207–217.
5. Триликаускас Л.А. Влияние вертикальной структуры растительного покрова на распределение пауков в лесных экосистемах // Труды государственного природного заповедника «Буреинский». 2008. Вып. 4. С. 44–56.
6. Мазуренко М.Т. Вересковые кустарнички Дальнего Востока (структура и морфогенез). М. : Наука, 1984. 184 с.

Поступила в редакцию 04.12.2013 г.

Триликаускас Лаймонас Альбертович – канд. биол. наук, м.н.с. лаборатории систематики беспозвоночных животных Института систематики и экологии животных СО РАН (г. Новосибирск, Россия). E-mail: laimont@mail.ru

Tomsk State University Journal of Biology. 2014. № 1 (25). P. 111–120

doi: 10.17223/19988591/25/8

Laimonas A. Trilikauskas

Laboratory of Systematics of Invertebrates, Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation. E-mail: laimont@mail.ru

On the spider population (Arachnida: Aranei) of the brushwood of marsh labrador tea (*Ledum palustre* L.) in larch taiga forest of the boreal-forest zone of the Bureinski Reserve (Russia)

Long term studies of the spider population of the brushwood of Marsh Labrador tea, the most important edificator of dwarf shrub layer in the larch taiga forest predominating in the Bureinski Reserve, have been conducted. During the course of research, 54 spider species belonging to 12 families occurring on shoots of the Marsh Labrador were recorded. This number demonstrates a rather high level of taxonomic diversity comparable to those of the entire spider population of poplar forests (58 species) or valley spruce forests (56 species) of the Bureinski Reserve. The majority of spiders occurring on the Marsh Labrador tea belong to small- or medium-sized species. Web-building and wandering spider groups are equally represented (29 and 25 species correspondingly), yet almost the entire spectrum of ecological groups is represented. The crab-spiders (Thomisidae, Philodromidae) were most diverse (13 species). Spider densities were rather high, for instance, reaching 36 specimens per m² in one of the best studied larch taiga forests. A similar index for a poplar forest was about 5 specimens per m² [5]. No differences have been found between the spider assemblages of the brush-

wood of Marsh Labrador tea in different parts of the Bureinski Reserve; the dominating complex usually consisted of 13 species (viz., 20% of the entire quantity).

The Marsh Labrador tea seems to be attractive to spiders because it is an evergreen dwarf shrub forming dense brushwood with a particular microclimate and comparatively homogeneous physical environment regardless of the place of growing, such as river terrace or slopes of variable exposure and altitude. Due to permafrost the Marsh Labrador tea usually grows in marshy plots. The dwarf shrub layer formed by the Marsh Labrador tea exists all year round. Its projective cover degree only insignificantly decreased during autumn periods due to partial leaf fall and dying off superterrene parts of sedges. Therefore, the environment formed by the Marsh Labrador tea is notable for its stability during season changes. The Marsh Labrador tea is also a richly blooming plant pollinated by insects, with an extended period of flowering (from June to August). Its large inflorescences attract lots of insect-pollinators, many of which serve the main prey for crab-spiders. The leaf underside of the Marsh Labrador tea is covered with reddish hairs and is actively used by spiders for attaching their egg sacs. Rigid leaves give a good protection for egg sacs against bad weather and serve a reliable retreat for spiders at different stages of their life cycle.

Another important characteristic of the Marsh Labrador tea, which is responsible for its wide distribution and dominating role, is an ability to successfully survive fires that are common in the area at hand. This makes the environment formed by the Marsh Labrador tea one of the most stable and quickly recovering.

Key words: *Ledum*; bush layer; population; density; web spiders; wandering spiders; dominants.

Received December 4, 2013

References

1. Gunnarsson B. Spruce-living spiders and forest decline: the importance of needle-loss. *Biological Conservation*. 1988;43:309-319.
2. Gunnarsson B. Vegetation structure and the abundance and size distribution of spruce-living spiders. *J of Animal Ecology*. 1990;59:743-752.
3. Koponen S. Spiders (Araneae) on trunks and large branches of oak (*Quercus robur*) in SW Finland. *Revue Suisse de Zoologie*. 1996;3:335-340.
4. Trilikauskas L.A. Pauki listvennichnykh lesov Bureinskogo zapovednika i sopredel'nykh territoriy: annotirovannyi spisok vidov. Issledovanie i konstruirovaniye landshaftov Dal'nego Vostoka i Sibiri : sbornik nauchnykh rabot. Vladivostok : Dal'nauka, 2005 (6). PP. 207-217. [Trilikauskas L.A. Larch wood spiders of the Bureinsky nature reserve and adjacent territories: annotated check-list of types. In: *Investigation and construction of landscapes of the Russian Far East and Siberia*. Vladivostok: Dalnauka; 2005;6:207-217.] In Russian
5. Trilikauskas L.A. Vliyanie vertikal'noy struktury rastitel'nogo pokrova na raspredeleniye paukov v lesnykh ekosistemakh. Trudy gosudarstvennogo prirodnogo zapovednika «Bureinskiy». 2008 (4). PP. 44-56. [Trilikauskas L.A. Effects of vegetation cover vertical structure on spider distribution in forest ecosystems. *Proceedings of the National Nature Reserve "Bureinsky"*. 2008;4:44-56.] In Russian
6. Mazurenko M.T. Vereskovyie kustarnichki Dal'nego Vostoka (struktura i morfogenez). M.: Nauka, 1984. 184 pp. [Mazurenko M.T. Heather shrubs of the Russian Far East (structure and morphogenesis). Moscow: Nauka; 1984. 184 p.] In Russian

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

УДК 575

doi: 10.17223/19988591/25/9

Г.Н. Артемов, С.М. Бондаренко, В.Н. Стегний

Томский государственный университет, г. Томск, Россия

Взаиморасположение точек прикрепления XL и 3R хромосом на ядерной оболочке в клетках соматической и генеративной систем малярийного комара *Anopheles messeae* Fall.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации МК-4158.2012.4, Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение 14.В37.21.1116 «Поиск и характеристика последовательностей ДНК, взаимодействующих с ядерной ламинарой в районе прикрепления хромосомы 2 трофоцитов малярийного комара *Anopheles beklemishevi*») и РФФИ (грант 12-04-31201 мол-а).

В пространстве клеточных ядер малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. определяли положение точек прикрепления XL и 3R хромосом к ядерной оболочке. Локализацию районов проводили с помощью методики 3D FISH микродиссектированных проб районов 32d и 2b-c с интактными ядрами трофоцитов, клеток слюнных желез, фолликулярного эпителия и имагинальных дисков. Оценку расстояний между точками прикрепления хромосом к ядерной оболочке проводили, определяя угол между воображаемыми векторами, проведенными из центра ядра к соответствующим точкам прикрепления хромосом. Было показано, что взаиморасположение точек прикрепления хромосом тканеспецифично. Наибольшие различия наблюдали при сравнении трофоцитов с клетками соматической системы. В клетках слюнных желез, фолликулярного эпителия и имагинальных дисков точки прикрепления хромосом к ядерной оболочке со статистически значимой большей частотой располагались более близко друг относительно друга, чем в трофоцитах. Тканеспецифичные особенности расположения контактов хромосом с ядерной оболочкой свидетельствуют о связи внутриядерной архитектуры с процессами клеточной дифференцировки.

Ключевые слова: пространственная организация ядра; районы прикрепления хромосом к ядерной оболочке; точки контактов хромосом с ядерной оболочкой; малярийные комары; *Anopheles*.

Введение

Многочисленные исследования подтверждают, что каждая хромосома в пространстве ядра занимает определенное пространство, называемое хромосомной территорией [1–4]. В последнее десятилетие пространственная

организация хромосом утвердилась в качестве важного фактора регуляции генов и стабильности генетического аппарата в целом [5, 6]. Неслучайная позиция хромосом в ядре обеспечивается прикреплением хромосом к каркасной структуре, роль которой выполняет ядерная ламина [7]. Было показано, что в геноме существуют домены, ассоциированные с ламинном, которые могут быть как консервативными для всех тканей организма, так и тканеспецифичными [8]. Это предполагает участие районов прикрепления хромосом в направлении клеточной дифференцировки. Образование контактов в тех или иных участках хромосом может вызывать активацию или репрессию определенных паттернов генов, специфичных для каждой клеточной линии. Мы предположили, что в этом процессе может быть значимым не только наличие или отсутствие контактов хромосом с оболочкой в тех или иных районах, но и положение этих контактов хромосом друг относительно друга на ядерной оболочке. Для проверки гипотезы было необходимо оценить взаиморасположение точек контактов хромосом в пространстве ядра в клетках разных типов. Известно, что у малярийных комаров в трофоцитах политенные хромосомы образуют мощные контакты с ядерной оболочкой, которые можно наблюдать на полудавленных ядрах [9]. Важно, что система этих контактов в трофоцитах является видоспецифичной. В настоящем исследовании нами была проведена оценка взаимного расположения районов прикрепления XL и 3R хромосом на ядерной оболочке у малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. В ходе сравнительного анализа мы ожидали выявления различий, которые свидетельствовали бы о значении колокализации точек прикрепления хромосом клеток разных тканей в процессах функционирования, дифференцировки и развития клеток определенного типа. Для эксперимента были отобраны клетки, которые различаются уровнем плоидности (полиплоидные и диплоидные клетки), типом политения (классические политенные и со скрытой политенией), направлением дифференцировки (клетки зародышевого пути и соматические клетки), потенциями к дальнейшему развитию (терминально дифференцированные и стволовые). Нами были использованы следующие клеточные системы: 1) трофоциты яичников (терминально дифференцированные клетки зародышевого пути с политенными хромосомами классического типа); 2) клетки слюнных желез личинок (терминально дифференцированные клетки соматической системы с классическими политенными хромосомами); 3) клетки фолликулярного эпителия (терминально дифференцированные клетки соматической системы со скрытой политенией); клетки имагинальных дисков (плюрипотентные клетки соматической системы с диплоидным набором хромосом).

Материалы и методики исследования

Для обнаружения в интактном клеточном ядре интересующих районов нами была использована методика флуоресцентной *in situ* гибридизации

ДНК с интактными клеточными ядрами (3D FISH). Эта методика позволяет определить пространственное расположение любой ДНК в ядре. ДНК-пробы районов прикрепления хромосом XL и 3R *An. messeae* были получены нами ранее в результате микродиссекции районов 32d и 2b-с [10]. Для того чтобы иметь возможность одновременно в одном ядре наблюдать два хромосомных района, с помощью ПЦР в ДНК-пробу района 2b-с XL хромосомы включали модифицированный нуклеотид TAMRA-5'-дУТФ, а в 32d района 3R хромосомы – биотин-11-дУТФ с помощью ПЦР с частично вырожденным праймером MW6 [11].

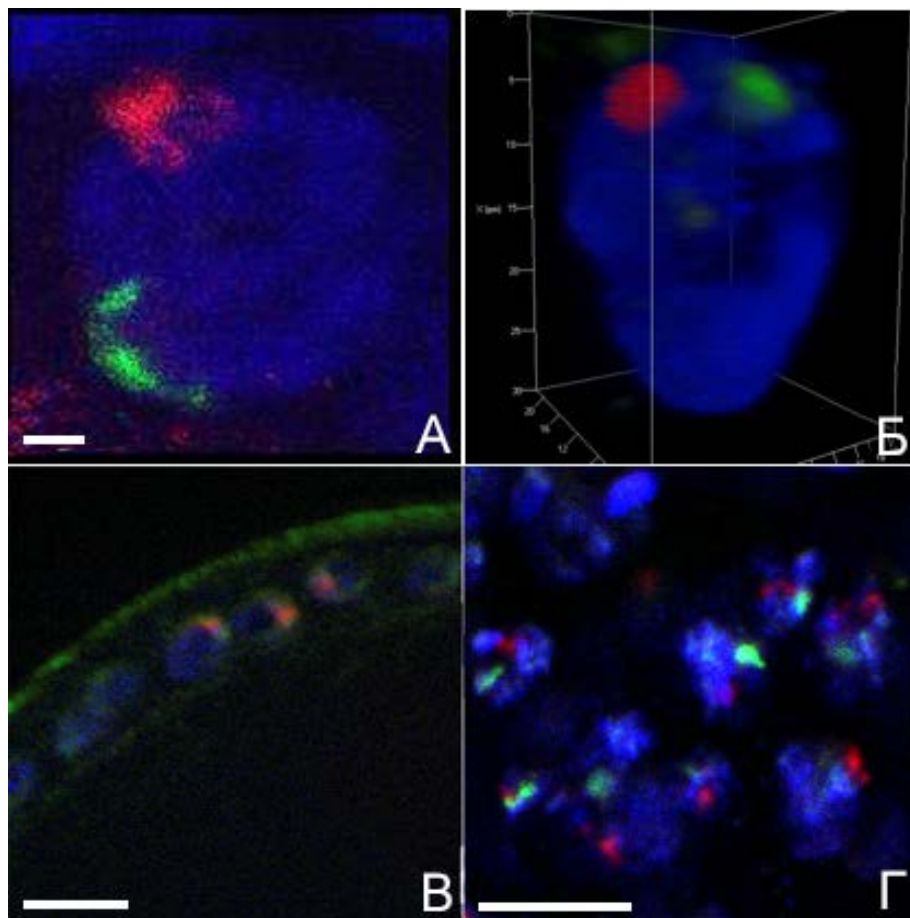
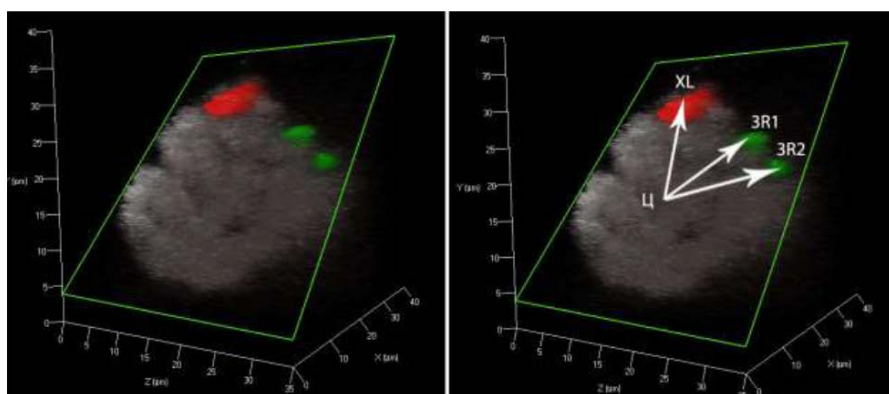


Рис. 1. Результат 3D FISH ДНК районов прикрепления XL (красный сигнал) и 3R (зеленый сигнал) с ядрами трофоцитов (А), клеток слюнных желез (Б), клеток фолликулярного эпителия (В) и клеток имажинальных дисков (Г): на рис. Б представлена трехмерная реконструкция ядра, хроматин окрашен DAPI, масштабная линейка 5 мкм

Анализ взаиморасположения районов прикрепления хромосом проводился в трофоцитах яичников имаго, клетках слюнных желез личинок, клетках фолликулярного эпителия имаго и клетках имагинальных дисков личинок малярийного комара *An. messeae*. Для этого в растворе Карнуа (96% этанол и ледяная уксусная кислота в объемных соотношениях 3:1) фиксировали яичники самок III стадии развития по Селла (для экспериментов с трофоцитами и клетками фолликулярного эпителия) и личинок IV возраста (для экспериментов с клетками слюнных желез и имагинальных дисков).

При проведении флуоресцентной *in situ* гибридизации на интактных ядрах (3D FISH) тканей малярийного комара руководствовались протоколом, описанным подробно в литературе [11]. Таким образом, нами были получены препараты ядер трофоцитов яичников, клеток слюнных желез, клеток фолликулярного эпителия и клеток имагинальных дисков, в каждом из которых положение ДНК районов прикрепления хромосом XL и 3R определялось соответствующим флуоресцентным сигналом (рис. 1).



а

$$\alpha = \arccos \frac{(X_{x1} * X_{3r} + Y_{3r} + Z_{x1} * Z_{3r})}{((X_{x1}^2 + Y_{x1}^2 + Z_{x1}^2) * (X_{3r}^2 + Y_{3r}^2 + Z_{3r}^2))^{1/2}}$$

б

Рис. 2. Схематическое изображение положения векторов в пространстве ядер трофоцитов малярийного комара (а) и формула для расчета угла, образованного этими векторами с известными координатами (б).

Стрелки – векторы, проведенные из центра ядра (Ц) в районы прикрепления хромосом (XL, 3R1 и 3R2), в формуле X, Y, Z – координаты векторов, проведенных к точкам прикрепления XL и 3R хромосом, обозначенных соответствующими индексами.

Координатами точки прикрепления 3R хромосомы к ядерной оболочке принимали средние значения по координатам каждого гомолога (точки 3R1 и 3R2)

Приготовленные препараты интактных ядер микроскопировали с помощью микроскопа Axio Imager Z1 («Carl Zeiss», Германия), а клетки имаги-

нальных дисков – с помощью конфокального микроскопа LSM 780 («Carl Zeiss», Германия). Анализ, получение и обработку фотографий, а также создание 3D-моделей ядер проводили с помощью программы AxioVision 4.7 «Carl Zeiss» (Германия). После получения серии фотографий оптических срезов ядра в режиме «CutView» программы AxioVision 4.7 были определены пространственные координаты следующих точек (рис. 2): 1) периферическая область сигнала, соответствующая району прикрепления XL хромосомы; 2) периферическая область сигнала, соответствующая району прикрепления 3R хромосомы (или двух сигналов для каждого гомолога); 3) центр ядра (определялся по сигналу DAPI в трех проекциях).

Довольно часто в районе прикрепления 3R хромосомы к ядерной оболочке трофоцитов мы наблюдали два сигнала из-за расхождения гомологов в этом районе. Поэтому координатами точки прикрепления этой хромосомы к ядерной оболочке принимали средние значения по координатам каждого гомолога.

Для оценки расстояния между точками контактов районов прикрепления хромосом XL и 3R к ядерной оболочке мы вычисляли угол, который образовывали воображаемые векторы (вXL и в3R), проведенные из центра ядра к периферическим областям сигналов соответствующих районов хромосом, по формуле, приведенной на рис. 2. Такой критерий оценки, на наш взгляд, является наиболее подходящим, так как он не зависит от размеров ядер и позволяет анализировать ядра со сложной формой.

Таким образом, нами был получен массив данных по значениям углов между такими векторами для клеток каждой ткани. Значения углов в градусах являлись мерой удаленности двух точек на ядерной оболочке. Так, для значения угла 0° точки прикрепления хромосом совпадают, а для значения 180° находятся на противоположных полюсах ядра. Количество проанализированных ядер составляло: для трофоцитов яичников – 320 (5 особей), для клеток слюнных желез – 100 (10 особей), для клеток фолликулярного эпителия – 75 (5 особей), для клеток имагинальных дисков – 80 (12 особей). Значения углов были разбиты на три класса со значениями угла $0-60^\circ$, $60-120^\circ$ и $120-180^\circ$. Нами не было обнаружено ни одного угла со значениями 60° и 120° , что не затруднило группировку данных. Статистическая обработка полученных данных и построение графиков выполнены в программе StatSoft STATISTICA 6.0.

Результаты исследования и обсуждение

В результате проведенной нами флуоресцентной *in situ* гибридизации было показано, что ДНК пробы, соответствующие районам прикрепления хромосом к ядерной оболочке трофоцитов, локализовались на периферии клеточных ядер во всех исследуемых органах комара. Это является косвенным свидетельством того, что изучаемые нами районы XL и 3R хромосомы выполняют функцию прикрепления к ядерной оболочке в каждой ткани ор-

ганизма и являются консервативными. Величина угла, образованного векторами vXL и v3R, которая в нашем эксперименте являлась критерием удаленности точек прикрепления хромосом на ядерной оболочке, варьировала в пределах от 6,6 до 174,6° в трофоцитах, от 28,3° до 159,5° в клетках слюнных желез, от 1,3 до 171,7° в фолликулярном эпителии и от 5,2° до 167° в имагинальных дисках. Диапазон варьирования углов в клетках слюнных желез несколько ниже, чем в других клетках – 131,2°, тогда как в трофоцитах этот диапазон 168°, в клетках фолликулярного эпителии – 170,4° и в клетках имагинальных дисков – 161,8°. Известно, что в клетках слюнных желез малярийных комаров хромосомы объединены друг с другом прицентромерными районами и образуют хромоцентр [12]. Очевидно, что образование хромоцентра влияет на взаимное расположение 3R и XL хромосом, которые связаны в прицентромерных районах, и препятствует как сближению, так и удалению точек контактов хромосом с ядерной оболочкой друг относительно друга. Следствием этого является меньший диапазон значений углов по сравнению с трофоцитами, хромосомы которых хромоцентр не образуют, а также с клетками фолликулярного эпителии и имагинальных дисков, для которых нет данных по наличию хромоцентра.

Анализ частот распределения значения углов для векторов vXL и v3R представлен на рис. 3.

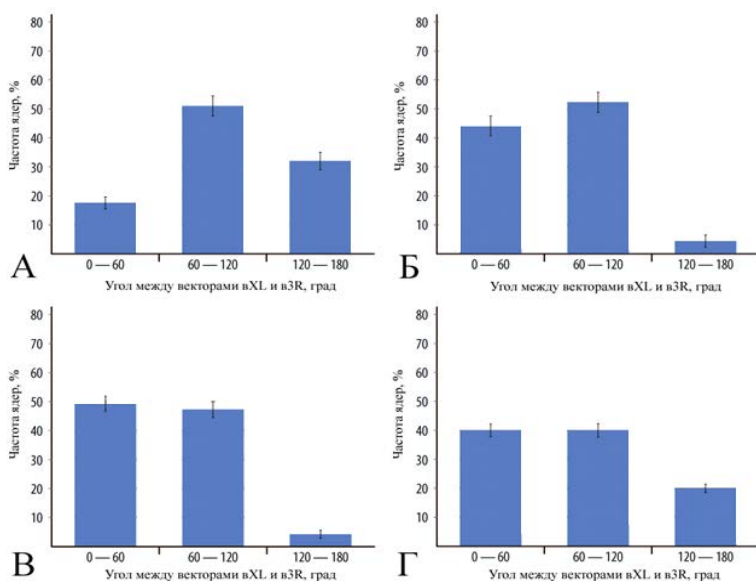


Рис. 3. Распределение частот ядер трофоцитов (А), клеток слюнных желез (Б), клеток фолликулярного эпителии (В) и клеток имагинальных дисков (Г) с различным взаиморасположением районов прикрепления XL и 3R хромосом: различия во взаиморасположении районов прикрепления хромосом к ядерной оболочке характеризуются углом между векторами vXL и v3R (см. объяснение в тексте)

Распределения частот на диаграммах показывают, что клетки всех анализируемых тканей имеют особенности во взаиморасположении точек прикрепления хромосом на ядерной оболочке, что подтверждает сравнение выборок с помощью критерия Манна–Уитни.

В клетках разных тканей мы наблюдали как общие особенности, так и яркие различия. В трофоцитах яичников и клетках слюнных желез, т.е. в клетках с классическими политенными хромосомами, с частотой около 50% преобладают ядра со значением углов между векторами $60\text{--}120^\circ$, однако крайние значения углов соответствующие сближенному ($0\text{--}60^\circ$) и удаленному ($120\text{--}180^\circ$) расположению, встречались с разной частотой в этих тканях. Так, в трофоцитах преобладали ядра с удаленным взаиморасположением точек прикрепления хромосом (31,82%), тогда как в слюнных железах такие ядра были представлены с частотой 4,3%. Следует отметить примечательную закономерность, связанную с отличием трофоцитов – клеток зародышевого пути – от клеток соматической системы. Только в трофоцитах мы наблюдали высокую частоту ядер с удаленным расположением точек прикрепления хромосом и относительно низкую частоту ядер со сближенным расположением таких точек. Клетки соматической системы – слюнных желез, фолликулярного эпителия и имагинальных дисков – в общем проявляли сходство в преобладании ядер со сближенным и промежуточным ($60\text{--}120^\circ$) распределением точек прикрепления хромосом друг относительно друга. Пожалуй, наиболее схожим является распределение клеток слюнных желез и фолликулярного эпителия, так как в обеих клеточных системах частота ядер с удаленным взаиморасположением точек прикрепления хромосом составляла около 5%. Эти клетки являются специализированными дифференцированными клетками с политенными хромосомами. Очевидно, что тип политении (у клеток фолликулярного эпителия скрытая политения, а у клеток слюнных желез классические политенные хромосомы) не влияет на пространственную структуру взаимных отношений XL и 3R хромосом у *An. messeae*. Следует отметить, что в недифференцированных активно делящихся клетках имагинальных дисков мы наблюдали более высокую частоту ядер с удаленным расположением точек крепления хромосом к ядерной оболочке. Клетки имагинальных дисков несколько отличаются от остальных клеток соматической системы, так как частота ядер с удаленным расположением точек прикрепления у них выше и составляет около 20%. В этом отношении клетки имагинальных дисков более сходны с трофоцитами, чем с клетками слюнных желез и фолликулярного эпителия.

Заключение

Полученные нами данные показали, что система пространственной организации точек крепления хромосом на ядерной оболочке имеет тканеспецифичные особенности. Взаиморасположение этих точек, по-видимому,

несет вероятностный характер, так как во всех клеточных системах нами был определен целый спектр значений удаленности районов прикрепления XL и 3R хромосом. Несмотря на это, статистический анализ частот распределения ядер со сближенным, промежуточным и удаленным расположением точек контактов показал, что разные типы взаимоположения хромосом встречаются с определенной частотой в разных типах тканей. Интерпретация результатов обнаруженных межтканевых различий в настоящее время затруднена. Данные по более низкому диапазону вариаций расстояний между точками крепления XL и 3R хромосом в клетках слюнных желез по сравнению с остальными клетками можно объяснить присутствием в этих клетках хромоцентра. Возможно, что хромоцентр является основной причиной преобладания ядер со сближенным и промежуточным взаиморасположением точек прикрепления хромосом в клетках соматической системы, так как известно, что в ядрах трофоцитов у малярийных комаров его нет. Информация о существовании хромоцентра в клетках имагинальных дисков и фолликулярного эпителия могла бы прояснить эту ситуацию.

Основное заключение, которое можно сделать из данной работы, состоит в том, что наиболее существенные отличия в пространственном взаиморасположении районов прикрепления XL и 3R хромосом наблюдались нами в клетках зародышевого пути – трофоцитах. Таким образом, мы подтвердили особое значение архитектуры хромосом в генеративной системе малярийного комара. Большой интерес вызывает отличие пространственной организации хромосом клеток имагинальных дисков от других клеток соматической системы, что наводит на мысль о присутствии в ядрах этих клеток необычной системы прикрепления хромосом к ядерной оболочке. Пока остается неясным, связаны ли наблюдаемые нами особенности данных клеток с их активным делением или со способностью к дальнейшей дифференцировке.

Следует принять во внимание, что настоящее исследование проведено только на двух хромосомах, с локализацией наиболее выраженных контактов с ядерной оболочкой. При исследовании взаиморасположения других точек крепления или точек крепления других хромосом результаты могут быть отличными от полученных в этой работе. Дальнейшие исследования будут направлены на выяснение причин межтканевых различий в ядерной архитектуре хромосом у малярийных комаров.

Литература

1. Zorn C., Cremer C., Cremer T., Zimmer J. Unscheduled DNA synthesis after partial UV irradiation of the cell nucleus // *Exp. Cell Res.* 1979. Vol. 124. P. 111–119.
2. Croft J.A., Bridger J.M., Boyle S., Perry P., Teague P., Bickmore W.A. Differences in the localization and morphology of chromosomes in the human nucleus // *J. Cell Biol.* 1999. Vol. 145 P. 1119–1131.
3. Bolzer A., Kreth G., Solovei I. et al. Three-dimensional maps of all chromosomes in human male fibroblast nuclei and prometaphase rosettes // *PLoS Biol.* 2005. № 3. P. e157.

4. Anan'ina T.V., Vedernikov A.E., Vasserlauf I.E. et al. Visualization of chromosome territories in interphase nuclei of ovarian nurse cells in *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera: Calliphoridae) // *Genetika*. 2005. Vol. 41, № 10. P. 1350–1357.
5. Goetze S., Mateos-Langerak J., Gierman H.J. et al. The three-dimensional structure of human interphase chromosomes is related to the transcriptome map // *Mol. Cell. Biol.* 2007. Vol. 27, № 12. P. 4475–4487.
6. Rajapakse I., Groudine M. On emerging nuclear order // *The journal of cell biology*. 2011. № 192. P. 711–721.
7. van Steensel B., Dekker J. Genomics tools for unraveling chromosome architecture // *Nat. Biotechnol.* 2010. Vol. 28. P. 1089–1095.
8. Meuleman W., Peric-Hupkes D., Kind J. et al. Constitutive nuclear lamina-genome interactions are highly conserved and associated with A/T-rich sequence // *Genome research*. 2012. Vol. 23. P. 270–280.
9. Стегний В.Н. Реорганизация структуры интерфазных ядер в онто- и филогенезе малярийных комаров // Доклады АН СССР. 1979. Т. 249, № 5. С. 1231.
10. Артемов Г.Н., Стегний В.Н. Молекулярно-генетический анализ районов прикрепления хромосом к оболочке ядра трофобластов яичников малярийных комаров *Anopheles maculipennis* // Вестник Томского государственного университета. 2010. Т. 13, № 2. С. 123–131.
11. Kokhanenko A.A., Anan'ina T.V., Stegnyy V.N. The changes in chromosome 6 spatial organization during chromatin polytenization in the *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera: Calliphoridae) nurse cells // *Protoplasma*. 2013. Vol. 250, № 1. P. 141–149.
12. Стегний В.Н. Системная реорганизация архитектоники политенных хромосом в онто- и филогенезе малярийных комаров. Сообщение I. Различия структуры ядер соматических и генеративной тканей // *Генетика*. 1987. Т. 23, № 5. С. 821–827.

Поступила в редакцию 15.11.2013 г.

Авторский коллектив:

Артемов Глеб Николаевич – канд. биол. наук, н.с. лаборатории эволюционной цитогенетики Научно-исследовательского института биологии и биофизики Томского государственного университета; доцент кафедры цитологии и генетики Биологического института Томского государственного университета; с.н.с. Молодежного центра Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: g-artemov@mail.ru

Бондаренко Семен Александрович – студент кафедры цитологии и генетики Биологического института Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: glebsapunov@yandex.ru

Стегний Владимир Николаевич – д-р биол. наук, профессор, зав. лабораторией эволюционной цитогенетики Научно-исследовательского института биологии и биофизики Томского государственного университета; зав. кафедрой цитологии и генетики Биологического института Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: gene@res.tsu.ru

Gleb N. Artemov¹, Semen M. Bondarenko², Vladimir N. Stegni³

¹Laboratory of Evolutionary Cytogenetics, Department of Cytology and Genetics, Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation. E-mail: g-artemov@mail.ru

²Department of Cytology and Genetics, Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

³Laboratory of Evolutionary Cytogenetics, Department of Cytology and Genetics, Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

The interposition of attachment points of XL and 3R chromosomes on the nuclear envelope in the cells of somatic and generative systems of malarial mosquito *Anopheles messeae* Fall.

The study was supported by the Grant of the President of the Russian Federation MK-4158.2012.4, the Ministry of education and science of Russia, the project 14.B37.21.1116 and the Grant of the Russian Foundation for Basic Research 12-04-31201.

The nonrandom position of chromosomes in the nucleus is provided by the attachment of chromosomes to the frame structure, the role of which can be performed by the nuclear lamina. There are two classes of lamina-associated domains in the genome: conservative for all tissues and tissue-specific. Contact formation in various chromosome regions can induce activation or repression of defined gene patterns, specific for each cell line. In this work, we proposed that this process may not only determine the presence or absence of contact of chromosomes with the envelope in certain areas, but also the position of the contacts of chromosomes, relative to each other, on the nuclear envelope. We defined remoteness of points of XL and 3R contacts to the nuclear envelope from each other in the internuclear space of the cells of *Anopheles messeae* Fall. The localization of regions was performed by 3D FISH of microdissected DNA-probes of 32d and 2b-c regions with intact nuclei of nurse cells, salivary glands cells, follicular epithelium cells and imaginal discs cells. These cells differed from each other by the level of ploidy (polyploidy and diploid cells), by the type of polyteny (classic polytene chromosomes cells and cells with cryptic polyteny), by the way of differentiation (germ line cells and somatic cells) and by the potential for further development (terminally differentiated and stem cells). The estimation of the distance between points of chromosomes contacts to the nuclear envelope was performed by determining the angle between two imaginary vectors, drawn from the center of the nucleus to the corresponding points of contact.

We showed that the interposition of points of contacts for XL and 3R chromosomes is tissue-specific. The main conclusion, made on the basis of the results of this work, lies in the fact that the most significant differences in the spatial interpositions of XL and 3R chromosomes attachment areas are observed in germ-line cells – nurse cells. Thus, we confirmed the special importance of interposition of attachment points of the chromosomes in the cells of the generative system of malarial mosquitoes. Of great interest is the difference of spatial organization of chromosomes of imaginal disc cells from other cells of the somatic system, which indicates the presence of an unusual system of chromosome attachment to the nuclear envelope, perhaps similar to the nurse cells, in the nuclei of these cells. It remains unclear, whether the observed features of these cells are connected with their active division or the ability to further

differentiation. Further research will be aimed at clarifying the causes of interstitial differences in the nuclear architecture of chromosomes.

Key words: spatial organization of the nucleus; regions of chromosomes attachment to the nuclear envelope; the contact points of the chromosomes with the nuclear envelope; malaria mosquitoes; *Anopheles*.

Received November 15, 2013

References

1. Zorn C, Cremer C, Cremer T, Zimmer J. Unscheduled DNA synthesis after partial UV irradiation of the cell nucleus. *Exp Cell Res*. 1979;124:111-119.
2. Croft JA, Bridger JM, Boyle S, Perry P, Teague P, Bickmore WA. Differences in the localization and morphology of chromosomes in the human nucleus. *J. Cell Biol*. 1999;145:1119-1131.
3. Bolzer A, Kreth G, Solovei I et al. Three-dimensional maps of all chromosomes in human male fibroblast nuclei and prometaphase rosettes. *PLoS Biol*. 2005;3:e157.
4. Anan'ina T.V., Vedernikov A.E., Vasserlauf I.E. et al. Visualization of chromosome territories in interphase nuclei of ovarian nurse cells in *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera: Calliphoridae). *Russian Journal of Genetics*. 2005;41(10):1106-1112.
5. Goetze S, Mateos-Langerak J, Gierman HJ et al. The three-dimensional structure of human interphase chromosomes is related to the transcriptome map. *Mol Cell Biol*. 2007;27(12):4475-4487.
6. Rajapakse I, Groudine M. On emerging nuclear order. *J Cell Biol*. 2011;192:711-721.
7. van Steensel B, Dekker J. Genomics tools for unraveling chromosome architecture. *Nat Biotechnol*. 2010;28:1089-1095.
8. Meuleman W, Peric-Hupkes D, Kind J et al. Constitutive nuclear lamina-genome interactions are highly conserved and associated with A/T-rich sequence. *Genome research*. 2012;23:270-280.
9. Stegny V.N. Reorganizatsiya struktury interfaznykh yader v onto- i filogeneze malyariynykh komarov. Doklady AN SSSR. 1979. Vol. 249, No 5. PP. 1231. [Stegny V.N. Reorganization of interphase nucleus structure in onto- and phylogeny of anopheles. *The Proceedings of the USSR Academy of Sciences*. 1979;249(5):1231.] In Russian
10. Artemov G.N., Stegny V.N. Molekulyarno-geneticheskiy analiz rayonov prikrepleniya khromosom k obolochke yadra trofotsitov yaichnikov malyariynykh komarov Anopheles kompleksa maculipennis. Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. 2010. No 2(13). PP. 123-131. [Artemov GN, Stegny VN. Molecular-genetic analysis of regions of chromosome attachment to nurse cells nuclear envelope of *Anopheles* from *maculipennis* complex. *Tomsk State University Journal of Biology*. 2010;2(13):123-131.] In Russian, English summary
11. Kokhanenko AA., Anan'ina TV, Stegny V.N. The changes in chromosome 6 spatial organization during chromatin polytenization in the *Calliphora erythrocephala* Mg. (Diptera: Calliphoridae) nurse cells. *Protoplasma*. 2013;250(1):141-149.
12. Stegny V.N. Sistemnaya reorganizatsiya arkhitektoniki politennykh khromosom v onto- i filogeneze malyariynykh komarov. Soobshchenie I. Razlichiya struktury yader somaticheskikh i generativnoy tkaney. Genetika. 1987. Vol. 23, No 5. PP. 821-827. [Stegny V.N. Systemic reorganization of polytene chromosomes architectonics in onto- and phylogeny of anopheles. Plot I. Differences in the nucleus structure of somatic and generative tissues. *Genetika*. 1987;23(5):821-827.] In Russian

УДК 575.16
doi: 10.17223/19988591/25/10

Е.С. Омелина¹, А.А. Коханенко²

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, Россия

² Томский государственный университет, г. Томск, Россия

Поиск новых генов-мишеней транскрипционного фактора GAGA в ходе оогенеза *Drosophila melanogaster*

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда
фундаментальных исследований (проект № 13-04-90783_мол_рф_нр).

Оогенез дрозофилы, включая формирование дорзальных выростов хориона, контролируется большим количеством генов и сигнальных путей; одним из таких путей является сигнальный путь *Decapentaplegic (Dpp)*. Недавно было обнаружено, что мутации гена *Trithorax-like (Trl)*, кодирующего транскрипционный фактор GAGA, также приводят к дефектам во время развития дорзальных выростов хориона. Несмотря на то что наиболее хорошо изученной функцией белка GAGA является регуляция экспрессии генов дрозофилы, до сих пор не было показано взаимодействие GAGA с компонентами сигнального пути *Dpp* в ходе оогенеза. В данной работе было продемонстрировано, что GAGA важен для нормальной экспрессии гена *saxophone (sax)*, кодирующего рецептор I типа *Dpp*-пути. Кроме того, было обнаружено генетическое взаимодействие *Trl* с генами *decapentaplegic (dpp)* и *thickveins (tkv)* во время развития яйцевых камер дрозофилы, в том числе во время формирования дорзальных выростов хориона. В регуляторных районах исследуемых генов также были обнаружены множественные сайты связывания GAGA-фактора, что, по-видимому, свидетельствует об участии GAGA в регуляции экспрессии этих генов в других тканях и органах либо на других стадиях развития дрозофилы.

Ключевые слова: *Trithorax-like*; сигнальный путь *Dpp*; оогенез; *Drosophila*; GAGA.

Введение

Оогенез дрозофилы представляет собой прекрасную модель для исследования различных процессов. Например, развитие дорзальных выростов хориона (ДВХ), респираторных филаментов, которые расположены на переднем конце яйца дрозофилы, происходящее на поздних стадиях развития оогенеза, является популярной моделью для изучения тубулогенеза. Тубулогенез (реорганизация эпителиальной ткани в трубчатые структуры) – это фундаментальный процесс развития таких органов, как сердце, почки, нервная трубка, кишечник и т.д. [1]. Формирование ДВХ контролируется многими сигнальными путями, включая *Epidermal growth factor receptor (EGFR)*, *Notch*, *Wingless* и *Decapentaplegic (Dpp)* пути [2–5]. Известно, что сигналь-

ный путь Dpp необходим для поддержания целостности яйцевой камеры дрозофилы, формирования передних структур яйцевой оболочки и переноса содержимого питающих клеток в ооцит. Снижение количества белка Dpp приводит к потере передних структур яйцевой оболочки [4]. Белок Dpp дрозофилы является гомологом белков BMPs, bone morphogenetic proteins, входящих в состав семейства трансформирующих факторов роста β (TGF- β). Члены семейства TGF- β контролируют большое количество клеточных процессов, включая пролиферацию клеток, взаимодействие, дифференцировку, апоптоз в ходе развития и в тканях имаго, у различных видов животных от мух до млекопитающих [6]. Белок Dpp действует через серин/треонин киназные рецепторы, известные как рецепторы I и II типов [7], различающиеся своими последовательностями и лиганд-связывающими характеристиками [8]. Рецепторы I типа кодируются генами *saxophone* (*sax*) и *thickveins* (*tkv*) [7, 9, 10], рецептор II типа – геном *punt* [11, 12]. Лиганд Dpp запускает передачу сигнала, связываясь с рецепторами I и II типов и тем самым сближая их на поверхности клетки [13]. Это позволяет рецептору II типа фосфорилировать киназный домен рецептора I типа, который затем передает сигнал через фосфорилирование белков Smad. Активные комплексы белков Smad накапливаются в ядре, где они регулируют транскрипцию генов-мишеней [7].

Несмотря на то что формирование ДВХ является хорошо изученным процессом, в настоящее время известны не все гены, участвующие в развитии ДВХ. Так, например, недавно было показано, что мутации гена *Trithorax-like* (*Trl*), кодирующего белок GAGA, также нарушают формирование передних дорзальных структур яйцевой оболочки дрозофилы [14]. ДВХ яиц, отложенных *Trl*-мутантами, укорочены и не имеют лопастей; размеры оперкулумов и яиц таких мутантов также могут быть уменьшены. Белок GAGA наиболее хорошо известен как транскрипционный фактор, т.е. регулятор экспрессии генов дрозофилы. Известно, что GAGA может регулировать экспрессию генов несколькими путями. Во-первых, GAGA принимает участие в ремоделировании структуры хроматина, вызывая формирование и поддержание открытой структуры хроматина, что, в свою очередь, усиливает связывание транскрипционных факторов и Pol II с регуляторными районами [15–23]. Известно, что GAGA также участвует в элонгации транскрипции путем кооперирования с гистоновым шапероном FACT, *facilitates chromatin transcription* [17, 24, 25]. Кроме того, было показано, что GAGA обеспечивает механизм контроля «паузирования» Pol II, удерживая белок Negative elongation factor (NELF), необходимый для «паузирования», на промоторе [26, 27]. Несмотря на то что сайты связывания GAGA обогащены на «паузированных» генах дрозофилы, только около 20% «паузированных» генов связываются с белком GAGA [26, 28–29]. Также было показано, что в случае гена *Krüppel* GAGA выступает скорее в роли антирепрессора, нежели активатора [30]. Вместе с ролью в активации / антирепрессии транскрипции генов GAGA также может участвовать в подавлении экспрессии генов [31–39].

Ранее в промоторном районе гена *dpp* был найден и экспериментально подтвержден один GAGA-сайт [40]. Наличие сайтов связывания определенного транскрипционного фактора в регуляторных районах гена с большой вероятностью свидетельствует о том, что регуляция экспрессии этого гена осуществляется данным транскрипционным фактором. Поэтому целью данной работы было исследование потенциальной связи между GAGA-фактором и сигнальным путем Dpp. Поскольку и GAGA, и компоненты Dpp-пути являются эволюционно консервативными [13, 41, 42] и участвуют в формировании многих органов и тканей [7, 43–47], результаты данной работы могут быть полезны для исследования взаимоотношений между GAGA и компонентами сигнального пути Dpp не только у дрозофилы, но и у позвоночных.

Для оценки взаимоотношений между белком GAGA и компонентами сигнального пути Dpp в ходе оогенеза дрозофилы мы использовали комбинированный подход, сочетающий: (1) идентификацию сайтов связывания GAGA в регуляторных районах генов с помощью компьютерного анализа; (2) исследование генетического взаимодействия *Trl* с ключевыми компонентами Dpp-пути; (3) анализ относительной экспрессии генов в яичниках мух дикого типа и *Trl*-мутантов.

Материалы и методики исследования

Линии Drosophila melanogaster.

Использованы следующие линии *D. melanogaster*: *Trl³⁶²* (*Trl³⁶²/TM3, Sb¹ Ser y⁺*) была любезно предоставлена А. Огиенко (Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия; [45]), *Trl^{R85}* (*Trl^{R85}/TM3, Sb¹ Ser y⁺*) была любезно предоставлена Ф. Карчем (Университет Женевы, Швейцария; [48]). Линии 3555 (*dpp^{d14}/CyO*), 12379 (*cn¹ P{PZ}dpp¹⁰⁶³⁸/CyO; ry⁵⁰⁶*), 2069 (*dpp^{hr92} cn¹ bw¹/SM6a*), 427 (*tkv¹*), 3242 (*tkv⁷ cn¹ bw¹ sp¹/CyO*), 8785 (*y¹ w^{*}; sax⁵/SM6a*) и 5404 (*y¹ w^{*}; P{FRT(w^{hs})}G13 sax⁴/SM6a*) были получены из Блумингтоновского центра линий дрозофилы (США). Линия Oregon R была взята из фонда лаборатории.

Распознавание потенциальных сайтов связывания GAGA-фактора.

Сайты связывания транскрипционного фактора GAGA распознавали с помощью программы SITECON (<http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/programs/sitecon/>; [49]), с использованием ранее разработанного компьютерного подхода [50].

Идентификация эволюционно консервативных сайтов связывания GAGA-фактора.

Последовательности регуляторных районов генов *dpp*, *tkv* и *sax* были проанализированы с помощью ресурса BLAT Search Genome (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgBlat>).

Приготовление препаратов яйцевых камер дрозофилы и микроскопия.

Яйцевые камеры из яичников дрозофилы фиксировали и окрашивали TRIC-конъюгированным фаллоидином («Sigma», США) в соответствии с протоколом [51]. Яичники раскладывали на стекла в растворе 50% глицерина, разведенного в 1×PBS (1,7 мМ KH_2PO_4 , 5,2 мМ Na_2HPO_4 , 150 мМ NaCl) и содержащего DAPI в концентрации 1 мкг/мл («Sigma», США). Микроскопический анализ проводили на микроскопе LSM 510 Meta; обработка изображений, полученных с помощью микроскопов LSM 510 Meta и LSM 780 NLO, проводилась с использованием специальной программы Zeiss LSM Image Browser Version 3.5 (все микроскопы – «Zeiss», Германия).

Характеристика фенотипов яйцевых оболочек и дорзальных выростов хориона.

Проанализировали 100 яиц, отложенных самками 2–7-дневного возраста, содержащихся при температуре 25°C. Яйца собирали и погружали в раствор среда Хойера: молочная кислота в отношении 1:1 [4]. Препараты инкубировали в течение ночи при температуре 65°C. Микроскопировали яйца в темном поле с использованием микроскопа AxioImager Z1 («Zeiss», Германия).

В норме средняя длина яйца, оперкулума и DBX составляет 652 ± 36 , 139 ± 21 и 675 ± 41 мкм соответственно.

ПЦР в реальном времени.

Для анализа экспрессии генов на фоне снижения количества белка GAGA брали яичники двухдневных самок мух Oregon R и трехдневных самок Trl^{B62}/Trl^{R85} . РНК выделяли из яичников с использованием реагента TRIzol («Invitrogen», США) согласно рекомендациям изготовителя. Обратную транскрипцию проводили в расчете на 5 мкг РНК с использованием RevertAid H Minus M-MuLV Reverse Transcriptase («Thermo Fisher Scientific», США) с олиго(dT) праймерами («Биоссет», Россия) в соответствии с рекомендациями изготовителя. Количество кДНК анализировали с помощью ПЦР в реальном времени с использованием SYBR Green I/ Rox («Синтол», Россия) и ABI PRISM® 7000 Sequence Detection System («Applied Biosystems», США). Равные количества мРНК и кДНК были использованы в анализе для определения относительной экспрессии генов *dpp*, *tkv* и *sax* в яичниках мух дикого типа и Trl^{B62}/Trl^{R85} -мутантов.

Ген β -Tubulin at 85D (β Tub85D), характеризующийся относительно низким уровнем экспрессии [52], использовали в качестве референсного гена при анализе экспрессии гена *dpp*. Ген Ribosomal protein L32 (*RpL32*) использовался как референсный в экспериментах по измерению относительной экспрессии генов *tkv* and *sax*.

Для анализа экспрессии генов были использованы следующие праймеры (прямые и обратные соответственно): *RpL32*: ATGA...ATAC, CTGC...

CCAG; *β -tub*: GTAC...GTCA, TCCA...TTGC; *tkv*: TCGC...TGGT, CAAG...TCGT; *sax*: TGCG...AAGT, GCAC...TCAC.

ABI PRISM® 7000 Sequence Detection System Software («Applied Biosystems», США) была использована для оценки C(t) и относительного количества мРНК генов *dpp*, *tkv* и *sax*.

Результаты исследования и обсуждение

Идентификация сайтов связывания транскрипционного фактора GAGA в регуляторных районах гена decapentaplegic.

Следует отметить, что ранее в проксимальном промоторном районе гена *dpp* (рис. 1) был обнаружен и экспериментально подтвержден один сайт связывания транскрипционного фактора GAGA [40]. Недавно было показано, что отличительной чертой потенциальных генов-мишеней GAGA-фактора может быть высокая плотность GAGA-сайтов в 5'-некодирующей области, включая 5'-некодирующие области экзонов и первые интроны [50]. Поэтому в данной работе был проведен поиск GAGA-сайтов не только в промоторной области (–4 000/ 0 п.н. относительно старта транскрипции), но также и в 5'-некодирующих частях экзонов и первом интроне гена *dpp*. Для распознавания сайтов связывания GAGA мы использовали ранее разработанный подход [50] с использованием программы SITECON [49]. Ранее было показано [50], что GAGA-сайты можно разделить на 4 структурных варианта: сайты типа GAGnGAG и GAGnnnGAG, а также их повторы; сайты, содержащие одиночный мотив GAGAG; (GA)₃₋₉-микросателлитные повторы. Для компьютерного распознавания были использованы выборки сайтов типа GAGnGAG и GAGnnnGAG [50]. Экспериментальные данные подтвердили связывание белка GAGA с 72% сайтов, предсказанных с использованием выборки сайтов типа GAGnGAG и 94,5% сайтов, предсказанных с использованием выборки сайтов типа GAGnnnGAG [50]. С помощью данного экспериментально подтвержденного подхода, мы обнаружили 18, 5 и 14 потенциальных GAGA-сайтов в промоторной области, 5'-некодирующих областях экзонов и первом интроне гена *dpp* соответственно (рис. 1).

Мы сравнивали данные, полученные с помощью SITECON, с результатами экспериментов по иммунопреципитации хроматина (ChIP-chip) из базы данных modENCODE (<http://modencode.oicr.on.ca/fgb2/gbrowse/fly/>). Для сравнения мы использовали данные ChIP-chip-экспериментов, проведенных на эмбриональной культуре клеток дрозофилы Kc167 и личиночной культуре клеток дрозофилы ML-DmBG3-c2. Как показано на рис. 1, расположение GAGA-сайтов, предсказанных с помощью SITECON, не полностью перекрывается с локализацией сайтов, найденных с использованием экспериментов ChIP-chip. По-видимому, это связано с тем, что с помощью SITECON распознаются все сайты, расположенные в последовательности ДНК. Следовательно, сайты, которые не определяются методом ChIP-chip, но в то же время

выявляются программой SITECON, являются функционально неактивными в определенном типе клеток и / или на определенной стадии развития. Экспрессия / регуляция экспрессии гена *dpp*, по-видимому, является тканеспецифичной, и в различных типах клеток или на разных стадиях развития дрозофилы функционально активными могут быть разные GAGA-сайты.

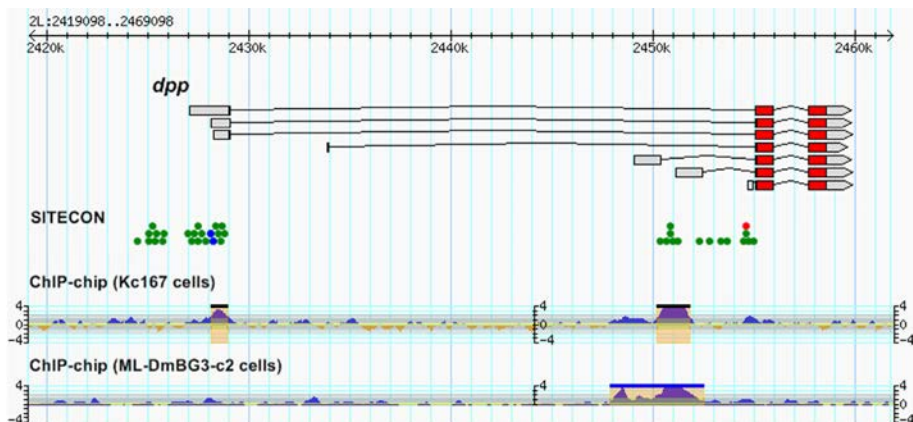


Рис. 1. Локализация GAGA-сайтов в регуляторных районах гена *dpp*. GAGA-сайты, предсказанные с помощью SITECON в регуляторных областях гена *dpp*, показаны зелеными точками. Красной точкой обозначен экспериментально доказанный GAGA-сайт [40]. Эволюционно консервативные сайты показаны в виде синих точек.

Распределение GAGA-сайтов, обнаруженных с использованием метода

ChIP-chip, показано в нижней части рисунка

(<http://modencode2.oicr.on.ca/cgi-bin/gb2/gbrowse/fly/>)

GAGA-сайты, предсказанные в регуляторных районах гена *dpp*, были проанализированы с целью поиска эволюционной консервативности, поскольку сохранение структуры сайта на протяжении эволюции дрозофилы указывало бы на вероятную значимость этих сайтов для функционирования гена *dpp*. В результате было обнаружено два эволюционно консервативных сайта (рис. 1). Для этого мы анализировали последовательности регуляторных районов и предсказанных сайтов у 10 видов *Drosophila*: *D. melanogaster*, *D. simulans*, *D. sechellia*, *D. yakuba*, *D. erecta*, *D. ananassae*, *D. pseudoobscura*, *D. virilis*, *D. mojavensis* и *D. grimshawi* с помощью ресурса BLAT Search Genome (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgBlat>). Сохранение последовательности сайтов во многих видах *Drosophila* указывает на функциональную значимость этих сайтов [53–56]. Поскольку эволюционное расстояние между *D. melanogaster* и *D. virilis* достаточно для оценки вероятной функциональности некодирующих последовательностей [57], справедливо предположить, что сайты, идентичные во всех выше перечисленных видах дрозофилы, являются эволюционно консервативными и, следовательно, с большой вероятностью – важными для регуляции экспрессии *dpp*.

Таким образом, в данной работе в регуляторных районах гена *dpp* были обнаружены множественные сайты связывания транскрипционного фактора GAGA (включая два эволюционно консервативных) в дополнение к ранее идентифицированному GAGA-сайту [40]. Кроме того, мы исследовали взаимоотношения между GAGA-фактором и геном *dpp* в ходе оогенеза дрозофилы, в том числе в процессе формирования ДВХ.

Генетическое взаимодействие Trithorax-like и decapentaplegic.

Для анализа генетического взаимодействия *Trl* и *dpp* мы исследовали ДВХ в яйцах, отложенных самками мух дикого типа и мутантами. ДВХ представляют собой длинные трубки, расположенные на переднем конце яйца, которые обеспечивают дыхание развивающегося эмбриона. В норме ДВХ состоят из двух частей – ножки и лопасти (рис. 2). Также на переднем конце яйца расположены оперкулум (хорионическая структура, обеспечивающая выход личинки из яйца) и микропиле (канал для проникновения спермы внутрь яйца). В соответствии с [4] мы измеряли 4 параметра передних дорзальных структур яйца: длину и морфологию ДВХ, размер оперкулума и длину яйца.

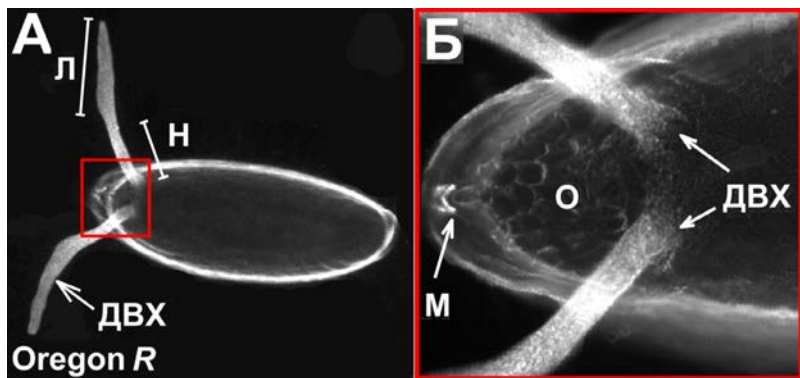


Рис. 2. Передние дорзальные структуры оболочки яйца, отложенного самкой *D. melanogaster* дикого типа (А); увеличенное изображение переднего дорзального района яйцевой оболочки (Б): ДВХ – дорзальные выросты хориона, О – оперкулум, М – микропиле, Н – ножка ДВХ, Л – лопасть ДВХ (фотографии Е.С. Омелиной)

Ранее было обнаружено, что ДВХ яиц, отложенных самками *Trl*-мутантов, могут быть короткими и / или аномальными по форме (например, могут не иметь развитых лопастей). Размер оперкулума и яиц таких мутантов также может быть уменьшен [14]. Для исследования генетического взаимодействия *Trl* и *dpp* мы использовали две мутации гена *Trl*: *Trl*^{R85} [48] и *Trl*³⁶² [45]. *Trl*^{R85} является нуль-аллелем (делеция протяженной части *Trl*-транскрипта); *Trl*³⁶² (гипоморфная мутация) обусловлена вставкой *P*-элемента в 5'-некодирующую область гена *Trl* и прилегающей делецией размером 97 п.н., уда-

ляющей два проксимальных сайта инициации, которые являются функционально активными в яичниках дрозофилы. В яйцевых камерах *Trl*-мутантов транскрипция гена *Trl* приблизительно в 10 раз ниже по сравнению с диким типом, что сопровождается значительным снижением количества белка GAGA в питающих клетках [45].

В случае гена *dpp* мы использовали мутации *dpp*^{d14}, *P{PZ}dpp*¹⁰⁶³⁸ и *dpp*^{hr92}. Гипоморфный аллель *dpp*^{d14} был получен с помощью облучения, что вызвало делецию фрагментов 2L хромосомы – 22F1–22F2 и 23A2 [58]. Мутация *dpp*¹⁰⁶³⁸ (леталь) обусловлена встройкой P{PZ}-транспозона в 5'-область гена *dpp* (BDGP Project Members, 1994–1999). Мутация *dpp*^{hr92} («loss of function», [59]) вызвана нуклеотидной заменой и, как следствие, заменой аминокислоты [60].

Для анализа изменения проявления фенотипа *dpp*-мутантов на фоне снижения количества белка GAGA мы использовали контроли – яйца, отложенные гетерозиготами *dpp*/+ или *Trl*/+. В яйцах таких мутантов мы не обнаружили значительных отличий от дикого типа. Анализ фенотипов ДВХ и яиц, отложенных мутантами *dpp*/+; *Trl*/+, показал, что яйца таких мух меньше по размеру по сравнению с нормой, а форма таких яиц также различна, например, с частотой 2% встречаются аномально толстые и короткие яйца (рис. 3, Б). Также были обнаружены яйца (2%), по форме напоминающие куриное яйцо – с широкой передней частью и суженной задней. ДВХ яиц, отложенных самками *dpp*/+; *Trl*/+, также были различными: 3,5–19% ДВХ были короткими (рис. 3, Б); некоторые ДВХ (6,5–12%) были тонкими и короткими либо неправильной формы (рис. 3, В). Кроме того, два яйца, отложенных мухами *dpp*¹⁰⁶³⁸/+; *Trl*^{R85}/+, имели 4 ДВХ. Таким образом, в данной работе было обнаружено усиление фенотипа *dpp*-мутантов на фоне снижения количества белка GAGA.

Известно, что нарушение длины и морфологии ДВХ может быть результатом дефектов во время морфогенеза ДВХ. Размеры оперкулума и яйца зависят от правильной миграции центрипетальных клеток, поскольку оперкулум формируется из фолликулярных клеток, включая центрипетальные. Кроме того, миграция центрипетальных клеток важна для нормального протекания фазы быстрого транспорта питательных веществ и цитоплазмы питающих клеток в ооцит. Нарушение этого процесса приводит к формированию яиц меньшего размера по сравнению с диким типом [4]. Можно предположить, что дефекты, наблюдаемые в структуре яйцевых оболочек мутантов *dpp*/+; *Trl*/+, могут быть результатом того, что экспрессия обоих генов, *Trl* и *dpp*, важна для правильной миграции центрипетальных клеток [4, 46].

Анализ относительной экспрессии гена decapentaplegic в яйцевых камерах мух дикого типа и Trithorax-like-мутантов.

С помощью ПЦР в реальном времени мы анализировали относительную экспрессию гена *dpp* в яичниках мух дикого типа и мутантов *Trl*^{β62}/*Trl*^{R85}. Ген *dpp* экспрессируется сначала в 20–30 фолликулярных клетках на переднем

конце яйцевой камеры на стадии 8 оогенеза [4]. На стадии 10А количество *dpp*-экспрессирующих клеток возрастает приблизительно до 50 фолликулярных клеток, расположенных на границе ооцит / питающие клетки. На стадии 10В *dpp* экспрессируется в лидирующей группе (около 20 клеток) центрипетальных клеток [4].

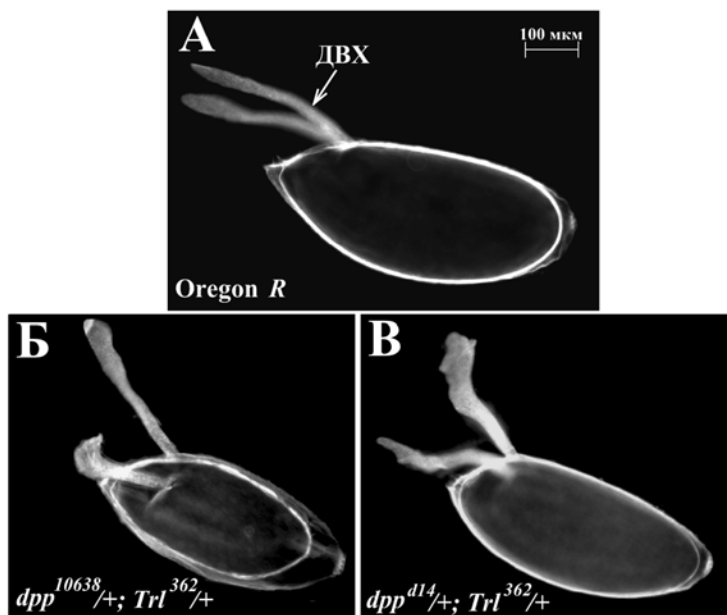


Рис. 3. Взаимодействие *Trl* и *dpp* в процессе формирования ДВХ. Яйца, отложенные самками: (А) Oregon R; (Б) *dpp*^{10638/+}; *Trl*^{362/+}; (В) *dpp*^{d14/+}; *Trl*^{362/+}. ДВХ – дорзальные выросты хориона. Масштаб: 100 мкм (фотографии Е.С. Омелиной)

В результате анализа относительной экспрессии *dpp* с помощью метода ПЦР в реальном времени было обнаружено, что в яичниках *Trl*-мутантов относительный уровень мРНК гена *dpp* меняется незначительно по сравнению с нормой (рис. 4).

Таким образом, в данной работе было показано, что несмотря на то, что GAGA не участвует в регуляции экспрессии гена *dpp* в ходе оогенеза дрозофилы, наблюдается генетическое взаимодействие *dpp* and *Trl* во время развития яйцевых камер, в том числе в процессе формирования ДВХ. Мы предлагаем две гипотезы для объяснения этого явления. Во-первых, можно предположить скооперированное действие GAGA-фактора и сигнального пути Dpp во время оогенеза дрозофилы. Под скооперированным действием мы понимаем такой процесс регуляции экспрессии, когда для нормальной транскрипции гена требуется одновременное действие двух белков или транскрипционных факторов. Однако на сегодняшний день остается неиз-

вестным ген, регулируемый как транскрипционным фактором GAGA, так и сигнальным путем Dpp. Поэтому мы предполагаем, что наличие генетического взаимодействия *dpp* и *Trl* также может объясняться тем, что GAGA участвует в регуляции экспрессии других компонентов пути Dpp. Для проверки этой гипотезы мы выбрали два гена, кодирующие рецепторы I типа Dpp-пути, – *sax* и *tkv*. Следует отметить, что *sax*- и *tkv*-мутанты характеризуются более сильными дефектами в структуре яичевой оболочки по сравнению с *dpp*-мутантами [4].

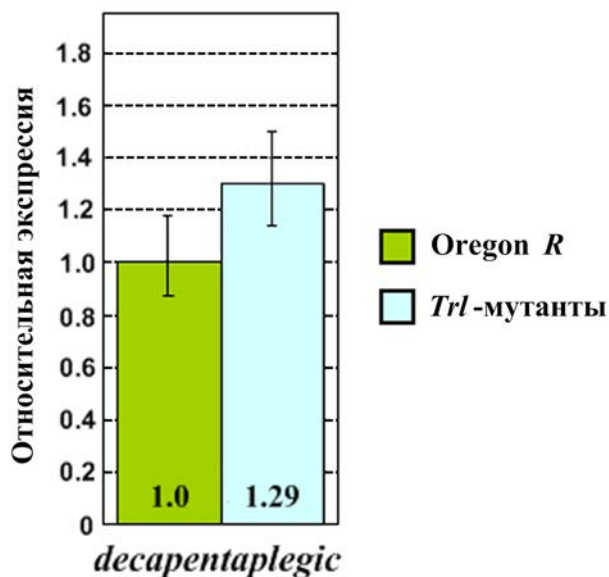


Рис. 4. Анализ относительной экспрессии *dpp* с помощью ПЦР в реальном времени в яичниках дикого типа и *Trl³⁶²/Trl^{IR85}*-мутантов. Относительный уровень мРНК гена *dpp* не меняется в результате снижения количества белка GAGA

Распознавание GAGA-сайтов в регуляторных районах генов thickveins и saxophone.

С использованием экспериментально подтвержденного подхода, как и в случае гена *dpp*, мы искали GAGA-сайты в регуляторных районах генов *tkv* и *sax*. В промоторном районе, 5'-некодирующей области экзонов и первом интроне гена *tkv* было найдено 16, 2 и 28 GAGA-сайтов соответственно (рис. 5, А). В промоторном районе гена *sax* было обнаружено 11 потенциальных сайтов (рис. 5, Б), тогда как в 5'-некодирующей области экзонов и первом интроне не было выявлено GAGA-сайтов. Следует отметить, что один GAGA-сайт, предсказанный в промоторном районе гена *sax*, был экспериментально подтвержден ранее [50] (рис. 5, Б).

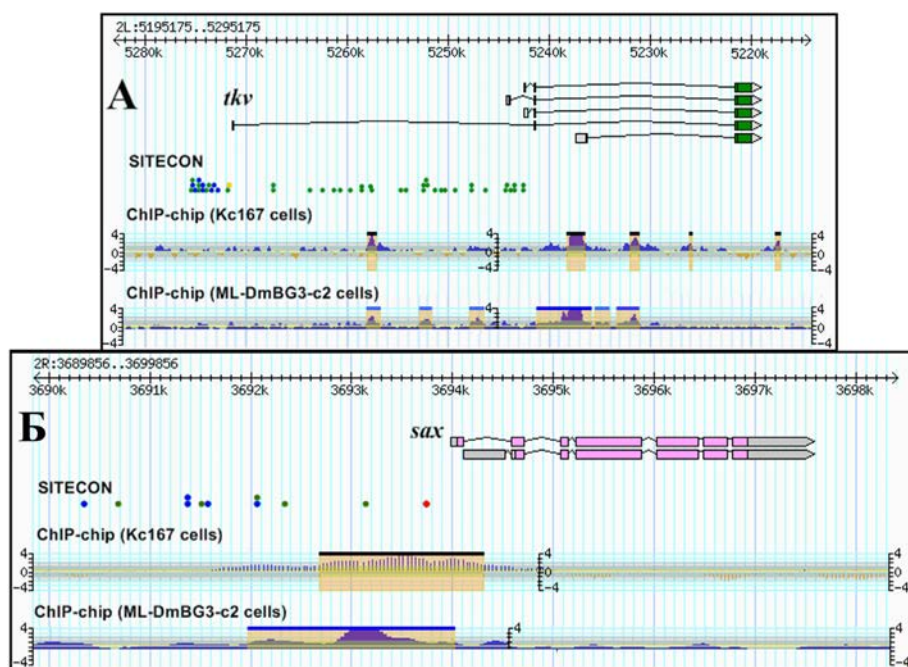


Рис. 5. Распределение GAGA-сайтов в регуляторных районах генов *tkv* (А) и *sax* (Б). Зелеными точками отмечены GAGA-сайты, предсказанные с помощью SITECON. Синие точки обозначают эволюционно консервативные GAGA-сайты. GAGA-сайты, обнаруженные с помощью метода ChIP-chip, показаны в нижней части рисунка (из базы данных modENCODE <http://modencode2.oicr.on.ca/cgi-bin/gb2/gbrowse/fly/> с модификациями). (А) Желтая точка соответствует экспериментально неподтвержденному GAGA-сайту; (Б) Экспериментально подтвержденный сайт показан красной точкой [50]

Как показано на рис. 5, количество GAGA-сайтов, предсказанных с помощью SITECON в регуляторных районах анализируемых генов, превышает количество сайтов, идентифицированных с помощью метода ChIP-chip. Вероятно, это связано со структурой хроматина и доступностью / активностью различных сайтов в разных типах клеток дрозофилы на разных стадиях развития. Однако в 5'-некодирующей области экзона и первом интроне гена *sax* с помощью SITECON не были выявлены GAGA-сайты, тогда как в тех же самых районах GAGA-сайты были показаны с использованием метода ChIP-chip. Это может быть связано с тем, что ошибка I рода составляет 0,64 и 0,52 для выборок сайтов типа GAGnGAG и GAGnnnGAG, соответственно [50], т.е. большой процент сайтов такого типа не распознается с помощью SITECON. Кроме того, с использованием этого подхода нельзя идентифицировать сайты, содержащие одиночный мотив GAGAG.

Анализ эволюционной консервативности предсказанных сайтов показал, что 8 сайтов в промоторе гена *tkv* и 5 сайтов в промоторной области гена *sax*

идентичны по структуре во всех анализируемых 10 видах *Drosophila*. Справедливо предположить, что эти сайты являются функционально значимыми для регуляции экспрессии анализируемых генов.

Анализ генетического взаимодействия Trithorax-like с thickveins и saxophone.

В случае гена *tkv* мы использовали гипоморфную мутацию *tkv¹* [61] и «loss of function» аллель [62], который содержит точечную замену, приводящую к замене аминокислоты [9, 63]. Для анализа изменения фенотипа *tkv*-мутантов на фоне снижения количества GAGA были использованы контроли – яйца, отложенные гетерозиготами *tkv/+* и *Trl/+*. В яйцах таких мутантов мы не обнаружили значительных отклонений в структуре яйцевой оболочки по сравнению с нормой. Яйца, отложенные мутантами *tkv/+*; *Trl/+*, могли быть как тонкими и удлинёнными, так и достаточно толстыми. 5% яиц, отложенных мухами *tkv⁷/+*; *Trl³⁶²/+*, были укорочены. ДВХ яиц мутантов *tkv/+*; *Trl/+* (рис. 6, Б) также были короткими (8–31,5% ДВХ). Кроме того, 11–20,5% ДВХ таких мутантов были тонкими и / или сближенными. Оперкулум яиц, отложенных мухами *tkv⁷/+*; *Trl/+*, был укорочен в 8–9% яиц.

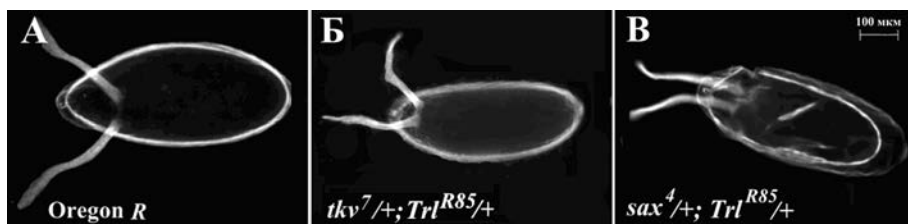


Рис. 6. Генетическое взаимодействие *Trl* с генами: (Б) *tkv*; (В) *sax*. (А) Яйцо, отложенное самкой *D. melanogaster* дикого типа (фотографии Е.С. Омелиной)

Для анализа изменения проявления фенотипа *sax*-мутантов при снижении уровня белка GAGA мы использовали «amorphic allele» *sax⁵* [64] и «loss of function, amorphic allele» *sax⁴* [62, 64, 65]. Исследование фенотипов яиц, отложенных контрольными мухами (*Trl/+* и *sax/+*), показал, что яйца таких мух не имеют достоверных отличий от Oregon R. 10% яиц, отложенных мутантами *sax⁵/+*; *Trl^{R85}/+*, были укорочены по сравнению с нормой. ДВХ яиц мутантов *sax/+*; *Trl/+* также могли быть короткими (7–29% ДВХ), тонкими, либо без выраженных лопастей (8–17% ДВХ; рис. 6, В). В 4–9% яиц, отложенных мухами *sax⁵/+*; *Trl/+*, был уменьшен оперкулум.

Таким образом, мы показали, что проявление фенотипов *tkv*- и *sax*-мутантов усиливается на фоне снижения количества белка GAGA по сравнению с контролем. Следовательно, *Trl* взаимодействует с *tkv* и *sax* в ходе оогенеза дрозофилы.

Относительная экспрессия *thickveins* и *saxophone* в яйцевых камерах мух дикого типа и Trl^{362}/Trl^{R85} -мутантов

Относительный уровень мРНК генов *tkv* и *sax* в яичниках мух Oregon R и Trl^{362}/Trl^{R85} -мутантов был проанализирован с помощью ПЦР в реальном времени. Ген *tkv* экспрессируется во всех фолликулярных клетках, покрывающих ооцит на ранних стадиях развития; позже (на стадии 10B) *tkv* активен только в двух группах дорзально-латеральных фолликулярных клеток [66]. Ген *sax* экспрессируется повсеместно во всех тканях и на всех стадиях развития [7]. В результате мы обнаружили, что относительная экспрессия *tkv* в яйцевых камерах *Trl*-мутантов не имеет достоверных отличий от нормы (рис. 7), тогда как относительное количество транскриптов гена *sax* в яичниках Trl^{362}/Trl^{R85} -мутантов более чем в два раза меньше по сравнению с Oregon R (рис. 7).

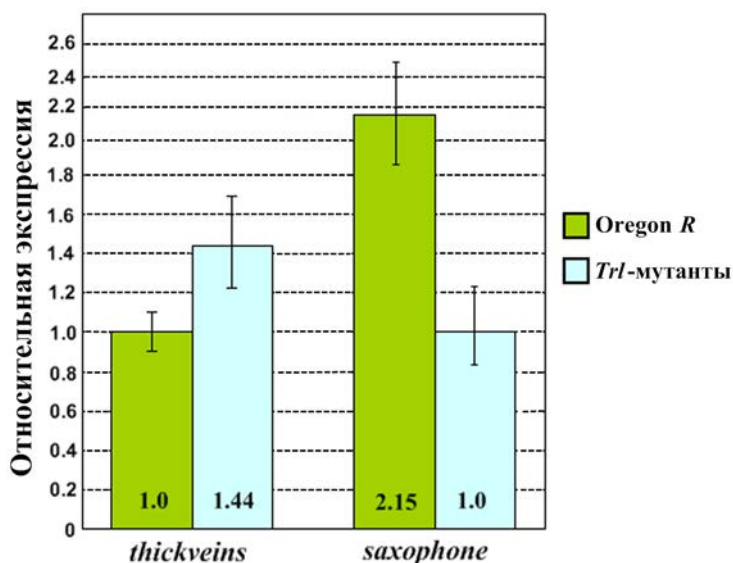


Рис. 7. Относительный уровень мРНК генов *tkv* и *sax* в яичниках мух дикого типа и Trl^{362}/Trl^{R85} -мутантов. Относительная экспрессия *tkv* в яйцевых камерах *Trl*-мутантов не изменяется значительно по сравнению с нормой.

Уровень относительной экспрессии гена *sax* в 2,15 раз ниже в яичниках *Trl*-мутантов в сравнении с диким типом

Заключение

Таким образом, в данной работе мы показали, что транскрипционный фактор GAGA контролирует активность сигнального пути Dpp посредством регуляции экспрессии гена *sax* в ходе оогенеза дрозофилы. Мы полагаем, что GAGA-опосредованная регуляция экспрессии гена *sax* может быть связана с

модификацией структуры хроматина в промоторном районе этого гена, поскольку в данном районе были найдены сайты связывания GAGA-фактора. Кроме того, GAGA, по-видимому, может участвовать в регуляции экспрессии *sax* через «паузирование» полимеразы, поскольку ранее было показано, что и GAGA, и NELF связываются с геном *sax* [26]. Пик GAGA наблюдается в районе -200/+100 п.н. относительно инициаторного элемента; пики белков NELF-B и NELF-E находятся в районе 500 п.н. около старта транскрипции гена *sax* [26].

Мы также продемонстрировали генетическое взаимодействие *Trl* с генами *dpp* и *tkv* и выявили множественные GAGA-сайты в регуляторных районах этих генов, в том числе эволюционно консервативные сайты. Однако мы не обнаружили значительных изменений относительной экспрессии этих генов в яичниках *Trl*-мутантов по сравнению с диким типом. Можно предположить, что GAGA регулирует экспрессию *dpp* и *tkv* в других органах, поскольку ген *Trl* и компоненты Dpp-пути экспрессируются повсеместно. Например, недавно с помощью микрочипового анализа было показано, что экспрессия *dpp* понижается при снижении уровня белка GAGA в эмбриональной культуре клеток S2 [67]. Наличие множественных GAGA-сайтов и снижение экспрессии *dpp* при уменьшении количества GAGA в S2-клетках указывает на вероятную регуляцию экспрессии *dpp* GAGA-фактором в течение эмбриогенеза. Следует отметить, что *dpp* ассоциируется только с GAGA [26], тогда как *tkv* связывается с GAGA и NELF-B [26] подобно гену *sax*. Следовательно, GAGA может участвовать в регуляции экспрессии *tkv* посредством контроля механизма «паузирования» полимеразы.

Поскольку ген *Trl* и компоненты Dpp-пути участвуют в формировании большого числа органов дрозофилы на различных стадиях развития (глаза, крылья, оогенез, эмбриогенез и т.д.), мы надеемся, что данная работа будет полезной при исследовании не только оогенеза, но и других тканей дрозофилы. Кроме того, мы продемонстрировали взаимосвязь GAGA-фактора с сигнальным путем Dpp в процессе развития ДВХ, которые рассматривают как модель тубулогенеза в мировой литературе [1]. Также белок GAGA и Dpp-сигнальный путь являются эволюционно консервативными. Следовательно, исследование их взаимосвязи может быть интересным для исследований, проводимых не только на дрозофиле, но и на млекопитающих, включая человека.

Литература

1. Berg C.A. Tube formation in *Drosophila* egg chambers // Tissue Eng. Part A. 2008. Vol. 14. P. 1479–1488.
2. Berg C.A. The *Drosophila* shell game: patterning genes and morphological change // Trends Genet. 2005. Vol. 21. P. 346–355.
3. Омелина Е.С., Баричева Э.М. Основные компоненты генной сети, контролирующей развитие дорзальных выростов хориона яиц *Drosophila melanogaster* // Онтогенез. 2011. Т. 43, № 3. С. 163–174.

4. Twombly V., Blackman R.K., Jin H. The TGF-beta signaling pathway is essential for *Drosophila* oogenesis // Development. 1996. Vol. 122. P. 1555–1565.
5. Zhao D., Woolner S., Bownes M. The Mirror transcription factor links signaling pathways in *Drosophila* oogenesis // Dev Genes Evol. 2000. Vol. 210. P. 449–457.
6. Padgett R.W., Reiss M. TGFbeta superfamily signaling: notes from the desert // Development. 2007. Vol. 134. P. 3565–3569.
7. Brummel T., Twombly V., Marques G., Wrana J.L. et al. Characterization and relationship of dpp receptors encoded by the saxophone and thick veins genes in *Drosophila* // Cell. 1994. Vol. 78. P. 251–261.
8. Derynck R. TGF-beta-receptor-mediated signaling // Trends Biochem. Sci. 1994. Vol. 19. P. 548–553.
9. Nellen D., Affolter M., Basler K. Receptor serine/threonine kinases implicated in the control of *Drosophila* body pattern by decapentaplegic // Cell. 1994. Vol. 78. P. 225–237.
10. Xie T., Finelli A., Padgett R.W. The *Drosophila* saxophone gene: a serine-threonine kinase receptor of the TGF-superfamily // Science. 1994. Vol. 263. P. 1756–1759.
11. Letsou A., Arora K., Wrana J.L. *Drosophila* Dpp signaling is mediated by the punt gene product: a dual ligand-binding type II receptor of the TGF beta receptor family // Cell. 1995. Vol. 80. P. 899–908.
12. Ruberte E., Marty T., Nellen D., Affolter M., Basler K. An absolute requirement for both the Type II and Type I receptors, punt and thick veins, for Dpp signaling *in vivo* // Cell. 1995. Vol. 80. P. 889–897.
13. Shi Y., Massague J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus // Cell. 2003. Vol. 113. P. 685–700.
14. Омелина Е.С., Павлова Н.В., Огиенко А.А., Баричева Э.М. Для формирования дорзальных выростов хориона *Drosophila melanogaster* требуется белок GAGA // Докл. Биохим. Биофиз. 2011. Т. 436, № 5. С. 696–698.
15. Farkas G., Leibovitch B.A., Elgin S.C. Chromatin organization and transcriptional control of gene expression in *Drosophila* // Gene. 2000. Vol. 253. P. 117–136.
16. Lee H., Kraus K.W., Wolfner M.F., Lis J.T. DNA sequence requirements for generating paused polymerase at the start of *hsp70* // Genes & Development. 1992. Vol. 6. P. 284–295.
17. Nakayama T., Nishioka K., Dong Y.X., Shimojima T., Hirose S. *Drosophila* GAGA factor directs histone H3.3 replacement that prevents the heterochromatin spreading // Genes Dev. 2007. Vol. 21. P. 552–561.
18. Okada M., Hirose S. Chromatin remodeling mediated by *Drosophila* GAGA factor and ISWI activates *fushi tarazu* gene transcription *in vitro* // Mol. Cell. Biol. 1998. Vol. 18. P. 2455–2461.
19. Shopland L.S., Hirayoshi K., Fernandes M., Lis J.T. HSF access to heat shock elements *in vivo* depends critically on promoter architecture defined by GAGA factor, TFIID, and RNA polymerase II binding sites // Genes Dev. 1995. Vol. 9. P. 2756–2769.
20. Tsukiyama T., Wu C. Purification and properties of an ATP-dependent nucleosome remodeling factor // Cell. 1995. Vol. 83. P. 1011–1020.
21. Tsukiyama T., Becker P.B., Wu C. ATP-dependent nucleosome disruption at a heat-shock promoter mediated by binding of GAGA transcription factor // Nature (London). 1994. Vol. 367. P. 525–532.
22. Wilkins R.C., Lis J.T. Dynamics of potentiation and activation: GAGA factor and its role in heat shock gene regulation // Nucleic Acids Res. 1997. Vol. 25. P. 3963–3968.
23. Wilkins R.C., Lis J.T. DNA distortion and multimerization: novel functions of the glutamine-rich domain of GAGA factor // J Mol Biol. 1999. Vol. 285. P. 515–525.
24. O'Brien T., Wilkins R.C., Giardina C., Lis J.T. Distribution of GAGA protein on *Drosophila* genes *in vivo* // Genes & development. 1995. Vol. 9. P. 1098–1110.

25. Shimojima T., Okada M., Nakayama T. et al. *Drosophila* FACT contributes to Hox gene expression through physical and functional interactions with GAGA factor // *Genes & development*. 2003. Vol. 17. P. 1605–1616.
26. Lee C., Li X., Hechmer A., Eisen M. et al. NELF and GAGA factor are linked to promoter-proximal pausing at many genes in *Drosophila* // *Mol Cell Biol*. 2008. Vol. 28. P. 3290–3300.
27. Li J., Liu Y., Rhee H.S., Ghosh S.K.B. et al. Kinetic competition between elongation rate and binding of NELF controls promoter proximal pausing // *Mol Cell*. 2013. Vol. 5. P. 711–722.
28. Fuda N.J., Lis J.T. A new player in Pol II pausing // *EMBO J*. 2013. Vol. 32. P. 1796–1798.
29. Hendrix D.A., Hong J.W., Zeitlinger J. et al. Promoter elements associated with RNA Pol II stalling in the *Drosophila* embryo // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013. Vol. 105. P. 7762–7767.
30. Kerrigan L.A., Croston G.E., Lira L.M., Kadonaga J.T. Sequence-specific transcriptional antirepression of the *Drosophila* Krüppel gene by the GAGA factor // *J Biol Chem*. 1991. Vol. 266. P. 574–582.
31. Berger N., Dubreucq B. Evolution goes GAGA: GAGA binding proteins across kingdoms // *Biochim Biophys Acta*. 2012. Vol. 1819. P. 863–868.
32. Brown J.L., Mucci D., Whiteley M. et al. The *Drosophila* polycomb group gene pleiohomeotic encodes a DNA binding protein with homology to the transcription factor YY1 // *Mol. Cell*. 1998. Vol. 1. P. 1057–1064.
33. Espinas M.L., Canudas S., Fanti L. et al. The GAGA factor of *Drosophila* interacts with SAP18, a Sin3-associated polypeptide // *EMBO Rep*. 2000. Vol. 1. P. 253–259.
34. Hagstrom K., Muller M., Schedl P. A Polycomb and GAGA dependent silencer adjoins the Fab-7 boundary in the *Drosophila* bithorax complex // *Genetics*. 1997. Vol. 146. P. 1365–1380.
35. Hur M.W., Laney J.D., Jeon S.H., Ali J., Biggin M.D. Zeste maintains repression of Ubx transgenes: support for a new model of polycomb repression // *Development*. 2002. Vol. 129. P. 1339–1343.
36. Mahmoudi T., Zuijderduijn L.M., Mohd-Sarip A., Verrijzer C.P. GAGA facilitates binding of Pleiohomeotic to a chromatinized Polycomb response element // *Nucleic Acids Res*. 2003. Vol. 31. P. 4147–4156.
37. Mulholland N.M., King I.F., Kingston R.E. Regulation of polycomb group complexes by the sequence-specific DNA binding proteins Zeste and GAGA // *Genes Dev*. 2003. Vol. 17. P. 2741–2746.
38. Ringrose L., Paro R. Polycomb/Trithorax response elements and epigenetic memory of cell identity // *Development*. 2007. Vol. 134. P. 223–232.
39. Schuettengruber B., Chourrout D., Vervoort M., Leblanc B., Cavalli G. Genome regulation by polycomb and trithorax proteins // *Cell*. 2007. Vol. 128. P. 735–745.
40. Schwyter D.H., Huang J.D., Dubnicoff T., Courey A.J. The decapentaplegic core promoter region plays an integral role in the spatial control of transcription // *Mol. Cell. Biol*. 1995. Vol. 15. P. 3960–3968.
41. Matharu N.K., Hussain T., Sankaranarayanan R., Mishra R.K. Vertebrate homologue of *Drosophila* GAGA factor // *J. Mol. Biol*. 2010. Vol. 400. P. 434–447.
42. Kumar S. Remote homologue identification of *Drosophila* GAGA factor in mouse // *Bioinform.* 2011. Vol. 7. P. 29–32.
43. Bhat K.M., Farkas G., Karch F., Gyurkovics H., Gausz J., Schedl P. The GAGA factor is required in the early *Drosophila* embryo not only for transcriptional regulation but also for nuclear division // *Development*. 1996. Vol. 122. P. 1113–1124.
44. Dos-Santos N., Rubin T., Chalvet F., Gandille P., Cremazy F., Leroy J., Boissonneau E., Théodore L. *Drosophila* retinal pigment cell death is regulated in a position-dependent manner by a cell memory gene // *Int J Dev Biol*. 2008. Vol. 52. P. 21–31.
45. Огуенко А.А., Карагодин Д.А., Федорова С.А. и др. Анализ новой гипоморфной мутации гена Trithorax-like, влияющей на оогенез *Drosophila melanogaster* // *Онтогенез*. 2006. Т. 37, № 3. С. 157–166.

46. Огиенко А.А., Карагодин Д.А., Павлова Н.В. и др. Молекулярно-генетическая характеристика новой гипоморфной мутации гена *Trithorax-like* и анализ ее влияния на оогенез *Drosophila melanogaster* // Онтогенез. 2008. Т. 39, № 2. С. 134–142.
47. Tsuneizumi K., Nakayama T., Kamoshida Y. et al. Daughters against dpp modulates dpp organizing activity in *Drosophila* wing development // Nature. 1997. Vol. 389. P. 627–631.
48. Karch F., Galloni M., Sipos L. et al. Mcp and Fab-7: molecular analysis of putative boundaries of cis-regulatory domains in the bithorax complex of *Drosophila melanogaster* // Nucleic Acids Res. 1994. Vol. 22. P. 3138–3146.
49. Oshchepkov D.Y., Vityaev E.E., Grigorovich D.A., Ignatieva E.V., Khlebodarova T.M. SITE-CON: a tool for detecting conservative conformational and physicochemical properties in transcription factor binding site alignments and for site recognition // Nucleic Acids Res. 2004. Vol. 32. P. 208–212.
50. Omelina E.S., Baricheva E.M., Oshchepkov D.Y., Merkulova T.I. Analysis and recognition of the GAGA transcription factor binding sites in *Drosophila* genes // Comput Biol. Chem. 2011. Vol. 35. P. 363–370.
51. Guild G.M., Connelly P.S., Shaw M.K., Tilney L.G. Actin filament cables in *Drosophila* nurse cells are composed of modules that slide passively past one another during dumping // J Cell Biol. 1997. Vol. 138. P. 783–797.
52. Schotman H., Karhinen L., Rabouille C. Integrins mediate their unconventional, mechanical-stress-induced secretion via RhoA and PINCH in *Drosophila* // J Cell Sci. 2009. Vol. 122. P. 2662–2672.
53. Bergman C.M., Kreitman M. Analysis of conserved noncoding DNA in *Drosophila* reveals similar constraints in intergenic and intronic sequences // Genome Res. 2001. Vol. 11. P. 1335–1345.
54. Gumucio D.L., Shelton D.A., Bailey W.J. et al. Phylogenetic footprinting reveals unexpected complexity in trans factor binding upstream from the epsilon-globin gene // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993. Vol. 90. P. 6018–6022.
55. Hartl D.L., Lozovskaya E.R. Genome evolution: between the nucleosome and the chromosome // EXS. 1994. Vol. 69. P. 579–592.
56. Shelton D.A., Stegman L., Hardison R. et al. Phylogenetic footprinting of hypersensitive site 3 of the betaglobin locus control region // Blood. 1997. Vol. 89. P. 3457–3469.
57. Russo C.A., Takezaki N., Nei M. Molecular phylogeny and divergence times of drosophilid species // Mol. Biol. Evol. 1995. Vol. 12. P. 391–404.
58. Spencer F.A., Hoffmann F.M., Gelbart W.M. Decapentaplegic: A gene complex affecting morphogenesis in *Drosophila melanogaster* // Cell. 1982. Vol. 28. P. 451–461.
59. Arora K., Nusslein-Volhard C. Altered mitotic domains reveal fate map changes in *Drosophila* embryos mutant for zygotic dorsoventral patterning genes // Development. 1992. Vol. 114. P. 1003–1024.
60. Wharton K.A., Ray R.P., Findley S.D., Duncan H.E., Gelbart W.M. Molecular lesions associated with alleles of decapentaplegic identify residues necessary for TGF- BMP cell signaling in *Drosophila melanogaster* // Genetics. 1996. Vol. 142. P. 493–505.
61. de Celis J.F. Expression and function of decapentaplegic and thick veins during the differentiation of the veins in the *Drosophila* wing // Development. 1997. Vol. 124. P. 1007–1018.
62. Horsfield J., Penton A., Secombe J. et al. Decapentaplegic is required for arrest in G1 phase during *Drosophila* eye development // Development. 1998. Vol. 125. P. 5069–5078.
63. Penton A., Chen Y., Staehling-Hampton K. et al. Identification of two bone morphogenetic protein type I receptors in *Drosophila* and evidence that Brk25D is a decapentaplegic receptor // Cell. 1994. Vol. 78. P. 239–250.
64. Singer M.A., Penton A., Twombly V., Hoffmann F.M., Gelbart W.M. Signaling through both type I DPP receptors is required for anterior-posterior patterning of the entire *Drosophila* wing // Development. 1997. Vol. 124. P. 79–89.

65. Fritsch C., Lanfear R., Ray R.P. Rapid evolution of a novel signalling mechanism by concerted duplication and divergence of a BMP ligand and its extracellular modulators // *Dev. Genes Evol.* 2010. Vol. 220. P. 235–250.
66. Niepielko M.G., Ip K., Kanodia J.S., Lun D.S., Yakoby N. Evolution of BMP Signaling in *Drosophila* Oogenesis: A Receptor-Based Mechanism // *Biophys. J.* 2012. Vol. 102. P. 1722–1730.
67. Pineyro D., Blanch M., Badal M., Kosoy A., Bernues J. GAGA factor repression of transcription is a rare event but the negative regulation of Trl is conserved in *Drosophila* species // *Biochim Biophys Acta.* 2013. Vol. 1829. P. 1056–1065.

Поступила в редакцию 15.10.2013 г.

Авторский коллектив:

Омелина Евгения Сергеевна – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории механизмов клеточной дифференцировки Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (г. Новосибирск, Россия). E-mail: omelina@bionet.nsc.ru

Коханенко Алина Андреевна – канд. биол. наук, младший научный сотрудник лаборатории эволюционной цитогенетики Научно-исследовательского института биологии и биофизики Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: alinakokhanenko@gmail.com

Tomsk State University Journal of Biology. 2014. № 1 (25). P. 132–153

doi: 10.17223/19988591/25/10

Eugeniya S. Omelina¹, Alina A. Kokhanenko²

¹ *Laboratory of Cell Differentiation Mechanisms, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation. E-mail: omelina@bionet.nsc.ru*

² *Laboratory of Evolutionary Cytogenetics, Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation. E-mail: alinakokhanenko@gmail.com*

Identification of the new GAGA transcription factor target genes during *Drosophila melanogaster* oogenesis

D. melanogaster oogenesis, including dorsal appendage (DA) formation, is controlled by numerous genes and signaling pathways, e.g. EGFR, Notch, Wingless, Decapentaplegic (Dpp) pathways. Since these signaling pathways participate in the formation of many *Drosophila* organs and tissues and are evolutionary conserved, their regulation and relationships between themselves are well-studied. However, so far association of these pathways with the GAGA protein, taking part in the expression regulation of many *Drosophila* genes, has not been shown. In this paper, the association between the GAGA transcription factor and key components of the Dpp signaling pathway (*decapentaplegic* (*dpp*), *thickveins* (*tkv*), and *saxophone* (*sax*)) were studied. The *dpp* gene encodes ligand of the Dpp pathway, *tkv* and *sax* encode the type I receptors. This work was performed using combined computer-experimental approach, which included: (1) recognition of the GAGA binding sites in the regulatory regions of genes, using computational approach; (2) analysis of the genetic interaction of the *Trl* gene with the components of the Dpp signaling pathway; (3) analysis of the relative expression of the genes in the ovaries of wild type females and *Trl* mutants, using real-time PCR.

As a result, in the regulatory regions of all analyzed genes, numerous GAGA binding sites, including experimentally verified and evolutionary conserved, were found. Besides, the genetic interaction of the *Trl* gene, encoding the GAGA protein, with the

dpp, *tkv*, and *sax* genes during DA formation was demonstrated, i.e. an enhancement of the *dpp*, *tkv* and *sax* mutants, when the GAGA level was reduced. DAs of the eggs laid by the flies carrying both mutations on the *Trl* gene and *dpp/ tkv/ sax* gene were shortened, abnormal or had no paddles. At the same time DAs of the *Trl/+*, *dpp/+*, *tkv/+*, and *sax/+* heterozygotes didn't have significant distinctions as compared with norm. Additionally, we investigated an alteration of the relative expression of the *dpp*, *tkv* and *sax* genes in the ovaries of wild type females and *Trl³⁶²/Trl^{R85}* mutants. As a result, it was found that only *sax* expression was reduced more than two-fold as compared with wild type. In the case of other genes, expression was changed insignificantly.

Thus, in this manuscript we have shown that the GAGA transcription factor participates in the expression regulation of the *sax* gene during *D. melanogaster* oogenesis. Since the relative level of the mRNA of the *dpp* and *tkv* genes didn't change significantly when GAGA level was reduced, we suppose that GAGA can participate in the transcription regulation of the *dpp* and *tkv* genes at other stages of development/ in other *Drosophila* organs and tissues.

Key words: *Trithorax-like*; Dpp signaling pathway; oogenesis; *Drosophila*; GAGA.

Received 15, October, 2013

References

1. Berg CA. Tube formation in *Drosophila* egg chambers. *Tissue Eng. Part A*. 2008;14:1479-1488.
2. Berg CA. The *Drosophila* shell game: patterning genes and morphological change. *Trends Genet.* 2005;21:346-355.
3. Omelina ES, Baricheva EM. Main components of gene network controlling development of dorsal appendages of egg chorion in *Drosophila melanogaster*. *Russian Journal of Developmental Biology*. 2012;43(3):137-147.
4. Twombly V, Blackman RK, Jin H. The TGF-beta signaling pathway is essential for *Drosophila* oogenesis. *Development*. 1996;122:1555-1565.
5. Zhao D, Woolner S, Bownes M. The Mirror transcription factor links signaling pathways in *Drosophila* oogenesis. *Dev Genes Evol.* 2000; 210:449-457.
6. Padgett RW, Reiss M. TGFbeta superfamily signaling: notes from the desert. *Development*. 2007;134:3565-3569.
7. Brummel T, Twombly V, Marques G, Wrana JL. et al. Characterization and relationship of dpp receptors encoded by the saxophone and thick veins genes in *Drosophila*. *Cell*. 1994;78:251-261.
8. Derynck R. TGF-beta-receptor-mediated signaling. *Trends Biochem Sci.* 1994;19:548-553.
9. Nellen D, Affolter M, Basler K. Receptor serine/threonine kinases implicated in the control of *Drosophila* body pattern by decapentaplegic. *Cell*. 1994;78:225-237.
10. Xie T, Finelli A, Padgett RW. The *Drosophila* saxophone gene: a serine-threonine kinase receptor of the TGF-superfamily. *Science*. 1994;263:1756-1759.
11. Letsou A, Arora K, Wrana JL. *Drosophila* Dpp signaling is mediated by the punt gene product: a dual ligand-binding type II receptor of the TGF beta receptor family. *Cell*. 1995;80:899-908.
12. Ruberte E, Marty T, Nellen D, Affolter M, Basler K. An absolute requirement for both the Type II and Type I receptors, punt and thick veins, for Dpp signaling *in vivo*. *Cell*. 1995;80:889-897.
13. Shi Y, Massague J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell*. 2003;113:685-700.

14. Omelina E.S., Pavlova N.V., Ogienko A.A., Baricheva E.M. The GAGA protein is essential for dorsal appendage formation during *Drosophila melanogaster* oogenesis. Dokl Biochem Biophys. 2011. Vol. 436. PP. 32-34. [Omelina ES, Pavlova NV, Ogienko AA, Baricheva EM. The GAGA protein is essential for dorsal appendage formation during *Drosophila melanogaster* oogenesis. Dokl Biochem Biophys. 2011;436:32-34.] In Russian, English summary
15. Farkas G, Leibovitch BA, Elgin SC. Chromatin organization and transcriptional control of gene expression in *Drosophila*. *Gene*. 2000;253:117-136.
16. Lee H, Kraus KW, Wolfner MF, Lis JT. DNA sequence requirements for generating paused polymerase at the start of hsp70. *Genes & Development*. 1992;6:284-295.
17. Nakayama T, Nishioka K, Dong YX, Shimojima T, Hirose S. *Drosophila* GAGA factor directs histone H3.3 replacement that prevents the heterochromatin spreading. *Genes Dev*. 2007;21:552-561.
18. Okada M, Hirose S. Chromatin remodeling mediated by *Drosophila* GAGA factor and ISWI activates fushi tarazu gene transcription *in vitro*. *Mol Cell Biol*. 1998;18:2455-2461.
19. Shopland LS, Hirayoshi K, Fernandes M, Lis JT. HSF access to heat shock elements *in vivo* depends critically on promoter architecture defined by GAGA factor, TFIID, and RNA polymerase II binding sites. *Genes Dev*. 1995;9:2756-2769.
20. Tsukiyama T, Wu C. Purification and properties of an ATP-dependent nucleosome remodeling factor. *Cell*. 1995;83:1011-1020.
21. Tsukiyama T, Becker PB, Wu C. ATP-dependent nucleosome disruption at a heat-shock promoter mediated by binding of GAGA transcription factor. *Nature (London)*. 1994;367:525-532.
22. Wilkins RC, Lis JT. Dynamics of potentiation and activation: GAGA factor and its role in heat shock gene regulation. *Nucleic Acids Res*. 1997;25:3963-3968.
23. Wilkins RC, Lis JT. DNA distortion and multimerization: novel functions of the glutamine-rich domain of GAGA factor. *J Mol Biol*. 1999; 285:515-525.
24. O'Brien T, Wilkins RC, Giardina C, Lis JT. Distribution of GAGA protein on *Drosophila* genes *in vivo*. *Genes & development*. 1995;9:1098-1110.
25. Shimojima T, Okada M, Nakayama T. et al. *Drosophila* FACT contributes to Hox gene expression through physical and functional interactions with GAGA factor. *Genes & development*. 2003;17:1605-1616.
26. Lee C, Li X, Hechmer A, Eisen M et al. NELF and GAGA factor are linked to promoter-proximal pausing at many genes in *Drosophila*. *Mol Cell Biol*. 2008;28:3290-3300.
27. Li J, Liu Y, Rhee HS, Ghosh SKB et al. Kinetic competition between elongation rate and binding of NELF controls promoter proximal pausing. *Mol Cell*. 2013;5:711-722.
28. Fuda NJ, Lis JT. A new player in Pol II pausing. *EMBO J*. 2013;32:1796-1798.
29. Hendrix DA, Hong JW, Zeitlinger J et al. Promoter elements associated with RNA Pol II stalling in the *Drosophila* embryo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110:7762-7767.
30. Kerrigan LA, Croston GE, Lira LM, Kadonaga JT. Sequence-specific transcriptional antirepression of the *Drosophila* Krüppel gene by the GAGA factor. *J Biol Chem*. 1991;266:574-582.
31. Berger N, Dubreucq B. Evolution goes GAGA: GAGA binding proteins across kingdoms. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1819:863-868.
32. Brown JL, Mucci D, Whiteley M. et al. The *Drosophila* polycomb group gene pleiohomeotic encodes a DNA binding protein with homology to the transcription factor YY1. *Mol Cell*. 1998;1:1057-1064.
33. Espinas ML, Canudas S, Fanti L et al. The GAGA factor of *Drosophila* interacts with SAP18, a Sin3-associated polypeptide. *EMBO Rep*. 2000;1:253-259.
34. Hagstrom K, Muller M, Schedl P. A Polycomb and GAGA dependent silencer adjoins the Fab-7 boundary in the *Drosophila* bithorax complex. *Genetics*. 1997;146:1365-1380.

35. Hur MW, Laney JD, Jeon SH, Ali J, Biggin MD. Zeste maintains repression of Ubx transgenes: support for a new model of polycomb repression. *Development*. 2002;129:1339-1343.
36. Mahmoudi T, Zuijderduijn LM, Mohd-Sarip A, Verrijzer CP. GAGA facilitates binding of Pleiohomeotic to a chromatinized Polycomb response element. *Nucleic Acids Res*. 2003;31:4147-4156.
37. Mulholland NM, King IF, Kingston RE. Regulation of polycomb group complexes by the sequence-specific DNA binding proteins Zeste and GAGA. *Genes Dev*. 2003;17:2741-2746.
38. Ringrose L, Paro R. Polycomb/Trithorax response elements and epigenetic memory of cell identity. *Development*. 2007;134:223-232.
39. Schuettengruber B, Chourrout D, Vervoort M, Leblanc B, Cavalli G. Genome regulation by polycomb and trithorax proteins. *Cell*. 2007;128:735-745.
40. Schwyter DH, Huang JD, Dubnicoff T, Courey AJ. The decapentaplegic core promoter region plays an integral role in the spatial control of transcription. *Mol Cell Biol*. 1995;15:3960-3968.
41. Matharu NK, Hussain T, Sankaranarayanan R, Mishra RK. Vertebrate homologue of *Drosophila* GAGA factor. *J Mol Biol*. 2010;400:434-447.
42. Kumar S. Remote homologue identification of *Drosophila* GAGA factor in mouse. *Bioinformation*. 2011;7:29-32.
43. Bhat KM, Farkas G, Karch F, Gyurkovics H, Gausz J, Schedl P. The GAGA factor is required in the early *Drosophila* embryo not only for transcriptional regulation but also for nuclear division. *Development*. 1996;122:1113-1124.
44. Dos-Santos N, Rubin T, Chalvet F, Gandille P, Cremazy F, Leroy J, Boissonneau E, Théodore L. *Drosophila* retinal pigment cell death is regulated in a position-dependent manner by a cell memory gene. *Int J Dev Biol*. 2008;52:21-31.
45. Ogienko AA, Karagodin DA, Fedorova SA, Fedorova EV, Lashina VV, Baricheva EM. Analysis of a novel hypomorphic mutation in trithorax-like gene affecting *Drosophila melanogaster* oogenesis. *Russian Journal of Developmental Biology*. 2006;37(3):173-181.
46. Ogienko AA, Karagodin DA, Pavlova NV, Fedorova SA, Voloshina MV, Baricheva EM. Molecular and genetic description of a new hypomorphic mutation of Trithorax-like gene and analysis of its effect on *Drosophila melanogaster* oogenesis. *Russian Journal of Developmental Biology*. 2008;39(2):108-115.
47. Tsuneizumi K, Nakayama T, Kamoshida Y. et al. Daughters against dpp modulates dpp organizing activity in *Drosophila* wing development. *Nature*. 1997;389:627-631.
48. Karch F, Galloni M, Sipos L. et al. Mcp and Fab-7: molecular analysis of putative boundaries of cis-regulatory domains in the bithorax complex of *Drosophila melanogaster*. *Nucleic Acids Res*. 1994;22:3138-3146.
49. Oshchepkov DY, Vityaev EE, Grigorovich DA, Ignatieva EV, Khlebodarova TM. SITE-CON: a tool for detecting conservative conformational and physicochemical properties in transcription factor binding site alignments and for site recognition. *Nucleic Acids Res*. 2004;32:208-212.
50. Omelina ES, Baricheva EM, Oshchepkov DY, Merkulova TI. Analysis and recognition of the GAGA transcription factor binding sites in *Drosophila* genes. *Comput Biol Chem*. 2011;35:363-370.
51. Guild GM, Connelly PS, Shaw MK, Tilney LG. Actin filament cables in *Drosophila* nurse cells are composed of modules that slide passively past one another during dumping. *J Cell Biol*. 1997;138:783-797.
52. Schotman H, Karhinen L, Rabouille C. Integrins mediate their unconventional, mechanical-stress-induced secretion via RhoA and PINCH in *Drosophila*. *J. Cell Sci*. 2009;122:2662-2672.
53. Bergman CM, Kreitman M. Analysis of conserved noncoding DNA in *Drosophila* reveals similar constraints in intergenic and intronic sequences. *Genome Res*. 2001;11:1335-1345.

54. Gumucio DL, Shelton DA, Bailey WJ et al. Phylogenetic footprinting reveals unexpected complexity in trans factor binding upstream from the epsilon-globin gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90:6018-6022.
55. Hartl DL, Lozovskaya ER. Genome evolution: between the nucleosome and the chromosome. *EXS*. 1994;69:579-592.
56. Shelton DA, Stegman L, Hardison R. et al. Phylogenetic footprinting of hypersensitive site 3 of the betaglobin locus control region. *Blood*. 1997;89:3457-3469.
57. Russo CA, Takezaki N, Nei M. Molecular phylogeny and divergence times of drosophilid species. *Mol Biol Evol*. 1995;12:391-404.
58. Spencer FA, Hoffmann FM, Gelbart WM. Decapentaplegic: A gene complex affecting morphogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Cell*. 1982;28:451-461.
59. Arora K, Nusslein-Volhard C. Altered mitotic domains reveal fate map changes in *Drosophila* embryos mutant for zygotic dorsoventral patterning genes. *Development*. 1992;114:1003-1024.
60. Wharton KA, Ray RP, Findley SD, Duncan HE, Gelbart WM. Molecular lesions associated with alleles of decapentaplegic identify residues necessary for TGF- BMP cell signaling in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 1996;142:493-505.
61. de Celis JF. Expression and function of decapentaplegic and thick veins during the differentiation of the veins in the *Drosophila* wing. *Development*. 1997;124:1007-1018.
62. Horsfield J, Penton A, Secombe J et al. Decapentaplegic is required for arrest in G1 phase during *Drosophila* eye development. *Development*. 1998;125:5069-5078.
63. Penton A, Chen Y, Staehling-Hampton K. et al. Identification of two bone morphogenetic protein type I receptors in *Drosophila* and evidence that Brk25D is a decapentaplegic receptor. *Cell*. 1194;78:239-250.]
64. Singer MA, Penton A, Twombly V, Hoffmann FM, Gelbart WM. Signaling through both type I DPP receptors is required for anterior-posterior patterning of the entire *Drosophila* wing. *Development*. 1997;124:79-89.
65. Fritsch C, Lanfear R, Ray RP. Rapid evolution of a novel signalling mechanism by concerted duplication and divergence of a BMP ligand and its extracellular modulators. *Dev Genes Evol*. 2010;220:235-250.
66. Niepielko MG, Ip K, Kanodia JS, Lun DS, Yakoby N. Evolution of BMP Signaling in *Drosophila* Oogenesis: A Receptor-Based Mechanism. *Biophys J*. 2012;102:1722-1730.
67. Pineyro D, Blanch M, Badal M, Kosoy A, Bernues J. GAGA factor repression of transcription is a rare event but the negative regulation of Trl is conserved in *Drosophila* species. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1829:1056-1065.

СЕЛЬСКОЕ И ЛЕСНОЕ ХОЗЯЙСТВО

УДК 630*436(571.56-191.2)
doi: 10.17223/19988591/25/11

Л.П. Габышева

*Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, г. Якутск, Россия
Институт естественных наук Северо-Восточного
федерального университета им. М.К. Аммосова, г. Якутск, Россия*

Роль пожаров в возобновлении лесов Центральной Якутии

Приведены результаты исследования возобновительной роли пожаров в лесах Центральной Якутии. Выявлено, что на ранних и средних стадиях сукцессии доля здорового подроста составляет 87–100%, на поздних стадиях сукцессии и в лесу – 59–60% всех лиственниц. Начиная с 16–20-летнего возраста увеличивается доля ослабленных, усыхающих и сухих лиственниц. Установлено, что жизненное состояние послепожарных ценопопуляций (индекс состояния ценопопуляции 98,1–99,9%) лиственницы по сравнению с ценопопуляциями под пологом леса (77,6%) – качественное, здоровое.

Ключевые слова: *лесные пожары; гари; лиственница; возобновление; жизненное состояние; ценопопуляции.*

Введение

Лесные пожары – один из важнейших эколого-эволюционных факторов, оказывающих определяющее влияние на леса. Они являются наиболее часто встречаемым и разрушительным фактором в лесах всей бореальной зоны. При этом формирование лесов, распространение их по территории, состояние, продуктивность и другие процессы протекают под прямым и косвенным пирогенным воздействием [1–8 и др.].

В лесах Якутии пожары имеют как антропогенные, так и естественные причины возникновения. Природные особенности региона – сочетание многолетней мерзлоты с недостатком атмосферного увлажнения и засушливым климатом – обусловили создание естественных причин для возникновения и распространения лесных пожаров. Хозяйственное освоение региона играет немаловажную роль в лесообразовательном процессе Якутии. Роль человека в возникновении и распространении лесных пожаров особенно усиливается в последние годы. Центральные районы Якутии по сравнению с другими тер-

риториями длительное историческое время характеризовались особенно высокой горимостью лесов, что связано не только с засушливыми условиями и большой плотностью населения, но и со спецификой хозяйственной деятельности в этих районах. Огневая очистка лугов, пастбищ и сенокосов до недавнего времени являлась основной причиной возникновения лесных пожаров.

По свидетельству ряда исследователей [8–9], пожары еще в XVII–XVIII вв. имели широкое распространение и совпадали по времени на огромных территориях. Также имеются сведения о влиянии пожара на лесную растительность в работах некоторых исследователей [9–13]. Они указывают, что после пожаров усиливаются позиции лиственницы и происходит относительно хорошее возобновление исходного типа лесной растительности. История лесных пожаров Центральной Якутии за последние 200 лет реконструирована нашими коллегами методом дендроэкологии [14–16 и др.].

Доминирующее положение лиственничных лесов в экосистемах бореальной зоны северо-востока России обусловлено прежде всего биологическими свойствами вида, выработанными в ходе эволюции. Считается, что доминирующее положение лиственничных лесов в экосистемах северо-востока Азии является одним из механизмов снижения влияния пожаров на природные экосистемы. Имеется достаточно сведений о том, что светлохвойные леса Сибири и Дальнего Востока имеют пирогенное происхождение [17–23]. Доказано, что лиственница [5, 22–27] обладает свойствами «пиروفитности». Лиственничные леса по большей части имеют пирогенное происхождение, что подтверждается отличным возобновлением лиственницы после пожаров. В ряде типов леса лиственница без обжига поверхности почвы не возобновляется.

На Лено-Амгинском междуречье Центральной Якутии распространена лиственница Каяндера. Как заметил Л.К. Поздняков [24], этот вид лиственницы является наиболее приспособленным к произрастанию на холодных почвах, растет в условиях, непригодных для других древесных пород. Вид отличается ярко выраженными пионерными свойствами и при благоприятных условиях наиболее успешно возобновляется семенным путем на вырубках и гарях.

Материалы и методики исследования

Исследования проведены в лиственничных лесах в окрестностях с. Матта Мегино-Кангаласского улуса Республики Саха (Якутия), который находится в 100 км к северо-востоку от г. Якутска, на междуречье рр. Лена и Амга, на правом берегу р. Лены. Объектами исследования являлись гари различной давности пожара (6, 16, 20, 65 лет), находящиеся на различных стадиях сукцессии. Контрольным участком служил наиболее распространенный в регионе тип леса – лиственничник брусничный.

Изучение процессов естественного возобновления осуществляли по методу П.А. Цветкова [27], который основывается на методике изучения лесовосстановительных процессов А.В. Побединского [28]. Квадратные учетные площадки размером 4 м² располагались рядами параллельно друг другу поперек гари. На пяти параллельных линиях размещено 25 учетных площадок для каждого участка гари. При пересчете подрост классифицировался по группам высот (меньше 10, от 10 до 50, от 50 до 100, от 100 до 300, больше 300 см) и по жизненному состоянию (здоровые, ослабленные, усыхающие, сухие).

Обработка данных полевых исследований велась при помощи нескольких методов. Из собранных данных выведены средние значения (M), ошибка среднего значения (m), среднеквадратичное отклонение (σ), коэффициент вариации (V) и коэффициент точности (p), при расчетах использовалась компьютерная программа Excel. Жизненное состояние ценопопуляций подрост определяли по методике В.А. Алексеева [29]. Количественные значения показателей жизненного состояния ценопопуляций находили по формуле:

$$C = 100 \cdot n_1 + 70 \cdot n_2 + 30 \cdot n_3 / N,$$

где C – показатель жизненного состояния подрост в момент наблюдения, n_1 – число здоровых; n_2 – число ослабленных; n_3 – число усыхающих особей подрост на 1 га, N – общее количество подрост, включая сухой. При $C = 80$ –100% ценопопуляции считаются здоровыми, при 50–79% – ослабленными, при 20–49% – сильно ослабленными и при 19% и ниже – полностью разрушенными.

Возобновительную роль пожаров оценивали по отношению количества подрост на гари к количеству подрост под пологом древостоя:

$$V = N_1 / N_2,$$

где V – возобновительная роль пожара; N_1 – количество подрост на гари; N_2 – количество подрост под пологом древостоя (контроль).

Результаты исследования и обсуждение

При благоприятных условиях (почвенно-климатические условия, наличие обсеменителей) заселение лиственницы начинается сразу после пожара. На 1-летней гари количество однолетних всходов может достигать 52,1 тыс. экз./га (рис. 1). На 6-летней гари количество достигает 119,9 тыс. экз./га. Из них большая часть 3–4-летних лиственниц по состоянию здоровые и не достигают 10 см.

К 16 годам после пожара на гари начинается изреживание лиственницы, в связи с чем общее количество подрост лиственницы снижается до 20,9 тыс. экз./га (рис. 2). Кроме лиственницы на гари много березы, кустарниковых ив. Корневая конкуренция с травяно-кустарничковым покровом, ухудшение условий среды обитания сильно сказываются на уменьшении количества и качества подрост. Увеличивается количество ослабленного подрост лиственницы, их численность может достигать до 0,8 тыс. экз./га.

Гарь слабо заселяется новыми всходами (количество 3,6 тыс. экз./га), господствуют 12–15-летний подрост лиственницы высотой от 100 до 300 см (количество 7,6 тыс. экз./га) и 3–6 (7)-летние лиственницы высотой от 10 до 50 см. Начинается дифференциация лиственницы по высоте.

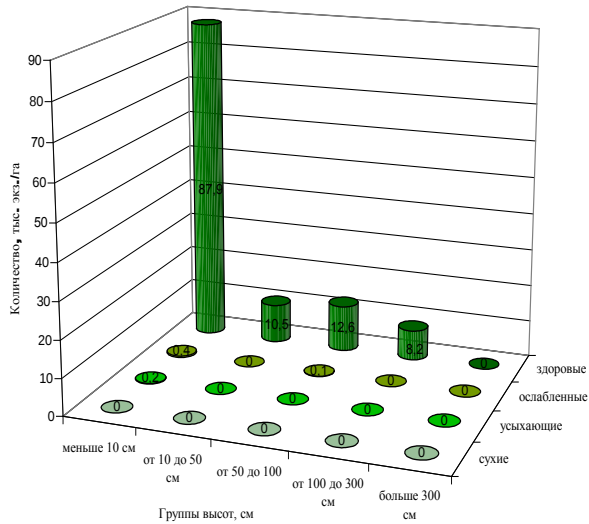


Рис. 1. Распределение подроста по жизненному состоянию на 6-летней гарь

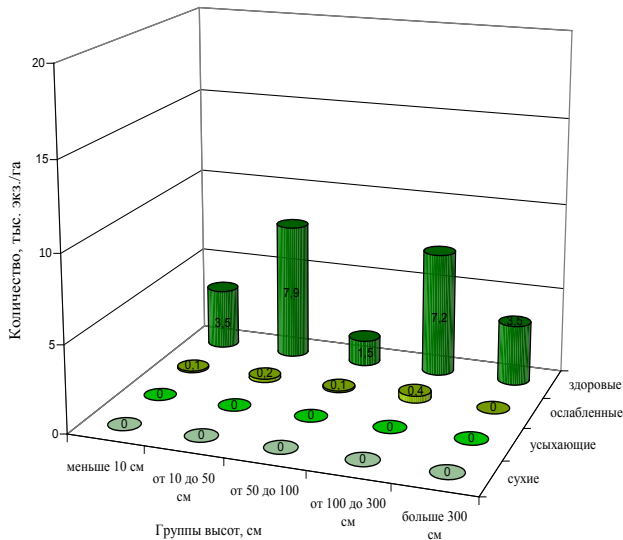


Рис. 2. Распределение подроста по жизненному состоянию на 16-летней гарь

В структуре формирующейся растительности 20-летней гари основную роль играет подрост лиственницы высотой от 100 см и выше (количество 13,3 тыс. экз./га). Доля всходов высотой меньше 10 см значительно уменьшается. Продолжается дифференциация лиственницы по высоте, за счет чего заметно увеличивается количество ослабленного (2 тыс. экз./га), усыхающего и сухого (по 1 тыс. экз./га) подроста лиственницы (рис. 3).

На поздних стадиях сукцессии, в частности к 65 годам после пожара, постепенно заканчивается дифференциация лиственницы по высоте (рис. 4). Здесь господствуют лиственницы высотой больше 300 см. Картину происходящего процесса изреживания показывает количество сухих и усыхающих лиственниц, которое доходит до 3,3 тыс. экз./га из общего количества подроста 8,3 тыс. экз./га. На этой стадии сильно сокращается численность новых всходов лиственницы. Количественный и качественный состав возобновления зависит от погодных условий и успешности семеношения лиственницы в конкретные годы. Например, последние 2–3 года в районе исследования устоялась дождливая погода, которая улучшила условия для лесовозобновления. Всего было насчитано около 2,2 тыс. экз./га 1–2-летних всходов лиственницы.

На контрольном участке – лиственничнике брусничном – количество подроста составило 4,1 тыс. экз./га (рис. 5). Так же как и на 65-летней гари, здесь количество новых всходов велико, достигает 2,1 тыс. экз./га, что объясняется увеличением влажности почвы в лесу и, соответственно, уменьшением конкуренции за влагу с другими растениями. Но имеются также сухие, погибшие (0,1 тыс. экз./га) всходы.

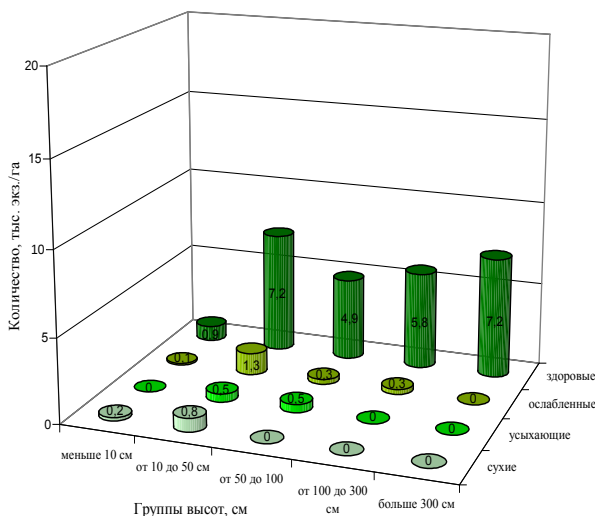


Рис. 3. Распределение подроста по жизненному состоянию на 20-летней гари

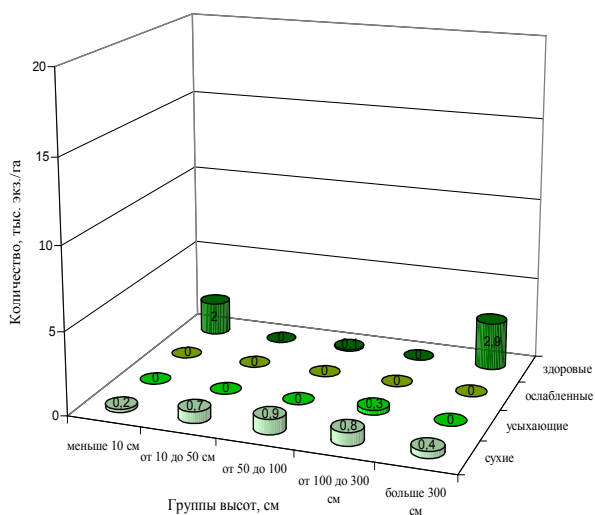


Рис. 4. Распределение подроста по жизненному состоянию на 65-летней гари

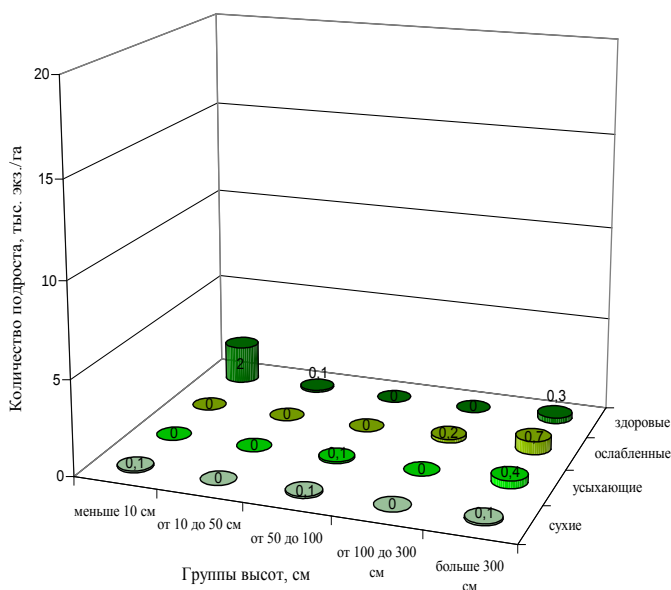


Рис. 5. Распределение подроста по жизненному состоянию в контроле (лиственничнике брусничном)

В итоге получилась такая картина распределения подроста на гарях по жизненному состоянию (рис. 6). На молодых и средневозрастных гарях доля здорового подроста больше 87–100%, на поздних стадиях сукцессии и в лесу 59–60% всех лиственниц занимают здоровые. Начиная с 16–20-летнего

возраста популяция начинает ослабевать, увеличивается доля ослабленных (4–7%), усыхающих (0–4%) и сухих (0–36%) лиственниц.

Количество и качество (жизненное состояние) подростка являются индикаторами экологических условий экотопа. Естественное послепожарное возобновление лиственницы на гарях при благоприятных условиях проходит вполне успешно, что связано с биологическими особенностями самой лиственницы: она неприхотлива к почвенным условиям, растет на сухих и сырых местах и благодаря поверхностной корневой системе имеет высокую конкурентоспособность. В табл. 1 даны средние значения количества подростка на разных участках с распределением на группы по жизненному состоянию, где видно постепенное изменение в сторону стабилизации количества подростка по сукцессионному времени. Статистическая обработка данных показала, что коэффициент вариации (V) составляет в среднем 3,2% (0,4–22,37%), при этом показатель точности $< 1\%$, что свидетельствует о достаточной степени точности обработанных материалов.

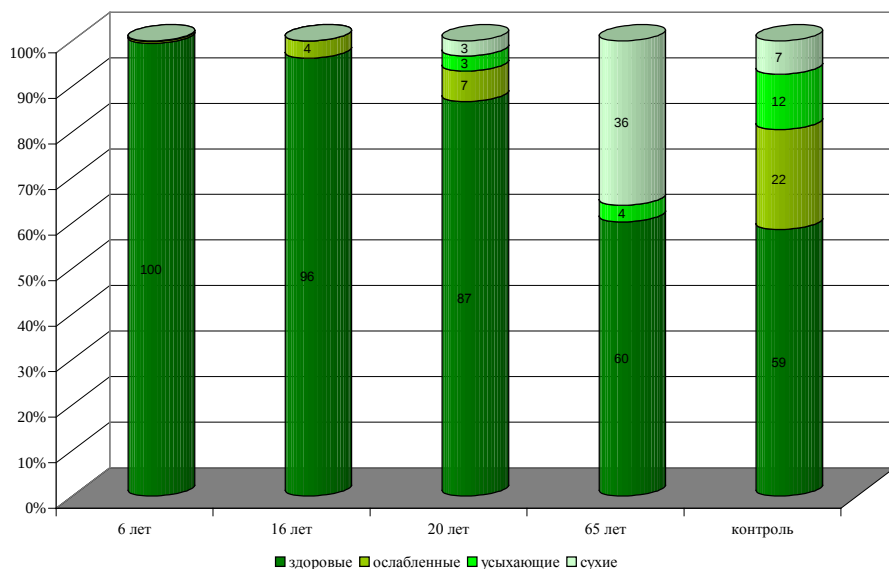


Рис. 6. Распределение подростка по жизненному состоянию на разновозрастных гарях и в контроле (лиственничнике брусничном)

Рассчитанные индексы состояния ценопопуляции показывают, что возобновившиеся после пожаров популяции лиственницы оцениваются как здоровые и имеют индекс 87,1–99,9% (табл. 2).

Т а б л и ц а 1

Распределение подроста лиственницы по жизненному состоянию

Возраст гари, лет	Количество подроста, тыс. экз./га	Распределение по состоянию, тыс. экз./га											
		здоровые			ослабленные			усыхающие			сухие		
		M±m	σ	V, %	M±m	σ	V, %	M±m	σ	V, %	M±m	σ	V, %
6	119,7	119,2 ±0,037	22,37	2,44	0,5 ±0,001	0,8	7,05	0,20± 0,001	0,4	4,89	0	0	0
16	20,9	20,1 ±0,012	7,79	4,67	0,8 ±0,002	1,03	15,48	0	0	0	0	0	0
20	30,0	26 ±0,014	9,31	5,52	2 ±0,003	1,65	11,86	1 ±0,001	0,89	4,45	1 ±0,002	1,11	6,001
65	8,3	5,0 ±0,005	2,94	6,82	0	0	0	0,3 ±0,001	0,43	3,59	3,0 ±0,027	16,57	81,51
Контроль	4,1	2,4 ±0,005	3,18	13,99	0,9 ±0,002	0,96	5,48	0,5 ±0,001	0,59	6,89	0,3 ±0,002	0,98	14,69

Примечание. $M \pm m$ – среднее значение и ошибка среднего значения, σ – среднеквадратичное отклонение, V – коэффициент вариации.

Т а б л и ц а 2

Роль пожара в возобновлении лесов Центральной Якутии

Возраст гари, лет	Количество подроста, тыс. экз./га	Индекс состояния ценопопуляции, %	Категория жизненного состояния ценопопуляции	Коэффициент эффективности пожара
6	119,7	99,9	Здоровая	49,8
16	20,9	96,4	Здоровая	8,7
20	30,0	87,1	Здоровая	7,3
65	8,3	61,3	Ослабленная	3,5
Контроль	4,1	77,6	Ослабленная	

На контроле и на «старой» гари ценопопуляции характеризуются как ослабленные, индекс варьирует от 61,3 до 77,6%. Из этих данных видно, что состояние послепожарной ценопопуляции лучше, чем под пологом леса. Количество подроста на гари больше (8,3–119,7 тыс. экз./га), чем под пологом леса (4,1 тыс. экз./га). Следовательно, коэффициент эффективности пожара ниже на старой гари (3,5) и выше на молодой гари (49,8).

Заключение

Таким образом, исследования возобновления лиственницы показывают, что в послепожарных сообществах лиственница возобновляется успешнее, чем под пологом леса. Всходы и подрост по состоянию характеризуются

как здоровые, доля ослабленных и усыхающих увеличивается по сукцессионному времени. Жизненное состояние послепожарных ценопопуляций лиственницы (индекс состояния ценопопуляции 98,1–99,9%) по сравнению с ценопопуляциями под пологом леса (77,6%) качественное, здоровое.

Литература

1. Цветков П.А. Лесовозобновительная роль пожаров в северотаежных лиственничниках Средней Сибири // Сиб. экол. журн. 1996. № 1. С. 61–66.
2. Цветков П.А. Пирогенные свойства древесных пород // Лесоведение. 2011. № 2. С. 25–31.
3. Санников С.Н. Лесные пожары как фактор преобразования структуры, возобновления и эволюции биогеоценоза // Экология. 1981. № 6. С. 23–33.
4. Санников С.Н. Экология и география естественного возобновления сосны обыкновенной. М. : Наука, 1992. 262 с.
5. Щербаков И.П., Забелин О.Ф., Карпель Б.А. и др. Лесные пожары в Якутии и их влияние на природу леса. Новосибирск : Наука, 1979. 224 с.
6. Абаимов А.П., Прокушкин С.Г., Зырянова О.А. Эколого-фитоценотическая оценка воздействия пожаров на леса криолитозоны Средней Сибири // Сиб. экол. журн. 1996. № 1. С. 51–60.
7. Фураев В.В. Роль пожаров в процессе лесообразования. Новосибирск : Наука, СИФ, 1996. 252 с.
8. Уткин А.И. Леса Центральной Якутии. М. : Наука, 1965. 208 с.
9. Аболин Р.И. Геоботаническое и почвенное описание Лено-Вилюйской равнины // Тр. комис. по изучению ЯАССР. Л. : Изд-во АН СССР, 1929. Т. 10. 378 с.
10. Дробов В.П. Краткий очерк растительности Лено-Алданского плато // Материалы комиссии по изучению ЯАССР. Л., 1927. Вып. 8. 85 с.
11. Дробов В.П. Растительность в районе Якутско-Усть-Майского тракта Якутской области и округа // Тр. почв.-бот. экспедиций по исследованию колонизационных ресурсов Азиатской России. Бот. исследования 1912 г. Петроград, 1914. Ч. 2, вып. 1. 251 с.
12. Красюк А.А. Почвы Ленско-Амгинского водораздела (Якутский округ) // Материалы комиссии по изучению ЯАССР. Л. : Изд-во АН СССР, 1927. Вып. VI. 178 с.
13. Городков Б.Н. Вечная мерзлота и растительность // Вечная мерзлота : материалы КЕПС. № 80. Л. : Изд-во АН СССР, 1930. С. 135–137.
14. Николаев А.Н. Дендрохронологические исследования послепожарной реакции древесных пород в Центральной Якутии // Известия Самарского научного центра РАН. 2010. Т. 12, № 1 (3). С. 888–891.
15. Николаев А.Н., Исаев А.П., Габышева Л.П. Дендрохронологические исследования пожаров на территории стационара Нелегер в Центральной Якутии // Наука и образование. 2012. № 4 (68). С. 40–44.
16. Исаев А.П., Протопопова В.В., Такахаши К. История лесных пожаров в окрестностях г. Якутска // Проблемы изучения растительного покрова Якутии / под ред. В.Е. Кардашевской, М.И. Ефимовой. Якутск : Сахаполиграфиздат, 2004. С. 121–126.
17. Щербаков И.П. Лесной покров Северо-Востока СССР. Новосибирск : Наука, 1975. 344 с.
18. Курбатский Н.П. Проблема лесных пожаров // Возникновение лесных пожаров / под ред. Н.П. Курбатского. М. : Наука, 1964. С. 5–60.
19. Бузыкин А.И. Влияние низовых пожаров на сосновые леса Среднего Приангарья // Охрана лесных ресурсов Сибири. Красноярск, 1975. С. 141–153.

20. Абаимов А.П., Прокушкин С.Г., Зырянова О.А., Каверзина Л.Н. Особенности формирования и функционирования лиственничных лесов на мерзлотных почвах // Лесоведение. 1997. № 5. С. 13–23.
21. Абаимов А.П. Леса мерзлотной зоны Сибири: региональные особенности, природная и антропогенная динамика // Структурно-функциональная организация и динамика лесов / под ред. Е.А. Ваганова. Красноярск : ИЛ им. В.Н. Сукачева СО РАН, 2004. С. 244–245.
22. Яковлев А.П. Пожароопасность сосновых и лиственничных лесов // Лесные пожары в Якутии и их влияние на природу леса / под ред. И.П. Щербакова. Новосибирск : Наука, 1979. С. 195–212.
23. Чугунова Р.В. Гари Южной Якутии и их лесовозобновление // Леса Южной Якутии / под ред Л.К. Позднякова. М. : Наука, 1964. С. 110–143.
24. Поздняков Л.К. Даурская лиственница. М. : Наука, 1975. 312 с.
25. Исаев А.П. Лиственничные леса среднетаежной подзоны Якутии и лесовозобновление на вырубках : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Красноярск, 1993. 21 с.
26. Цветков П.А. Адаптация лиственницы Гмелина к пожарам в северной тайге Средней Сибири // Сиб. экол. журн. 2005. № 1. С. 117–129.
27. Цветков П.А. Пирогитность лиственницы Гмелина с позиций жизненных стратегий // Экология. 2004. № 4. С. 259–265.
28. Побединский А.В. Изучение лесовосстановительных процессов. М. : Наука, 1966. 60 с.
29. Алексеев В.А. Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоев // Лесоведение. 1989. № 4. С. 51–57.

Поступила в редакцию 21.11.2013 г.

Габышева Людмила Петровна – канд. биол. наук, н.с. лаборатории мерзлотного лесоведения Института биологических проблем криолитозоны СО РАН; с.н.с. кафедры ботаники и мерзлотного лесоведения Института естественных наук Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова (г. Якутск, Россия). E-mail: llp77@yandex.ru

Tomsk State University Journal of Biology. 2014. № 1 (25). P. 154–166

doi: 10.17223/19988591/25/11

Lyudmila P. Gabysheva

Laboratory of Forest Science, Institute of Biological Problems of Cryolithozone, Siberian Department of the Russian Academy of Sciences, Yakutsk, Russian Federation; Department of the Botany and Cryosolic Dendrology, Institute of Natural Sciences, North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russian Federation. E-mail: llp77@yandex.ru

Reforestation role of fire in Central Yakutia

The article brings the results of research concerning the role of forest fires in Central Yakutia for reforestation. Natural specifics of Central Yakutia, i.e. combination of permafrost with insufficient atmospheric moistening and arid climate, caused natural reasons for emergence and spreading of fire forests. Central areas of Yakutia, as compared to other regions, were characterized by high fire rating of forests for a long historic time, which is connected not only with arid conditions and high population density but also with economic trends in these regions. In recent years, the human role in appearance and spreading of fires is increasing. Information on the fire impact on forest vegetation has been brought in the publications of researchers since the early 20th century, where they indicate that larch role increases in the post-fire period and there is a relatively good revegetation of the original type of forests. It is thought that supremacy of larch forests in

NE Asia is conditioned, foremost, by biological species features obtained in the process of evolution and is one of the mechanisms for decreasing the effect of fire influence on natural ecosystems. Larch forests are mostly of pyrogenic origin, which is proved by very good larch regeneration after fires. Research made by authors from different regions (Scherbakov et al, 1979; Tsvetkov, 1993, 2004 et al) evidence that the larch has the properties of “pyrophyteness”. Studies related to the role of fire in reforestation of Central Yakutia are conducted near Matta vil., Megino-Kangassky Ulus. Burn-sites of different post-fire periods (6, 16, 20, 65yrs) served the targets of the research; the larch with growing *Vaccinium vitis-idaea* was a control site. Natural reforestation was carried out by tried and tested practices according to P.A. Tsvetkov (2004), A.V. Pobedinsky (1966) with laying 25 plots for each burned-out site. The undergrowth was classified according to groups of heights (lower than 10, 10 to 50, 50 to 100, 100 to 300 and higher than 300 cm) including vitality (vigorous, weakened, drying out, dry wood). DP was performed according to V.A. Alexeyev (1989) and P.A. Tsvetkov (2004) techniques in Excel computer program. It has been established that the share of sound undergrowth of larch makes 87–100% at early and mid-stages of succession and the one of all larch trees is 59–60% at late stages of succession and in the forest. Starting from the age of 16–20 the proportion of frail, wilt and dry larch trees increases. The vital power of post-fire larch cenopopulations (with vitality index 98.1–99.9%) is more wholesome and sound as compared to young larches growing in the forest (77.6%).

Key words: forest fires; burned areas; larch; reforestation; vital state; cenopopulation.

Received November 21, 2013

References

1. Tsvetkov P.A. Lesovozobnovitel'naya rol' pozharov v severotaezhnykh listvennichnikakh Sredney Sibiri. Sib. ekol. zhurn. 1996. No 1. PP. 61-66. [Tsvetkov PA. Reforestation role of fires in north-taiga larch woods of Middle Siberia. *Siberian Journal of Ecology*. 1996;1:61-66.] In Russian, English Summary
2. Tsvetkov P.A. Pirogennyye svoystva drevesnykh porod. Lesovedenie. 2011. No 2. PP. 25-31. [Tsvetkov PA. Pyrogenic characteristics of tree species. *Lesovedenie*. 2011;2:25-31.]
3. Sannikov S.N. Lesnye pozhary kak faktor preobrazovaniya struktury, vozobnovleniya i evolyutsii biogeotsenoza. Ekologiya. 1981. No 6. PP. 23-33. [Sannikov SN. Forest fires as a factor of biogeocenosis structure, regeneration and evolution transformation. *Ekologiya*. 1981;6:23-33.] In Russian
4. Sannikov S.N. Ekologiya i geografiya estestvennogo vozobnovleniya sosny obyknovennoy. Moscow: Nauka, 1992. 262 pp. [Sannikov SN. Ecology and geography of Scots pine natural regeneration. Moscow: Nauka; 1992. 262 p.] In Russian
5. Shcherbakov I.P., Zabelin O.F., Karpel' B.A. i dr. Lesnye pozhary v Yakutii i ikh vliyanie na prirodu lesa. Novosibirsk: Nauka, 1979. 224 pp. [Shcherbakov IP, Zabelin OF, Karpel BA, et al. Forest fires in Yakutia and their influence on forest nature. Novosibirsk: Nauka Siberian branch; 1979. 224 p.] In Russian
6. Abaimov A.P., Prokushkin S.G., Zyryanova O.A. Ekologo-fitotsenoticheskaya otsenka vozdeystviya pozharov na lesa kriolitozony Sredney Sibiri. Sib. ekol. zhurn. 1996. No 1. PP. 51-60. [Abaimov AP, Prokushkin SG, Zyryanova OA. Ecological and phytocenotic estimation of fires impact on criolitozone forests of Middle Siberia. *Siberian Journal of Ecology*. 1996;1:51-60.] In Russian, English Summary
7. Furyaev V.V. Rol' pozharov v protsesse lesoobrazovaniya. Novosibirsk: Nauka, SIF, 1996. 252 pp. [Furyaev VV. The role of fires in forest formation. Novosibirsk: Nauka, Scientific Information Department; 1996. 252 p.] In Russian

8. Utkin A.I. Lesa Tsentral'noy Yakutii. M.: Nauka, 1965. 208 pp. [Utkin A.I. Forests of Central Yakutia. Moscow: Nauka; 1965. 208 p.] In Russian
9. Abolin R.I. Geobotanicheskoe i pochvennoe opisanie Leno-Vilyuyskoy ravniny. Tr. komis. po izucheniyu YaASSR. L. : Izd-vo AN SSSR, 1929. T. 10. 378 pp. [Abolin R.I. Geobotanical and soil description of Lena-Viluyiskaya plain. *Proceedings of the Commission for investigating YASSR*. Leningrad: Academy of Sciences of the USSR; 1929. Vol. 10. 378 p.] In Russian
10. Drobov V.P. Kratkiy ocherk rastitel'nosti Leno-Aldanskogo plato. Materialy komissii po izucheniyu YaASSR. L.: 1927. Vyp. 8. 85 pp. [Drobov V.P. A brief sketch of the Lena-Aldan plateau vegetation. *Proceedings of the Commission for investigating YASSR*. Leningrad: 1927. Vol. 8. 85 p.] In Russian
11. Drobov V.P. Rastitel'nost' v rayone Yakutsko-Ust'-Mayskogo trakta Yakutskoy oblasti i okruga. Tr. pochv.-bot. ekspeditsiy po issledovaniyu kolonizatsionnykh resursov Aziatskoy Rossii. Bot. issledovaniya 1912 g. Petrograd, 1914. Ch. 2, vyp. 1. 251 pp. [Drobov V.P. Vegetation in the area of Yakut-Ust-Maya tract of Yakutsk oblast and district. *Proceedings of soil-botanical expeditions for investigating colonisation resources of Asian Russia. Botanical investigations 1912*. Petrograd: 1914. 2(1). 251 p.] In Russian
12. Krasnyuk A.A. Pochvy Lensko-Amginskogo vodorazдела (Yakutskiy okrug). Materialy komissii po izucheniyu YaASSR. L.: Izd-vo AN SSSR, 1927. Vyp. VI. 178 pp. [Krasnyuk A.A. Soils of the Lena-Amga watershed (Yakutsk district). *Proceedings of the Commission for investigating YASSR*. Leningrad: Academy of Sciences of the USSR; 1927. Vol. VI. 178 p.] In Russian
13. Gorodkov B.N. Vechnaya merzlota i rastitel'nost'. Vechnaya merzlota: materialy KEPS. No 80. L.: Izd-vo AN SSSR, 1930. PP. 135-137. [Gorodkov B.N. Permafrost and vegetation. *Permafrost*. Leningrad: Academy of Sciences of the USSR, 1930. Vol. 80. p. 135-137.] In Russian
14. Nikolaev A.N. Dendrokronologicheskie issledovaniya poslepozharной reaktsii drevesnykh porod v Tsentral'noy Yakutii. Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN. 2010. Vol. 12, No 1(3). PP. 888-891. [Nikolaev A.N. Dendrochronological investigations of tree species post-fire reaction in Central Yakutia. *Proceedings of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2010;12/1(3): 888-891.] In Russian
15. Nikolaev A.N., Isaev A.P., Gabysheva L.P. Dendrokronologicheskie issledovaniya pozharov na territorii statsionara Neleger v Tsentral'noy Yakutii. Nauka i obrazovanie. 2012. No 4 (68). PP. 40-44. [Nikolaev A.N., Isaev A.P., Gabysheva L.P. Dendrochronological investigations of fires on the territory of Neleger station in Central Yakutia. *Nauka i obrazovanie*. 2012;4(68):40-44.] In Russian
16. Isaev A.P., Protopopova V.V., Takakhashi K. Istoriya lesnykh pozharov v okrestnostyakh g. Yakutsk. Problemy izucheniya rastitel'nogo pokrova Yakutii / pod red. V.E. Kardashevskoy, M.I. Efimovoy. Yakutsk: Sakhapoligrafizdat, 2004. PP. 121-126. [Isaev A.P., Protopopova V.V., Takakhashi K. History of forest fires in the suburbs of the city of Yakutsk. In: *Problems of investigating Yakutia vegetation cover* / Eds. V.E. Kardashevskaya, M.I. Efimova. Yakutsk: Sakhapoligrafizdat; 2004. p. 121-126.] In Russian
17. Shcherbakov I.P. Lesnoy pokrov Severo-Vostoka SSSR. Novosibirsk: Nauka, 1975. 344 pp. [Shcherbakov I.P. Forest cover of the USSR North-East. Novosibirsk: Nauka; 1975. 344 p.] In Russian
18. Kurbatskiy N.P. Problema lesnykh pozharov. Vozniknovenie lesnykh pozharov / pod red. N.P. Kurbatskogo. M.: Nauka, 1964. PP. 5-60. [Kurbatskiy N.P. The problem of forest fires. *Fire breaking-out* / Ed. N.P. Kurbatskiy. Moscow: Nauka; 1964. p. 5-60.] In Russian
19. Buzykin A.I. Vliyaniye nizovykh pozharov na osnovnye lesa Srednego Priangar'ya. Okhrana lesnykh resursov Sibiri. Krasnoyarsk, 1975. PP. 141-153. [Buzykin A.I. Ground fire impact on pine forests of Middle Angara region. *Protection of forest resources in Siberia*. Krasnoyarsk: 1975. p. 141-153.] In Russian

20. Abaimov A.P., Prokushkin S.G., Zyryanova O.A., Kaverzina L.N. Osobennosti formirovaniya i funktsionirovaniya listvennichnykh lesov na merzlotnykh pochvakh. *Lesovedenie*. 1997. No 5. PP. 13-23. [Abaimov AP, Prokushkin SG, Zyryanova OA, Kaverzina LN. Features of larch woods formation and functioning on permafrost soils. *Lesovedenie*. 1997;5:13-23.] In Russian
21. Abaimov A.P. Lesa merzlotnoy zony Sibiri: regional'nye osobennosti, prirodnyaya i antropogennaya dinamika. Strukturno-funktsional'naya organizatsiya i dinamika lesov / pod red E.A. Vaganova. Krasnoyarsk: IL im. V.N. Sukacheva SO RAN, 2004. PP. 244-245. [Abaimov AP. Permafrost zone forests of Siberia: regional features, natural and anthropogenic dynamics. *Structural and functional organisation and dynamics of forests* / Ed. E.A. Vaganov. Krasnoyarsk: V.N. Sukachev Institute of Forest, Siberian branch of the Russian Academy of Sciences; 2004. p. 244-245.] In Russian
22. Yakovlev A.P. Pozharoopasnost' sosnovykh i listvennichnykh lesov. Lesnye pozhary v Yakutii i ikh vliyaniye na prirodu lesa / pod red. I.P. Shcherbakova. Novosibirsk : Nauka, 1979. S. 195–212. [Yakovlev A.P. Inflammability of pine and larch woods. *Forest fires in Yakutia and their influence on forest nature* / Ed. I.P. Shcherbakov. Novosibirsk: Nauka; 1979. p. 195-212.] In Russian
23. Chugunova R.V. Gari Yuzhnoy Yakutii i ikh lesovozobnovlenie. Lesa Yuzhnoy Yakutii / pod red L.K. Pozdnyakova. M.: Nauka, 1964. PP. 110-143. [Chugunova RV. Burnt places of South Yakutia and reforestation. *Forests of South Yakutia* / Ed. L.K. Pozdnyakov. Moscow: Nauka; 1964. p. 110-143.] In Russian
24. Pozdnyakov L.K. Daurskaya listvennitsa. M.: Nauka, 1975. 312 pp. [Pozdnyakov LK. Dahurian larch. Moscow: Nauka; 1975. 312 p.] In Russian
25. Isaev A.P. Listvennichnye lesa srednetaezhnoy podzony Yakutii i lesovozobnovlenie na vyrubkakh : avtoref. dis. ... kand. s.-kh. nauk. Krasnoyarsk, 1993. 21 pp. [Isaev AP. Larch woods of Yakutia middle-taiga subzone and reforestation on cut-over lands [CandSci Dissertation abstract]. Krasnoyarsk: V.N. Sukachev Institute of forest; 1993. 21 pp.] In Russian
26. Tsvetkov P.A. Adaptatsiya listvennitsy Gmelina k pozharam v severnoy tayge Sredney Sibiri. Sib. ekol. zhurn. 2005. No 1. PP. 117-129. [Tsvetkov PA. Dahurian larch adaptation to forest fires in the Northern taiga of Middle Siberia. *Siberian Journal of Ecology*. 2005;1:117-129.] In Russian
27. Tsvetkov P.A. Pirofitnost' listvennitsy Gmelina s pozitsiy zhiznennykh strategiy. *Ekologiya*. 2004. No 4. PP. 259-265. [Tsvetkov PA. Dahurian larch pyrogenic characteristics from the standpoint of life strategies. *Ekologiya*. 2004;4:259-265.] In Russian
28. Pobedinskiy A.V. Izuchenie lesovosstanovitel'nykh protsessov. M.: Nauka, 1966. 60 pp. [Pobedinskiy AV. Investigation of reforestation processes. Moscow: Nauka; 1966. 60 p.] In Russian
29. Alekseev V.A. Diagnostika zhiznennogo sostoyaniya derev'ev i drevostoev. *Lesovedenie*. 1989. No 4. PP. 51-57. [Alekseev VA. Diagnostics of trees and timber stands viability. *Lesovedenie*. 1989;4:51-57.] In Russian

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.1

doi: 10.17223/19988591/25/12

**А.В. Карташов, П.П. Пашковский,
Ю.В. Иванов, А.И. Иванова, Ю.В. Савочкин**

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва, Россия

Морфогенез ассимилирующих органов семян сосны обыкновенной и ели европейской при действии красного и синего света

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные
и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 гг.»
(соглашение № 8586).

Проведены сравнительные исследования влияния электролюминесцентного света красного (660 нм) и синего (465 нм) спектра на рост и развитие ассимилирующих органов 6-недельных семян сосны обыкновенной и ели европейской. Выполнены морфометрические и анатомические исследования семядолей и хвои, показавшие, что красный свет оказывает сходное стимулирующее воздействие на растения сосны и ели, а синий свет обнаруживает существенные различия в реакции ассимилирующих органов. Видоспецифической особенностью действия красного света было очевидное различие в реакции верхушек побегов сосны и ели, заключающееся в стимуляции или ингибировании образования новых хвоинок. Анализ основных фотосинтетических пигментов показал отсутствие заметных изменений качественного состава их в хвое семян при воздействии красного или синего видов света. При этом была обнаружена тенденция к снижению содержания пигментов в хвое при выращивании семян сосны и ели под красным светом. Предполагается, что обнаруженное различие реакций семян сосны и ели на красный и синий свет связано с особенностями фоторегуляторных процессов и адаптационного потенциала исследуемых растений, которые формировались при приспособлении этих видов к условиям произрастания.

Ключевые слова: светоизлучающий диод (light-emitting diode, LED); фотоморфогенез; семядоли; хвоя; *Pinus sylvestris* L.; *Picea abies* (L.) H. Karst.

Введение

Свет не только является источником энергии для фотосинтеза растений, но и оказывает комплексное действие на их морфогенез, начиная с прорастания семян и заканчивая плодоношением, листопадом и старением. Растения способны распознавать интенсивность светового потока, его продолжитель-

ность, спектральный состав и плоскость поляризации [1]. Световое излучение может оказывать как позитивное (увеличение скорости роста, образование хлоропластов), так и повреждающее действие (образование активных форм кислорода, разрушение ДНК). Непостоянность условий освещения в течение онтогенеза растения сделало необходимым формирование у него сложной фоторегуляторной сети, позволяющей сохранять высокие темпы ассимиляции при различном качестве света и минимизировать его повреждающее действие.

Определенные участки спектра света играют особую роль в жизни растений. К ним относятся синий, красный и дальний красный диапазоны. Включение и / или исключение одного или нескольких из них приводит к значительному изменению процессов роста и развития растений. Ранее рядом исследователей изучалось влияние длинноволновых красных [2], коротковолновых синих [3] и зеленых [4] видов света на водоросли и цветковые растения. Была показана важная ассимиляционная и регуляторная роль света [5] в изменении активности белков мембран хлоропластов и дифференциальной экспрессии связанных с этими процессами генов фоторецепции и гормонального сигналинга [6]. Однако анализ научной литературы свидетельствует о наличии различных экспериментальных данных о последствиях воздействия сходного по качеству света на развитие видов растений, даже внутри одного семейства [7]. В экспериментах с красным и синим светом были зафиксированы значительные морфофизиологические и биохимические эффекты воздействия света на растения. Действие синего света приводило к снижению сухой биомассы, содержания хлорофиллов, но к увеличению содержания нуклеиновых кислот [8]. Синий свет вызывал миниатюризацию листьев с одновременным увеличением числа устьиц и уменьшением их среднего размера [9]. При действии красного света черешки листьев вытягивались, число устьиц снижалось, а клетки изменяли свою форму, становились более округлыми [10]. В клетках этих растений изменялся размер вакуолей, а также локализация и размер хлоропластов [11], при этом сухая масса растений на красном узкополосном свете была больше, чем у контрольных растений, выросших под белым люминесцентным светом [12].

Синий и красный виды света, сильно различающиеся по энергии излучения, воспринимаются двумя разными светочувствительными системами, которые имеют разные сигнальные пути. К таким сигнальным системам относятся фоторецепторы: фитохромы, адсорбирующие красный свет, криптохромы и фототропины, чувствительные к синей области спектра.

Исследования светозависимых процессов позволили предположить существование нескольких различных типов ответных реакций растений на воздействие красного света: VLFRs (very low fluence responses, ответная реакция в пределах $0,1\text{--}1\text{ }\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ света), LFRs (low fluence responses, ответная реакция в пределах $1\text{--}1\text{ }000\text{ }\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$) и HIRs (high-irradiance responses, от-

ветная реакция от $1000 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{с}^{-1}$) [13]. Наиболее распространенными физиологическими эффектами LFRs растений, которые стимулируются красным светом, являются прорастание семян, элонгации стебля, листьев и перехода к цветению [13]. При изменении соотношения в пользу дальнего красного (ДК) света в зависимости от своей ответной реакции LFRs растения подразделяются на две подгруппы: первая подгруппа отличается короткодневной ответной реакцией на воздействие ДК света (наблюдается цветение), а у второй подгруппы наблюдается синдром избегания тени, который является приспособительным механизмом для определения каких-либо находящихся вблизи предметов или соседних растений.

Таким образом, убедительные доказательства регуляторной роли красного и синего света для растений указывают на наличие значительных возможностей управления их ростом и развитием через качество получаемого света. Поэтому исследование перспектив использования узкополосного света в научном и практическом растениеводстве представляется авторам важной задачей биофизики и физиологии растений. Для изучения фотоморфогенеза растений при действии света различного спектрального состава, а также механизмов восприятия и передачи световых сигналов используются различные опытные системы, основанные на выделении нужного спектра света широкополосных светоизлучающих приборов (различные виды ламп) или на применении узкополосных источников света (светодиоды и лазеры). Развитие полупроводниковых технологий привело к созданию новых узкополосных источников света – сверхъярких светодиодов с пиками излучения в строго определенных областях спектра [14].

Несмотря на значительный прогресс в области изучения влияния красного и синего света на цветковые травянистые растения, на сегодняшний день недостаточно полно изучены реакции на данные виды света древесных и, тем более, хвойных растений. Литературные данные свидетельствуют об участии фитохромов в реакции на свет и темноту проростков сосны, влиянии на морфологию растений и активность важнейших ферментов, а также о фотопериодической регуляции покоя терминальных почек и длины хвои [15–17]. Популяции хвойных растений имеют широкий ареал обитания и, как следствие, способны адаптироваться к освещению со значительными качественными и количественными различиями [18, 19]. В отличие от покрытосеменных растений, хвойные способны к синтезу хлорофилла и экспрессии генов фотосинтеза в темноте [20]. Известно также, что фитохромы хвойных растений представлены другими, отличными от покрытосеменных минорными формами (фитохром N, фитохром O, фитохром P) [21]. Среди хвойных представлены растения, различающиеся по требовательности к свету, например, сосна обыкновенная – светолюбивый обитатель открытых пространств (гелиофит), а ель европейская – теневыносливый вид (факультативный гелиофит), предпочитающий полог леса на начальных этапах онтогенеза. Поэтому, несмотря на недостаточную изученность фоторегуляции

у хвойных растений, можно утверждать, что они не только обладают большим разнообразием реакций на красный и синий свет в сравнении с цветковыми растениями, но и, возможно, имеют дополнительные пути светового сингалинга. В связи с этим целью настоящей работы стало исследование особенностей роста и развития ассимилирующих органов: семядолей и хвои 6-недельных сеянцев сосны обыкновенной и ели европейской, выращенных в условиях освещения узкополосным монохроматическим светом.

Материалы и методики исследования

Семена сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и ели европейской (*Picea abies* (L.) Н. Karst.) сбора 2010 г. предоставлены Учебно-опытным лесхозом Брянской государственной инженерно-технологической академии. Проращивание семян проводили в климатической камере при 16-часовом световом периоде в условиях водной культуры [22, 23].

Опытные варианты сразу после посева помещали в камеры с освещением от светодиодных матриц мощностью 50 Вт из арсенида-фосфида галлия и нитрида индия-галлия, излучающих свет в красной (660 нм) и синей (465 нм) областях спектра и выровненных по количеству падающих квантов ($150 \pm 30 \text{ мкЭ/м}^2 \cdot \text{с}^{-1}$). В качестве контроля использовали вариант, освещаемый полихроматическим белым светом от люминесцентных ламп холодного дневного света OSRAM L36W/765 ($150 \pm 30 \text{ мкЭ/м}^2 \cdot \text{с}^{-1}$). С момента сброса семенной кожуры и разворачивания семядолей сеянцы выращивали на специально разработанной питательной среде [22, 23]. Эксперимент заканчивали по достижении сеянцами возраста 6 недель. Оценку темпов накопления биомассы сеянцами проводили гравиметрическим методом. Измерения средних длин семядолей и хвои (с точностью 0,01 мм), а также подсчёт их количества проводили по отсканированным изображениям растений в программе MapInfo Professional v.9.5.

Для определения содержания хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов образцы семядолей и хвои высушивали при 60°C до постоянной массы и гомогенизировали в фарфоровой ступке с кварцевым песком и холодным 80% ацетоном. Оптическую плотность экстрактов измеряли при длинах волн 470, 646 и 663 нм на спектрофотометре «Genesys 10UV» («Thermo Electron Corporation», США). Расчёт содержания хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов проводили по формулам, предложенным Лихтендалером [24], и выражали в мг/г сухой массы.

Для анализа качественного состава пигментов методом тонкослойной хроматографии получали экстракты пигментов свежих листьев растений (200 мг) в смеси этанол : ацетон : диэтиловый эфир (1:1:1). Пигменты экстракта разделяли на хроматографических пластинах из силикагеля 60 на алюминии («Merck», Англия) в затемненной камере смесью ацетон : гексан : петролейный эфир (1:1:1 по объему). Для идентификации разделенных

пигментов пятна элюировали этанолом и измеряли спектры поглощения полученных растворов на спектрофотометре «Nanodrop 2000» («Thermo Fisher scientific», США).

Анатомическое строение хвои изучали под микроскопом «Imager D1» («Carl Zeiss», Германия) с цифровой фотонасадкой на временных препаратах поперечных срезов, полученных с помощью микротомы с вибрирующим лезвием HM650V («Thermo Fisher Scientific», США).

Эксперименты проводили в трёх независимых сериях. Количество наблюдений составляло 30–45 при определении морфометрических параметров и 5–22 при анализе содержания фотосинтетических пигментов. Сильно отклоняющиеся варианты выборок исключали из анализа на основании критических значений разности между крайними вариантами совокупности на уровне значимости 0,05. Данные обрабатывали методами параметрической статистики в среде Microsoft Excel 2010. Итоговые значения, приводимые в тексте, представляют собой среднюю арифметическую величину $\pm$ основную ошибку средней арифметической величины.

Результаты исследования и обсуждение

Полученные результаты показали существенное различие в развитии как между видами исследуемых растений, так и между опытными вариантами для одного вида. Общая масса семян сосны, масса ее хвои и семядолей в контрольных условиях была существенно выше, чем у семян ели (в 2,2, 1,8 и 1,3 раза соответственно), что свидетельствовало о более высоких темпах развития семян сосны. Похожее соотношение сохранялось у семян, выращенных под красным светом. Биомасса семян сосны и ели, выращенных под красным светодиодом, существенно не отличалась ($p > 0,05$) от соответствующих контрольных групп растений. Выращивание под синим светом приводило, с одной стороны, к снижению биомассы семян обоих видов в сравнении с контролем, а с другой стороны – к еще большему усилению различий между видами (рис. 1).

Значение биомассы органов растений является интегральным показателем, обобщающим результаты протекания многих процессов. Поэтому различия в массах ассимилирующих органов в разных условиях освещения могут свидетельствовать об изменении либо длины этих органов, либо их толщины, либо о сочетании двух этих процессов. У обоих видов растений красный свет вызывал увеличение длин семядолей и хвои в сравнении с контролем, причем наибольшее стимулирующее действие этого света наблюдалось по отношению к хвое ели (31,4% против 24,4% у сосны). С другой стороны, при действии красного света семядоли семян сосны в сравнении с контролем удлинялись активнее, чем семядоли семян ели (на 20,5% и на 6% соответственно, $p < 0,01$). Воздействие синего света не вызывало увеличения длин ассимилирующих органов семян сосны, а у семян ели

ингибировало их развитие, что приводило к формированию более коротких хвоинок и семядолей (на 10,5 и 4,2% соответственно).

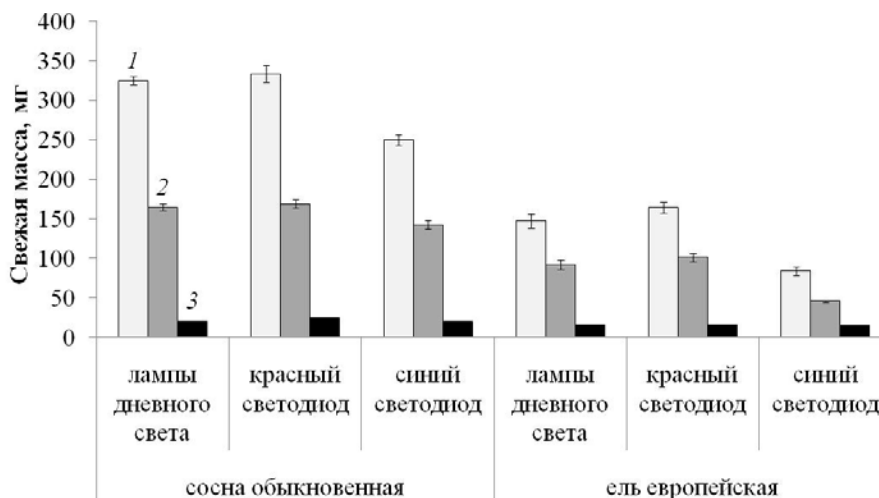


Рис. 1. Влияние красного и синего света на общую массу сеянцев (1), массу хвои (2) и массу семядолей (3)

Таблица 1
Влияние красного и синего света на морфометрические параметры ассимилирующих органов сеянцев

Параметр	Сосна обыкновенная			Ель европейская		
	Лампы дневного света (контроль)	Красный светодиод	Синий светодиод	Лампы дневного света	Красный светодиод	Синий светодиод
Длина хвои, мм	36,2±0,4	45,0±1,4	36,4±1,0	17,2±0,8	22,6±0,6	15,4±0,6
Длина семядоли, мм	26,4±0,3	31,8±0,9	27,1±0,7	16,6±0,4	17,6±0,5	15,9±0,5
Количество хвои, шт.	35,3±0,4	24,6±0,4	24,4±0,5	26,5±1,9	29,9±0,8	17,1±0,8

Во всех опытных вариантах сеянцы сосны отличались от контрольной группы меньшим числом хвои – на 30–31% ($p < 0,001$). У ели, напротив, только освещение синим светом можно было считать ингибирующим, так как количество хвои было на 35,4% меньше ($p < 0,001$), чем в контроле, в то время как красный свет усиливал образование хвои на 12,8% ($p < 0,01$).

Таким образом, действие красного света, явно стимулирующее удлинение хвои сеянцев сосны, ограничивалось только реакцией растущей хвои и не распространялось на апикальную меристему побега, которая обеспечи-

вает заложение новых листовых примордиев. У ели воздействие красного света было более масштабным и не только стимулировало пластинчатую меристему хвои, ответственную за рост органа в длину, но и усиливало заложение большего числа листовых примордиев на верхушке побега, что приводило к заметному увеличению количества хвоинок.

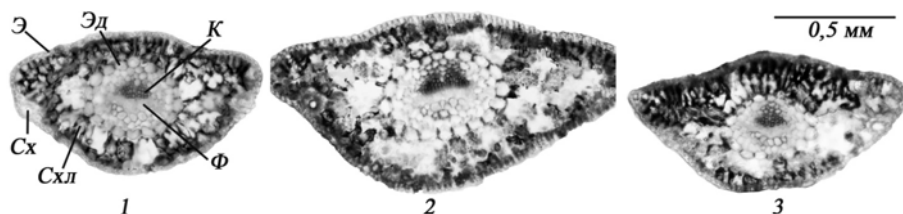


Рис. 2. Микрофотографии поперечных срезов хвои 6-недельных семянцев сосны, выращенных под светом от ламп дневного света (1), красного светодиода (2) и синего светодиода (3). Буквами обозначены: К – ксилема, Сх – смоляной ход, Схл – складчатая хлоренхима, Ф – флоэма, Э – эпидерма, Эд – эндодерма

Наблюдаемые эффекты воздействия света различного спектрального состава на морфологические параметры исследуемых растений должны иметь свое отражение на мезоструктуре ассимилирующих органов. Анатомическое строение хвои семянцев сосны, выращенных под синим светом, не имело существенных отличий от контрольных вариантов (рис. 2), в то время как воздействие красного света приводило к развитию более крупной хвои, имеющей большую толщину мезофилла и больший диаметр проводящего пучка, чем у контрольных растений. На фоне наблюдаемого увеличения объемов тканей хвои сосны было отмечено одновременное увеличение среднего размера всех клеток, составляющих данные ткани. Таким образом, увеличение размеров хвои, отмеченное выше для семянцев сосны, выращенных под красным светом, можно связывать со стимуляцией роста органа за счет растяжения клеток.

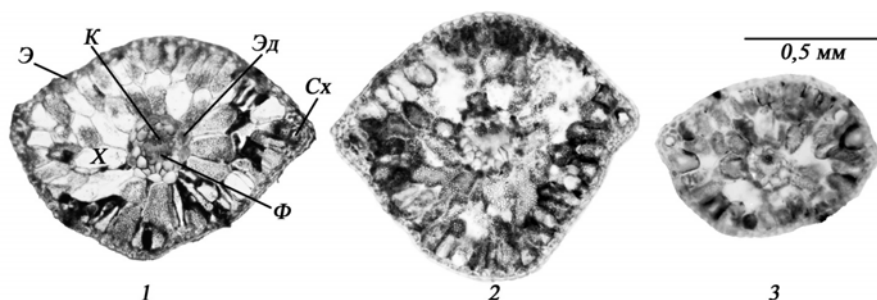


Рис. 3. Микрофотографии поперечных срезов хвои 6-недельных семянцев ели, выращенных под светом от ламп дневного света (1), красного светодиода (2) и синего светодиода (3). Буквами обозначены: К – ксилема, Сх – смоляной ход, Ф – флоэма, Х – хлоренхима, Э – эпидерма, Эд – эндодерма

Сходное действие красного света наблюдалось в анатомическом строении хвои ели, которое характеризовалось увеличением толщины мезофилла на абаксиальной и адаксиальной сторонах. Однако, в отличие от сосны, мезофилл боковых поверхностей хвои сеянцев ели не утолщался, и поэтому поперечный срез хвои терял исходную форму и приобретал характерные выпуклости на утолщенных сторонах (рис. 3). На фоне заметного увеличения объемов ассимилирующей ткани не отмечалось существенного укрупнения размеров клеток. Воздействие синего света на анатомическое строение хвои ели проявлялось в значительном сокращении диаметра данного органа и уменьшении объемов как ассимилирующей ткани, так и проводящего пучка. В этих условиях клетки фотосинтезирующей паренхимы были мельче и малочисленней, чем у контрольных растений, но форма хвойнки при этом не изменялась.

Полученные результаты показывают, что независимо от экологической принадлежности сосны к гелиофитам, а ели к факультативным гелиофитам красный свет обладал сходным воздействием на анатомию их ассимилирующих органов и стимулировал утолщение фотосинтезирующей ткани. Наблюдаемый эффект красного света отличает исследуемые хвойные растения от цветковых. Так, у молодых растений огурца, подсолнечника и редиса отмечалось уменьшение толщины листа и объема палисадной хлоренхимы при освещении красным светом [25]. В отличие от действия красного света, действие синего света вызывало различную реакцию хвои сеянцев сосны и ели. Как отмечалось выше, влияние синего света на рост и деление клеток хвои ели носило ингибирующий характер, что становилось причиной снижения массы хвои на 50%.

Воздействие света различного спектрального состава не только имеет большое значение для морфогенеза, как это было продемонстрировано выше, но и служит важным сигналом для адаптации фотосинтетического аппарата растения [26]. Это должно способствовать повышению эффективности фотосинтеза при поглощении хлоропластами света различного спектра, а также снижению повреждающего действия излучений с высокой энергией. Для оценки изменений фотосинтетического аппарата исследуемых растений был проведен качественный и количественный анализ фотосинтетических пигментов в семядолях и хвое сеянцев сосны и ели.

Полученные данные выявили сходную реакцию хвои сеянцев сосны и ели на освещение красным светом, что выражалось в существенном снижении содержания пигментов (табл. 2). Наибольшее снижение (при $p < 0,001$) было характерно для хлорофилла *b* (на 42%) и для каротиноидов (на 49–53%). Вместе с этим, исследуемые растения различались по реакции на синий свет. В отличие от хвои сосны, в которой при действии синего света наблюдалось снижение содержания всех исследованных пигментов относительно контроля, в хвое ели в аналогичных условиях происходил значительный рост количества хлорофилла *a* (на 32%) и хлорофилла *b* (на 34%), а уровень каротиноидов был близок к контрольным значениям.

Таблица 2

**Содержание фотосинтетических пигментов в хвое семян сосны
и ели при действии света различного спектрального состава**

Параметр	Сосна обыкновенная			Ель европейская		
	Лампы дневного света	Красный светодиод	Синий светодиод	Лампы дневного света	Красный светодиод	Синий светодиод
Содержание хлорофилла <i>a</i> , мг/г сухой массы	2,33±0,08	1,79±0,11	2,12±0,14	1,78±0,11	1,20±0,06	2,35±0,11
Содержание хлорофилла <i>b</i> , мг/г сухой массы	0,57±0,03	0,33±0,02	0,40±0,03	0,38±0,03	0,22±0,01	0,51±0,04
Содержание каротиноидов, мг/г сухой массы	0,45±0,02	0,23±0,005	0,28±0,02	0,43±0,04	0,20±0,002	0,42±0,006
Отношение содержания хлорофиллов <i>a</i> к <i>b</i>	4,32±0,13	5,43±0,08	5,36±0,08	4,68±0,12	5,51±0,11	4,90±0,17
Отношение содержания каротиноидов к сумме хлорофиллов <i>a</i> и <i>b</i>	0,15±0,002	0,12±0,005	0,11±0,004	0,19±0,008	0,15±0,007	0,14±0,005

На воздействие как синего, так и красного света семена сосны и ели реагировали снижением содержания всех изучаемых пигментов (данные не приведены). Вместе с этим содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов в семенах обоих растений было выше, чем в хвое.

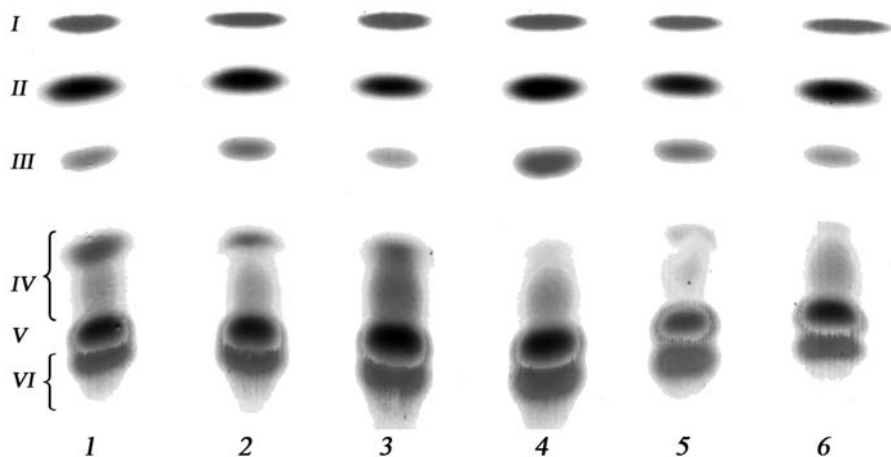


Рис. 4. Фрагмент хроматограммы фотосинтетических пигментов из хвои 6-недельных семян сосны (1–3) и ели (4–6), выращенных под светом различного спектрального состава: 1, 4 – лампы дневного света; 2, 5 – красный светодиод, 3, 6 – синий светодиод. Римскими цифрами обозначены: I – β-каротины, II – феофитин *a*, III – хлорофилл *b*, IV – хлорофилл *a*, V – хлорофилл *b*, VI – лютеин

Качественный анализ пигментов, проведенный методом тонкослойной хроматографии, выявил в хвое семян сосны и ели несколько основных

групп пигментов: хлорофилл *a* и феофитин *a*, хлорофилл *b*, β -каротины, виолоксантин и лютеин (рис. 4). Полученные данные показали отсутствие заметных изменений в качественном составе фотосинтетических пигментов хвои сосны и ели при воздействии красного или синего видов света. Вместе с этим хроматография подтвердила уже обнаруженную тенденцию к снижению содержания пигментов в хвое при выращивании сеянцев сосны или ели под красным светом.

Отношение содержания хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* в хвое обоих растений было высоким, особенно в опытных вариантах, и это отношение достигало максимума при воздействии красного света (табл. 2). Отношение содержания каротиноидов к сумме хлорофиллов в хвое исследуемых растений было максимальным в контрольных условиях и минимальным при действии синего света. Анализ отношения содержания хлорофиллов *a* к *b* и отношения содержания каротиноидов к сумме хлорофиллов позволяет диагностировать оптимальность интенсивности используемого освещения [23]. В работах Бертамини было показано, что отношение каротиноидов к хлорофиллам повышается, а отношение хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* снижается в хвое ели в условиях недостаточного освещения [27]. В наших экспериментах у сосны и ели отношение содержания хлорофиллов *a* и *b* повышалось в опытных условиях, а отношение каротиноидов к сумме хлорофиллов немного снижалось, следовательно, интенсивность освещения исследуемых растений была близка к оптимальному уровню.

Заключение

Анализ полученных данных показывает, что красный свет оказывает в целом сходное воздействие на растения сосны и ели. Сеянцы исследуемых видов, выращенные под красным светом, при сопоставимой массе отличались от контрольных растений более крупными хвоинками и семядолями и пониженным содержанием основных фотосинтетических пигментов. Поскольку красный свет является преобладающим в спектре действия фотосинтеза и эффективно поглощается хлорофиллом [28], выращивание растений под красным светом должно повышать продуктивность их фотосинтеза и стимулировать запасание энергии и рост органов, что и наблюдалось в наших экспериментах. Следует отметить, что утолщение мезофилла хвоинок при действии красного света у изученных растений, по-видимому, происходит различными путями: у сосны пропорциональный рост хвои в диаметре обеспечивается за счет увеличения размера клеток, а для ели свойственно двухстороннее утолщение за счет увеличения количества самих клеток мезофилла. Снижение содержания фотосинтетических пигментов у обоих видов растений в пределах 40–50%, опосредованное действием красного света, может определяться меньшей потребностью в реакционных центрах фотосистем в условиях избытка поглощенной световой энергии. К видовым

особенностям действия красного света следует отнести очевидное различие в реакции верхушек побегов сосны и ели, заключающееся в стимуляции или ингибировании образования новых хвоинок. Вероятно, обнаруженные различия сигнальных свойств красного света для изученных растений связаны с особенностями местообитания подроста сосны и ели. Подрост сосны предпочитает открытые пространства, обеспечивающие свет с полным спектром, в то время как молодые ельники формируются преимущественно под пологом леса, где свет обогащен красным и дальним красным участками спектра.

Действие синего света обнаруживало больше различий между изученными видами. Ассимилирующие органы семян сосны, выращенные на синем свете, не имели сильных отличий от растений, освещавшихся «белым» полихроматическим светом люминесцентных ламп. Рост и развитие ели, напротив, значительно ингибировались под синим светом: растения имели наименьшую массу органов, тонкую хвою с высоким содержанием хлорофилла. Несмотря на то что синий свет обладает максимальной энергией, усвояемой растениями, он имеет большое значение для них не столько как субстрат, сколько как важный сигнальный фактор, вовлеченный во множество физиологических и онтогенетических процессов. Условия выращивания, в которых растения ели получали исключительно синий свет, по-видимому, настолько сильно отличались от условий естественной среды, где этот участок спектра значительно подавлен, что семена были неспособны к требуемой адаптации и существенно отставали в развитии от контрольных растений. Не следует исключать, что на более поздних этапах онтогенеза изученные растения будут иначе реагировать на воздействие красного и синего света, поскольку для реализации определенных этапов жизненного цикла (например, при формировании репродуктивных органов, эмбриогенезе и др.), возможно, будет благоприятно освещение другого спектрального состава, в том числе с высоким уровнем синего света.

Литература

1. Shibayev P., Pergolizzi R. The effect of circularly polarized light on the growth of plants // International Journal of Botany. 2011. Vol. 7. P. 113–117.
2. Jao R., Lai C., Fang W., Chang S. Effect of red light on the growth of *Zantedeschia* plantlets and tuber formation using light-emitting diodes // HortScience. 2005. Vol. 40. P. 436–438.
3. Kook H.S., Park S.H., Jang Y.J. et al. Blue LED (light-emitting diodes)-mediated growth promotion and control of *Botrytis* disease in lettuce // Acta Agriculturae Scandinavica Soil and Plant Science. 2013. Vol. 63. P. 271–277.
4. Головацкая И.Ф., Карначук Р.А. Роль брассинолида в регуляции роста и гормонального баланса *Arabidopsis thaliana* (L.) на зеленом свете // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2010. № 1. С. 15–19.
5. Samuoliene G., Brazaityte A., Urbonaviciute A. et al. The effect of red and blue light component on the growth and development of frigo strawberries // Agriculture. 2010. Vol. 97. P. 99–104.
6. Мартиросян Ю.Ц., Кособрыхов А.А., Креславский В.Д. и др. Фотосинтез и рост растений картофеля при выращивании в условиях аэропоники с дополнительным облучением светодиодами // Сельскохозяйственная биология. 2008. № 3. С. 102–105.

7. Avercheva O., Berkovich Yu., Erokhin A. et al. Growth and photosynthesis of chinese cabbage plants grown under light-emitting diode-based light source // Russian Journal of Plant Physiology. 2009. Vol. 56. P. 14–21.
8. Fankhauser C., Ulm R. Light-regulated interactions with SPA proteins underlie cryptochrome-mediated gene expression // Genes & Development. 2011. Vol. 25. P. 1004–1009.
9. Fana X., Xua Z., Liua X. et al. Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light // Scientia Horticulturae. 2013. Vol. 153. P. 50–55.
10. Tepperman J., Hwang Y., Quail P. PhyA dominates in transduction of red-light signals to rapidly responding genes at the initiation of *Arabidopsis* seedling de-etiolation // The Plant Journal. 2006. 48. P. 728–742.
11. Trouwborst G., Oosterkamp J., Hogewoning S., Harbinson J., Ieperen W. The responses of light interception, photosynthesis and fruit yield of cucumber to LED-lighting within the canopy // Physiologia Plantarum. 2010. Vol. 138. P. 289–300.
12. Brazaityte A., Duchovskis P., Urbonaviciute A. et al. The effect of light-emitting diodes lighting on the growth of tomato transplants // Agriculture. 2010. Vol. 97. P. 89–98.
13. Цыганкова В.А., Галкина Л.А., Мусатенко Л.И., Сытник К.М. Генетический и эпигенетический контроль роста и развития растений. Гены фотоморфогенеза и регуляция их экспрессии светом // Биополимеры и клетка. 2004. Т. 20, № 6. С. 451–471.
14. Шуберт Ф.Е. Светодиоды. Профессиональный справочник. М. : Физматлит, 2008. 496 с.
15. Fernbach E., Mohr H. Coaction of blue ultraviolet A light and light absorbed by phytochrome in controlling growth of Pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings // Planta. 1990. Vol. 180. P. 212–216.
16. Elmlinger M., Bolle C., Batschauer A. et al. Coaction of blue light and light absorbed by phytochrome in control of glutamine synthetase gene expression in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings // Planta. 1994. Vol. 192. P. 189–194.
17. Vince-Prue D. Contrasting types of photoperiodic response in the control of dormancy // Plant, Cell and Environment. 1984. Vol. 7. P. 507–513.
18. Ranade S., Abrahamsson S., Niem J., Garcia-Gil M.R. *Pinus taeda* cDNA microarray as a tool for candidate gene identification for local red/far-red light adaptive response in *Pinus sylvestris* // American Journal of Plant Sciences. 2013. Vol. 4. P. 479–493.
19. Ranade S.S., Garcia-Gil M.R. Ecotypic variation in response to light spectra in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) // Tree Physiology. 2013. Vol. 33. P. 195–201.
20. Mukai Y., Tazaki K., Fujii T., Yamamoto N. Light-independent expression of three photosynthetic genes, CAB, RBCS, RBCL in coniferous plants // Plant and Cell Physiology. 1992. Vol. 33. P. 859–866.
21. Clapham D.H., Dormling I., Ekberg I., Eriksson G., Qamaruddin M., Vince-Prue D. Latitudinal cline of requirement for far-red light for the photoperiodic control of budset and extension growth in *Picea abies* (Norway Spruce) // Physiologia Plantarum. 1998. Vol. 102. P. 71–78.
22. Иванов Ю.В., Савочкин Ю.В., Кузнецов Вл.В. Влияние минерального состава и pH питательной среды на устойчивость сосны обыкновенной к токсическому действию ионов цинка // Физиология растений. 2013. Т. 60, № 2. С. 257–267.
23. Иванов Ю.В., Савочкин Ю.В., Шумейко Е.В., Кузнецов Вл.В. Реализация раннего этапа онтогенеза сосны обыкновенной на фоне токсичных концентраций ионов меди // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. Т. 21, № 1. С. 103–117.
24. Lichtenthaler H. K. [34] Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in enzymology. 1987. Т. 148. С. 350–382.
25. Тихомиров А.А., Лисовский Г.М., Сидько Ф.Я. Спектральный состав света и продуктивность растений. Новосибирск : Наука, 1991. 168 с.

26. Ptushenko V.V., Ptushenko E.A., Samoilova O.P., Tikhonov A.N. Chlorophyll fluorescence in the leaves of *Tradescantia* species of different ecological groups: Induction events at different intensities of actinic light // *Biosystems*. 2013. Vol. 114. P. 85–97.
27. Bertamini M., Muthuchelian K., Nedunchezian N. Shade effect alters leaf pigments and photosynthetic responses in Norway spruce (*Picea abies* L.) grown under field conditions // *Photosynthetica*. 2006. Vol. 44. P. 227–234.
28. McCree K. J. Photosynthetically active radiation // *Physiological Plant Ecology I*. Berlin Heidelberg: Springer, 1981. P. 41–55.

Поступила в редакцию 15.11.2013 г.

Авторский коллектив:

Карташов Александр Валерьевич – канд. биол. наук, н.с. лаборатории физиологических и молекулярных механизмов адаптации Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (г. Москва, Россия). E-mail: botanius@ya.ru

Пашковский Павел Павлович – канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории физиологических и молекулярных механизмов адаптации Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (г. Москва, Россия). E-mail: pashkovskiy.pavel@gmail.com

Иванов Юрий Валерьевич – канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории физиологических и молекулярных механизмов адаптации Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (г. Москва, Россия). E-mail: ivanovinfo@mail.ru

Иванова Александра Игоревна – канд. биол. наук, н.с. лаборатории физиологических и молекулярных механизмов адаптации Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (г. Москва, Россия). E-mail: ivanovinfo@mail.ru

Савочкин Юрий Валерьевич – канд. биол. наук, н.с. лаборатории физиологических и молекулярных механизмов адаптации Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (г. Москва, Россия). E-mail: botanius@ya.ru

Tomsk State University Journal of Biology. 2014. № 1 (25). P. 167–182

doi: 10.17223/19988591/25/12

***Aleksandr V. Kartashov, Pavel P. Pashkovskiy, Yury V. Ivanov,
Aleksandra I. Ivanova, Yury V. Savochkin**

*Laboratory of Physiological and Molecular Mechanisms of Adaptation, Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation. *E-mail: botanius@ya.ru*

Morphogenesis of Norway spruce and Scots pine seedlings assimilating organs under the influence of red and blue LED light

In the article, the effect of red and blue LEDs light on the growth and development of 6-week-old seedlings of Scots pine and Norway spruce was studied. We carried out morphometric and anatomical studies of the cotyledons and needles, which showed that the red LED light has a similar stimulating effect on plants of Scots pine and Norway spruce, and the blue light reveals differences in the reaction of photosynthesizing organs. Species-specific feature of red LED light action was different in the reaction of shoot tips and activation or inhibition formation of new needles of pine and spruce. The analysis of the main photosynthetic pigments exposed to red or blue light showed the lack in the qualitative composition of photosynthetic pigments of needles seedlings. At the same time, there was reduction in pigment content in the needles of pine seedlings in growing under a red light. It is assumed that the observed difference between the reactions of seedlings of pine and spruce on red and blue light is associated with

features of their habitats, which may significantly affect the photoregulation processes and adaptive capacity of the test plants.

The studied seedlings species grown under red light differed from control plants by bigger needles, cotyledons and low content of photosynthetic pigments. As the red light is predominant in spectrum of photosynthesis and effectively absorbed by chlorophyll, the cultivation of plants under the red light should increase their productivity and stimulate photosynthesis and energy storage organ growth, as was observed in our experiments. It should be noted that the thickness of the mesophyll of the needles on the red light apparently occur in various ways in the studied plants: in pine needles increase in diameter by increasing cell size and in spruce activation of bilateral thickening is due to an increase in the number of the cells of mesophyll. The reduction in photosynthetic pigments on the red light in the two plants species in the range of 40–50% can be determined by a less need for the reaction centers of photosystems under the conditions of excess of light energy. Probably, the difference of signal properties of the red-light signal for the studied plants due to the peculiarities of habitat of seedlings of pine and spruce. Pine seedlings prefer open spaces, providing a full range of light, while the young spruce are formed mainly under the forest canopy, where the light is rich in red and far-red regions of the spectrum.

The effect of blue LED light reveals a significant difference between the studied species. Photosynthesizing organs of pine seedlings grown in blue light did not have any strong differences from plants which were grown on “white” polychromatic light of fluorescent lamps. Spruce development was significantly inhibited by blue light: the plants had the smallest mass and thin needles, with a high content of chlorophyll. Despite the fact that the blue light has maximum energy, it is an important signaling factor for the plants involved in a variety of physiological and developmental processes. Growing conditions in which the plants of spruce got only blue light are so much different from the conditions of the natural environment where the region of the spectrum is significantly suppressed that seedlings were unable to adapt to this condition and were substantially behind the development of the control plants. It should not be ruled out that at later stages of growing of the studied plants they will react differently to the effects of red and blue light; as for the realization of certain stages of the life cycle (for example, during the formation of reproductive organs, embryogenesis, etc.), different spectral composition of light, including high blue light, may be favorable.

Key words: light-emitting diode, LED; cotyledons; needles; *Pinus sylvestris* L.; *Picea abies* (L.) H. Karst.

Received November, 15, 2013

References

1. Shibayev P, Pergolizzi R. The effect of circularly polarized light on the growth of plants. *International J of Botany*. 2011;7:113-117.
2. Jao R, Lai C, Fang W, Chang S. Effect of red light on the growth of *Zantedeschia* plantlets and tuber formation using light-emitting diodes. *HortScience*. 2005;40:436-438.
3. Kook HS, Park SH, Jang YJ. et al. Blue LED (light-emitting diodes)-mediated growth promotion and control of Botrytis disease in lettuce. *Acta Agriculturae Scandinavica Soil and Plant Science*. 2013;63:271-277.
4. Golovatskaya I.F., Karnachuk R.A. Rol' brassinolida v regulyatsii rosta i gormonal'nogo balansa *Arabidopsis thaliana* (L.) na zelenom svetle. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya*. 2010. No 1(9). P. 15-19. [Golovatskaya IF, Karnachuk RA. The effect

- of brassinolide on *Arabidopsis* seedlings growth and hormonal balance under green light. *Tomsk State University Journal of Biology*. 2010;1(9):15-19.] In Russian, English summary
5. Samuoliene G, Brazaityte A, Urbonaviciute A. et al. The effect of red and blue light component on the growth and development of frigo strawberries. *Agriculture*. 2010;97:99-104.
 6. Martirosyan Yu.Ts., Kosobryukhov A.A., Kreslavskiy V.D. i dr. Fotosintez i rost rasteniy kartofelya pri vyrashchivanii v usloviyakh aeroponiki s dopolnitel'nym oblucheniem svetodiodami. Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. 2008. No 3. PP. 102-105. [Martirosyan YuTs, Kosobryukhov AA, Kreslavskii VD, Dilovarova TA, Melik-Sarkisov OS, Letunova SV, Kharchenko PN. Photosynthesis and productivity of potato plants growing in the conditions of aeroponics with additional exposure to light diode. *Agricultural Biology*. 2008;3:102-105.] In Russian, English summary
 7. Avercheva O, Berkovich Yu, Erokhin A. et al. Growth and photosynthesis of chinese cabbage plants grown under light-emitting diode-based light source. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2009;56:14-21.
 8. Fankhauser C, Ulm R. Light-regulated interactions with SPA proteins underlie cryptochrome-mediated gene expression. *Genes & Development*. 2011;25:1004-1009.
 9. Fana X, Xua Z, Liua X. et al. Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. *Scientia Horticulturae*. 2013;153:50-55.
 10. Tepperman J, Hwang Y, Quail P. PhyA dominates in transduction of red-light signals to rapidly responding genes at the initiation of *Arabidopsis* seedling de-etiolation. *The Plant Journal*. 2006;48:728-742.
 11. Trouwborst G, Oosterkamp J, Hogewoning S, Harbinson J, Ieperen W. The responses of light interception, photosynthesis and fruit yield of cucumber to LED-lighting within the canopy. *Physiologia Plantarum*. 2010;138:289-300.
 12. Brazaityte A, Duchovskis P, Urbonaviciute A. et al. The effect of light-emitting diodes lighting on the growth of tomato transplants. *Agriculture*. 2010;97:89-98.
 13. Tsygankova V.A., Galkina L.A., Musatenko L.I., Sytnik K.M. Geneticheskii i epigeneticheskii kontrol' rosta i razvitiya rasteniy. Geny fotomorfogeneza i regulyatsiya ikh ekspressii svetom. Biopolimery i kletka. 2004. V. 20, No 6(20). PP. 451-471. 13. [Tsygankova VA, Galkina LA, Musatenko LI, Sytnik KM. Genetic and epigenetic control of plant growth and development. Photomorphogenesis genes and light regulation of their expression. *Biopolym Cell*. 2004;20(6):451-471.] In Russian, English summary
 14. Shubert F.E. Svetodiody. Professional'nyy spravochnik. M.: Fizmatlit, 2008. 496 pp. [Shubert FE. Svetodiody. Professional'nyy spravochnik. Moscow: Fizmatlit; 2008. 496 p.] In Russian
 15. Fernbach E, Mohr H. Coaction of blue ultraviolet A light and light absorbed by phytochrome in controlling growth of Pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings. *Planta*. 1990;180:212-216.
 16. Elmlinger M, Bolle C, Batschauer A. et al. Coaction of blue light and light absorbed by phytochrome in control of glutamine synthetase gene expression in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings. *Planta*. 1994;192:189-194.
 17. Vince-Prue D. Contrasting types of photoperiodic response in the control of dormancy. *Plant, Cell and Environment*. 1984;7:507-513.
 18. Ranade S, Abrahamsson S, Niem J, Garcia-Gil MR. *Pinus taeda* cDNA microarray as a tool for candidate gene identification for local red/far-red light adaptive response in *Pinus sylvestris*. *American J of Plant Sciences*. 2013;4:479-493.
 19. Ranade SS, Garcia-Gil MR. Ecotypic variation in response to light spectra in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Tree Physiology*. 2013;33:195-201.
 20. Mukai Y, Tazaki K, Fujii T, Yamamoto N. Light-independent expression of three photosynthetic genes, CAB, RBCS, RBCL in coniferous plants. *Plant and Cell Physiology*. 1992;33:859-866.

21. Clapham DH, Dormling I, Ekberg I, Eriksson G, Qamaruddin M, Vince-Prue D. Latitudinal cline of requirement for far-red light for the photoperiodic control of budset and extension growth in *Picea abies* (Norway Spruce). *Physiologia Plantarum*. 1998;102:71-78.
22. Ivanov YV, Savochkin YV, Kuznetsov VV. Effect of mineral composition and medium pH on Scots pine tolerance to toxic effect of zinc ions. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2013;60(2):260-269.
23. Ivanov Yu.V., Savochkin Yu.V., Shumeyko E.V., Kuznetsov VI.V. Realizatsiya rannego etapa ontogeneza sosny obyknovennoy na fone toksichnykh kontsentratsiy ionov medi. Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya. 2013. No 1(21). PP. 103–117. [Ivanov YuI, SavochkinYuV, Shumeiko EV, Kuznetsov VIV. Implementation of scots pine's early ontogenetic stage against copper toxic effect. *Tomsk State University Journal of Biology*. 2010;1(21):103-117.] In Russian, English summary
24. Lichtenthaler H.K. [34] Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*. 1987;148:350-382.
25. Tikhomirov A.A., Lisovskiy G.M., Sid'ko F.Ya. Spektral'nyy sostav sveta i produktivnost' rasteniy. Novosibirsk: Nauka, 1991. 168 pp. [Tikhomirov AA, Lisovskiy GM, Sidko FYa. Light spectral composition and plant productivity. Novosibirsk: Nauka; 1991. 168 p.] In Russian
26. Ptushenko VV, Ptushenko EA, Samoilova OP, Tikhonov AN. Chlorophyll fluorescence in the leaves of *Tradescantia* species of different ecological groups: Induction events at different intensities of actinic light. *Biosystems*. 2013;114:85-97.
27. Bertamini M, Muthuchelian K, Nedunchezian N. Shade effect alters leaf pigments and photosynthetic responses in Norway spruce (*Picea abies* L.) grown under field conditions. *Photosynthetica*. 2006;44:227-234.
28. McCree K J. *Photosynthetically active radiation*. Physiological Plant Ecology I. Encyclopedia of plant Physiology (12/A). Berlin Heidelberg: Springer; 1981. p. 41-55.

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

УДК 612.112.9+577.175.53
doi: 10.17223/19988591/25/13

**Т.А. Томова¹, Е.Ю. Просекина², Т.А. Замощина^{2,3},
М.В. Матюхина¹, О.А. Фатюшина³**

¹ *Томский государственный педагогический университет, г. Томск, Россия*

² *Томский государственный университет, г. Томск, Россия*

³ *Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия*

Влияние иммобилизации на показатели стресс-реакции у крыс и собак

В эксперименте моделировались стресс-реакции с использованием маркеров скрытых функциональных резервов организма. В качестве маркеров выступали иммобилизация, карбахолин и физиологический раствор. В результате получены адаптационные реакции разного типа с характерным комплексом изменений показателей крови. Таким образом, применение раздражителей (инъекции физиологического раствора и карбахолина), одновременно или последовательно включенных в действие после иммобилизации, и индивидуальные особенности, обусловленные функциональными способностями (потенциал) организма, определили степень и направленность изменений концентрации глюкокортикоидов и содержания различных морфологических форм лейкоцитов у стрессированных животных.

Ключевые слова: *стресс; иммобилизация; карбахолин; физиологический раствор; глюкокортикоиды; лейкограмма.*

Введение

Проблема стресса на сегодняшний день сохраняет высокую медико-социальную значимость [1–3]. Напряжение является ведущей причиной многих заболеваний. Стресс – это комплекс общих универсальных неспецифических реакций на агенты, угрожающие жизни и благополучию целостного организма, реализуемый при обязательном участии нейроэндокринной системы [4]. Система обеспечения стрессорных реакций включает в себя центральное звено, к которому относятся нейроны паравентрикулярного ядра гипоталамуса, продуцирующие кортикотропин-рилизинг-гормон и аргинин – вазопрессин, катехоламинергические нейроны и другие нейроны, локализующиеся в стволе мозга. Периферическая часть представлена гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой осью и симпатико-адреналовой си-

стемой. Хорошо известно, что при адаптационных изменениях в ответ на воздействие различных стрессоров происходят также значительные сдвиги в функциональном состоянии парасимпатической нервной системы [5, 6].

Перестройка нейрогуморальных регуляторных систем происходит в зависимости от природы и длительности действия стрессирующих факторов [7], возрастных, видовых и индивидуальных особенностей организма [8–10]. Существует мнение, что у животных, имеющих разную поведенческую стратегию, адреналовая система реагирует на стрессорное воздействие по-разному [11]. Выдвинута гипотеза о том, что трем моделям поведения организмов при стресс-реакции («битва», «бегство» и «мнимая смерть») соответствуют три физиологических механизма реагирования (норадренергический, адренергический и серотонинергический) [12]. Кроме того, известно, что адаптационные реакции разного типа, сроки развития стадий и напряженность определяются силой и качеством раздражителей [13, 14].

Некоторые из принципиальных вопросов нейроэндокринной регуляции стресса могут быть решены только в опытах на животных. В эксперименте всегда присутствуют определенные раздражители (инъекции), сопряженные с выполнением самой экспериментальной работы (например, одновременно или последовательно включающиеся в действие раздражители, специфические только для данной экспериментальной модели). В связи с тем, что такие раздражители не изменяют базальный уровень определяемых показателей, их, как правило, считают подпороговыми и несущественными. Однако подпороговые стимулы определенного качества могут стать весомым фактором, модулирующим нейроэндокринную реакцию организма при стрессе. Их наличие в эксперименте нельзя недооценивать, и необходимо четко определять их роль. Зная вклад подобных раздражителей, их можно целенаправленно применять для управления эндокринной реакцией при стрессе и получать адаптационные реакции разного типа с характерным комплексом изменений изучаемых показателей, различные сроки развития стадий и различную напряженность; использовать в создании моделей для исследования фармакологических веществ, модулирующих действие стресса и не только.

Цель исследования – изучение влияния различного временного сочетания дополнительных стресс-воздействий после иммобилизации на количество лейкоцитов, лейкограмму и уровень кортикостероидов в плазме у крыс и собак.

Материалы и методики исследования

Эксперименты выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными Приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г. Опыты проведены на 30 крысах-самцах, линии Вистар, массой 180–240 г, и 7 беспородных собаках-самцах, весом 15–22 кг, с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского Сообщества (86/609/EC) [15].

В данной работе мы моделировали различные ответные реакции организма, используя маркеры скрытых функциональных резервов организма. В качестве маркеров выступили иммобилизация, карбахолин и физиологический раствор. Инъекции физиологического раствора нередко используются в качестве контроля к парентеральному введению каких-либо фармакологических агентов, что является стрессирующим фактором для экспериментальных животных [16].

Иммобилизацию крыс однократно в течение 18 часов [17] осуществляли фиксацией животного на спине за все конечности на операционном столе; иммобилизацию собак – помещением животных в узкие клетки из деревянных реек. Неизбирательный холиномиметик карбахолин («Reanal», Венгрия) вводили внутримышечно крысам в дозе 25 мкг/кг, собакам – 6 мкг/кг. Физиологический раствор крысам вводили внутривенно в объеме 1 мл на 200 г массы, собакам – внутривенно в объеме 1 мл на 10 кг массы тела.

В рамках данной работы были выполнены следующие серии: 1) крысам вводили физиологический раствор одновременно с карбахолином; 2) крысам вводили физиологический раствор и через 30 мин – карбахолин; 3) собакам вводили физиологический раствор одновременно с карбахолином; 4) сразу после иммобилизации крысам вводили физиологический раствор одновременно с карбахолином; 5) сразу после иммобилизации крысам вводили физиологический раствор и через 30 мин – карбахолин; 6) через 30 мин после иммобилизации собакам вводили физиологический раствор одновременно с введением карбахолина.

Кровь для лабораторных исследований отбирали у крыс из артерии во время декапитации (через 45 и 75 мин после введения физиологического раствора), у собак – из подкожной вены голени (через 150 мин после введения физиологического раствора). Интенсивность стресс-реакции определяли с помощью таких критериев, как изменение уровня 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) в плазме крови, а также изменение содержания общего числа лейкоцитов и их отдельных морфологических форм в периферической крови у собак и крыс [18].

Флуориметрический метод определения 11-ОКС в плазме крови (Ю.А. Панков, И.Я. Усватова [19]) позволял судить о содержании в плазме крови собак суммарного количества двух основных гормонов, секретируемых корой надпочечников, – кортизола и кортикостерона, а в плазме крови крыс – кортикостерона. Метод основан на способности кортикостероидов, имеющих гидроксилы в 11 и 21 положениях и 3-кетогруппу в кольце А, обнаруживать флуоресценцию после обработки проб смесью концентрированной серной кислоты и этилового спирта. Для проведения анализа требовался 1 мл плазмы крови. В пробирку, промытую гепарином, собирали 2,5–5 мл крови из подкожной вены голени у собак и из артерии во время декапитации у крыс.

Подсчёт лейкограммы производили на 500 клеток с использованием микроскопа МБИ ЗУ42 «Ломо» после окраски мазка по Романовскому. Подсчёт

лейкоцитов производили в счётной камере Горяева с использованием микроскопа МБИ ЗУ42 «Ломо». Диапазон варьирования процентного содержания морфологических форм лейкоцитов и концентрации 11-ОКС в плазме крови оставался в пределах физиологических колебаний у всех групп экспериментальных животных [15, 20].

Статистический анализ данных проводился с помощью прикладного пакета StatSoft STATISTICA 6.0. Вычислялись среднее значение анализируемого показателя (M), стандартная ошибка среднего (m) и критерий значимости, относительно которого определялся достигаемый уровень значимости (p). Статистический анализ достоверности различий между выборками проводили с использованием непараметрического критерия Mann – Whitney (U test) и критерия Стьюдента (t). Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$ [21].

Результаты исследования

После введения крысам, претерпевшим иммобилизационный стресс (ИС), физиологического раствора одновременно с карбахолином регистрировали уменьшение на 60% концентрации кортикостерона в плазме крови. Введение физиологического раствора крысам после ИС за 30 мин до введения карбахолина привело к увеличению уровня кортикостерона в плазме крови на 60% (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Изменения концентрации кортикостерона, суммарного количества лейкоцитов и их морфологических форм у крыс после действия иммобилизации

Показатели периферической крови	Контроль – введение ФР и карбахолина, $M \pm m$ ($n = 14$)	Введение ФР одновременно с карбахолином после ИС, $M \pm m$ ($n = 8$)	Введение ФР за 30 мин до карбахолина после ИС, $M \pm m$ ($n = 7$)
Уровень кортикостерона, мкмоль/л	$0,5 \pm 0,02$	$0,2 \pm 0,005^*$	$0,8 \pm 0,10^*$
Общее число лейкоцитов, $\times (10^9/\text{л})$	$3,58 \pm 0,168$	$12,84 \pm 0,826^*$	$8,69 \pm 0,835^*$
Палочкоядерные нейтрофилы, %	$2,4 \pm 0,52$	$1,0 \pm 0,51$	$1,0 \pm 0,01$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$47,4 \pm 3,07$	$77,0 \pm 4,60^*$	$75,0 \pm 2,89^*$
Эозинофилы, %	$0,1 \pm 0,10$	$0,0 \pm 0,0$	$0,5 \pm 0,29$
Моноциты, %	$3,0 \pm 0,36$	$3,8 \pm 0,31$	$1,0 \pm 0,0^*$
Лимфоциты, %	$46,4 \pm 2,98$	$17,4 \pm 4,06^*$	$22,5 \pm 2,59^*$
Базофилы, %	$0,1 \pm 0,10$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$

Примечания. Здесь и далее $M \pm m$ – среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего; n – объем выборки, соответствующий количеству опытов; ФР – физиологический раствор; ИС – иммобилизационный стресс; * – статистически значимые отличия от контроля ($p < 0,05$).

Среди признаков, характеризующих стресс-реакцию у крыс, отмечены: выраженный нейтрофильный лейкоцитоз за счёт сегментоядерных нейтрофилов, моноцитопения и лимфопения. Суммарное количество лейкоцитов у крыс, подверженных иммобилизации, после введения физиологического раствора одновременно с карбахолином увеличивалось наиболее значительно (на 258%) в сравнении с введением физиологического раствора за 30 мин до холиномиметика стрессированным животным (увеличение на 143%) (табл. 1). Количество сегментоядерных нейтрофилов практически равноценно увеличивалось после введения физиологического раствора одновременно с карбахолином (на 62%) и за 30 мин до агониста холинорецепторов (на 58%) крысам, подверженным иммобилизации. Содержание лимфоцитов снижалось на 62% после введения физиологического раствора одновременно с карбахолином и на 51% – после введения раствора за 30 мин до холиномиметика. Следует отметить, что изменение количества моноцитов (уменьшение их числа на 67%) после ИС регистрировали лишь у крыс, которым вводили физиологический раствор за 30 мин до карбахолина. Содержание эозинофилов значимо не изменялось, но имело тенденцию к уменьшению в случае введения физиологического раствора одновременно с карбахолином стрессированным крысам, и тенденцию к увеличению – в случае введения физиологического раствора за 30 мин до холиномиметика крысам после иммобилизации. Есть мнение, что уменьшение числа эозинофилов наблюдают на фоне превалирования симпатической нервной системы после нагрузок – и увеличение клеток – при активации парасимпатической нервной системы после действия нагрузок [22].

У собак в контрольных опытах наблюдалась значительная вариабельность в соотношении морфологических форм лейкоцитов и концентрации 11-ОКС в плазме крови, что позволило разделить животных на две группы (табл. 2). Для собак первой группы характерно большое количество палочкоядерных нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов, но малое содержание лимфоцитов и невысокая концентрация 11-ОКС в плазме крови. Во вторую группу включены животные с низким содержанием палочкоядерных нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов и высоким – лимфоцитов. При этом концентрация 11-ОКС вдвое превышала соответствующий показатель у собак первой группы. Есть данные, что при доминировании парасимпатического отдела вегетативной нервной системы в периферической крови отмечается более высокое содержание лимфоцитов в сравнении с аналогичным показателем у симпатикотоников [23].

Существенные различия между группами собак отмечены по степени выраженности стрессорной реакции. Так, после иммобилизации у собак первой группы содержание 11-ОКС увеличилось на 300% (с $0,3 \pm 0,04$ до $1,2 \pm 0,04$ мкмоль/л, $p < 0,05$), а у животных второй группы – на 167% (с $0,6 \pm 0,08$ до $1,6 \pm 0,08$ мкмоль/л, $p < 0,05$). Суммарное количество лейкоцитов у собак обеих групп после иммобилизации увеличилось на 95% – с $10,06 \pm 0,577 \times 10^9/\text{л}$ до $19,62 \pm 0,570 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$).

Т а б л и ц а 2

Показатели периферической крови в контрольных опытах у собак

Показатели	Первая группа M±m (n = 23)	Вторая группа M±m (n = 15)
Концентрация 11-ОКС, мкмоль/л	0,3±0,04	0,6±0,08**
Общее число лейкоцитов, ×(10 ⁹ /л)	10,39±0,944	9,33±0,746
Лейкограмма, %:		
палочкоядерные нейтрофилы	12,0±0,99	2,0±0,22**
сегментоядерные нейтрофилы	57,3±1,21	56,0±6,15
эозинофилы	2,2±0,16	0,8±0,40**
моноциты	5,6±0,31	4,0±0,38**
лимфоциты	22,3±0,60	37,3±6,49**
базофилы	0,3±0,09	0±0**

** – статистически значимые отличия от первой группы (p < 0,05).

Характерное для первой группы собак в контрольных опытах высокое содержание палочкоядерных нейтрофилов после воздействия стресса не изменилось. В то же время во второй группе животных стресс вызывал увеличение палочкоядерных нейтрофилов на 110% (табл. 3).

Т а б л и ц а 3

**Изменение морфологических форм лейкоцитов после действия
иммобилизации у собак**

Гемограмма	Группа собак	Контроль – введение ФР и карбахолина, M±m (n ¹ = 23, n ² = 15)	Введение ФР и карбахолина после ИС, M±m (n ¹ = 19, n ² = 15)
Палочкоядерные нейтрофилы	Первая	12,0±0,99	13,1±0,90
	Вторая	2,0±0,22	4,2±0,68*
Сегментоядерные нейтрофилы	Первая	57,3±1,21	68,2±2,92*
	Вторая	56,0±6,15	67,1±2,63
Эозинофилы	Первая	2,2±0,16	1,0±0,41*
	Вторая	0,8±0,40	1,7±1,08
Базофилы	Первая	0,3±0,09	1,0±0,00*
	Вторая	0±0	0±0
Моноциты	Первая	5,6±0,31	7,8±0,72*
	Вторая	4,0±0,38	10,6±1,36*
Лимфоциты	Первая	22,3±0,60	7,7±0,84*
	Вторая	37,3±6,49	12,2±1,49*

Примечание. n¹, n² – количество опытов в первой и второй группах у собак соответственно.

В обеих группах животных содержание сегментоядерных нейтрофилов в контроле не отличалось друг от друга и после действия стресса изменялось лишь в первой группе собак (увеличилось на 22%). Содержание эозинофилов в крови у собак первой группы уменьшалось после действия стресса на 54%. Базофилы были обнаружены только в первой группе животных, и их количество после ИС уменьшалось на 67%. После действия иммобилизации содержание моноцитов у первой группы животных увеличилось на 39%.

Для второй группы собак было характерно исходно низкое содержание моноцитов, однако у них увеличение после стресса было более значительным (на 165%). ИС вызывал примерно одинаковое снижение количества лимфоцитов в крови (в первой группе на 65%, во второй – на 67%), различия по этому показателю между группами сохранялись (табл. 3).

Таким образом, у крыс в результате использования различного временного интервала между инъекциями физиологического раствора и карбахолина получены разнонаправленные изменения концентрации кортикостерона после иммобилизации, а также нейтрофилез (за счет сегментоядерных нейтрофилов), моноцитопения и лимфопения. Наиболее яркие изменения картины крови наблюдали при одновременном сочетании физиологического раствора и карбахолина у животных. У собак получены результаты, указывающие на зависимость показателей крови и направленности изменений после действия иммобилизации от уровня показателей животных в контрольных опытах. Так, у собак с низким контрольным уровнем 11-ОКС в плазме крови увеличение гормонов после стресса более выражено, чем в группе животных с более высоким контрольным значением 11-ОКС. Изменения лейкограммы после иммобилизации заключались в резко выраженном нейтрофилёзе (за счёт сегментоядерных форм у животных с высоким содержанием палочкоядерных нейтрофилов в контрольных опытах и за счет палочкоядерных форм у животных с низким уровнем их содержания в контрольных опытах), моноцитозе и лимфопении. Базофилы были обнаружены только в первой группе животных, и их количество после ИС увеличилось. Количество эозинофилов снижалось после ИС в группе собак с высоким их содержанием в контрольных опытах и лишь имело тенденцию к увеличению у животных с низким контрольным уровнем эозинофилов. У животных второй группы (с низким количеством палочкоядерных нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов и высоким содержанием лимфоцитов) после иммобилизации уровень числовых значений эозинофилов, моноцитов и лимфоцитов был выше, а палочкоядерных нейтрофилов – ниже, нежели в первой группе собак.

Обсуждение результатов

Реакция системы крови на действие чрезвычайных раздражителей формируется при участии универсальных стресс-реализующих систем, которые мобилизуют специфические механизмы, индуцирующие гемопоэз в физиологических и экстремальных условиях. В реализации отмеченных количественных сдвигов показателей периферической крови важную роль играет гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система (ГТАКС). Под влиянием возмущающих сигналов происходит переход системы ГТАКС из одного состояния в другое. Регулируют и перераспределяют поток энергии в организме гормоны стресса, которые осуществляют эту неспецифическую функцию, а на основании её строятся новые специфические механизмы

адаптации. Стрессорные воздействия на организм наряду с поведенческими реакциями вызывают изменения состояния парасимпатического и симпатического отделов автономной нервной системы с соответствующей модуляцией фоновых центральных холинергических и адренергических влияний. Одним из нейроэндокринных факторов, принимающих участие в стрессе, являются глюкокортикоидные гормоны [3, 24].

В наших экспериментах увеличение концентрации кортикостерона было зарегистрировано у крыс, которым вводили физиологический раствор за 30 мин до карбахолина после ИС (концентрацию гормонов определяли в плазме, полученной через 75 мин после инъекции физиологического раствора). У собак независимо от контрольного уровня 11-ОКС увеличение концентрации глюкокортикоидов наблюдали при одновременном введении физиологического раствора с агонистом холинорецепторов после иммобилизации (концентрацию гормонов определяли в плазме, полученной через 150 мин после инъекций). Необходимо отметить, что у собак первой группы (с низкой концентрацией глюкокортикоидов в контрольных опытах) степень повышения концентрации гормонов была выше в 1,8 раза по сравнению с показателями у собак второй группы (с высокой концентрацией кортикостероидов в контрольных опытах). Вместе с тем у крыс, которым вводили физиологический раствор одновременно с холиномиметиком после ИС, обнаружено значимое снижение концентрации кортикостерона (концентрацию гормонов определяли в плазме, полученной через 45 мин после инъекций физиологического раствора и карбахолина). Необходимо отметить, что в контрольных опытах отсутствовали различия в уровне кортикостерона у крыс, которым вводили физиологический раствор одновременно с карбахолином, и у крыс, которым вводили физиологический раствор за 30 мин до холиномиметика. С одной стороны, возможно, данные наших опытов отражают цикличность секреторных процессов в надпочечниковой системе экспериментальных животных. С другой стороны, возможно, физиологический раствор, вводимый одновременно или последовательно с холиномиметиком, самостоятельно участвует в изменении уровня кортикостероидов, так как имеются прямые указания на подобную его способность [14, 25].

Вместе с тем можно предположить, что различия в уровне глюкокортикоидов у групп крыс, которые подвергались однотипному стрессу, определяются разными стадиями стресса, если полагать, что этому способствовало одновременное или последовательное применение дополнительных после иммобилизации раздражителей (инъекции физиологического раствора и карбахолина). Повышение секреции глюкокортикоидных гормонов отмечается при реакции тревоги, а в течение стадии истощения секреция глюкокортикоидов начинает снижаться и, наконец, падает [26, 14]. Однако трудно говорить о разных стадиях (резистентности, истощения), так как в наших экспериментах отсутствует характерная для них эозинофилия.

Есть мнение, что фактически в остром стрессе существует лишь одна стадия – тревоги, если стрессор однократен и не настолько силен, чтобы приводить к стадии истощения. Стадия резистентности после реакции тревоги относится не к стрессу, а к другим реакциям на раздражители либо слабой, либо средней силы (активации, тренировки), в зависимости от степени запредельного торможения. Стадия истощения относится к хроническому или очень тяжёлому острому стрессу [14].

В ходе проведённого нами исследования у крыс и собак после иммобилизации был зарегистрирован выраженный нейтрофилёз в периферической крови вне зависимости от сочетания дополнительных факторов (физиологический раствор, карбахолин). Лейкоцитоз за счет сегментоядерных нейтрофилов наблюдали у крыс независимо от временного интервала между инъекциями физиологического раствора и карбахолина и у собак с высоким содержанием палочкоядерных нейтрофилов в контрольных опытах. Вместе с тем нейтрофилёз за счет палочкоядерных форм регистрировали у собак с низким контрольным уровнем их содержания. Развитие нейтрофилёза, возможно, связано с выбросом этих клеток из костного мозга в периферическую кровь при стимуляции α -адренорецепторов.

Количество моноцитов у крыс и собак после иммобилизации изменялось неоднозначно. Количество моноцитарных клеток снижалось у стрессированных крыс, которым физиологический раствор вводили за 30 мин до карбахолина, не изменялось у крыс с одновременным сочетанием физиологического раствора и холиномиметика после ИС, а у собак регистрировали моноцитоз в обеих группах (с высоким и низким содержанием моноцитов в контрольных опытах). Отмечена разная степень проявления моноцитоза у собак: у животных с исходно высоким содержанием моноцитов иммобилизация вызывала менее яркий ответ (увеличение на 39%), чем у животных с исходно низким содержанием моноцитарных клеток (увеличение в 2,5 раза). В эксперименте были обнаружены эозинопения и увеличение количества базофилов только у собак первой группы после иммобилизации. Данная группа животных характеризовалась исходно высоким содержанием эозинофилов и наличием базофилов. Эозинофилы уходят из крови в соединительную ткань, где принимают активное участие в реализации функции макрофагов. Таким образом, изменения количества нейтрофилов, моноцитов и эозинофилов, вероятно, определяются видовыми особенностями ответной реакции на стресс и исходным уровнем данных показателей. В то время как изменение содержания базофилов после стрессирующего воздействия, помимо видовой специфики, исходного уровня клеток, зависит от времени забора крови после иммобилизации. После ИС у всех животных отмечена лимфопения. Вероятно, в уменьшении поступления лимфоцитов в кровоток глюкокортикоиды не играли основной роли, в связи с тем что лимфопеническое действие стресса наблюдали как при повышении, так и при снижении уровней кортикостероидов у крыс после иммобилизации и разной степени

повышения 11-ОКС у собак после стресса. Возникновение эозинопении и лимфопении может быть обусловлено преобладающим влиянием симпатической нервной системы. Так, миграция лимфоцитов в костный мозг и ткани происходит при участии β -адренорецепторов. Даже повышенная миграция лимфоидных клеток из тимуса и селезёнки не может компенсировать их убыли из крови. Срочная мобилизация лимфоцитов при стрессе и расселение их по органам и тканям необходимы для обеспечения подготовки организма к ответу на любое нарушение гомеостаза.

Из всех морфологических форм лейкоцитов число лимфоцитов составляло менее 20% как у крыс, так и у собак. По мнению некоторых исследователей, основным показателем реакции организма на внешнее воздействие является процентное содержание лимфоцитов. Менее 20% лимфоцитов в периферической крови характерно для реакции типа «стресс» и отличает её от реакции активации и тренировки [14].

Следует отметить, что согласно одному из правил саморегуляции – «правилу исходного уровня» – направление и величина изменений гомеостатической константы под влиянием возмущающего фактора зависят от исходного значения константы. Здесь необходимо вспомнить, что при проведении контрольных опытов в данном эксперименте у собак были отмечены различия в величинах показателей крови, что позволило разделить животных на две группы. После иммобилизации между двумя образовавшимися группами регистрировали различные реакции по степени выраженности и направленности изменений концентрации кортикостероидов и соотношений морфологических форм лейкоцитов. По-видимому, «индивидуальная норма», обусловленная конституциональными особенностями гуморальной регуляции и структур физиологических систем, определила функциональные способности (потенциал) организма в ответ на действие стресса. Исходя из того, что сохраниться в качестве системы организм может лишь в том случае, если возмущающее воздействие автоматически вызывает активный эффект, стабилизирующий внутреннюю среду, – основным механизмом сохранения гомеостаза является саморегуляция [27].

Таким образом, применение раздражителей (инъекции физиологического раствора и карбахолина), сопряженных с выполнением данного эксперимента, одновременно или последовательно включенных в действие, оказалось весомым фактором, обусловившим ответную реакцию организма животных, подверженных иммобилизации. В результате получены адаптационные реакции разного типа с характерным комплексом изменений показателей крови. Вместе с тем индивидуальные особенности, обусловленные функциональными способностями (потенциал) организма, определили степень и направленность изменений концентрации глюкокортикоидов и содержание различных морфологических форм лейкоцитов в ответ на действие ИС.

Литература

1. Трофимова Л.К., Сутова И.А., Маслова М.В. Влияние однократного иммобилизационного стресса на метаболизм ГАМК и поведение беременных и небеременных самок крыс в раннем постстрессорном периоде // *Нейрохимия*. 2009. Т. 26, № 3. С. 220–224.
2. Бузуева И.И., Филюшина Е.Е., Шмерлинг М.Д. и др. Влияние хронического стресса на структуру надпочечника крыс гипертензивной линии Нисаг после превентивного лечения теразолином // *Бюллетень СО РАМН*. 2010. Т. 30, № 4. С. 267–273.
3. Cohen S., Janicki-Deverts D., Doyle W.J. et al. Chronic stress, glucocorticoid receptor resistance, inflammation, and disease risk // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America*. 2012. Vol. 109, № 16. P. 5995–5999.
4. Ясеняевская А.Л. Изучение влияния иммобилизационного стресса и антиоксидантов на гормональную активность щитовидной железы белых крыс на разных этапах онтогенеза // *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. 2010. № 2 (2). С. 689–693.
5. Мариотти С. Нормальная физиология гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы и ее связь с другими эндокринными железами и нервной системой // *Медицинский научный и учебно-методический журнал*. 2005. № 24. С. 203–222.
6. Загребин В.Л., Бойко А.С., Иванова Д.П. Сравнительная микроморфология хромофильных клеток аденогипофиза в норме и при хроническом психоэмоциональном и смешанном стрессах в раннем постнатальном онтогенезе белых крыс // *Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН и Администрации Волгоградской области*. 2007. № 2. С. 25–26.
7. Журнист А.Г., Утешев А.Б., Макашев Ж.А., Абылаев Ж.А. Функциональное состояние симпатико-адреналовой системы в животном организме при воздействии ионизирующей радиации // *Международная конференция «Механизмы функционирования висцеральных систем»* : тез. докл. СПб., 1999. С. 134–135.
8. Батвитенко Н.Н., Хама-Мудар А.Л. Изменения биохимических показателей крови крыс линии Wistar и WKY при функциональной нагрузке (бег на тредмиле) // *III Всероссийская конференция с межд. участием «Механизмы функционирования висцеральных систем»* : тез. докл. СПб., 2003. С. 31.
9. Cohen S., Hamrick N. Stable individual differences in physiological response to stressors: implications for stress-elicited changes in immune related health // *Brain, Behavior, and Immunity*. 2003. № 2. P. 407–414.
10. Nemeth N., Kiss F., Furka I., Miko I. Gender differences of blood rheological parameters in laboratory animals *Clin Hemorheol Microcirc.* 2010. Vol. 45, is. 2–4. P. 263–272.
11. Семенова М.Г., Ракицкая В.В. Гормональная функция адренокортикальной системы у активных и пассивных крыс в условиях неизбежного стресса // *III Всерос. конф. с междунар. участием, посвящ. 175-летию со дня рожд. Ф.В. Овсянникова «Механизмы функционирования висцеральных систем»* : тез. докл. СПб., 2003. С. 296.
12. Чичинадзе К.Н. Агрессивное поведение и стресс: наличие соответствий на уровне физиологического и этологического реагирования // *III Всерос. конф., посвящ. 175-летию со дня рожд. Ф.В. Овсянникова «Механизмы функционирования висцеральных систем»* : тез. докл. СПб., 2003. С. 346.
13. Ковтуненко А.Ю. Адаптационные реакции у кур при транспортировке и шумовом воздействии : дис. ... канд. биол. наук. Белгород, 2009. 135 с.
14. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. Антистрессорные реакции и активационная терапия (Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации). М. : ИМЕДИС, 1998. 656 с.
15. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях : учеб. пособие / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М. : Профиль-2С, 2010. 358 с.

16. Замощина Т.А., Мелешко М.В. Ритмомодулирующие свойства лития оксibuтирата на фоне электролитического разрушения правого супрахиазматического ядра гипоталамуса // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2005. № 1. С. 13–16.
17. Селье Г. Стресс без дистресса. М. : Прогресс, 1979. 126 с.
18. Колесникова Л.А., Оськина И.Н. Концентрация кортикостерона в крови и лейкоцитарная формула при изучении стресса у серых крыс с различными типами поведения // Известия АН. Сер. Биологическая. Физиология животных и человека. 2003. № 1. С. 88–92.
19. Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса. Новосибирск : Наука, 1983, 243 с.
20. Кравченко И.Н., Хохлова О.Н., Кравченко Н.Н. и др. Гематологические показатели свободных от патогенной флоры крыс CD (SPRAGUE-DAWLEY) и мышей CD-1 в норме // Биомедицина. 2008. № 2. С. 20–30.
21. Лакин Г.Ф. Биометрия : учебное пособие для биол. спец. вузов. М. : Высшая школа, 1990. 352 с.
22. Бекер Р. Функциональное исследование вегетативной нервной системы. URL: <http://www.sisibol.ru/issled/351.shtml> (дата обращения: 24.11.2012).
23. Рагинене И.Г. Зависимость функционального состояния иммунной системы от исходного вегетативного тонуса организма : дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2003. 110 с.
24. Zhang R., Jankord R., Flak J. et al. Role of Glucocorticoids in Tuning Hindbrain Stress Integration // The Journal of Neuroscience. 2010. Vol. 30(44). P. 14907–14914.
25. Zamoshchina T.A., Saratikov A.S., Lishmanov Yu.B. Effect of lithium hydroxybutyrate on circadian rhythms of brain serotonin content and plasma corticosteroids in reserpine-treated mice // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 1997 July. Vol. 124, № 1. P. 709–712.
26. Апчел В.Я., Цыган В.Н. Стресс и стрессустойчивость человека. СПб. : Правда, 1999. 86 с.
27. Гриднева В.И. Значение исходного уровня показателей желудочной секреции для реактивности секреторного аппарата желудка в ответ на действие возмущающих факторов // Доклады Академии наук Высшей школы России. 2004. № 2 (3). С. 106–118.

Поступила в редакцию 27.11.2013 г.

Авторский коллектив:

Томова Татьяна Александровна – канд. биол. наук, доцент кафедры медико-биологических дисциплин Томского государственного педагогического университета (г. Томск, Россия). E-mail: eskovata77@mail.ru

Просекина Елена Юрьевна – канд. биол. наук, доцент кафедры физиологии человека и животных Биологического института Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: physiol@bio.tsu.ru

Замощина Татьяна Алексеевна – профессор, д-р биол. наук, профессор кафедры физиологии человека и животных Биологического института Томского государственного университета; профессор кафедры фармакологии Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск, Россия). E-mail: beladona@hotmail.ru

Матюхина Мария Викторовна – студент кафедры английского языка факультета иностранных языков Томского государственного педагогического университета (г. Томск, Россия). E-mail: matyukhina.mariya@mail.ru

Фатюшина Оксана Александровна – ассистент кафедры госпитальной хирургии Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск, Россия). E-mail: fatmih@sibmail.com

*Tatiana A. Tomova¹, Elena Ju. Prosekina², Tatiana A. Zamoschina^{2,3},
Maria V. Matyuhina¹, Oksana A. Fatyushina³

¹ Tomsk State Pedagogical University, Tomsk, Russian Federation. *E-mail: physiol@bio.tsu.ru

² Department of Physiology of Human and Animals, Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

³ Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

The influence of immobilization on indices of stress reaction in rats and dogs

The experiment simulated the stress reaction, using markers of hidden functional organism reserves. These markers were immobilization, carbocholine and saline. The study was carried out on male rats weighing 180–240 g and dogs weighing 15–22 kg. Immobilization of the rats was performed once a day for 18 hours, fixing on the back by all the limbs on the operating table, the dogs were placed in a narrow cage of the wooden slats. Non-selective cholinomimetic carbocholine (“Reanal”, Hungary) was administered intramuscularly to rats at a dose of 25 mg/kg, the dogs – 6 mg/kg. Physiologic saline was administered intraperitoneally to rats in a volume of 1 ml per 200 g body weight, dogs – intravenously in a volume of 1 ml per 10 kg bodyweight. Blood for laboratory tests was taken from an artery in rats during decapitation, in dogs – from the subcutaneous vein of the shin. The intensity of the stress-reaction is determined by such criteria as the level change of 11-oksicorticosteroids (11-OCS) in plasma, as well as the total content of leukocytes and the leukocytal formula in peripheral blood in dogs and rats. Statistical procedures were performed with the help of StatSoft STATISTICA 6.0 application package using the average values of the analyzed indicator (M), standard error of the mean (m), the criterion of Mann–Whitney (U-test) and Student’s t-test (t). The differences were considered significant at $p < 0.05$. As a result, we obtained the adaptive response of different types with a characteristic set of changes in blood parameters. Using a different interval of time between the injections of saline and carbochol, changes in the concentration of corticosterone in rats were obtained after immobilization, as well as neutrophilia (due to the segmented neutrophils), monocytopenia and lymphopenia. In the animals, the most striking changes in blood were observed with the simultaneous combination of saline and carbochol. In dogs, the results were obtained which indicated the dependence of the blood and the direction of change after the action of immobilization on the baseline indicators. Thus, in animals with low baseline levels 11-OCS an increase in hormones in plasma after stress is more pronounced than in the group of animals which have higher level control 11-OCS. Changes of leukogram after immobilization consisted of a pronounced neutrophilia (due to the segmented forms in animals with initially high content of band neutrophils and due to the stab forms in animals with initially low level of their content), monocytosis and lymphopenia. Basophils were detected only in the first group of animals and their number increased after the immobilization. The number of eosinophils decreased in the group of dogs with initially high level of eosinophils and increased in animals that had low baseline level of eosinophils. After immobilization, in animals with a low baseline of stab neutrophils, eosinophils, monocytes and with initially high content of lymphocytes, the level of numerical values of eosinophils, monocytes and lymphocytes was higher and the content of stab neutrophils was lower than in the other group of dogs.

Key words: stress; immobilization; carbocholine; glucocorticoids; leukogram.

Received November 27, 2013

References

1. Trofimova L.K., Surova I.A., Maslova M.V. Vliyaniye odnokratnogo immobilizatsionnogo stressa na metabolism GAMK i povedeniye beremennykh i neberemennykh samok kryss v rannem poststressornom periode. *Neyrokhiimiya*. 2009. Vol. 26, No 3. PP. 220-224. [Trofimova LK, Suvorova IA, Maslova MV et. al. Effects of single immobilization stress on the GABA metabolism and behavior of pregnant and nonpregnant female rats during early post-stress period. *Neurochemical Journal*. 2009;26(3):220-224.] In Russian
2. Buzueva I.I., Filyushina E.E., Shmerling M.D. i dr. Vliyaniye khronicheskogo stressa na strukturu nadpochechnika kryss gipertenzivnoy linii Nisag posle preventivnogo lecheniya terazozinom. *Byulleten' SO RAMN*. 2010. Vol. 30, No 4. PP. 267-273. [Buzueva II, Filyushina EE, Shmerling MD, Markel' AL, Jacobson GS. The chronic stress influence on the adrenal glands structure in hypertensive Isiah rats after preventive treatment with terazosin. *Bulletin of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2010;30(4):56-61.] In Russian
3. Cohen S, Janicki-Deverts D, Doyle WJ et al. Chronic stress, glucocorticoid receptor resistance, inflammation, and disease risk. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109(16):5995-5999.
4. Yaseniyavskaya A.L. Izuchenie vliyaniya immobilizatsionnogo stressa i antioksidantov na gormonal'nuyu aktivnost' shchitovidnoy zhelezy belykh kryss na raznykh etapakh ontogeneza. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo*. 2010. No 2(2). PP. 689-693. [Yaseniyavskaya AL. The effect of immobilization stress and antioxidants on the thyroid gland hormonal activity of white rats at different stages of ontogenesis. *Vestnik UNN*. 2010;2(2):689-693.] In Russian
5. Mariotti S. Normal'naya fiziologiya gipotalamo-gipofizarno-tireoidnoy sistemy i ee svyaz' s drugimi endokrinnyimi zhelezami i nervnoy sistemoy. *Meditinskiy nauchnyy i uchebno-metodicheskiy zhurnal*. 2005. № 24. PP. 203-222. [Mariotti S. Normal physiology of the hypothalamic-pituitary-thyroid and other endocrine glands and the nervous system. *Medical scientific and educational-methodical magazine*. 2005;24:203-222.] In Russian
6. Zagrebin V.L., Boyko A.S., Ivanova D.P. Sravnitel'naya mikromorfologiya khromofil'nykh kletok adenogipofiza v norme i pri khronicheskom psikhoemotsional'nom i smeshannom stressakh v rannem postnatal'nom ontogeneze belykh kryss. *Byulleten' Volgogradskogo nauchnogo tsentra RAMN i Administratsii Volgogradskoy oblasti*. 2007. No 2. PP. 25-26. [Zagrebin VL, Boyko AS, Ivanova DP. Comparative micromorphology chromophilicae cells adenogipofiza in health and chronic psycho-emotional and mixed stress in early post-natal ontogenesis of the white rats. *Bulletin of the Volgograd scientific center of Russian Academy of Medical Sciences and the administration of Volgograd region*. 2007;2:25-26.] In Russian
7. Zhurnist A.G., Uteshev A.B., Makashev Zh.A., Abylaev Zh.A. Funktsional'noe sostoyaniye simpatiko-adrenalovoy sistemy v zhivotnom organizme pri vozdeystvii ioniziruyushchey radiatsii. *Mezhdunarodnaya konferentsiya «Mekhanizmy funktsionirovaniya vistseral'nykh sistem»*: tez. dokl. SPb., 1999. PP. 134-135. [Zhurnist AG, Uteshev AB, Makashev ZhA, Abilaev ZhA. Functional state of sympathetic-adrenal system in the animal organism under the influence of ionizing radiation. International conference "Mechanisms of functioning of visceral systems": Abstracts of reports. Saint-Petersburg: 1999. pp.134-135.] In Russian
8. Batvitenko N.N., Khama-Mudar A.L. Izmeneniya biokhimicheskikh pokazateley krovi kryss linii Wistar i WKY pri funktsional'noy nagruzke (beg na tredmle). III Vserossiyskaya konferentsiya s mezhd. uchastiem «Mekhanizmy funktsionirovaniya vistseral'nykh sistem»: tez. dokl. SPb., 2003. PP. 31. [Batvitenko NN, Hama-Mudar AL. Changes in the biochemical indices of the blood of rats Wistar and WKY under functional load (running on the treadmill). III All-Russian conference with international participation "Mechanisms

- of functioning of visceral systems*": Abstracts of reports. Saint-Petersburg: 2003. pp. 31.] In Russian
9. Cohen S, Hamrick N. Stable individual differences in physiological response to stressors: implications for stress-elicited changes in immune related health. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2003;2:407-414.
 10. Nemeth N, Kiss F, Furka I, Miko I. Gender differences of blood rheological parameters in laboratory animals. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2010; 45(2-4):263-272.
 11. Semenova M.G., Rakitskaya V.V. Gormonal'naya funktsiya adrenokortikal'noy sistemy u aktivnykh i passivnykh kryss v usloviyakh neizbegaemogo stressa. III Vseros. konf. s mezhd. uchastiem, posvyash. 175-letiyu so dnya rozhd. F.V. Ovsyannikova «Mekhanizmy funktsionirovaniya vistseral'nykh sistem»: tez. dokl. SPb., 2003. PP. 296. [Semenova OG, Rakitskaya VV. The endocrine function of adrenal cortical systems for active and passive rats in conditions of the inevitable stress. III All-Russian conference with international participation "*Mechanisms of functioning of visceral systems*": Abstracts of reports. Saint-Petersburg: 2003. pp. 296.] In Russian
 12. Chichinadze K.N. Agressivnoe povedenie i stress: nalichie sootvetstviy na urovne fiziologicheskogo i etologicheskogo reagirovaniya. III Vseros. konf., posvyash. 175-letiyu so dnya rozhd. F.V. Ovsyannikova «Mekhanizmy funktsionirovaniya vistseral'nykh sistem»: tez. dokl. SPb., 2003. PP. 346. [Chichinadze KN. Aggressive behavior and stress: the presence of matches at the level of physiological and ethological response. III All-Russian conference with international participation "*Mechanisms of functioning of visceral systems*": Abstracts of reports. Saint-Petersburg: 2003. pp. 346.] In Russian
 13. Kovtunen A. Yu. Adaptatsionnye reaktsii u kur pri transportirovke i shumovom vozdeystvii: dis. ... kand. biol. nauk. Belgorod, 2009. 135 pp. [Kovtunen AYU. Adaptable reactions in chickens during transport and noise levels [CandSci dissertation]. Belgorod: Belgorod State Agricultural Academy; 2009. 135 p.] In Russian
 14. Garkavi L.Kh., Kvakina E.B., Kuz'menko T.S. Antistressornye reaktsii i aktivatsionnaya terapiya (Reaktsiya aktivatsii kak put' k zdorov'yu cherez protsessy samoorganizatsii). M.: IMEDIS, 1998. 656 PP. [Garkavi LKh, Kvakina EB, Kuzmenko TS. Anti-stress reaction, and activation therapy (Reaction activation as a way to health through processes of self-organization). Moscow: IMEDIS; 1998. 656 p.] In Russian
 15. Rukovodstvo po laboratornym zivotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyakh : ucheb. posobie / pod red. N.N. Karkishchenko, S.V. Gracheva. M.: Izdvo «Profil'-2S», 2010. 358 pp. Guidelines on laboratory animals and alternative models in biomedical research: a Training manual / Ed. by NN. Karkischenko, SV. Grachev. Moscow: Profile-2C; 2010. 358 p.] In Russian
 16. Zamoshchina T.A., Meleshko M.V. Ritmomoduliruyushchie svoystva litiya oksibutirata na fone elektroliticheskogo razrusheniya pravogo suprakhiatzmaticheskogo yadra gipotalamusa. Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya. 2005. No 1. PP. 13-16. [Zamoshchina TA, Meleshko MV. The rhythm-modulant effect of lithium hydroxybutyrate on the background of electrolytic lesion of the right suprachiasmatic nucleus of hypothalamus. *Experimental and clinical pharmacology*. 2005;1:13-16.] In Russian
 17. Sel'e G. Stress bez distressa. M.: Progress, 1979. 126 pp. [Selye G. Stress without distress. Moscow: Progress, 1979. 126 p.] In Russian
 18. Kolesnikova L.A., Os'kina I.N. Kotsentratsiya kortikosterona v krovi i leykotsitarnaya formula pri izuchenii stressa u serykh kryss s razlichnymi tipami povedeniya. Izvestiya AN. Ser. Biologicheskaya. Fiziologiya zivotnykh i cheloveka. 2003. No 1. PP. 88-92. [Kolesnikova LA, Oskina IN. Blood corticosterone concentration and differential blood-count in stressed Norway rats with different modes of behavior. *Izvestia of Russian Academy of Sciences Biological Series*. 2003;1:88-92.] In Russian

19. Panin L.E. Biokhimicheskie mekhanizmy stressa. Novosibirsk: Nauka, 1983, 243 pp. [Panin L.E. Biochemical mechanisms of stress. Novosibirsk: Nauka; 1983, 243 p.] In Russian
20. Kravchenko I.N., Khokhlova O.N., Kravchenko N.N. i dr. Gematologicheskie pokazateli svobodnykh ot patogennoy flory krysy CD (SPRAGUE-DAWLEY) i myshey CD-1 v norme. *Biomeditsina*. 2008. No 2. PP. 20-30. [Kravchenko I.N., Khokhlova O.N., Kravchenko N.N. et al. Hematological indices free from pathogenic flora rats CD (SPRAGUE-DAWLEY) and mice CD-1 in the norm. *Biomedicine*. 2008;2:20-30.] In Russian
21. Lakin G.F. Biometriya: uchebnoe posobie dlya biol. spets. vuzov. M.: Vysshaya shkola, 1990. 352 pp. [Lakin G.F. Biometrics: a training manual for biol. spec. universities. Moscow: Higher school; 1990. 352 p.] In Russian
22. Beker R. Funktsional'noe issledovanie vegetativnoy nervnoy sistemy. URL: <http://www.sisibol.ru/issled/351.shtml> (24.11.2012). [Becker R. Functional studies of autonomic nervous system. URL: <http://www.sisibol.ru/issled/351.shtml> (accessed on 24 Nov 2012).] In Russian
23. Raginene I.G. Zavisimost' funktsional'nogo sostoyaniya immunoj sistemy ot iskhodnogo vegetativnogo tonusa organizma: dis. ... kand. med. nauk. Tomsk, 2003. 110 pp. [Raginene I.G. The dependence of the functional condition of the immune system from source vegetative tonus of the organism [CandSci dissertation]. Tomsk: Siberian State Medical University; 2003. 110 p.] In Russian
24. Zhang R, Jankord R, Flak J et al. Role of Glucocorticoids in Tuning Hindbrain Stress Integration. *The Journal of Neuroscience*. 2010;30(44):14907-14914.
25. Zamoshchina TA, Saratkov AS, Lishmanov YuB. Effect of lithium hydroxybutyrate on circadian rhythms of brain serotonin content and plasma corticosteroids in reserpine-treated mice. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1997 July; 124(1):709-712
26. Apchel V.Ya., Tsygan V.N. Stress i stressustoychivost' cheloveka. SPb.: Pravda, 1999. 86 pp. [Apchel V.Ya., Tsygan V.N. Stress and stress resistance person. Saint-Petersburg: Pravda; 1999. 86 p.] In Russian
27. Gridneva V.I. Znachenie iskhodnogo urovnya pokazateley zheludochnoj sekretsii dlya reaktivnosti sekretornogo apparata zheludka v otvet na deystvie vozmushchayushchikh faktorov. *Doklady Akademii nauk Vysshey shkoly Rossii*. 2004, No 2(3). PP. 106-118. [Gridneva V.I. The value of the initial level of rates of gastric secretion for reactivity secretory apparatus of the stomach in response to the disturbing factors. *Reports of Academy of Sciences of Higher school of Russia*. 2004;2(3):106-118.] In Russian

УДК 57.085.23

doi: 10.17223/19988591/25/14

Т.О. Халиуллин¹, Е.Р. Кисин², Э. Мюррэй²,
Р.Р. Залялов¹, А.А. Шведова², Л.М. Фатхутдинова¹

¹ Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия

² Национальный институт охраны и здоровья труда, г. Моргантаун, США

Токсические эффекты углеродных нанотрубок в культурах клеток макрофагов и бронхиального эпителия

На сегодняшний день есть основания предполагать наличие риска здоровью людей, имеющих контакт с углеродными нанотрубками (УНТ). Была проведена сравнительная оценка токсических эффектов промышленных однослойных и многослойных УНТ (ОУНТ / МУНТ) в культурах макрофагов (RAW 264.7) и клеток бронхиального эпителия (BEAS-2B). RAW 264.7 оказались гораздо более чувствительны к воздействию различных типов УНТ, чем клетки BEAS-2B. Внесение МУНТ не сопровождалось достоверным снижением жизнеспособности макрофагов, но вызвало повреждение клеточных мембран; оксидативный стресс имел дозо- и времязависимый характер. ОУНТ вызвали значительное снижение жизнеспособности и индукцию оксидативного стресса. Улучшенная темнопольная микроскопия выявила адсорбцию и накопление МУНТ и ОУНТ на поверхности и внутри макрофагов. BEAS-2B оказались маловосприимчивы к экспозиции МУНТ. Внесение ОУНТ в культуру BEAS-2B вызвало небольшое статистически значимое дозо- и времязависимое снижение жизнеспособности и выраженное снижение уровня восстановленного глутатиона только при самой высокой концентрации наночастиц. Результаты исследования свидетельствуют о различиях в токсическом действии различных УНТ и о необходимости взвешивающего подхода к оценке токсичности наноматериалов и разработке отечественной нормативной документации с учетом особых физико-химических свойств углеродных наноматериалов.

Ключевые слова: углеродные нанотрубки; нанотоксикология; *in vitro*; макрофаги; RAW 264.7.

Введение

Одно- и многослойные углеродные нанотрубки, как одни из самых перспективных наноматериалов, получают все большее распространение. В мире наблюдается значительный рост предприятий, производящих и использующих готовые УНТ. Одновременно растет число лиц, потенциально экспонированных к аэрозолю углеродных нанотрубок на своих рабочих местах [1, 2]. Накопленные данные дают основания предположить наличие риска здоровью людей, имеющих производственный контакт с углеродными наночастицами. Волокнистая структура углеродных нанотрубок может обуславливать патогенность, свойственную минеральным волокнам (асбест,

диоксид кремния) [3–5]. Существует мнение, что углеродные наноразмерные частицы опаснее частиц микроразмера за счет большей проникающей способности, удельной поверхности и реактогенности [6].

Целью исследования была сравнительная оценка токсических эффектов промышленных однослойных и многослойных УНТ в культурах клеток макрофагов и бронхиального эпителия.

Материалы и методики исследования

Частицы. Одно- и многослойные углеродные нанотрубки были получены промышленным методом каталитического осаждения паров (ООО «Нанотехцентр», г. Тамбов). В растворе дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ) УНТ визуально представляли собой спутанные клубки размером до 5 мкм в ширину и отдельные волокна. В таблице приведены характеристики нанотрубок, предоставленные предприятиями-производителями.

Физико-химические характеристики промышленных углеродных нанотрубок

Физико-химические характеристики	Многослойные углеродные нанотрубки	Однослойные углеродные нанотрубки
Наружный диаметр, нм	8–15	1–2
Внутренний диаметр, нм	4–8	0,8–1,4
Длина, мкм	2 и более	3 и более
Общий объем примесей, %	до 5	4–7
Насыпная плотность, г/см ³	0,03–0,05	0,15
Удельная геометрическая поверхность, м ² /г	300–320	1100
Термостабильность, °С	До 600	До 700

Дозировка. УНТ были растворены вместе с ДПФХ (0,01 мкг/мл) с целью увеличения дисперсии частиц [7, 8]. С целью оценки дозозависимых эффектов в культурах были выбраны концентрации 0,02, 0,2, 2,4 и 24 мкг на см² поверхности монослоя (0,1, 1, 10, 100 мкг/мл среды). Эти концентрации использовались в предыдущих исследованиях по сравнительной оценке токсичности углеродных частиц нано- и микроразмера [9–11].

Культуры клеток. Были взяты две линии клеток: трансформированные мышинные макрофаги RAW 264.7 и иммортализованные клетки нормального человеческого бронхиального эпителия BEAS-2B. Клетки были выращены с использованием сред MEM (Minimal Essential Media, «Gibco», США) и DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium, «Gibco», США) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 100 Ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина в термостатах (37°C, 5% CO₂). Клетки были засеяны в 96-луночные планшеты в количестве около 2 000 на лунку.

В культурах клеток непосредственно в среде были измерены уровни лактатдегидрогеназы (ЛДГ) как маркера повреждения клеточных мембран [12]. В лизатах культур с помощью реагента ThioGlo® («Calbiochem», США) определялись уровни внутриклеточного глутатиона для косвенной оценки активности свободнорадикального окисления. Жизнеспособность клеток определялась методом флюоресценции.

Часть клеток (RAW 264.7, экспонированные к МУНТ и ОУНТ, концентрация 0,2 мг/см², через 2, 4, 6, 24 и 48 ч) была собрана, отмыта и отброшена на стекла для изучения с помощью улучшенной темнопольной микроскопии («CytoViva®», США).

Статистическая обработка проводилась с использованием t-критерия Стьюдента в программном пакете Microsoft Excel 2010. Данные представлены в виде средней $\pm$ ошибка средней. Отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

Для исследования нами были взяты мышинные макрофаги RAW 264.7, так как именно макрофаги являются клетками, запускающими и поддерживающими различные типы иммунных ответов в случаях контакта с инородным материалом [13].

Внесение МУНТ в культуру RAW 264.7 не вызвало достоверного снижения жизнеспособности (рис. 1, А), однако сопровождалось повышением концентраций ЛДГ во внеклеточной среде через 48 ч при всех дозировках (но не через 24 ч) (рис. 1, Б). Оксидативный стресс имел дозо- и времязависимый характер (рис. 1, В): уровни внутриклеточного восстановленного глутатиона снижались с повышением дозы и времени воздействия (для самой высокой дозы).

Внесение ОУНТ в культуру RAW 264.7 привело к снижению жизнеспособности на 10–15% через 24 ч после экспозиции независимо от дозы. Спустя 48 часов при 2,4 мкг/см² ОУНТ жизнеспособность снизилась до 78%, а при 24 мкг/см² – до 50% от уровня неэкспонированных клеток (рис. 2, А). Уровни ЛДГ резко выросли через 48 ч при концентрациях 0,2, 2,4 и 24 мкг/см² (рис. 2, Б), что в целом совпало с зафиксированным снижением жизнеспособности в тех же группах. Было обнаружено значительное снижение уровней восстановленного глутатиона: чем больше были экспозиционная доза и время воздействия, тем ниже уровни (рис. 2, В).

Клетки бронхиального эпителия BEAS-2B, играющие ведущую роль в эвакуации пылевых частиц из дыхательного тракта, оказались маловосприимчивы к внесению МУНТ: через 24 и 48 ч не было зафиксировано достоверного снижения жизнеспособности по сравнению с контрольной культурой. Такие же результаты были получены при оценке показателей повреждения клеток и оксидативного стресса (данные не приведены).

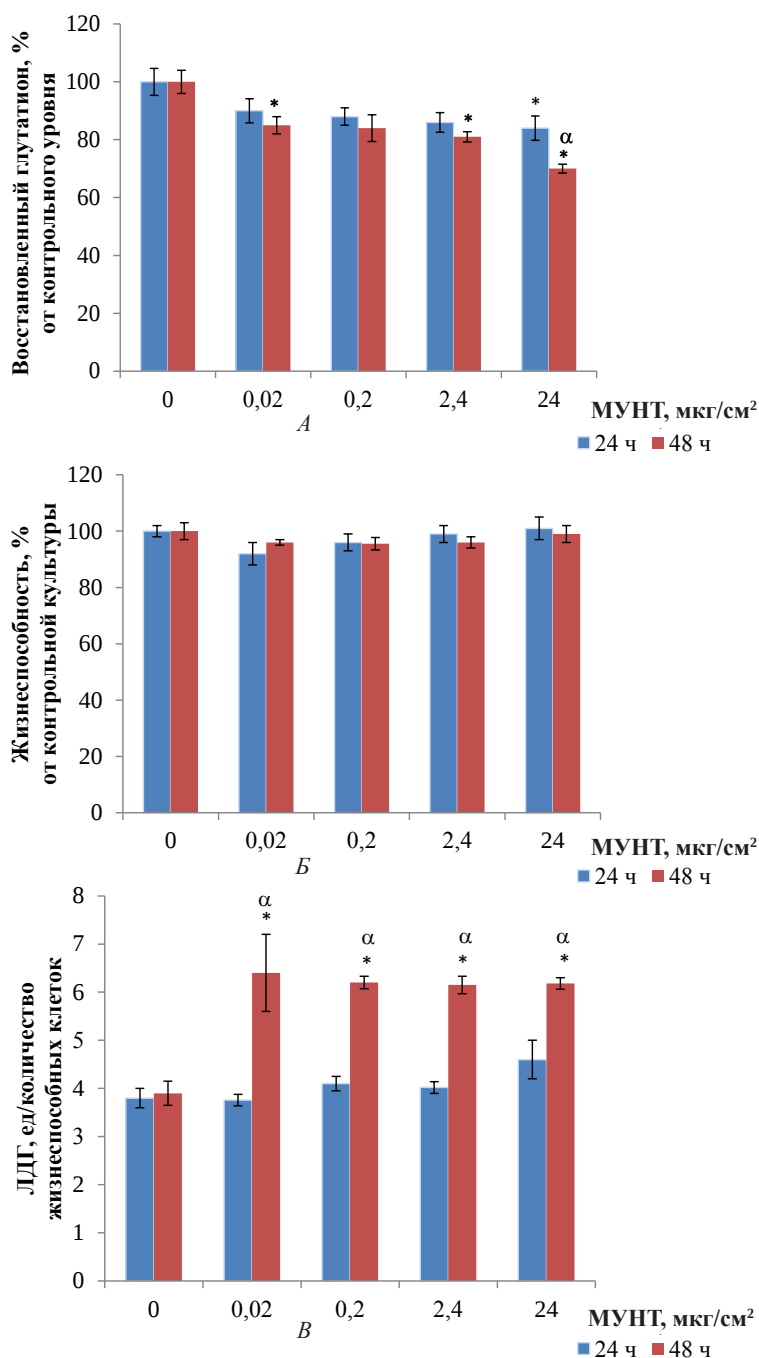


Рис. 1. Результаты внесения многослойных углеродных нанотрубок (МУНТ) в культуру RAW 264.7 макрофагов. * – $p < 0,05$ vs. контроль, α – $p < 0,05$ vs. 24 ч

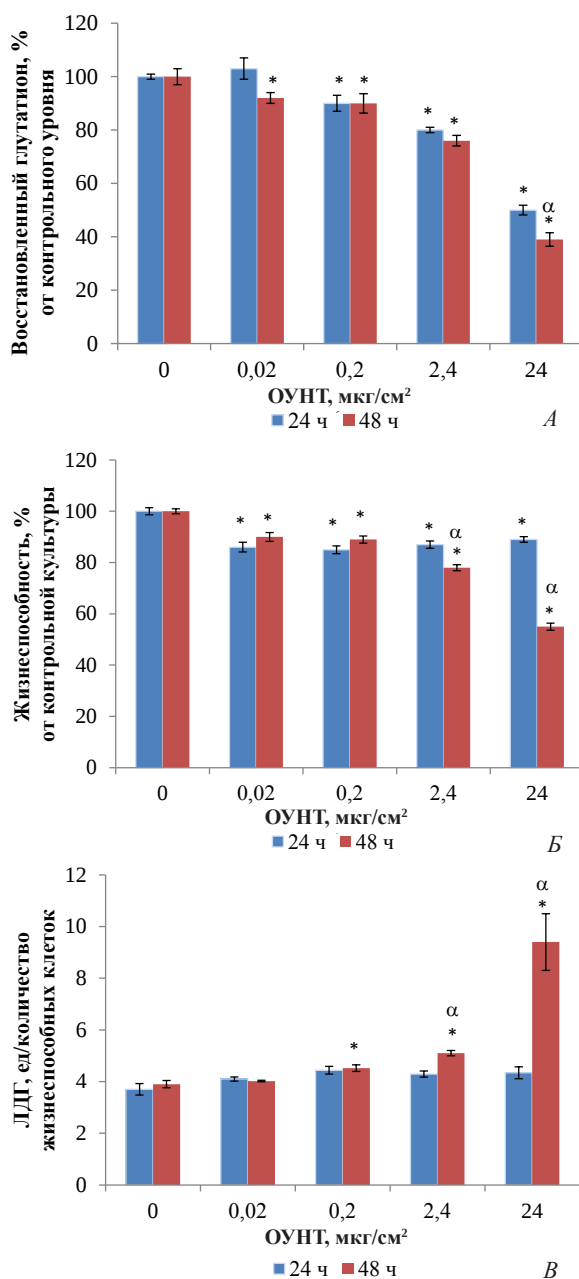


Рис. 2. Результаты внесения однослойных углеродных нанотрубок (ОУНТ) в культуру RAW 264.7 макрофагов. * – $p < 0,05$ vs. контроль, α – $p < 0,05$ vs. 24 ч

Внесение ОУНТ в культуру BEAS-2B через 24 и 48 ч вызвало небольшое статистически достоверное дозо- и времязависимое снижение жизнеспособ-

ности и выраженное снижение уровня восстановленного глутатиона при самой высокой концентрации наночастиц в 24 мкг/см² (данные не приведены).

Последовательное изучение экспонированных культур RAW 264.7 методом улучшенной темнопольной микроскопии выявило адсорбцию и накопление МУНТ и ОУНТ на поверхности и внутри клеток. С увеличением времени экспозиции увеличивалось количество УНТ, визуально определяемое внутри и снаружи клеток (рис. 3).

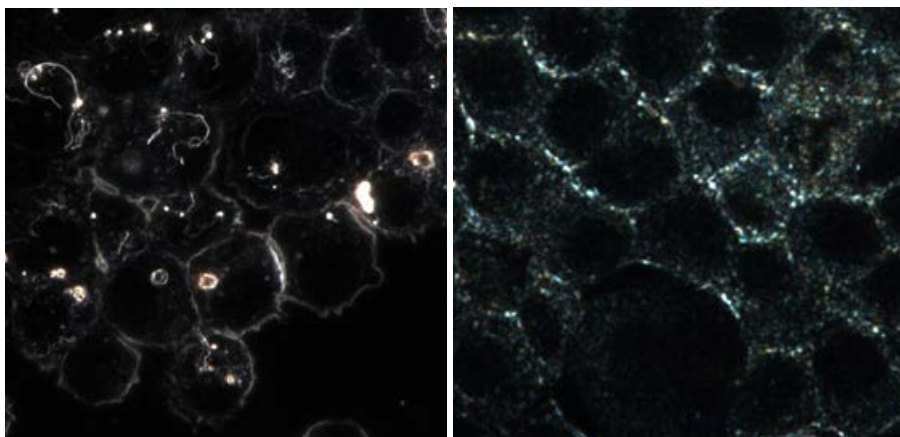


Рис. 3. Слева – экспозиция RAW 264.7 к МУНТ, 24 ч, 0,2 мкг/см².
Справа – контрольная культура (фотографии сделаны Т.О. Халиуллиным)

Полученные данные позволяют предположить, что исследуемые промышленные ОУНТ обладают токсическим действием, вызывая индукцию оксидативного стресса и гибель клеток. В то же время МУНТ, не приводя к значительному снижению жизнеспособности, оказывают повреждающее воздействие на мембраны чувствительных клеток (макрофагов). Это хорошо соотносится с данными, полученными в исследовании Hirano и др. [14], где было обнаружено, что МУНТ может ассоциироваться с мембраной макрофагов и нарушать ее целостность.

Сравнительные исследования токсичности ОУНТ и МУНТ *in vitro* многочисленны. Имеющиеся данные носят разнонаправленный характер. Одни исследователи обнаружили, что ОУНТ обладают большей цитотоксичностью [11, 15, 16]. Другие сообщили об отсутствии острых токсических эффектов для обоих типов УНТ [17]. Некоторые выявили снижение жизнеспособности при экспозиции УНТ, но не обнаружили количественных различий между одно- и многослойными трубками [18, 19]. Бактерии *E. coli*, *P. aeruginosa* и др. оказались наиболее чувствительны к воздействию ОУНТ, в то время как МУНТ показали умеренную токсичность [20]. Согласно нашим результатам, и ОУНТ и МУНТ обладают токсическим действием, но

механизмы и проявления эффектов различны, что необходимо учитывать в будущем при проведении сравнительных токсикологических исследований.

Одной из особенностей нашего исследования является изучение реакции макрофагов. Опыты *in vivo* говорят о значительной роли последних в развитии острого и хронического воспаления, а также профибротических изменений в легких в ответ на экспозицию УНТ [9, 21, 22]. Также было показано, что ОУНТ в гораздо меньшей степени, чем МУНТ, аккумулируются макрофагами [23]. В предыдущих исследованиях на RAW 264.7 макрофагах, изучая генотоксические эффекты экспозиции к УНТ, исследователи обнаружили признаки повреждения генетического аппарата клеток в концентрациях выше 0,1 мкг/см² для ОУНТ и выше 1 мкг/см² для МУНТ, хотя цитотоксические эффекты проявились лишь при самых высоких дозах (100 мкг/мл²) [24]. Механизмы вредного воздействия остаются малоизученными, а исследований с применением культур макрофагов сравнительно мало.

Наше исследование показало, что УНТ действительно оказывает токсическое действие на RAW 264.7 макрофаги, в отличие от бронхиального эпителия. Необходимо отметить, что в эксперименте использовались им-мортиализованные лейкемические макрофаги, которые, однако, способны к фагоцитозу, имеют выраженную лизосомальную активность и секретируют большинство биологически активных веществ, свойственных нормальным макрофагам, в том числе различные цитокины и медиаторы.

Экспериментальные данные, полученные для одного образца УНТ должны с осторожностью экстраполироваться на УНТ, полученные другими предприятиями и / или при других условиях. Так, были обнаружены различные ответные реакции на введение МУНТ, различающихся по морфологии и длине, в плевральную полость крыс – от незначительного локального воспалительного ответа в случае скрученных коротких нанотрубок до выраженной воспалительной реакции и образования гранулем в случае более длинных ригидных структур [25]. УНТ, полученные методом каталитического пиролиза углеводородов, также различаются по содержанию того или иного катализатора. Профессиональная экспозиция на первичном производстве предполагает контакт как с неочищенным, так и с очищенным от катализаторов материалом, в то время как вторичное производство и применение – контакт с уже очищенными (и / или функционализированными) нанотрубками. Исследователи указали на роль контаминантов – катализаторов в развитии оксидативного стресса в случае контакта клеток с УНТ [17, 26]. А в опыте на мышах очищенные ОУНТ оказались менее токсичными для мышей, чем образцы, содержащие остаточные количества катализаторов – железа и никеля [27].

Заключение

Макрофаги (RAW 264.7) оказались гораздо более чувствительны к воздействию различных типов УНТ, чем клетки бронхиального эпителия

(BEAS-2B). Действие ОУНТ на клетки привело к индукции оксидативного стресса и гибели клеток. Внесение МУНТ не вызвало значительного снижения жизнеспособности, однако сопровождалось признаками повреждения мембран макрофагов. Полученные результаты показывают, что необходим поиск доступных *in vitro* и *in silico* моделей для оценки различных параметров токсичности наночастиц. Сравнение различных типов УНТ должно опираться не только на оценку жизнеспособности, но и на специфические показатели вредного воздействия, такие как оксидативный стресс, повреждение клеточных мембран, цитокиновый профиль. Кроме того, в нормативных документах необходимо классифицировать наночастицы не только по признаку химического состава, но и по морфологическим особенностям.

Литература

1. *Lux Research*. The Nanotech Report. 5th ed. N.Y., NY : Lux Research, 2007.
2. Доклад Global Markets and Technologies for Carbon Nanotubes // Сайт: BCC Research. Market forecasting. URL: <http://www.bccresearch.com/report/carbon-nanotubes-markets-technologies-nan024e.html>
3. Wick P., Manser P., Limbach L.K. et al. The degree and kind of agglomeration affect carbon nanotube cytotoxicity // *Toxicol Lett*. 2007. № 168(2). P. 121–131.
4. Takagi A., Hirose A., Nishimura T., Kanno J. Dose-dependent mesothelioma induction by intraperitoneal administration of multi-wall carbon nanotubes in p53 heterozygous mice // *Cancer Sci*. 2012. № 103(8). P. 1440–1444.
5. Kim J.S., Song K.S., Lee J.K. et al. Toxicogenomic comparison of multi-wall carbon nanotubes (MWCNTs) and asbestos // *Arch Toxicol*. 2012. Apr. № 86(4). P. 553–562.
6. Nel A., Xia T., Madler L., Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel // *Science*. 2006. № 311(5761). P. 622–627.
7. Davoren M., Herzog E., Casey A. In vitro toxicity evaluation of single walled carbon nanotubes on human A549 lung cells // *Toxicol In Vitro*. 2007. № 21(3). P. 438–448.
8. Herzog E., Byrne H.J., Davoren M., Casey A., Duschl A., Oostingh G.J. Dispersion medium modulates oxidative stress response of human lung epithelial cells upon exposure to carbon nanomaterial samples // *Toxicol Appl Pharmacol*. 2009. № 236(3). P. 276–281.
9. Shvedova A.A., Kisin E.R., Mercer R. et al. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice. // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol*. 2005. № 289. P. 698–708.
10. Tabet L., Bussy C., Amara N. et al. Adverse effects of industrial multiwalled carbon nanotubes on human pulmonary cells // *J. Toxicol Environ Health A*. 2009. № 72(2). P. 60–73.
11. Tian F., Cui D., Schwarz H., Estrada G.G., Kobayashi H. Cytotoxicity of single-wall carbon nanotubes on human fibroblasts // *Toxicol In Vitro*. 2006. № 20(7). P. 1202–1212.
12. Drent M., Cobben N.A.M., Henderson R.F. Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation // *Eur Respir J*. 1996. Vol. 9. P. 1736–1742.
13. Mossman B.T., Churg A. Mechanisms in the pathogenesis of asbestosis and silicosis // *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. № 157. P. 1666–1680.
14. Hirano S., Fujitani Y., Furuyama A., Kanno S. Uptake and cytotoxic effects of multi-walled carbon nanotubes in human bronchial epithelial cells // *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010. Nov 15. № 249(1). P. 8–15.

15. Jia G., Wang H., Yan L. *et al.* Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene // *Environ Sci Technol.* 2005. Mar 1. № 39(5). P. 1378–1383.
16. Hu X., Cook S., Wang P., Hwang H.M., Liu X., Williams Q.L. In vitro evaluation of cytotoxicity of engineered carbon nanotubes in selected human cell lines // *Sci Total Environ.* 2010. Mar 15. № 408(8). P. 1812–1817.
17. Pulskamp K., Diabaté S., Krug H.F. Carbon nanotubes show no sign of acute toxicity but induce intracellular reactive oxygen species in dependence on contaminants // *Toxicol Lett.* 2007. Jan 10. № 168(1). P. 58–74.
18. Murr L.E., Garza K.M., Soto K.F. *et al.* Cytotoxicity assessment of some carbon nanotubes and related carbon nanoparticle aggregates and the implications for anthropogenic carbon nanotube aggregates in the environment // *Int J Environ Res Public Health.* 2005 Apr. № 2(1). P. 31–42.
19. Palomäki J., Karisola P., Pykkänen L., Savolainen K., Alenius H. Engineered nanomaterials cause cytotoxicity and activation on mouse antigen presenting cells // *Toxicology.* 2010. Jan 12. № 267(1–3). P. 125–131.
20. Kang S., Mauter M.S., Elimelech M. Microbial cytotoxicity of carbon-based nanomaterials: implications for river water and wastewater effluent // *Environ Sci Technol.* 2009. Apr 1. № 43(7). P. 2648–2653.
21. Porter D.W., Hubbs A., Mercer R. *et al.* Mouse pulmonary dose- and time-course response induced by exposure to multi-walled carbon nanotubes // *Toxicol.* 2010. № 269. P. 136–147.
22. Shvedova A.A., Kisin E., Murray A.R. *et al.* Inhalation vs. aspiration of single-walled carbon nanotubes in C57BL/6 mice: inflammation, fibrosis, oxidative stress, and mutagenesis // *Am J. Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2008. № 295(4). P. 552–565.
23. Mercer R.R., Hubbs A.F., Scabilloni J.F. *et al.* Pulmonary fibrotic response to aspiration of multi-walled carbon nanotubes // *Part Fibre Toxicol.* 2011. Vol. 8. P. 21–33.
24. Migliore L., Saracino D., Bonelli A. *et al.* Carbon nanotubes induce oxidative DNA damage in RAW 264.7 cells // *Environ Mol Mutagen.* 2010 May. № 51(4). P. 294–303.
25. Poland C.A., Duffin R., Kinloch I. *et al.* Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study // *Nat Nanotechnol.* 2008 Jul. Vol. 3(7). P. 423–428.
26. Kagan V.E., Tyurina Y.Y., Tyurin V.A. *et al.* Direct and indirect effects of single walled carbon nanotubes on RAW 264.7 macrophages: role of iron // *Toxicol Lett.* 2006 Aug 1. Vol. 165(1). P. 88–100.
27. Lam C.W., James J.T., McCluskey R., Hunter R.L. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation // *Toxicol Sci.* 2004. Vol. 77(1). P. 126–134.

Поступила в редакцию 15.05.2013 г.

Авторский коллектив:

Халиуллин Тимур Оскарович – ассистент кафедры гигиены, медицины труда Казанского государственного медицинского университета (г. Казань, Россия). E-mail: khaliullin.40k@gmail.com

Кисин Елена Рафаиловна – биолог, сотрудник отдела исследований в области патологии и физиологии Национального института охраны и здоровья труда (г. Моргантаун, США). E-mail: edk8@cdc.gov

Мюррей Ребекка Эшли – PhD, сотрудник отдела исследований в области патологии и физиологии Национального института охраны и здоровья труда (г. Моргантаун, США). E-mail: edk8@cdc.gov

Залаялов Рамиль Равилевич – канд. мед. наук, ст. преп. кафедры общей гигиены Казанского государственного медицинского университета (г. Казань, Россия). E-mail: ramilzal@nm.ru

Шведова Анна Александровна – д-р мед. наук, руководитель отдела исследований в области патологии и физиологии Национального института охраны и здоровья труда (г. Моргантаун, США). E-mail: ats1@cdc.gov

Фатхутдинова Лилия Минвагизовна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гигиены, медицины труда Казанского государственного медицинского университета (г. Казань, Россия). E-mail: liliya.fatkhutdinova@gmail.com

*Timur O. Khaliullin¹, Elena R. Kisin², Rebecca Ashley Murray²,
Ramil R. Zalyalov¹, Anna A. Shvedova², Liliya M. Fatkhutdinova¹

¹ Department of Hygiene and Occupational Medicine, Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation. *E-mail: khaliullin.40k@gmail.com

² Pathology and Physiology Research Branch, Health Effects Laboratory Division National Institute for Occupational Safety and Health, Morgantown, USA

Toxic effects of carbon nanotubes in macrophage and bronchial epithelium cell cultures

Single- and multi-walled carbon nanotubes (SWCNTs / MWCNTs), being one of the most promising nanomaterials are becoming more and more common. Accumulated data suggest that there is a risk to human health, upon the occupational contact with carbon nanoparticles. The aim of this study was to evaluate the comparative toxic effects of industrial single- and multi-walled CNTs in macrophages and bronchial epithelial cells. RAW 264.7 murine macrophages culture exposure to MWCNT did not result in significant viability loss but was accompanied by an increase in lactate dehydrogenase (LDH) concentrations in the extracellular medium 48 hours post exposure at all doses (but not after 24 hours). Oxidative stress had a dose- and time-dependent nature, intracellular glutathione levels decreased with increasing dose and exposure time (for the highest dose). SWCNTs exposure of the RAW 264.7 culture reduced the viability by 10–15% after 24 hours, regardless of the dose. After 48 hours viability decreased to 78% at 2.4 ug/cm² SWCNT, and at 24 ug/cm² – down to 50% of the unexposed cells. LDH levels rose sharply 48 hours after exposure at concentrations of 0.2, 2.4 and 24 ug/cm², which generally coincides with the observed viability loss in the same groups. A significant decrease in reduced glutathione levels was found: the higher exposure dose and exposure time were, the lower were the levels. Bronchial epithelial cells BEAS-2B appeared to be little susceptible to the MWCNT introduction: after 24 and 48 hours there were no significant decrease in viability compared to the control culture. The same results were obtained when assessing the cell damage and oxidative stress indicators. BEAS-2B exposure to SWCNTs after 24 h and 48 h caused a small statistically significant dose- and time-dependent viability decrease and a considerable reduction in reduced glutathione levels at highest concentration of nanoparticles 24 ug/cm². Macrophages (RAW 264.7) were much more sensitive to different types of CNTs than bronchial epithelial cells (BEAS-2B). The results show the necessity for available *in vitro* and *in silico* models to evaluate different parameters of nanoparticles toxicity. Comparison of different CNT types should be based not only on viability assessment, but also on specific exposure indicators and biomarkers, such as oxidative stress, cell membrane damage and cytokine profile changes. In addition, during the process of new regulations introduction, nanoparticles should be classified not only by chemical composition, but also by their morphological features.

Key words: carbon nanotubes; nanotoxicology; *in vitro*; macrophages; RAW 264.7.

Received May 15, 2013

References

1. The Nanotech Report. 5th ed. Vol.2. Lux Research. New York, NY: Lux Research; USA; 2007.
2. Global Markets and Technologies for Carbon Nanotubes. [Internet] BCC Research. Market forecasting. July 2012. Available from: <http://www.bccresearch.com/report/carbon-nanotubes-markets-technologies-nan024e.html>
3. Wick P, Manser P, Limbach LK et al. The degree and kind of agglomeration affect carbon nanotube cytotoxicity. *Toxicol Lett.* 2007;168(2):121-131.
4. Takagi A, Hirose A, Nishimura T, Kanno J. Dose-dependent mesothelioma induction by intraperitoneal administration of multi-wall carbon nanotubes in p53 heterozygous mice. *Cancer Sci.* 2012;103(8):1440-1444.
5. Kim JS, Song KS, Lee JK et al. Toxicogenomic comparison of multi-wall carbon nanotubes (MWCNTs) and asbestos. *Arch Toxicol.* 2012 Apr;86(4):553-562.
6. Nel A, Xia T, Madler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science.* 2006;311(5761):622-627.
7. Davoren M, Herzog E, Casey A. *In vitro* toxicity evaluation of single walled carbon nanotubes on human A549 lung cells. *Toxicol In Vitro.* 2007;21(3):438-448.
8. Herzog E, Byrne HJ, Davoren M, Casey A, Duschl A, Oostingh GJ. Dispersion medium modulates oxidative stress response of human lung epithelial cells upon exposure to carbon nanomaterial samples. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009;236(3):276-281.
9. Shvedova AA, Kisin ER, Mercer R et al. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2005;289:698-708.
10. Tabet L, Bussy C, Amara N et al. Adverse effects of industrial multiwalled carbon nanotubes on human pulmonary cells. *J. Toxicol Environ Health A.* 2009;72(2):60-73.
11. Tian F, Cui D, Schwarz H, Estrada GG, Kobayashi H. Cytotoxicity of single-wall carbon nanotubes on human fibroblasts. *Toxicol In Vitro.* 2006;20(7):1202-1212.
12. Drent M, Cobben NAM, Henderson R.F. Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation. *Eur Respir J.* 1996;9:1736-1742.
13. Mossman BT, Churg A. Mechanisms in the pathogenesis of asbestosis and silicosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998 May;157:1666-1680.
14. Hirano S, Fujitani Y, Furuyama A, Kanno S. Uptake and cytotoxic effects of multi-walled carbon nanotubes in human bronchial epithelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2010 Nov;15;249(1):8-15.
15. Jia G, Wang H, Yan L et al. Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene. *Environ Sci Technol.* 2005 Mar;1;39(5):1378-1383.
16. Hu X, Cook S, Wang P, Hwang HM, Liu X, Williams QL. *In vitro* evaluation of cytotoxicity of engineered carbon nanotubes in selected human cell lines. *Sci Total Environ.* 2010 Mar;15;408(8):1812-1817.
17. Pulskamp K, Diabaté S, Krug HF. Carbon nanotubes show no sign of acute toxicity but induce intracellular reactive oxygen species in dependence on contaminants. *Toxicol Lett.* 2007 Jan;10;168(1):58-74.
18. Murr LE, Garza KM, Soto KF et al. Cytotoxicity assessment of some carbon nanotubes and related carbon nanoparticle aggregates and the implications for anthropogenic carbon nanotube aggregates in the environment. *Int J Environ Res Public Health.* 2005 Apr;2(1):31-42.
19. Palomäki J, Karisola P, Pyllkkänen L, Savolainen K, Alenius H. Engineered nanomaterials cause cytotoxicity and activation on mouse antigen presenting cells. *Toxicology.* 2010 Jan;12;267(1-3):125-131.
20. Kang S, Mauter MS, Elimelech M. Microbial cytotoxicity of carbon-based nanomaterials: implications for river water and wastewater effluent. *Environ Sci Technol.* 2009 Apr;1:43(7):2648-2653.

21. Porter DW, Hubbs A, Mercer R et al. Mouse pulmonary dose- and time-course response induced by exposure to multi-walled carbon nanotubes. *Toxicol.* 2010;269:136–147.
22. Shvedova AA, Kisin E, Murray AR et al. Inhalation vs. aspiration of single-walled carbon nanotubes in C57BL/6 mice: inflammation, fibrosis, oxidative stress, and mutagenesis. *Am J. Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2008;295(4):552-565.
23. Mercer RR, Hubbs AF, Scabilloni JF et al. Pulmonary fibrotic response to aspiration of multi-walled carbon nanotubes. *Part Fibre Toxicol.* 2011;8:21-33.
24. Migliore L, Saracino D, Bonelli A et al. Carbon nanotubes induce oxidative DNA damage in RAW 264.7 cells. *Environ Mol Mutagen.* 2010 May;51(4):294-303.
25. Poland CA, Duffin R, Kinloch I et al. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nat Nanotechnol.* 2008 Jul;3(7):423-428.
26. Kagan VE, Tyurina YY, Tyurin VA et al. Direct and indirect effects of single walled carbon nanotubes on RAW 264.7 macrophages: role of iron. *Toxicol Lett.* 2006Aug;1;165(1):88-100.
27. Lam CW, James JT, McCluskey R, Hunter RL. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicol Sci.* 2004;77(1):126-134.

ЭКОЛОГИЯ

УДК 556.5:58.056:581.55
doi: 10.17223/19988591/25/15

И.И. Волкова¹, И.В. Волков²

¹ Томский государственный университет, г. Томск, Россия

² Томский государственный педагогический университет, г. Томск, Россия

Ландшафтно-экологическая характеристика мерзлотного седловинного болота у г. Саганы (хребет Иолго, Центральный Алтай)

Исследования выполнены в рамках гранта по Постановлению Правительства Российской Федерации № 220 от 09 апреля 2010 г. по договору с Министерством образования и науки Российской Федерации № 14.B25.31.0001 от 24 июня 2013 г. (BIO-GEO-CLIM) и Госзадания Министерства образования и науки РФ (№ РК 01201261252). Частично исследования поддержаны грантом РФФИ № 13-04-00984 «Динамика экосистем гор Южной Сибири в голоцене по данным комплексных биоиндикационных исследований субэкральных, озёрно-болотных и ледниковых отложений».

Изменения экологических условий в горных районах юга Западной Сибири являются в динамике различных компонентов и характеристик уникальных, но слабо изученных болотных экосистем. Особенно это касается болотных массивов с наличием мерзлоты в торфяной залежи, так как в данном случае изменения в экосистемах связаны не только непосредственно с климатом, но и с климат-зависимой динамикой мерзлотных процессов. Это делает их важными объектами экологического мониторинга. В статье дается ландшафтная характеристика мерзлотного болотного массива центральной части Горного Алтая как мониторингового объекта современных климатических изменений. Растительный покров болота представляет собой довольно пеструю картину гетеротрофного комплекса с мезо-олиготрофными и олиготрофными частично деградирующими буграми и мезотрофными и эумезотрофными неглубокими мочажинами. Некоторые из бугров заменились озёрками в результате таяния мерзлоты. Мелкоконтурность, комплексность и мозаичность в растительном покрове болота обусловлены сложным сочетанием экологических условий, вызванным плоско-наклонным расположением массива на седловине, разнонаправленными потоками болотных вод, сукцессионной стадией развития болота, но более всего – термокарстовыми процессами, что в целом типично для плоскобугристых мерзлотных болот.

Ключевые слова: болота; Горный Алтай; мерзлота; термокарст; изменения климата; экологический мониторинг.

Введение

Болота Алтае-Саянской горной системы в целом слабо освещены в научной литературе. Отдельные сведения о растительном разнообразии, распространении и типах горных болот Алтая можно почерпнуть в работах исследователей горной растительности юга Сибири, где среди прочих приводятся характеристики и болотных растительных сообществ, например [1, 2]. В основном в таких работах даются списки видов растений и / или краткое описание растительных сообществ, преобладающих на болотах, лишь иногда приводятся полные геоботанические описания. На основе анализа флористических сводок (конспектов флоры) [3, 4 и др.] по наличию индикаторных болотных видов растений («верных» видов) косвенным путем можно получить ценные сведения о распространении и даже экологическом типе болот изучаемой территории. Лишь немногие работы посвящены специально горным болотам [5–9]. В.И. Валуцкий [10] представил обобщающую работу по болотной растительности южной части Сибири и ее отражении на среднемасштабной карте на основе визуального анализа рукописной «Эколого-фитоценотической карты юга Западной и Средней Сибири», дав краткий пояснительный текст с акцентом на характеристике растительности болот, содержании болотных разделов легенды, выявлении разнообразия сообществ и закономерностей географического распределения болот в пределах исследованного региона. Информация о степени заболоченности территории, полученная с помощью анализа картографического материала и дополненная данными дистанционного зондирования (аэро- и космоснимки), также помогает выделять места, перспективные для болотоведческих исследований.

Целенаправленные комплексные болотоведческие исследования в горах юга Западной Сибири были проведены нами в Кузнецком Алатау, являющемся северным отрогом Алтае-Саянской горной системы [11–13 и др.], а с 2004 г. продолжаются в разных районах Горного Алтая [14–16 и др.] (рис. 1). Изучаются флора и растительность, стратиграфия, ботанический и химический состав торфяных отложений, типология болот, особенности их развития и функционирования. Получены новые данные о видах практикуемого на заболоченных территориях природопользования, дана оценка состояния и устойчивости болотных экосистем в условиях антропогенного воздействия и изменения климата. Отмечено, что болотные массивы в горах чаще всего относительно невелики по размерам, сильно зависимы от окружающей климатической обстановки и чувствительны к антропогенному воздействию.

Особенно актуальными болотоведческие исследования в горных регионах Западной Сибири стали в последнее время, так как изменения экологических условий здесь проявляются в динамике различных ландшафтных компонентов – ледников, горных болот, озер, приводят к сдвигу поясных рубежей в горах. Так, увеличение суммарных площадей термокарстовых

озер в озерно-болотных комплексах Горного Алтая меньше чем за 40 лет составило 31%, а в некоторых областях (мерзлотный крупнобугристый озерно-болотный комплекс Джангызколь, Центральный Алтай) – до 50% за 50 лет [17]. При этом в аридных районах юга Западной Сибири и Монголии болота быстро сокращают свои площади [15]. Эти тенденции делают болота гор важными индикационными объектами, и знания об особенностях их строения и принципах функционирования весьма актуальны. Особенно это касается болотных массивов с наличием мерзлоты в торфяной залежи, так как в данном случае их изменения связаны не только непосредственно с климатом, но и с климат-зависимой динамикой мерзлотных процессов.



Рис. 1. Места проведенных нами исследований горных болот Алтая

Данная статья является продолжением серии публикаций, характеризующих конкретные болотные массивы Республики Алтай. Насколько разнообразны и самобытны горные болота Алтая, можно судить по ландшафтной характеристике одного из ключевых участков исследования, крупнейшей из мерзлотных болотных систем этого региона, Тюгюрюкского болота, при-

веденной в одной из наших работ [18]. Еще один ключевой участок работ, где проводятся мониторинговые наблюдения мерзлотных процессов и реакции на них болотной экосистемы, представляет собой седловинное болото у подножия г. Саганы (болото Саганы). Административно объект находится в Чойском районе Республики Алтай.

Целью работы являлось проведение комплексного болотоведческого исследования одного из не изученных ранее мерзлотных болот Горного Алтая – седловинного болота у г. Саганы (хребет Иолго, Центральный Алтай), на основании которого была дана его ландшафтно-экологическая характеристика и описаны динамические процессы, связанные с изменением экологической обстановки.

Материалы и методики исследования

В исследовании использовались стандартные методы, применяемые при болотоведческих, геоботанических и флористических исследованиях, включая геоботанические описания, отбор и обработку гербария высших сосудистых растений и мохообразных, не опознанных в полевых условиях [19 и др.]. Для определения мощности торфяной залежи использовалась зондировка с помощью торфяного бура. Для составления ландшафтной характеристики болота использовались методики полевых ландшафтных исследований, учитывающие пространственную структуру и расположение объекта исследования в ландшафте и его взаимодействие с окружающими объектами [20].

Результаты исследования и обсуждение

Болото Саганы представляет собой массив вытянутой формы, расположенный у подножия восточного склона г. Саганы (северо-восточная часть хребта Иолго (Северный Алтай)). Географические координаты 51°31'50" с.ш., 86°46'50" в.д.; абсолютная высота в центральной части массива – 1 650 м над ур. м. Болото приурочено к верхней части горного лесного пояса растительности. С востока массив ограничен подножием невысокой горы, на которую болото поднимается своей окрайкой. Длина массива около 2 км, ширина в самой широкой части – около 600 м. Общий уклон поверхности болота на юго-юго-запад; оно охватывает вершину межгорной седловинки своим северным краем. Угол наклона поверхности болота (как и, очевидно, его минерального ложа) значительный и составляет около 15°; в пределах массива имеет место перепад абсолютной высоты на 80 м. В центральной части болото имеет выпуклую форму.

На поверхности болота видны бурые пятна обширных невысоких плоских мерзлотных бугров, которые более тяготеют к краевым частям массива. Размеры бугров – от нескольких метров в ширину до нескольких десятков метров в длину, средняя высота – 50 см. Бугры имеют кочковатую поверх-

ность и поросли ерником, мхами и лишайниками, на вершинах наблюдается деградация растительности. Общая площадь, занимаемая буграми, составляет около 20% в центральной части массива, сильно увеличиваясь в верхней по склону части болота (рис. 2). Здесь же широко распространены мерзлотные медальоны.



Рис. 2. Плоскобугристо-мочажинный комплекс на болоте Саганы (фото И.В. Волкова)

Растительный покров мерзлотных ерnikово-сфагновых бугров сформирован сплошной моховой дерниной, над которой на 20–40 см возвышаются круглолистная березка (*Betula rotundifolia* Spach) и кустарниковые ивы, давая до 30–35% покрытия. Брусника (*Vaccinium vitis-idaea* L.) и, в большей степени, морошка (*Rubus chamaemorus* L.) покрывают от 15 до 75% площади поверхности, изредка обнаруживаются пушица (*Eriophorum* sp.), осока магелланская (*Carex magellanica* Lam.), щучка дернистая (*Deschampsia cespitosa* (L.) P. Beauv.), змеевик большой (*Bistorta major* Gray). На буграх болота Саганы найдены редкие для Горного Алтая виды осоки – осока малоцветковая (*Carex pauciflora* Lightf.) и осока буроватая (*Carex brunnescens* (Pers.) Poir.). Общее проективное покрытие травяно-кустарничкового яруса (включая ерник) – от 25 до 80%. В составе очень плотной моховой дернины бугров обнаруживаем сфагн бурый (*Sphagnum fuscum* (Schimp.) Klinggr.) в качестве доминанта, сфагны магелланский (*Sphagnum magellanicum* Brid.), длиннolistный (*Sphagnum angustifolium* (Russ.) C. Jens.) и Руссова (*Sphagnum russowii* Warnst.) образуют примесь (не более 5% каждый); политрих сжатый (*Polytrichum strictum* Brid.)

дает 10–20% покрытия, как и совокупность лишайников (*Cetraria laevigata* Rassad., *C. ericetorum* Opiz, *Cladonia stygia* (Fr.) Ruoss, *C. uncialis* (L.) Weber ex F.H. Wigg. и *C. stellaris* (Opiz) Pouzar & Vězda). Присутствуют, порой весьма заметно, милия аномальная (*Mylia anomala* (Hook.) S. Gray) и плевроций Шребера (*Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt.) – характерные обитатели болотных бугров с сухими вершинами. Высота отдельных бугров может достигать 120 см, при этом значительное обсыхание вершины индицируется обеднением видового состава фитоценоза, изреживанием ерника, полной заменой сфагнов политрихом сжатым и повышенной ролью лишайников.

Уровень болотных вод варьирует в зависимости от мезорельефа: на ровных поверхностях болота вода стоит на 5–10 см, в буграх обнаруживается лишь на глубине 30 см. В пределах болотного массива имеются 4 небольших термокарстовых озера, возникших на месте просадки мерзлотных бугров. Термокарстовые озера зарастают пушицей многоколосковой (*Eriophorum polystachion* L.) и топяными зелеными мхами (рис. 3).



Рис. 3. Термокарстовое озерко в верхней части болота Саганы (фото И.В. Волкова)

Бурение торфяной залежи в центральной части массива показало мощность осокового и осоково-сфагнового торфа в 137 см, торфяные отложения подстилаются сизым глеем. Мерзлые грунты обнаруживаются на глубине 30 см в пределах бугров.

Основную площадь болотного массива занимают осоково-сфагновые сообщества (в верхней части болота сокращаясь до 15% площади).

Около половины их имеют желто-зеленый аспект (*Carex rhynchophysa* С.А. Мей. – *Sphagnum*), а остальные – сизо-зеленый оттенок (*Carex rostrata* Stokes – *Sphagnum*).

Микрорельеф болотной поверхности в пределах сообществ *Carex rostrata-Sphagnum* слабо выражен и представлен низкими сфагновыми кочками. Общее проективное покрытие кустарничково-травяного яруса составляет 50%, большую часть покрытия дает осока носатая (*Carex rostrata* Stokes); в составе травяного яруса заметны калужница болотная (*Caltha palustris* L.) и сабельник болотный (*Comarum palustre* L.) (по 5–10%). В виде примеси встречаются неболотные виды: из разреженных субальпийских кустарниковых зарослей, окружающих болото, заходят чемерица Лобеля (*Veratrum lobelianum* Bernh.), синюха голубая (*Polemonium caeruleum* L.), виды овсяницы (*Festuca* sp.) и вейника (*Calamagrostis* sp.), щучка дернистая и другие травы. Сплошной моховой покров образован сфагнами, среди стебельков которых изредка встречаются политрих обыкновенный (*Polytrichum commune* Hedw.) и калиергон соломенно-желтый (*Calliergon stramineum* (Brid.) Kindb.), чуть чаще – аулакомний болотный (*Aulacomnium palustre* (Hedw.) Schwaegr.).

Общее проективное покрытие кустарничково-травяного яруса сообществ *Carex rhynchophysa-Sphagnum* – 40–50%, основную роль в нем играет осока вздутоносая (*Carex rhynchophysa* С.А. Мейер). Немало здесь осоки пепельно-серой (*Carex cinerea* Poll.), 1–5% покрытия дает осока магелланская, как примесь встречается пушица многоколосковая. Сфагновый ковер составляют сфагн речной (*Sphagnum riparium* Aongstr.) и, немного меньше, сфагн балтийский (*Sphagnum balticum* (Russ.) С. Jens.) (по микроповышениям); иногда к ним добавляется сфагн Руссова или палуделла оттопыренная (*Paludella squarrosa* (Hedw.) Brid.).

Характерно, что круглолистная березка в пределах болотного массива обитает не только на буграх, но и постоянно, хоть и в небольшом обилии, присутствует в осоково-сфагновых сообществах ровных поверхностей («ковров») и неглубоких мочажин.

Редкие глубокие (около 30 см) мочажины заняты маловидовым несомкнутым сообществом *Carex rhynchophysa – Sphagnum riparium*.

Растительный покров в целом небольшого болотного массива, таким образом, представляет собой довольно пеструю картину гетеротрофного комплекса с мезо-олиготрофными и олиготрофными буграми, часть которых деградирует, обсыхает и покрыта лишайниками. Некоторые из бугров заменились озерами в результате таяния мерзлоты в бугре. Мезотрофные и эумезотрофные неглубокие мочажины («ковры») тоже слегка неоднородны, и небольшие вариации микрорельефа находят отражение в видовом составе бриофитов (вплоть до проникновения олиготрофов по микроповышениям). В формировании структуры растительного покрова и состава растительных сообществ болота значительная роль принадлежит мерзлотным процессам.

Заключение

Мелкоконтурность, комплексность и мозаичность в растительном покрове болота обусловлены сложным сочетанием экологических условий, вызванным плоско-наклонным расположением массива в седловине (на минеральном ложе со сложной геометрией), преобладающими холодными ветрами северного направления, дующими со склонов гольцов хребта Иолго и вызываемыми температурными инверсиями, разнонаправленными потоками болотных вод, сукцессионной стадией развития болота, но более всего – термокарстовыми процессами, что в целом типично для типа плоскобугристых мерзлотных болот. Гетерогенность экологических условий на болоте определяет довольно высокое флористическое богатство и биологическое разнообразие, что определяет большое значение горных болот как центров его сохранения, включая редкие виды растений. Высокая степень чувствительности мерзлотных горных болот к флуктуациям условий окружающей среды определяет их большое значение в качестве объектов мониторинга динамики горных ландшафтов в условиях изменений климата.

Литература

1. Баранов В.И., Шелудякова В.А. К изучению степей юго-восточного Алтая // Из результатов работ Чуйской экспедиции. Труды Сиб. сель-хоз. академии. 1926. Т. V. С. 15–32.
2. Артемов И.А., Королюк А.Ю., Седельникова Н.В. и др. Флора и растительность Катунского заповедника (Горный Алтай). Новосибирск : Манускрипт, 2001. 314 с.
3. Ревушкин А.С. Высокогорная флора Алтая. Томск : Изд-во ТГУ, 1988. 320 с.
4. Игнатов М.С. Бриофлора Алтая и бриогеография Северной Палеарктики : дис. ... д-ра биол. наук. М., 1995. 393 с.
5. Никитина Е.В. Альпийские болота левых притоков р. Уймень, притока Бии // Изв. Том. ун-та. Т. 79, вып. 1. Томск : Изд-во ТГУ, 1927. С. 42–59.
6. Лавренко Е.М. О Центральноазиатских горных осоковых болотах и о сибирско-монгольских элементах во флоре Кавказа // Академику В.Н. Сукачеву к 75-летию со дня рождения. Сборник работ по геоботанике, лесоведению, палеогеографии и флористике. М. ; Л., 1956. С. 340–353.
7. Логутенко Н.В. Динамика растительности Абайского болотного массива (Горный Алтай) // Геоботанические исследования в Западной и Средней Сибири. Новосибирск, 1987. С. 81–84.
8. Пяк А.И. Болото в долине ручья Ортолык-Тюргунь (Юго-Восточный Алтай) // Kryniovia. 2001. № 2. С. 50–57.
9. Валуцкий В.И. О фитоценоотическом разнообразии болот Горного Алтая // Роль биоразнообразия в экономике и экологии горных территорий. Материалы юбилейной научно-практической конференции, посвященной 10-летию со дня образования Алтайского филиала ЦСБС «Горно-Алтайский ботанический сад». Горно-Алтайск, 2005. С. 66–76.
10. Валуцкий В.И. Болотная растительность южной части Сибири и ее отражение на среднемасштабной карте // Turczaninowia. 2008. № 11(4). С. 106–128.
11. Лапишина Е.Д., Мульдияров Е.Я. Болота заповедника «Кузнецкий Алатау» // Биоценологические исследования в заповеднике «Кузнецкий Алатау». Кемерово, 2000. С. 60–75.
12. Волкова И.И. Экологические функции горных болот Кузбасса // Вестник Томского государственного университета. Прил. 2. Томск : Изд-во ТГУ, 2002. С. 101–108.

13. Волкова И.И., Байков К.С., Сысо А.И. Болота Кузнецкого Алатау как естественные фильтры природных вод // Сибирский экологический журнал. Т. 17, № 3. Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2010. С. 379–388.
14. Волкова И.И. К проблеме изучения болот в горах Алтая // Горные экосистемы Южной Сибири: изучение, охрана и рациональное природопользование. Труды заповедника «Тигирекский». Вып. 1. Барнаул, 2005. С. 67–70.
15. Volkova I., Volkov I., Kuznetsova A. Mountain mires of South Siberia : biological diversity and environmental functions // International Journal of Environmental Studies. Vol. 66, is. 4. London : Routledge, 2009. P. 465–472.
16. Волкова И.И., Волков И.В., Косых Н.П. и др. Горная озерно-болотная система урочища Ештыкёль (Горный Алтай) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2010. № 1 (9). С. 118–137.
17. Шаронов Д.С., Брыксина Н.А., Полищук В.Ю., Полищук Ю.М. Сравнительный анализ динамики термокарста на территории мерзлоты Западной Сибири и Горного Алтая на основе космических снимков // Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса : Физические основы, методы и технологии мониторинга окружающей среды, потенциально опасных явлений и объектов. М. : ИКИ РАН, 2012. Т. 9, № 1. С. 313–319.
18. Волкова И.И. О растительности Тугурюкского болота (Горный Алтай) // Отечественная геоботаника: основные вехи и перспективы. Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием. СПб. : Бостон-спектр, 2011. Т. 1. С. 44–47.
19. Ярошенко П.Д. Геоботаника: Основные понятия, направления и методы. М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1961. 474 с.
20. Основные принципы изучения болотных биогеоценозов. Л. : Наука, 1972. 119 с.

Поступила в редакцию 09.12.2013 г.

Авторский коллектив:

Волкова Ирина Ивановна – канд. биол. наук, доцент кафедры ботаники Биологического института Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: volkovhome@yandex.ru

Волков Игорь Вячеславович – доцент, канд. биол. наук, доцент кафедры общей биологии и методики преподавания биологии Томского государственного педагогического университета (г. Томск, Россия). E-mail: volkovhome@yandex.ru

Tomsk State University Journal of Biology. 2014. № 1 (25). P. 211–222

doi: 10.17223/19988591/25/15

Irina I. Volkova¹, Igor V. Volkov²

¹ Department of Botany, Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation. E-mail: volkovhome@yandex.ru

² Tomsk State Pedagogical University, Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

Landscape-ecological characteristics of the permafrost mire massif situated near Tsagany Mountain (the Iolgo mountain ridge, Central Altai)

Mountain mires and peatlands of Western Siberia are weakly covered by scientific literature. The separate data about biological diversity, ecological types and distribution of mires can be found in regional floristic and very limited geobotanical papers and ‘the species lists’. The information about the extent of paludification of the territory can originate from the satellite images and aerophotographs.

We started special researches focused on the mountain mires of the Altai Mountains in 2004. Mire flora and vegetation, peat stratigraphy, botanical and chemical composition

of the peat, mires typology, features of development and functioning as well as interrelations to the local environment were studied. We got new data on the types of environmental management and nature use that is practiced on south-Siberian mountain mires; gave the assessment of the modern state and stability of the mire ecosystems under conditions of anthropogenic press and climate change. It is noticed that the mire massifs in the mountains are mostly small and sensible to the environmental changes as well as to the direct anthropogenic impact.

Vegetation and landscape structure of mountain peat mires of Altai depending on climate changes and thermokarst processes is reported in the article. Environmental changes in mountain regions on the South of Western Siberia manifest themselves in dynamics of various components and features of unique and poorly studied mire ecosystems. It especially concerns mire massifs with permafrost in the peat deposit as, in this case, the ecosystem changes are connected not only with the climate, but also with dynamics of thermokarst processes. That is why the mountain permafrost mires are important objects of environmental monitoring. The landscape characteristics of the permafrost mire massif in the central part of the Altai Mountains as the object for the modern climate change monitoring are given in the article. The investigation included the complex research of the mire massif situated on the mountain saddle. The methods of geobotanical relevés (that means full-floristic vegetation samples), fine-scale geobotanical and landscape mapping and peat coring were used. The full landscape-ecological characteristics and the description of the mire landscape dynamics connected to the environmental changes resulted from the research.

The vegetation of the mire represents a pattern of heterotrophous complex with meso-oligotrophous and oligotrophous partially degrading hillocks (mounds) and mesotrophous and eu-mesotrophous shallows. Some of hillocks were replaced by little lakes as a result of permafrost thawing. The heterogeneity of the vegetation and the mire surface microrelief are conditioned by the combination of ecological conditions at the flat and sloping position of the mire massif on the mountain saddle, multidirectional streams of ground waters and a succession stage of the mire development, but most of all – by thermokarst processes that are characteristic of the type of flat-mound permafrost mires.

Key words: mires; Altai Mountains; permafrost; thermokarst; climate change; ecological monitoring.

Received December 10, 2013

References

1. Baranov V.I., Sheludyakova V.A. K izucheniyu stepey yugo-vostochnogo Altaya. Iz rezul'tatov rabot Chuyskoy ekspeditsii. Trudy Sib. sel'-khoz. akademii. 1926, Vol. 5, PP. 15-32. [Baranov VI, Sheludyakova VA. On the investigation of South-Eastern Altai steppes. *Proceedings of the Siberian Agricultural Academy*. 1926;5:15-32.] In Russian
2. Artemov I.A., Korolyuk A.Yu., Sedel'nikova N.V. i dr. Flora i rastitel'nost' Katunskogo zapovednika (Gornyy Altay). Novosibirsk: Manuskript, 2001. 314 pp. [Artemov IA, Korolyuk AY, Sedelnikova NV, Gorbunova IA, Pisarenko OY. Flora and vegetation of Katun Nature Reserve (the Altai Mountains). Novosibirsk: Manuscript; 2001. 314 p.] In Russian
3. Revushkin A.S. Vysokogornaya flora Altaya. Tomsk: Izd-vo TGU, 1988. 320 pp. [Revushkin AS. High-mountain flora of the Altai Mountains. Tomsk: Tomsk State University; 1988. 320 p.] In Russian
4. Ignatov M.S. Brioflora Altaya i briogeografiya Severnoy Palearktiki: dis. ... d-ra biol. nauk. M., 1995. 393 pp. [Ignatov MS. Brioflora of the Altai Mountains and briogeography of

- the North Palearctic [DrSci Dissertation]. Moscow: The Tsytin Main Moscow Botanical Garden of Academy of Sciences. 1995. 393 p.] In Russian
5. Nikitina E.V. Al'piyskie bolota levyykh pritokov r. Uymen', pritoka Bii. *Izv. Tom. un-ta.* 1927. Vol. 79, No 1. Tomsk: Izd-vo TGU, PP. 42-59. [Nikitina EV. Alpine mires of left tributaries of the Uymen, the tributary of the Biya. *Proceedings of Tomsk State University.* Tomsk: Tomsk State University. 1927;79(1):42-59.] In Russian
 6. Lavrenko E.M. O Tsentral'noaziatskikh gornyykh osokovykh bolotakh i o sibirsko-mongol'skikh elementakh vo flore Kavkaza. *Sbornik rabot po geobotanike, lesovedeniyu, paleogeografii i floristike.* M.;L., 1956. PP. 340-353. [Lavrenko EM. On Central Asian mountain sedge mires and on Siberian-Mongolian elements in the flora of the Caucasus. *Collection of papers on geobotany, forest science, paleogeography and floristics.* Moscow-Leningrad: 1956. p. 340-353.] In Russian
 7. Logutenko N.V. Dinamika rastitel'nosti Abayskogo bolotnogo massiva (Gornyy Altay). *Geobotanicheskie issledovaniya v Zapadnoy i Sredney Sibiri.* Novosibirsk, 1987. PP. 81-84. [Logutenko NV. Vegetation dynamics of the Abay mires (the Altai Mountains). *Geobotanical investigations in Western and Middle Siberia.* Novosibirsk: 1987. p. 81-84.] In Russian
 8. Pyak A.I. Boloto v doline ruch'ya Ortolyk-Tyurgun' (Yugo-Vostochnyy Altay). *Krylovia.* 2001. No 2. P. 50-57. [Pyak AI. Mire in the valley of the stream Ortolyk-Tjurgun (the South-Eastern Altai Mountains). *Krylovia.* 2001;2:50-57.] In Russian
 9. Valutskiy V.I. O fitotsenoticheskom raznoobrazii bolot Gornogo Altaya. Rol' bioraznoobraziya v ekonomike i ekologii gornyykh territoriy. Gorno-Altaysk: 2005. PP. 66-76. [Valutsky VI. On phytocenotic diversity of mires of the Altai Mountains. In: *The role of biodiversity in the economy and ecology of mountain territories.* Gorno-Altaysk: 2005. p. 66-76.] In Russian
 10. Valutskiy V.I. Bolotnaya rastitel'nost' yuzhnoy chasti Sibiri i ee otrazhenie na srednemasshtabnoy karte. *Turczaninowia.* 2008. No 11(4). PP. 106-128. [Valutsky VI. Mire vegetation of the southern part of Siberia and its representation on a medium-scale map. *Turczaninowia.* 2008;11(4):106-128.] In Russian, English Summary
 11. Lapshina E.D., Mul'diyarov E.Ya. Bolota zapovednika «Kuznetskiy Alatau». *Biotsenoticheskie issledovaniya v zapovednike «Kuznetskiy Alatau».* Kemerovo, 2000. PP. 60-75. [Lapshina ED, Mul'diyarov EYa. Mires of the Nature Reserve "Kuznetsk Alatau". *Biocenotic investigations in the Nature Reserve "Kuznetsk Alatau".* Kemerovo: 2000. p. 60-75.] In Russian
 12. Volkova I.I. Ekologicheskie funktsii gornyykh bolot Kuzbassa. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2002. Pril. 2. PP. 101-108. [Volkova II. Ecological functions of the Kuzbass mountain mires. *Tomsk State University Journal.* 2002. App. 2.:101-108.] In Russian
 13. Volkova I.I., Baykov K.S., Syso A.I. Bolota Kuznetskogo Alatau kak estestvennyye fil'try prirodnyykh vod. *Sibirskiy ekologicheskiy zhurnal.* Vol. 17, No 3. 2010. PP. 379-388. [Volkova II, Bajkov KS., Syso AI. Mires of the Kuznetsk Alatau as natural filters of environmental waters. *Siberian Ecological Journal.* 2010;17(3):379-388.] In Russian, English Summary
 14. Volkova I.I. K probleme izucheniya bolot v gorakh Altaya. Gornye ekosistemy Yuzhnoy Sibiri: izuchenie, okhrana i ratsional'noe prirodopol'zovanie. *Trudy zapovednika «Tigirekskiy».* Vyp. 1. Barnaul, 2005. PP. 67-70. [Volkova II. On investigating mires in the Altai Mountains. *Mountain ecosystems of South Siberia: investigation, protection and rational nature management. Proceedings of the Tigirek Nature Reserve.* Iss. 1. Barnaul: 2005. p. 67-70.] In Russian
 15. Volkova I, Volkov I, Kuznetsova A. Mountain mires of South Siberia: biological diversity and environmental functions. *International J of Environmental Studies.* London: Routledge, 2009;66(4):465-472.

16. Volkova I.I., Volkov I.V., Kosykh N.P. i dr. Gornaya ozerno-bolotnaya sistema urochishcha Eshtykel' (Gornyy Altay). Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya. 2010. No 1(9). PP. 118-137. [Volkova II, Volkov IV, Kosykh NP, Mironycheva-Tokareva NP, Kirpotina LV, Zemtsov VA, Kolmakova MV, Kuraev AV, Zakharova EA, Kirpotin SN. Mountain lacustrine-boggy system of the natural landmark Eshtykel (Altai Mountains). *Tomsk State University Journal of Biology*. 2010;1(9):118-137.] In Russian, English Summary
17. Sharonov D.S., Bryksina N.A., Polishchuk V.Yu., Polishchuk Yu.M. Sravnitel'nyy analiz dinamiki termokarsta na territorii merzloty Zapadnoy Sibiri i Gornogo Altaya na osnove kosmicheskikh snimkov. Sovremennye problemy distantsionnogo zondirovaniya Zemli iz kosmosa: Fizicheskie osnovy, metody i tekhnologii monitoringa okruzhayushchey sredy, potentsial'no opasnykh yavleniy i ob'ektov. M.: IKI RAN, 2012. Vol. 9, No 1. PP. 313-319. [Sharonov DS, Bryksina NA, Polishchuk YM. Comparative analysis of thermokarst dynamics of the permafrost territories of West Siberia and the Altai Mountains on the basis of satellite data. In: *Modern problems of the Earth remote sensing from space: Physical basis, methods and technologies of monitoring the environment and potentially dangerous phenomena and objects*. Moscow: Space Research Institute of the Russian Academy of Sciences; 2012. 1(9);313-319.] In Russian, English Summary
18. Volkova I.I. O rastitel'nosti Tyuguryuksskogo bolota (Gornyy Altay). Otechestvennaya geobotanika: osnovnye vekhi i perspektivy. SPb.: Boston-spektr, 2011. Vol. 1. PP. 44-47. [Volkova II. On vegetation of the Tyuguryuk mire (the Altai Mountains). *National geobotany: milestones and prospects*. Vol. 1. Saint-Petersburg: Boston-spektr, 2011. p. 44-47.] In Russian, English Summary
19. Yaroshenko P.D. Geobotanika: Osnovnye ponyatiya, napravleniya i metody. M.-L.: Izd-vo AN SSSR, 1961. 474 pp. [Yaroshenko PD. Geobotany: Main concepts, areas and methods. Moscow-Leningrad: Academy of Sciences of the USSR; 1961. 474 p.] In Russian
20. Osnovnye printsipy izucheniya bolotnykh biogeotsenozov. L.: Nauka, 1972. 119 pp. [Main principles of studying mire biogeocenoses. Leningrad: Nauka; 1972. 119 p.] In Russian

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. Кроме того, публикуются описания принципиально новых методов исследования, обзорные статьи по отдельным проблемам, рецензии и хроника. Все статьи, поступающие в редакцию журнала, подлежат обязательному рецензированию. В настоящее время публикации в журнале осуществляются на некоммерческой основе. Полнотекстовые версии вышедших номеров размещены на сайте журнала: <http://journal.tsu.ru/biology>. Основные требования к представляемым статьям: новизна и обоснованность фактического материала, ясность, сжатость изложения, воспроизводимость экспериментальных данных, правильное оформление рукописи.

Научный журнал «Вестник Томского государственного университета. Биология» является реферируемым, рецензируемым, 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**».

Журнал 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.), ему присвоен международный стандартный номер сериального издания (ISSN 1998-8591). «Вестник Томского государственного университета. Биология» выходит ежеквартально и распространяется по подписке, его подписной индекс 44024 в объединенном каталоге «Пресса России».

Адрес редакции: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36, ГОУ ВПО «Томский государственный университет», Биологический институт.

Председатель редакции журнала – д-р биол. наук, профессор С.П. Кулижский

E-mail: soil@land.ru

Ответственный секретарь редакции журнала – канд. биол. наук Е.Е. Акимова

Факс (382-2)-529-853

E-mail: biotsu@rambler.ru

The scientific journal “**Tomsk State University Journal of Biology**” publishes the results of the completed original researches (theoretic and experimental articles) in different areas of contemporary biology which have not been published before in this or any other edition. Besides it includes descriptions of conceptually new methods of research, round-up articles on particular topics, reviews and chronicle.

The decision on publication is taken by the scientific editorial board after reviewing, considering its correspondence to the subject area of the journal, topicality of the problem, scientific and practical novelty and value, professionalism of work execution including statistical treatment of data research materials and quality of material preparation and presentation.

The main requirements to the articles are novelty and validity of factual material, clarification and brevity of the summary, reproducibility of experimental data and appropriate presentation of the manuscript (to know more about the requirements to the rules of material presentation, please, see “Presentation rules”). **The medium term of publication is 3–6 months after receiving a paper variant of the package of documents.**

It is given an international standard serial edition number (ISSN 1998-8591).

All articles received by the editorial board are to be reviewed. Publications in the journal are free (on non-commercial basis).

“Tomsk State University Journal of Biology” is issued quarterly and is **distributed by subscription only**; its subscription index can be found in the unified catalogue “The Press of Russia”. Full-text versions of the issued editions are available at “Archives”.

Address: Tomsk State University, Biological Institute, 36 Lenina St., Tomsk, 634050, Russia.

Chairman – Sergey P. Kulizhskiy, Dr., Prof.

E-mail: soil@land.ru

Executive secretary – Elena E. Akimova, PhD

Fax (382-2)-529-853

E-mail: biotsu@rambler.ru

Научный журнал

ВЕСТНИК

Томского государственного университета

БИОЛОГИЯ

2014. № 1 (25)

Редактор	А.Н. Воробьева
Корректор	К.В. Полькина
Редактор-переводчик	М.Б. Кузьменко
Оригинал-макет	А.И. Лелоюр
Дизайн обложки	Л.В. Кривцова

Подписано в печать 18.03.2014 г. Формат 70х108^{1/16}.
Усл. печ. л. 19,7. Тираж 500 экз. Заказы № 223, 224.

Журнал отпечатан на полиграфическом оборудовании
Издательского Дома Томского государственного университета
634050, г. Томск, Ленина, 36
Телефон 8+(382-2)-53-15-28