

ISSN 1026-3470

Номер 5

Сентябрь - Октябрь 2023



ИЗВЕСТИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ



www.sciencejournals.ru

Журнал публикует статьи теоретических и экспериментальных исследований по различным аспектам биологии



СОДЕРЖАНИЕ

Номер 5, 2023

ГЕНЕТИКА

Разнообразие генов главного комплекса гистосовместимости класса I у дальневосточного леопарда (*Panthera pardus orientalis*)

К. К. Тарасян, П. А. Сорокин, М. В. Холодова, С. В. Найдено, В. В. Рожнов 451

МИКРОБИОЛОГИЯ

Характеристика физиолого-биохимических свойств гриба *Nigrospora gorlenkoana* Novobr., распространенного на зерновых культурах

А. С. Орина, О. П. Гаврилова, Т. Ю. Гагкаева 463

БОТАНИКА

Рост эпилитных лишайников в условиях Южной Карелии

А. А. Курбатов, А. В. Соница 477

Кариологическое исследование изолированной популяции сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) Ширинской степи Республики Хакасия

Т. С. Седельникова, А. В. Пименов, С. П. Ефремов 487

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

О влиянии длин волн разных диапазонов фотосинтетически активной радиации на изотопный состав углерода биомассы растений и ее фракций (на примере салата (*Lactuca sativa* L.) сорта Афицион)

А. А. Ивлев, Д. А. Товстыко, М. П. Ломакин, А. С. Шмаков, Н. Н. Слепцов, В. А. Литвинский, Н. М. Пржевальский, И. Г. Тараканов 499

ЗООЛОГИЯ

Жизненные циклы легочных гельминтов наземных млекопитающих Восточной Европы и их биологическая классификация

С. О. Мовсесян, М. А. Никогосян, Р. А. Петросян, Н. Б. Теренина, М. С. Панайотова-Пенчева, А. В. Демяшкевич, М. В. Воронин, Д. Н. Кузнецов, М. В. Варданян 507

Влияние рН на цитоморфологические параметры эритроцитов крови головастиков малоазиатской лягушки

Д. М. Гамидова, А. И. Рабаданова 520

ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

Гистологическая оценка кожных покровов лабораторных крыс после термических повреждений и их коррекции наносекундными микроволновыми импульсами

А. А. Гостюхина, В. В. Ярцев, А. В. Самойлова, М. А. Большаков, С. С. Евсеева, В. М. Мочалова, К. В. Зайцев, О. П. Кутенков, В. В. Ростов 531

Транспортные функции иммуноглобулинов у жителей Европейской территории Арктики Российской Федерации

К. О. Пашинская, А. В. Самодова, Л. К. Добродеева 537

ЭКОЛОГИЯ

Распределение сообществ полихет в районе Западного Шпицбергена

Д. Р. Дикаева 546

Смертность насекомых под воздействием бакуловируса: модель фазовых переходов второго рода

В. Г. Суховольский, Д. К. Куреничиков, Ю. Д. Иванова, А. В. Ковалев 557

Экологические коридоры Восточной Фенноскандии и их роль в формировании современной териофауны региона

П. И. Данилов, Д. В. Панченко, Ф. В. Федоров 568

Популяционно-генетическая структура волка (*Canis lupus* L.) Восточной Фенноскандии в условиях интенсивного пресса охоты на основе анализа мтДНК

К. Ф. Тирронен, А. С. Кузнецова, Д. В. Панченко 581

Contents

No. 5, 2023

Genetics

- Gene Diversity of Major Histocompatibility Complex Class I of the Far Eastern Leopard (*Panthera pardus orientalis*)
K. K. Tarasyan, P. A. Sorokin, M. V. Kholodova, S. V. Naidenko, and V. V. Rozhnov 451

Microbiology

- Physiological and Biochemical characters of *Nigrospora gorlenkoana* Novobr. Occurring on Cereals
A. S. Orina, O. P. Gavrilova, T. Yu. Gagkaeva 463

Botany

- Growth of Epilithic Lichen under the Conditions of South Karelia
A. A. Kurbatov and A. V. Sonina 477
- Karyological Study of the Isolated Scots Pine (*Pinus sylvestris*) Population of the Shirinskaya Steppe of the Republic of Khakasia
T. S. Sedel'nikova, A. V. Pimenov, and S. P. Efremov 487

Plant Physiology

- On the Influence of Wavelengths of Different Ranges of Photosynthetically Active Radiation on the Carbon Isotope Composition of Plant Biomass and Its Fractions (Using as the Example Lettuce (*Lactuca sativa* L.) of the Aficion Variety)
A. A. Ivlev, D. A. Tovstyko, M. P. Lomakin, A. S. Shmakov, N. N. Sleptsov, V. A. Litvinsky, N. M. Prjevalsky, and I. G. Tarakanov 499

Zoology

- Life Cycles of Lung Helminths in Terrestrial Mammals from Eastern Europe and Their Biological Classification
S. O. Movsesyan, M. A. Nikoghosian, R. A. Petrosian, N. B. Terenina, M. S. Panayotova-Pencheva, A. W. Demiaszkiewicz, M. V. Voronin, D. N. Kuznetsov, and M. V. Vardanyan 507
- Effect of pH on Cytomorphological Parameters of Erythrocytes of the *Rana macrocnemis* Tadpoles
D. M. Gamidova and A. I. Rabadanova 520

Animal and Human Physiology

- Histological Assessment of the Laboratory Rats Skin after Thermal Damages Treated with Nanosecond Microwave Pulses
A. A. Gostyukhina, V. V. Yartsev, A. V. Samoylova, M. A. Bolshakov, S. S. Evseeva, V. M. Mochalova, K. V. Zaitsev, O. P. Kutenkov, and V. V. Rostov 531
- Transport Functions of Serum Immunoglobulins Among the Residents of the European Arctic of the Russian Federation
K. O. Pashinskaya, A. V. Samodova, and L. K. Dobrodeeva 537

Ecology

- Distribution of Polychaete Communities in the West Spitsbergen
D. R. Dikaeva 546
- Insect Mortality Caused by Baculovirus: a Model of Second-Order Phase Transitions
V. G. Soukhovolsky, D. K. Kurenschikov, Yu. D. Ivanova, and A. V. Kovalev 557
- East Fennoscandian Ecological Corridors and Their Role in the Formation of the Modern Mammal Fauna of the Region
P. I. Danilov, D. V. Panchenko, and F. V. Fyodorov 568
- Eastern Fennoscandian Wolf (*Canis lupus* L.) under the Heavy Hunting Pressure: mtDNA Analysis as a Tool to Assess Hunting Impact on the Population-Genetic Structure
K. F. Tirronen, A. S. Kuznetsova, and D. V. Panchenko 581

УДК 599.742.71:575.174:575.11

РАЗНООБРАЗИЕ ГЕНОВ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ КЛАССА I У ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ЛЕОПАРДА (*Panthera pardus orientalis*)

© 2023 г. К. К. Тарасян*, @, П. А. Сорокин*, М. В. Холодова*, С. В. Найденко*, В. В. Рожнов*

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук,
Ленинский проспект, 33, Москва, 119071 Россия

@E-mail: tarasyan_k@mail.ru

Поступила в редакцию 22.04.2023 г.

После доработки 02.05.2023 г.

Принята к публикации 02.05.2023 г.

Исследовано состояние генов главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) класса I у дальневосточного леопарда (*Panthera pardus orientalis*). Из 11 образцов тканей дальневосточного леопарда получены 20 аллелей генов ГКГ, 19 из них описаны для леопарда впервые. Показано высокое разнообразие аллелей как на уровне отдельных особей, так и на уровне популяции. Сравнительный анализ полиморфизма исследуемых генов у разных подвидов леопарда показал, что генетическое разнообразие дальневосточного подвида не уступает, а возможно и превышает таковое у африканского и индийского подвидов. Высокое аллельное разнообразие исследуемых генов дальневосточного леопарда поддержано действием балансирующего отбора, действующего на антиген-связывающий регион кодируемого ими белкового продукта. Сделан вывод о том, что низкая численность дальневосточного леопарда к настоящему времени не привела к непоправимым потерям генетического потенциала популяции.

Ключевые слова: генетическое разнообразие, полиморфизм генов, антиген-связывающий регион, балансирующий отбор, дальневосточный леопард, *Panthera pardus orientalis*, *Panthera pardus pardus*, *Panthera pardus fusca*, Pantherinae

DOI: 10.31857/S1026347023600413, EDN: WMGZLT

Дальневосточный леопард (*Panthera pardus orientalis*) населяет крайнюю северо-восточную часть видового ареала — юго-западное Приморье на российском Дальнем Востоке и северо-восточную часть Китая вдоль границы с Россией в провинциях Цилинь и Хейлунцзян. Его популяция крайне малочисленна, всего около 110 особей (Виткалова и др., 2022). Дальневосточный леопард занесен Красную книгу Российской Федерации (Найденко и др., 2021), а также в Красный список МСОП как подвид, находящийся под угрозой исчезновения.

Малый размер популяции леопарда может привести к уменьшению генетического разнообразия, а, следовательно — к снижению эффективности размножения, уменьшению адаптационных возможностей особей и повышению их чувствительности к патогенам, в том числе привносимым со стороны домашних животных (Parmar *et al.*, 2017). По имеющимся данным литературы на основании анализа мтДНК и микросателлитов дальневосточный леопард обладает крайне низким генетическим разнообразием по

сравнению с другими подвидами леопарда (Uphyrkina *et al.*, 2001; Uphyrkina, O'Brien, 2003; Рожнов и др., 2013).

В данной работе мы оценили генетическое разнообразие дальневосточного леопарда на основании функционально значимых ядерных генов главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) I класса. Богатство аллельных вариантов генов ГКГ, присутствующих в популяции, принято ассоциировать с адаптированностью к широкому спектру патогенов, а также с увеличением эффективности размножения (Brouwer *et al.*, 2010; Burger *et al.*, 2017; Manlik *et al.*, 2019). Обеднение аллельного разнообразия генов ГКГ в популяции, напротив, может привести к повышению чувствительности животных к патогенам (Siddle *et al.*, 2007), пониженной жизнеспособности рождающегося потомства и, как следствие, к продолжению падения численности популяции даже в условиях восстановления среды обитания и обилия кормовых объектов, как это было отмечено для командорских песцов, тасманийского дьяво-

Таблица 1. Описание образцов леопарда, используемых в работе

Образец	Пол животного	Тип пробы	Дата сбора	Место сбора
1m	Самец	Кровь	13.08.2011	Бассейн рек Барабашевка и Амба, Национальный парк “Земля леопарда”, Хасанский р-н, Приморский край
2m	Самец	Кровь	14.08.2011	Там же
3m	Самец	Кровь	04.09.2011	Там же
4f	Самка	Кровь	08.09.2011	Там же
5f	Самка	Кровь	23.09.2011	Там же
6f	Самка	Кровь	06.10.2011	Там же
fem	Самка	Мышцы	15.02.2009	Приморская сельскохозяйственная академия, Уссурийск
emb	Самка	Мышцы	15.02.2009	Там же
8m	Самец	Кровь	04.06.2015	Хасанский р-н, Приморский край
1a	Самец	Экскременты	17.02.2010	Бассейн рек Нежинка и Ананьевка, Национальный парк “Земля леопарда”, Хасанский р-н, Приморский край
8a	Самец	Экскременты	02.09.2010	Там же

ла и других млекопитающих (Siddle *et al.*, 2007; Bahr, Wilson, 2012; Ploshnitsa *et al.*, 2012).

В геноме кошачьих гены ГКГ расположены на хромосоме B2, их организация и роль в формировании иммунного ответа подробно рассмотрены в литературе (Yuhki *et al.*, 2007, 2008; Тарасян и др., 2014). Для генов данного комплекса характерна высокая полигенность и высокий полиморфизм. Чаще всего для анализа аллельного разнообразия в ГКГ I класса используют последовательность экзона 2. Он кодирует последовательность антиген-связывающего региона. Этот участок высоко изменчив и играет определяющую роль в функционировании белка в целом.

Целью настоящей работы был анализ генетического разнообразия и полиморфизма генов ГКГ класса I у дальневосточного подвида леопарда в сравнении с более широко распространенными и многочисленными подвидами леопарда (Kitchener *et al.*, 2017): африканским (*P. p. pardus*) и индийским (*P. p. fusca*).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Мы исследовали образцы 11 дальневосточных леопардов, индивидуально идентифицированных ранее на основании анализа микросателлитных последовательностей (Рожнов и др., 2013). Все исследованные животные жили в естественной среде обитания, степень родства между ними известна только для двух особей (fem и emb являются образцами погибшей самки и ее эмбриона, см. табл. 1). Образцы крови и тканей получали в ходе ветеринарного обследования живых леопардов, а также от животных, погибших в результате несчастных случаев. В табл. 1 приведены сведения

об исследуемых животных, месте сбора образца и его типе (кровь, мышцы или экскременты).

ДНК из образцов тканей и крови выделяли набором DNAeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Германия), а из экскрементов — набором QIAamp stool mini kit (Qiagen, США) согласно инструкциям производителя. Для каждого леопарда мы проводили от 2 до 4 независимых амплификаций. Для проведения ПЦР использовали праймеры Acju_Ex2MhcI_cF и Para_Ex2MhcI_kR (Liu *et al.*, 2005), позволяющие амплифицировать последовательность второго экзона генов ГКГ класса I (ожидаемая длина 229 пар нуклеотидов), соответствующую антиген-связывающему региону (Yuhki, O'Brien, 1990; Castro-Prieto *et al.*, 2011).

Амплификация проходила в конечном объеме 20 мкл, содержащем 10 мкмоль dNTPs, 10 пмоль каждого праймера, 1 е.а. Taq-полимеразы (ООО “СибЭнзайм”, Россия) и 1 е.а. Pfu-полимеразы (ООО “СибЭнзайм”, Россия). Программа амплификации: первичная денатурация при 95°C — 3 мин, 30 циклов (95°C — 30 с, 60°C — 30 с, 72°C — 45 с) и элонгация при 72°C — 5 мин.

Для каждого леопарда мы проводили от 2 до 4 независимых амплификаций. Каждый полученный продукт лигировали в плазмидный вектор, которым далее трансформировали клетки *E. coli* JM109. Для проведения всей процедуры клонирования использовали готовый набор p-Gem T Easy Vector System II (Promega, США). После выращивания отдельных колоний плазмиды со вставками подходящих размеров выделяли набором реактивов Plasmid Miniprep (Евроген, Россия). Вставку в плазмиде секвенировали на автоматическом генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystems, США) с набором BigDye Terminator kit v. 3.1 (Applied Biosystems, США) с использованием праймеров

m13F(-20): 5'-GTAAACGACGGCCAGTG-3' и m13R(-48): 5'-AGCGGATAACAATTTCACAC-3'. Количество плазмид, секвенированных для каждого леопарда, варьировало от 14 до 32 (в среднем 24) для каждой реакции амплификации. В связи с неизбежным получением артефактных последовательностей, связанным с особенностями используемых методов (Sommer *et al.*, 2013), мы применили процедуру верификации аллелей, предложенную в большинстве публикаций (Kennedy *et al.*, 2003). Истинным аллелем мы считали последовательность, полученную минимум в двух ПЦР от одного животного. Работа проводилась в ЦКП “Инструментальные методы в экологии” при ИПЭЭ РАН.

Выравнивание последовательностей произвели в программе Bioedit v.7.0.5.3 (Hall, 1999).

Определение вариабельных позиций в нуклеотидных и аминокислотных последовательностях производили в среде R, для работы с последовательностями использовали пакет “Ape” v.5.6-2 (Paradis E., *et al.*, 2004). Для оценки нуклеотидного и аминокислотного разнообразия внутри и между подвидами были использованы генетические дистанции между нуклеотидными и аминокислотными последовательностями, соответственно. Расчеты генетических дистанций осуществили путем подсчета количества различий между аллелями в ходе попарных сравнений (pairwise distances). Стандартное отклонение (SE) при расчете дистанций внутри и между группами рассчитывали на основе проведения бутстреп-анализа (1000 реплик).

Оценку нормальности распределений, необходимую для выбора адекватных статистических критериев, проводили методом Шапиро–Уилка (Shapiro–Wilk normality test), входящего в базовый пакет R.

Оценку статистической достоверности разницы между подвидами проводили с помощью теста Краскела–Уоллиса (Kruskal–Wallis one-way analysis of variance), предназначенного для проверки гипотезы о равенстве медиан нескольких выборок. Данный метод является ранговым и предназначен для анализа выборок, не отвечающих критериям нормального распределения. Попарные сравнения выборок проводили методом Манна–Уитни (Mann–Whitney U test) – непараметрического критерия, предназначенного для оценки различий между двумя независимыми выборками. Оценку статистической достоверности разницы средних генетических дистанций между подвидами оценивали методом χ^2 .

Расчет филогенетической сети аллелей был произведен методом median-joining в программе Network4 (Bandelt H.-J. *et al.*, 1999).

Для поиска признаков действия естественного отбора мы использовали комбинированный подход. В качестве первого подхода для анализа всех последовательностей был применен Z-тест на наличие отбора (Codon-based Z-test of selection), реализованный в MegaX (Kumar *et al.*, 2018). Он сравнивает относительное количество синонимичных (d_S) и несинонимичных (d_N) замен в последовательностях в попарном сравнении последовательностей в выборке, усредняет эти значения и дает оценку вероятности отклонения от H_0 -гипотезы об отсутствии действия естественного отбора, а также вероятности балансирующего или очищающего отбора (в зависимости от выбранной альтернативной гипотезы H_1). Для расчетов использовали модифицированный метод Нея–Гойобори (Nei–Gojobori) с поправкой по Джуксу–Кантору (Jukes–Cantor), поскольку в этом случае рассматривается возможность разной частоты для транзиций и трансверсий и вносится поправка на возможные множественные замены в одном локусе.

Для выделения кодонов, предположительно участвующих в связывании антигена, мы опирались на данные литературы. В работе Кастро–Прието с соавторами (Castro–Prieto *et al.*, 2011) указаны 17 кодонов, предположительно участвующих в связывании антигена. Наши последовательности были получены с тех же праймеров, совпадали по размеру и выравнивались на последовательности африканского леопарда без разрывов (gaps). Поэтому для поиска признаков действия естественного отбора мы использовали те же 17 кодонов (№№ 2, 15, 17, 19, 38, 51, 52, 55, 56, 59, 60, 63, 66, 67, 70, 73, 74).

В качестве второго подхода по поиску признаков действия естественного отбора (positive selection) были использованы программы codeml из пакета PAML4.9 (Yang, 2007; Xu, Yang, 2013), а также методами FEL и MEME, являющимися частью пакета программ HyPhy и реализованными на платформе www.datamonkey.org.

Для трактовки результатов расчетов codeml сравнивали модели максимального правдоподобия, предполагающие отсутствие действия отбора (M1, M7), и модели, предполагающие его наличие (M2, M8). Для оценки, какая из моделей лучше описывает наши данные, был использован тест отношения правдоподобия (LRT), в котором иерархически вложенные модели тестируются на значимость улучшения соответствия модели конкретному набору данных. С помощью этого теста были проверены пары моделей M1vsM2 и M7vsM8. Если сравнение моделей показывало, что модели M2 и M8 лучше соответствовали нашим данным, мы рассматривали кодоны, находящиеся под действием естественного отбора. Согласно рекомен-

Таблица 2. Распределение аллелей ГКГ I в выборке

№ Генбанка	Животные										
	1m	2m	3m	4f	5f	6f	fem	emb	8m	1a	8a
KT906232	+		+	+	+	+		+	+	+	+
KT906233	+			+					+		
KT906234	+			+	+	+					
KT906235	+	+					+		+		
KT906236	+										
KT906237	+		+		+	+			+		+
KT906238		+					+				
KT906239		+									
KT906240			+		+						
KT906241					+	+			+	+	
KT906243		+					+				
KT906244							+	+			
KY679822		+									
KY679823					+	+					+
KY679824						+					
KY679825		+						+			
KY679826					+		+				
MN879769										+	
MN879770										+	
MN879771											+
OQ871582		+							+		

дациям авторов программного обеспечения, мы ограничивались кодами, предлагаемыми результатом BEB (Bayes Empirical Bayes method).

Для построения необходимой для расчетов в codeml филогении подбор модели нуклеотидных замен и получение соответствующего филогенетического дерева проводили в программе jModelTest2 (Darriba *et al.*, 2012), опираясь на критерии BIC и AICc.

Поскольку результаты codeml сильно зависят от филогенетических деревьев, положенных в основу его расчетов, дополнительно мы применили методы FEL и MEME, реализующие поиск кодонов, находящихся под действием постоянного или эпизодического балансирующего отбора. Для исключения ложноположительных результатов в качестве дополнительного шага мы выполнили поиск точек возможной рекомбинации в исследуемых последовательностях методом GARD (Kosakovsky Pond *et al.*, 2006), также представленным на платформе www.datamonkey.org.

Для сравнения дальневосточного леопарда с другими подвидами мы использовали последовательности аллелей ГКГ класса I африканского (GenBank HQ318105, HQ318106, HQ318107, HQ318108,

HQ318109, HQ318110), опубликованные в статье Кастро-Приэто с соавторами (Castro-Prieto *et al.*, 2011) и индийского подвидов (GenBank KT781695, KT781696, KT781701, KT781702, KT781708, KT781729, KT781740, KT781750, KT781756), опубликованные в статье Пармар с соавторами (Parmar *et al.*, 2017).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Из образцов 11 животных мы идентифицировали 21 аллель генов ГКГ класса I, из которых 19 были впервые нами описаны. Номера последовательностей аллелей, депонированных нами в Генбанке, приведены в табл. 2. В генотипе каждого животного было обнаружено от 3 до 7 аллелей генов класса I (в среднем 4.9 ± 1.4 аллеля/особь). Последовательность одного обнаруженного нами аллеля ГКГ I дальневосточного леопарда (GenBank: KT906236) совпадает с последовательностью аллеля индокитайского тигра, *P. tigris corbetti* (GenBank: OQ473885), а также последовательностью того же гена бенгальского тигра, *P. t. tigris* — GenBank: HQ157994 и MT258444.

У двух из изученных нами леопардов (особи 2m и 5f) мы обнаружили семь аллелей генов ГКГ I класса. Все аллели были подтверждены путем по-

Таблица 3. Изменчивость генов ГКГ класса I у дальневосточного, африканского и индийского леопардов

	Подвиды		
	<i>P. p. orientalis</i>	<i>P. p. pardus</i>	<i>P. p. fusca</i>
Кол-во исследованных особей	11*	25**	13***
Кол-во найденных аллелей	21	6	9
Среднее число аллелей на особь	4.9	4.0	—
Число аллелей на особь	3–7	2–6	1–3
Кол-во переменных позиций в нуклеотидной последовательности (процент от общего числа позиций)	93 (40.6%)	46 (20.1%)	38 (16.6%)
Кол-во переменных позиций в аминокислотной последовательности (процент от общего числа позиций)	41 (53.9%)	26 (34.2%)	23 (10.0%)

Примечание. * Наши данные, ** по данным Castro-Prieto *et al.*, 2011, *** по данным Parmar *et al.*, 2017.

Таблица 4. Нуклеотидное и аминокислотное разнообразие гена ГКГ класса I у трех подвидов леопарда, оцениваемое по количеству различий между последовательностями в попарных сравнениях

Подвид	Нуклеотидное разнообразие			Аминокислотное разнообразие		
	<i>Среднее</i>	<i>SE</i>	<i>Медиана</i>	<i>Среднее</i>	<i>SE</i>	<i>Медиана</i>
<i>P. p. orientalis</i>	29.03	2.74	28	16.89	2.19	18
<i>P. p. pardus</i>	19.73	2.62	19	12.67	2.20	12
<i>P. p. fusca</i>	14.00	2.19	16	8.83	1.75	10

вторного получения в независимой ПЦР, а также не несли стоп-кодона, делеций или вставок в функциональной рамке считывания.

Изменчивость генов ГКГ класса I. Выделенные нами последовательности ГКГ класса I высокоизменчивы: 93 (40.6%) нуклеотидных последовательностей являются переменными, из них 70 — парсимониально информативны. В последовательностях аминокислот переменной является 41 позиция (табл. 3).

Мы сравнили нуклеотидное и аминокислотное разнообразие ГКГ класса I, характеризующее каждый подвид леопарда (см. табл. 4). Поскольку распределения значений генетических дистанций внутри каждого подвида не соответствуют нормальному распределению, в таблице приведе-

ны не только средние значения, но и медианы выборок, соответствующих каждому подвиду.

Различия между подвидовыми выборками статистически достоверны как для нуклеотидных, так и для аминокислотных последовательностей: для нуклеотидных тест Краскела—Уоллиса показал $\chi^2 = 50.62$, $df = 2$, $p < 0.001$; для аминокислотных последовательностей тест Краскела—Уоллиса — $\chi^2 = 51.27$, $df = 2$, $p < 0.001$. Такие результаты свидетельствуют о том, что, по крайней мере одна выборка сильно отличается от другой, поэтому мы провели серию попарных сравнений подвидовых выборок с помощью критерия Манна—Уитни. Различия между всеми подвидами леопарда как на нуклеотидном, так и на аминокислотном уровне были статистически достоверны (табл. 5).

Таблица 5. Результаты попарного сравнения внутривидовых генетических дистанций леопарда, выполненные с помощью критерия Манна—Уитни

Подвид	Значения критерия Манна-Уитни и статистическая вероятность		
	<i>P. p. orientalis</i>	<i>P. p. pardus</i>	<i>P. p. fusca</i>
<i>P. p. orientalis</i>		$W = 2311, p < 0.01$	$W = 1133, p < 0.01$
<i>P. p. pardus</i>	$W = 2256.5, p = 0.01$		$W = 168, p = 0.04$
<i>P. p. fusca</i>	$W = 1116.5, p < 0.01$	$W = 167.5, p = 0.03$	

Примечание. Под диагональю представлен результат сравнения нуклеотидных последовательностей, над диагональю — аминокислотных.

Таблица 6. Средние значения генетических дистанций между подвидами, оцениваемое по количеству различий между последовательностями в попарных сравнениях

Подвид	Дистанции		
	<i>P. p. orientalis</i>	<i>P. p. pardus</i>	<i>P. p. fusca</i>
<i>P. p. orientalis</i>		15.28	16.40
<i>P. p. pardus</i>	24.91		12.89
<i>P. p. fusca</i>	27.07	20.26	

Примечание. Под диагональю представлен результат сравнения нуклеотидных последовательностей, над диагональю – аминокислотных.

Значения генетических дистанций между подвидами леопарда, оцененных на основании количества различий между известными нуклеотидными и аминокислотными последовательностями ГКГ класса I, приведены в табл. 6. Согласно полученным данным, как по нуклеотидным, так и по аминокислотным дистанциям подвиды практически равноудалены друг от друга, причем индийский и дальневосточный леопарды отличаются друг от друга сильнее, чем по отдельности каждый из этих подвидов от африканского. Различия генетических дистанций между парами подвидов статистически не значимы (для нуклеотидных дистанций $\chi^2 = 1.006$, $df = 2$, $p = 0.60$; для аминокислотных – $\chi^2 = 0.433$, $df = 2$, $p = 0.81$).

Для оценки филогенетических отношений между последовательностями аллелей генов ГКГ I леопардов разных подвидов мы построили сеть методом median-joining (рис. 1). Интересно отметить, что большинство аллелей, известных для индийского леопарда, сгруппированы на отдельной ветви сети. Кроме того, аллели африканского леопарда занимают более центральное расположение на сети по отношению к аллелям дальневосточного леопарда.

Естественный отбор. Z тест на нейтральность отбора (MegaX) целых последовательностей как для дальневосточного, так и для остальных подвидов леопарда не показал статистически значимого отклонения от гипотезы об отсутствии влияния отбора. Поэтому мы решили проанализировать отдельно кодоны, предположительно участвующие в связывании антигена. В этом случае при анализе антиген-связывающих кодонов в выборке, включающей все последовательности всех подвидов, мы увидели статистически значимое отклонение в пользу гипотезы о действии балансирующего отбора ($d_N-d_S = 2.05$, $p = 0.02$). Если анализировать антиген-связывающие кодоны у каждого подвида отдельно, то становится заметно сильное отличие между подвидами: у дальневосточного леопарда гипотеза о действии балансирующего отбора получает статистическую значимость ($d_N-d_S = 2.58$, $p = 0.01$). У африканского

подвида количество несинонимичных замен превышает количество синонимичных, но эти отличия не имеют статистической достоверности, поэтому можно говорить только о тенденции к балансирующему отбору среди антиген-связывающих кодонов ($d_N-d_S = 1.36$, $p = 0.09$). У индийского подвида вообще нет оснований говорить о действии отбора на эти кодоны ($d_N-d_S = 0.32$, $p = 0.37$).

Для остальных кодонов Z тест не показал признаков действия какого-либо типа отбора ($d_N-d_S = -1.02$, $p = 0.31$), вне зависимости от того, рассматривали мы все подвиды вместе или по отдельности.

Анализ действия отбора на отдельные кодоны был проведен с помощью двух разных подходов: codeml из пакета программ PAML 4.9 (Yang, 2007; Xu, Yang, 2013) и методами FEL и MEME. Для методов FEL и MEME был дополнительно выполнен поиск точек возможной рекомбинации. В табл. 7 представлены результаты работы разных алгоритмов для каждого подвида отдельно и для всех леопардов в целом.

Последовательности ГКГ класса I дальневосточного леопарда содержали больше всего кодонов с отношением $d_N/d_S > 1$, в том числе и кодонов с высокой вероятностью находящихся под воздействием балансирующего отбора. Большая часть этих кодонов, предположительно, участвует в связывании антигена. Методом FEL мы обнаружили один, а методом MEME – три кодона, находящихся под действием балансирующего или диверсифицирующего отбора. Поскольку в группе аллелей дальневосточного леопарда была обнаружена точка вероятной рекомбинации (в 41 кодоне между 122-м и 123 сайтами), то в соответствии с рекомендациями авторов данных методов мы повторили анализ для каждого участка по обе стороны от точки рекомбинации. Это привело к частичному изменению результатов расчетов: 17-й кодон перестал рассматриваться как находящийся под действием положительного отбора, а вероятность нахождения под действием отбора для 56-го кодона стала статистически достоверной

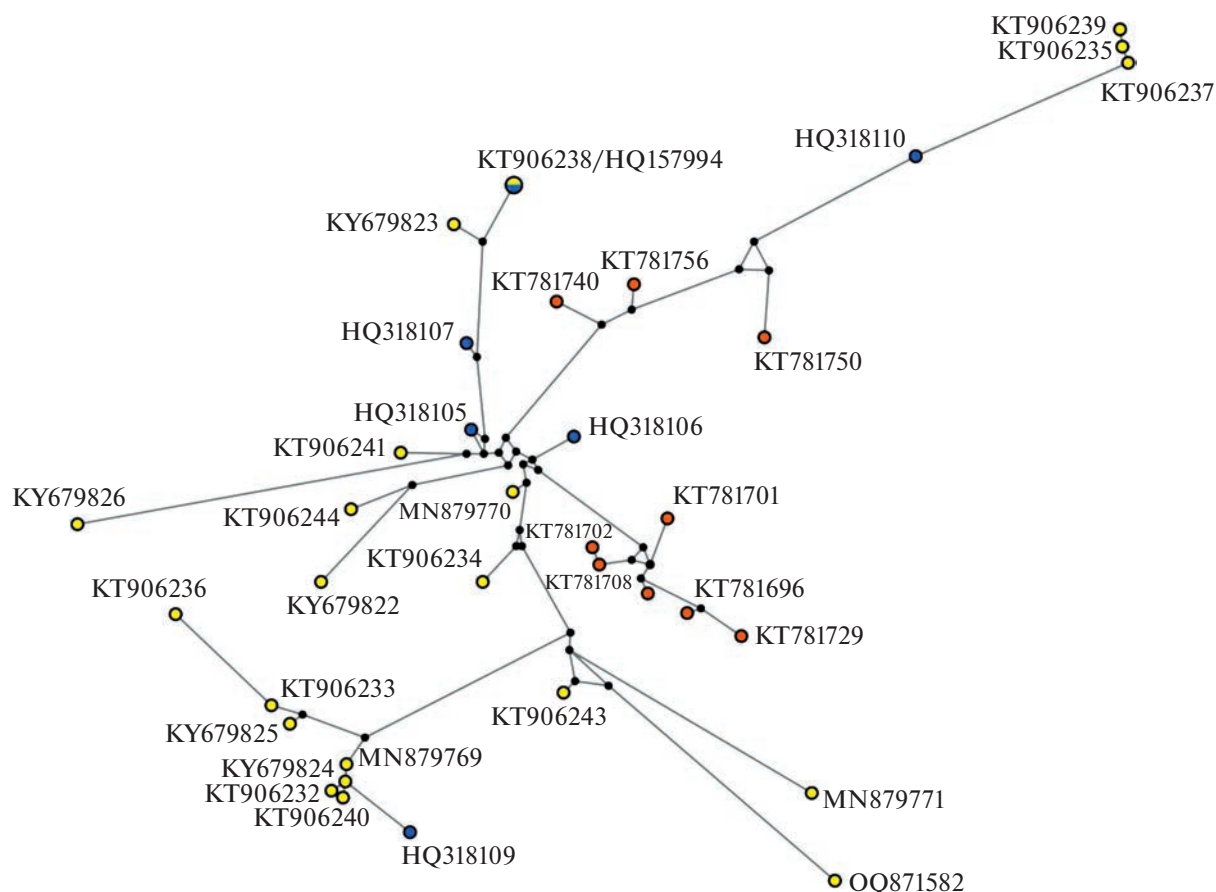


Рис. 1. Медианная сеть нуклеотидных последовательностей аллелей гена ГКГ класса I, известных для дальневосточного (желтый), африканского (синий) и индийского (красный) подвидов леопарда. Черными кругами обозначены узловые гипотетические аллели. Длина ветвей отражает количество мутаций, необходимых для перехода между аллелями.

($p < 0.1$). Следует отметить, что роль 55 и 56 кодонов в ГКГ класса I, возможно, нуждается в более подробном исследовании, поскольку практически все алгоритмы, как *codeml*, так и *HyPhy*, выделяют либо один из этих кодонов, либо оба вместе как находящиеся под действием балансирующего отбора.

Анализ последовательностей африканского леопарда показал, что большая часть кодонов, для которых соотношение $d_N/d_S > 1$, предположительно участвует в связывании антигена, в том числе три кодона, которые находятся под действием балансирующего отбора с высокой статистической достоверностью ($p > 0.95$, табл. 7). Методы *FEL* и *MEME* выявили только один кодон — 68-й, статистически достоверно находящийся под действием балансирующего или диверсифицирующего отбора. Этот сайт также предположительно участвует в связывании антигена. В последовательностях африканского леопарда методом *GARD* были найдены две точки возможной рекомбинации: в 52 кодоне между 155-м и 156-м сайтами, а также в 66 кодоне между 196-м и 197-м

сайтами. Обычно рекомендуют разделить последовательности в соответствии с местом нахождения точек рекомбинации и повторить поиск признаков положительного отбора. Мы не стали повторять алгоритмы *HyPhy* для африканского леопарда в связи с малым размером выборки и крайне малыми размерами получающихся фрагментов.

В ГКГ класса I индийского леопарда были выявлены кодоны, в которых соотношение $d_N/d_S > 1$, но действие отбора на них статистически недостоверно (Parma *et al.*, 2017). Мы повторили эти расчеты и подтвердили, что модели, не предусматривающие действие балансирующего отбора на последовательности ГКГ I класса индийского леопарда, достоверно лучше соответствуют исходным данным. Методы *FEL* и *MEME* также не показали признаков действия балансирующего отбора на какие-либо кодоны индийского леопарда. Признаков рекомбинационных событий на рассматриваемом участке гена обнаружено не было.

Таблица 7. Кодоны, находящиеся под действием балансирующего отбора, по версии разных алгоритмов поиска

Подвид леопарда	Codeml		До разбиения по сайту возможной рекомбинации		После разбиения по сайту возможной рекомбинации	
	$p > 0.5$	$p > 0.95$	FEL	MEME	FEL	MEME
<i>P. p. orientalis</i>	2, 4, 5, 10, 17, 38, 45, 48, 55, 56, 59, 60, 63, 66, 67, 70, 72, 74	2, 10, 17, 38, 55, 56, 59, 60	55	17, 55, 68	68	55, 56, 68
<i>P. p. pardus</i>	2, 45, 55, 56, 59, 60, 63, 66, 67, 68, 70, 72, 74, 76	59, 63, 67	68	68	Анализ не выполняли (см. текст)	
<i>P. p. fusca</i>	Нет признаков действия отбора		Нет сайтов	Нет сайтов	Не обнаружено признаков рекомбинации	
Все леопарды вместе	2, 4, 5, 10, 17, 38, 42, 45, 48, 55, 56, 59, 60, 63, 67, 72, 74, 76	2, 38, 48, 56, 59, 60, 63, 74	55	4, 10, 55, 68	Не обнаружено признаков рекомбинации	

Примечание. Жирным шрифтом выделены кодоны, входящие в состав антиген-связывающего участка.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Мы описали и проанализировали 21 аллель ГКГ класса I дальневосточного леопарда. Большинство животных несло в своем генотипе от 3 до 6 различных аллелей гена ГКГ I, но у двух леопардов (2m и 5f) было обнаружено 7 аллелей данного гена. В литературе обычно упоминается до 6 различных аллелей ГКГ I, определенных в генотипе отдельных особей среди представителей крупных кошачьих (Sachdev *et al.*, 2005; Castro-Prieto *et al.*, 2011). Это соответствует присутствию в геноме Pantherinae как минимум трех копий данного гена. Только у бенгальского тигра были найдены животные, несущие от 3 до 7 аллелей ГКГ I (Pokorny *et al.*, 2010), что говорит о возможно большем количестве копий данного гена. Наши данные подтверждают наличие в геноме крупных кошачьих не менее 4 копий гена ГКГ I класса. Покорный с соавторами (Pokorny *et al.*, 2010) определяют одну из семи полученных ими последовательностей как псевдоген, поскольку в ней обнаружена делеция двух нуклеотидов, ведущая к сдвигу рамки считывания. Из этого они делают вывод о возможном существовании трех копий функциональных генов ГКГ класса I и псевдогена того же класса. Последовательности, полученные от дальневосточного леопарда, не несут делеций, вставок или стоп-кодонов, в связи с чем, мы не можем сделать аналогичный вывод о наличии или отсутствии среди них нефункциональных псевдогенов.

Сравнение полученных нами последовательностей подтвердило наличие общих аллелей как у особей разных подвидов одного вида (*Panthera pardus*), так и факт межвидового полиморфизма, описанного ранее для генов ГКГ класса II крупных кошачьих (Wang *et al.*, 2008; Wei *et al.*, 2010). Наличие общих аллелей у дальневосточного леопарда и двух подвидов тигров можно объяснить как сохранением предковых форм аллелей, не утративших своего значения в ходе исторического распространения общего предка крупных кошек, так и конвергенцией нуклеотидных последовательностей, вызванной наличием общего патогена, оказывающего сильное влияние на естественный отбор и ведущего к вторичному возникновению и закреплению данного аллеля.

При построении филогенетической сети аллели ГКГ класса I дальневосточного леопарда занимают преимущественно периферическое положение по отношению к другим подвидам, что соответствует эволюционной истории вида (Uphyrkina *et al.*, 2001).

Сравнение разнообразия аллелей, выявленных у отдельных животных, показало, что у дальневосточного леопарда оно наибольшее по среднему числу аллелей на особь по сравнению с африканским подвидом, а по разбросу значений количества аллелей – по сравнению с индийским подвидом (см. табл. 3). Обнаруженная нами высокая степень генетической изменчивости сохраняется и на аминокислотном уровне.

Высокая степень изменчивости на уровне аминокислот позволяет заключить, что причиной изменчивости является не отсутствие отбора на фоне мутационного процесса, а балансирующий отбор, поддерживающий наличие в популяции функционально разнообразных аллельных вариантов и дающий преимущество гетерозиготным особям, способным противостоять большему числу патогенов вследствие кодоминантного характера генов ГКГ.

Поиск признаков действия естественного отбора в исследуемых популяциях показал, что на кодоны, предположительно не участвующие в связывании антигена, действие отбора не выяв-

ляется, а нуклеотидные замены в них преимущественно синонимичны. Кодоны, находящиеся под действием балансирующего отбора, обладают схожим паттерном распределения в последовательностях африканского и дальневосточного леопардов. Количество сайтов, для которых вероятен или статистически доказан балансирующий отбор, у дальневосточного леопарда выше, чем у африканского. Кастро-Прието с соавторами (Castro-Prieto *et al.*, 2011) упоминают, что низкое разнообразие в исследуемых ими образцах может быть связано с особенностями выборки, но, вероятно, не характерно для всего подвида в целом. Численность популяции африканского леопарда оценивают в 5–10,5 тыс. особей (Hanssen, Stander, 2004), а в статье Кастро-Прието с соавторами (Castro-Prieto *et al.*, 2011) приведены результаты исследования 25 особей из отдельной части ареала — Намибии. Требуется больше данных, чтобы прояснить вопрос о реальной вариабельности генов ГКГ у африканского подвида леопарда.

Остается неясной причина относительной низкой вариабельности ГКГ класса I индийского леопарда. Численность индийского леопарда довольно высока: размер популяции — 12–14 тыс. особей (Jacobson *et al.*, 2016), при этом 13 особей, вошедших в выборку индийских леопардов, не являются родственниками. Половина из них содержится в неволе и участвует в природоохранной программе разведения (Conservation breeding programme of the Central Zoo Authority of India). Пармар с соавторами (Parmar *et al.*, 2017) лаконично упоминают о возможном влиянии ограничений в системе спаривания или сниженном давлении отбора на генетическое разнообразие генов ГКГ. Возможно, именно эти причины объясняют меньшее количество аллелей ГКГ класса I у особей индийского леопарда. Интересно, что в сети аллелей две трети последовательностей индийского леопарда формируют отдельную ветвь, для перехода к которой требуется значительное количество мутационных изменений (см. рис. 1). Вполне вероятно, что эта ветвь отражает изолированную эволюционную историю ряда последовательностей.

Наши результаты позволяют сделать вывод, что генетическое разнообразие генов ГКГ класса I у дальневосточного подвида леопарда как минимум не уступает, а возможно и превышает таковое у других подвидов леопарда, находящихся в более благополучных условиях обитания и поддерживающих более высокую численность. Схожая ситуация была описана и для рода рысей (*Lynx*): пиренейская рысь (*L. pardinus*), пережившая в конце XX в. резкое снижение численности и обладающая низким разнообразием нейтральных генетических маркеров, тем не менее сохранила аллельное разнообразие генов ГКГ, сравнимое с тако-

вым у родственной ей широко распространенной евразийской рыси (*L. lynx*), численность которой не вызывает опасений (Marmesat *et al.*, 2017).

Гены ГКГ класса I во многом определяют устойчивость к патогенам вирусной природы. К сожалению, сложно оценить таковую для дальневосточного леопарда по сравнению с другими подвидами. Известно, что дальневосточный леопард, как и некоторые другие подвиды, чувствителен к вирусу чумы плотоядных, заболевание которым может приводить к гибели животного (Sulikhan *et al.*, 2018; Kadam *et al.*, 2022; Rahman *et al.*, 2022; Bodgener *et al.*, 2023). Доля серопозитивных животных среди дальневосточных леопардов была ниже, чем среди индийских (Naidenko *et al.*, 2018; Bodgener *et al.*, 2023). Сопоставить зараженность или серопозитивность к широкому спектру патогенов у дальневосточного леопарда с другими подвидами невозможно из-за отсутствия данных. Вместе с тем, серопозитивность дальневосточного леопарда к вирусным патогенам существенно ниже, чем амурского тигра и дальневосточного лесного кота, однако, существенно выше, чем у евразийской рыси (Naidenko *et al.*, 2018). Очевидно, что требуется дальнейшее исследование активности иммунной системы дальневосточных леопардов в сравнении с другими видами кошачьих.

Таким образом, у дальневосточного леопарда наблюдается высокое генетическое разнообразие генов ГКГ класса I. Наблюдаемое разнообразие и полиморфизм последовательностей иммунных генов класса I дальневосточного леопарда не уступают таковым других подвидов леопарда, обитающих в более благоприятных условиях. С точки зрения состояния функционально значимых генов иммунитета снижение численности дальневосточного леопарда к настоящему времени не привело к непоправимым потерям генетического потенциала популяции. Это имеет принципиальное значение для сохранения дальневосточного леопарда: несмотря на неоднократно описанное низкое генетическое разнообразие подвида по митохондриальной ДНК и микросателлитным локусам, именно высокая изменчивость генов ГКГ позволяет предположить, что популяция обладает внутренним потенциалом к восстановлению и достаточной устойчивостью к патогенной нагрузке.

Работа выполнена в рамках Постоянно действующей экспедиции РАН по изучению животных Красной книги Российской Федерации и других особо важных животных фауны России при финансовой поддержке Русского географического общества (проект “Изучение редких видов животных (амурский тигр, дальневосточный

леопард, ирбис (снежный барс), белуха, белый медведь”).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Виткалова А.В., Дарман Ю.А., Марченкова Т.В., Матюхина Д.С., Рыбин А.Н., Сторожук В.Б., Титов А.С., Седаш Г.А., Сонин П.Л., Петров Т.А., Мазур М.А., Николаева Е.И., Блиндченко Е.Ю., Костыря А.В., Шевцова Е.И., Арамилев В.В., Микелл Д.Г. Фотомониторинг дальневосточного леопарда на территории юго-западного Приморья (2014–2020 гг.). Владивосток: Апельсин, 2022. 116 с.
- Найденко С.В., Матюхина Д.С., Магомедов М.-Р.Д., Рожнов В.В. Леопард *Panthera pardus* (Linnaeus, 1758) // Красная книга Российской Федерации, том “Животные”. 2-ое издание. М: ФГБУ “ВНИИ Экология”, 2021. С. 994–996.
- Рожнов В.В., Сорокин П.А., Лукаревский В.С., Найденко С.В., Эрнандес-Бланко Х.А., Лукаревский С.В. Индивидуальная идентификация дальневосточных леопардов (*Panthera pardus orientalis*) молекулярно-генетическими методами и ее использования для оценки численности популяции // Известия РАН. Серия биологическая. 2013. № 2. С. 138–143.
<https://doi.org/10.7868/S0002332913020124>
- Тарасян К.К., Сорокин П.А., Холодова М.В., Рожнов В.В. Главный комплекс гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС) у млекопитающих и его значение в изучении редких видов (на примере семейства Felidae) // Журн. общей биологии. 2014. Т. 75. № 4. С. 302–314.
- Bahr A., Wilson A.B. The evolution of MHC diversity: evidence of intralocus gene conversion and recombination in a single-locus system // *Gene*. 2012. V. 497. № 1. P. 52–57.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.01.017>
- Bandelt H.-J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol Biol Evol*. 1999. V. 16. P. 37–48.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
- Bodgener J., Sadaula A., Thapa P.J., Shrestha B.K., Gairhe K.P., Subedi S., Rijal K.R., Pandey P., Joshi J.D., Kandel P., Himal L., Navapon T., Martin G. Canine distemper virus in tigers (*Panthera tigris*) and leopards (*P. pardus*) in Nepal // *Pathogens*. 2023. V. 12. № 2. P. 1–13.
<https://doi.org/10.3390/pathogens12020203>
- Brouwer L., Barr I., van de Pol M., Burke T., Komdeur J., Richardson D.S. MHC-dependent survival in a wild population: evidence for hidden genetic benefits gained through extra-pair fertilizations // *Mol. Ecol*. 2010. V. 19. № 16. P. 3444–3455.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04750.x>
- Burger D., Thomas S., Aepli H., Dreyer M., Fabre G., Marti E., Sieme H., Robinson M.R., Wedekind C. Major histocompatibility complex-linked social signalling affects female fertility // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2017. V. 284. № 1868. P. 20171824.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2017.1824>
- Castro-Prieto A., Wachter B., Melzheimer J., Thalwitzer S., Sommer S. Diversity and evolutionary patterns of immune genes in free-ranging namibian leopards (*Panthera pardus pardus*) // *J. Heredity*. 2011. V. 102. № 6. P. 653–665.
<https://doi.org/10.1093/jhered/esr097>
- Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 2012. V. 9. №8. P. 772.
<https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
- Hall T.A. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT // *Nucleic Acids Symposium Series*. 1999. V. 41. P. 95–98.
https://doi.org/10.14601/phytopathol_mediterr-14998u1.29
- Hanssen L., Stander P. Namibia large carnivore Atlas Report. Vol. 1 Windhoek (Namibia): Predator Conservation Trust, Ministry of Environment and Tourism, Division of Specialty Support Services., 2004. 12 p.
- Jacobson A.P., Gerngross P., Lemeris J.R., Jr., Schoonover R.F., Anco C., Breitenmoser-Wursten C., Durant S.M., Farhadinia M.S., Henschel P., Kamler J.F., Laguardia A., Rostro-Garcia S., Stein A.B., Dollar L. Leopard (*Panthera pardus*) status, distribution, and the research efforts across its range // *PeerJ*. 2016. V. 4. P. e1974.
<https://doi.org/10.7717/peerj.1974>
- Kadam R.G., Karikalan M., Siddappa C.M., Mahendran K., Srivastava G., Rajak K.K., Bhardwaj Y., Varshney R., War Z.A., Singh R., Ghosh M., Beena V., Pawde A.M., Singh K.P., Sharma A.K. Molecular and pathological screening of canine distemper virus in Asiatic lions, tigers, leopards, snow leopards, clouded leopards, leopard cats, jungle cats, civet cats, fishing cat, and jaguar of different states, India // *Infect. Genet. Evol*. 2022. V. 98. P. 105211.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105211>
- Kennedy L.J., Ryvar R., Brown J.J., Ollier W.E., Radford A.D. Resolution of complex feline leukocyte antigen DRB loci by reference strand-mediated conformational analysis (RSCA) // *Tissue Antigens*. 2003. V. 62. № 4. P. 313–323.
<https://doi.org/10.1007/s00251-002-0465-5>
- Kitchener A.C., Breitenmoser-Wursten C., Eizirik E., Gentry A., Werdelin L., Wilting A., Yamaguchi N., Abramov A.V., Christiansen P., Driscoll C., Duckworth J.W., Johnson W., Luo S.-J., Meijaard E., O'Donoghue P., Sanderson J., Seymour K., Bruford M., Groves, C., Hoffmann M., Nowell K., Timmons Z., Tobe S. A revised taxonomy of the Felidae. The final report of the Cat Classification Task Force of the IUCN. 2017. 80 p.
- Kosakovsky P.S., Posada D., Gravenor M.B., Woelk C.H., Frost S.D.W. Automated phylogenetic detection of recombination using a genetic algorithm // *Molecular Biology and Evolution*. 2006. V. 23. № 10. P. 1891–1901.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msl051>
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms // *Molecular Biology and Evolution*. 2018. V. 35. P. 1547–1549.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Liu X.H., Zhao Y.H., Zhang Y.H., Liu W., Li N. Cloning and mapping MC1R to chromosome 16 in giant panda //

- Anim. Genet. 2005. V. 36. № 3. P. 280–281.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2005.01296.x
- Manlik O., Krützen M., Kopps A.M., Mann J., Bejder L., Allen S.J., Frère C., Connor R.C., Sherwin W.B. Is MHC diversity a better marker for conservation than neutral genetic diversity? A case study of two contrasting dolphin populations // Ecol. Evol. 2019. V. 9. № 12. P. 6986–6998.
https://doi.org/10.1002/ece3.5265
- Marmesat E., Schmidt K., Saveljev A.P., Seryodkin I.V., Godoy J.A. Retention of functional variation despite extreme genomic erosion: MHC allelic repertoires in the Lynx genus // BMC Evolutionary Biology. 2017. V. 17. № 1. P. 158.
https://doi.org/10.1186/s12862-017-1006-z
- Naidenko S.V., Hernandez-Blanco J.A., Pavlova E.V., Erofeeva M.N., Sorokin P.A., Litvinov M.N., Kotlyar A.K., Sulikhan N.S., Rozhnov V.V. Primary study of seroprevalence to virus pathogens in wild felids of South Primorie, Russia // Canadian J. Zoology. 2018. V. 96. № 8. P. 839–846.
https://doi.org/10.1139/cjz-2017-0192
- Paradis E., Claude J., Strimmer K. A{PE}: analyses of phylogenetics and evolution in {R} language. Bioinformatics. 2004. V. 20. P. 289–290.
https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty633
- Parmar D.R., Mitra S., Bhadouriya S., Rao T., Kuntepuram V., Gaur A. Characterization of major histocompatibility complex class I, and class II DRB loci of captive and wild Indian leopards (*Panthera pardus fusca*) // Genetica. 2017. V. 145. № 6. P. 541–558.
https://doi.org/10.1007/s10709-017-9979-5
- Ploshnitsa A.I., Goltsman M.E., Macdonald D.W., Kennedy L.J., Sommer S. Impact of historical founder effects and a recent bottleneck on MHC variability in Commander Arctic foxes (*Vulpes lagopus*) // Ecol. Evol. 2012. V. 2. № 1. P. 165–180.
https://doi.org/10.1002/ece3.42
- Pokorny I., Sharma R., Goyal S.P., Mishra S., Tiedemann R. MHC class I and MHC class II DRB gene variability in wild and captive Bengal tigers (*Panthera tigris tigris*) // Immunogenetics. 2010. V. 62. № 10. P. 667–679.
- Rahman D.A., Saepuloh U., Santosa Y., Darusman H.S., Romaria Pinondang I.M., Kindangen A.S., Pertiwi A.P., Sari L., Irawan A., Sultan K., Rianti P. Molecular diagnosis with the corresponding clinical symptoms of canine distemper virus infection in javan leopard (*Panthera pardus ssp. melas*) // Heliyon. 2022. V. 8. № 11. P. e11341.
https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11341
- Sachdev M., Sankaranarayanan R., Reddanna P., Thangaraj K., Singh L. Major histocompatibility complex class I polymorphism in Asiatic lions // Tissue Antigens. 2005. V. 66. № 1. P. 9–18.
https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2005.00432.x
- Siddle H.V., Kreiss A., Eldridge M.D., Noonan E., Clarke C.J., Pyecroft S., Woods G.M., Belov K. Transmission of a fatal clonal tumor by biting occurs due to depleted MHC diversity in a threatened carnivorous marsupial // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. V. 104. № 41. P. 16221–16226.
https://doi.org/10.1073/pnas.0704580104
- Sommer S., Courtiol A., Mazzoni C.J. MHC genotyping of non-model organisms using next-generation sequencing: a new methodology to deal with artefacts and allelic dropout // BMC Genomics. 2013. V. 14. P. 542.
https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-542
- Sulikhan N.S., Gilbert M., Blidchenko E.Y., Naidenko S.V., Ivanchuk G.V., Gorpenchenko T.Y., Alshinetskiy M.V., Shevtsova E.I., Goodrich J.M., Lewis J.C.M., Goncharuk M.S., Uphyrkina O.V., Rozhnov V.V., Shedko S.V., McAloose D., Miquelle D.G., Seimon T.A. Canine distemper virus in a wild far eastern leopard (*Panthera pardus orientalis*) // J. Wildl. Dis. 2018. V. 54. № 1. P. 170–174.
https://doi.org/10.7589/2017-03-065
- Uphyrkina O., Johnson W.E., Quigley H., Miquelle D., Marker L., Bush M., O'Brien S.J. Phylogenetics, genome diversity and origin of modern leopard, *Panthera pardus* // Mol. Ecol. 2001. V. 10. № 11. P. 2617–2633.
https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01350.x
- Uphyrkina O., O'Brien S.J. Applying molecular genetic tools to the conservation and action plan for the critically endangered Far Eastern leopard (*Panthera pardus orientalis*) // C. R. Biol. 2003. V. 326 Suppl. 1. P. S93–97.
https://doi.org/10.1016/s1631-0691(03)00044-1
- Wang Q., Wu X., Yan P., Zheng S. Sequence variability analysis on major histocompatibility complex class II DRB alleles in three felines // Frontiers of Biology in China. 2008. V. 3. № 1. P. 55–62.
https://doi.org/10.1007/s11515-008-0004-3
- Wei K., Zhang Z., Wang X., Zhang W., Xu X., Shen F., Yue B. Lineage pattern, trans-species polymorphism, and selection pressure among the major lineages of feline Mhc-DRB peptide-binding region // Immunogenetics. 2010. V. 62. № 5. P. 307–317.
https://doi.org/10.1007/s00251-010-0440-5
- Xu B., Yang Z. PAMLX: a graphical user interface for PAML // Mol. Biol. Evol. 2013. V. 30. P. 2723–2724.
https://doi.org/10.1093/molbev/mst179
- Yang Z. PAML4: phylogenetic analysis by maximum likelihood // Mol Biol Evol. 2007. V. 24. P. 1586–1591.
https://doi.org/10.1093/molbev/msm088
- Yuhki N., Beck T., Stephens R., Neelam B., O'Brien S.J. Comparative genomic structure of human, dog, and cat MHC: HLA, DLA, and FLA // J. Hered. 2007. V. 98. № 5. P. 390–399.
https://doi.org/10.1093/jhered/esm056
- Yuhki N., Mullikin J.C., Beck T., Stephens R., O'Brien S.J. Sequences, annotation and single nucleotide polymorphism of the major histocompatibility complex in the domestic cat // PLoS One. 2008. V. 3. № 7. P. e2674.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002674
- Yuhki N., O'Brien S.J. DNA variation of the mammalian major histocompatibility complex reflects genomic diversity and population history // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1990. V. 87. № 2. P. 836–840.

Gene Diversity of Major Histocompatibility Complex Class I of the Far Eastern Leopard (*Panthera pardus orientalis*)

K. K. Tarasyan^{1, #}, P. A. Sorokin¹, M. V. Kholodova¹, S. V. Naidenko¹, and V. V. Rozhnov¹

¹Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Leninskii prosp., 33, Moscow, 119071 Russia

[#]e-mail: tarasyan_k@mail.ru

The study presents the status and diversity of major histocompatibility complex (MHC) class I genes in the Far Eastern leopard (*Panthera pardus orientalis*). 20 alleles of MHC genes were obtained from 11 samples in total, 19 alleles were described for the first time for the species. A high diversity of alleles is shown at the level of individuals as well as at the population level. Comparison of MHC gene polymorphism in leopard subspecies showed that the genetic diversity of the Far Eastern leopard is not lower and even possibly higher, than observed of the African and Indian subspecies. The high allelic diversity of the Far Eastern leopard genes is supported by the positive selection affecting on the antigen-binding region of the protein product they encrypt. It is concluded that the low abundance of the Far Eastern leopard has not yet led to irreparable losses in the genetic potential of the population.

Keywords: gene diversity, gene polymorphism, antigen binding region, positive selection, Far Eastern leopard, *Panthera pardus orientalis*, *Panthera pardus pardus*, *Panthera pardus fusca*, Pantherinae

ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГРИБА *Nigrospora gorlenkoana* Novobr., РАСПРОСТРАНЕННОГО НА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУРАХ

© 2023 г. А. С. Орина*, @, О. П. Гаврилова*, Т. Ю. Гагкаева*

*Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР),
ш. Подбельского, 3, Санкт-Петербург, 196608 Россия

@E-mail: orina-alex@yandex.ru

Поступила в редакцию 14.06.2022 г.

После доработки 11.07.2022 г.

Принята к публикации 25.04.2023 г.

Установлено повсеместное распространение грибов рода *Nigrospora* в микобиоте зерновых культур на территории России. Четырнадцать штаммов *Nigrospora* с использованием филогенетического анализа ITS, *tub* и *TEF* локусов были идентифицированы как *N. gorlenkoana*, впервые выявленный в России. На различных питательных средах проанализированы морфолого-культуральные свойства штаммов *N. gorlenkoana*. Установлен широкий температурный диапазон 15–25°C оптимальный для роста *N. gorlenkoana*, что обуславливает его повсеместное распространение в природе. Показана патогенность *N. gorlenkoana* по отношению к зерновым культурам — длина проростков пшеницы и ячменя под воздействием штаммов гриба снижалась и в среднем составила 48 и 39% от контроля, соответственно.

Ключевые слова: злаковые растения, микромицеты, филогения, патогенность

DOI: 10.31857/S1026347022600546, **EDN:** WCWAPT

Под *Nigrospora* Zimm. (Apiosporaceae, Xylariales, Sordariomycetes) установлен немецким ботаником Альбрехтом Циммерманном (Albrecht Zimmermann) в 1902 г. при описании вида *N. panici* Zimm., выделенного из листьев злакового растения *Panicum amphibium* Steud., собранного на острове Ява. Грибы рода *Nigrospora* образуют одиночные, черные, блестящие, одноклеточные конидии, как правило, округлой формы на монобластических конидиогенных клетках (Mason, 1927). Изначально, классификация видов *Nigrospora* основывалась, главным образом, на размерах конидий. Часто упоминаемые в научных публикациях виды *N. oryzae* (Berk. & Broome) Petch и *N. sphaerica* (Sacc.) E.W. Mason были обособлены на основании размеров спор: 13–15 и 15–20 мкм, соответственно (Mason, 1927).

Современные исследования показывают возможность точной видовой идентификации *Nigrospora* только с помощью полифазного подхода, включающего установление морфологических, экологических, физиологических и молекулярно-генетических характеристик (Wang *et al.*, 2017; Raza *et al.*, 2019; Hao *et al.*, 2020). Для дифференциации видов *Nigrospora* и их аккуратной идентификации в филогенетический анализ включают последовательности нескольких локусов — внут-

реннего транскрибируемого спейсера рибосомальной РНК ITS, гена β-тубулина *tub*, гена фактора элонгации трансляции *TEF*, большой субъединицы рибосомальной РНК *LSU* (Wang *et al.*, 2017; Crous *et al.*, 2019; Hao *et al.*, 2020). К настоящему времени род *Nigrospora* объединяет 33 валидных видовых таксона, штаммы которых часто включают в микологические и филогенетические исследования (Crous *et al.*, 2019; Raza *et al.*, 2019; Hao *et al.*, 2020; de Silva *et al.*, 2021). Таксономический статус еще восьми видовых эпитетов, в т. ч. типового вида рода, образец которого был утерян, требует уточнения (Wang *et al.*, 2017; Hao *et al.*, 2020).

Интерес к детальному изучению грибов *Nigrospora* достаточно высок, поскольку, с одной стороны, их рассматривают как вредоносные организмы, оказывающие негативное влияние на растения (Harwood *et al.*, 1995; Рубежнйак, 2013; Wright *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2017; Rashmi *et al.*, 2019; Raza *et al.*, 2019; Hao *et al.*, 2020; Pan *et al.*, 2020; Матвиенко, Кинчарова, 2020), а с другой стороны как представителей микобиоты, продуцирующих вторичные метаболиты, защищающие растения от неблагоприятных абиотических и биотических факторов (Kim *et al.*, 2001; Ramesha *et al.*, 2020). Показано, что некоторые метаболиты грибов рода *Nigrospora* обладают антивирусными,

антибиотическими, фунгицидными (Starratt, Loschiavo, 1974; Rathod *et al.*, 2014; Waill *et al.*, 2022) и инсектицидными свойствами (Meeragala *et al.*, 2015). Виды рода *Nigrospora* были выделены не только из растений (Sharma *et al.*, 2013; Nao *et al.*, 2020), но также из лишайников (Oh *et al.*, 2020), насекомых (Wu *et al.*, 2018; Aghyl *et al.*, 2021) и морских объектов (Zhang *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2014). В русскоязычной научной литературе, как правило, упоминается только вид *N. oryzae* как патоген кукурузы и других растений (http://www.agroatlas.ru/content/diseases/Zae/Zae_Nigrospora_oryzae). До настоящего время целенаправленное изучение разнообразия и распространения этих грибов в РФ не проводилось.

Целью исследования являлось выявление видового разнообразия грибов рода *Nigrospora*, встречающихся на злаковых культурах, а также характеристика их физиолого-биохимических свойств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Создание коллекции штаммов грибов рода *Nigrospora*. Анализировали 262 образца зерна урожая 2017–2021 гг., собранных в Приволжском ($n = 1$), Северо-Кавказском ($n = 20$), Сибирском ($n = 105$), Уральском ($n = 61$), Центральном ($n = 67$) и Южном ($n = 8$) федеральных округах. Среди них было 169 образцов пшеницы, 38 – овса и 55 – ячменя. Оценку зараженности зерна грибами проводили общепринятым микологическим методом (Гагкая, 2009).

В результате анализа микобиоты зерна в коллекцию лаборатории микологии и фитопатологии ФГБНУ ВИЗР было депонировано более 40 штаммов *Nigrospora* spp., из которых для дальнейших исследований были рандомизированно выбраны 16 штаммов. Также в исследование были включены три штамма *Nigrospora*, выделенные из тростника, из зерна кукурузы и семян рапса (табл. 1).

Молекулярно-генетическая идентификация штаммов. Экстракцию ДНК проводили из 10–50 мг мицелия, собранного с поверхности колонии гриба, выращенной на картофельно-сахарозной агаризованной среде (КСА), с помощью набора Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Литва) согласно протоколу производителя.

Амплификацию фрагментов внутреннего транскрибируемого спейсера рДНК (ITS), генов β -тубулина (*tub*) и фактора элонгации трансляции (*TEF*) проводили с использованием праймеров и протоколов авторов (White *et al.*, 1990; O'Donnell, Cigelnik, 1997; Carbone, Kohn, 1999). Нуклеотидную последовательность фрагментов определяли на секвенаторе ABIPrism 3500 (Applied Biosystems, Hitachi, Япония) с использованием набора реактивов BigDye Terminator v3.1 Cy-

cle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США). Процедуры выравнивания и ручного редактирования хроматограмм, а также получение консенсусных нуклеотидных последовательностей проводили в программе Vector NTI Advance 10. Нуклеотидные последовательности с помощью инструмента BLAST были проверены на сходство с депонированными в международной информационной базе данных NCBI GenBank. Филогенетические отношения между таксонами оценивали методами максимального правдоподобия (maximum likelihood; ML) и максимальной экономии (maximum parsimony; MP) с использованием программы MEGA X 10.1 (Kumar *et al.*, 2018). Также рассчитывали байесовскую вероятность (Bayesian probability; BP) с помощью MrBayes v. 3.2.1 на платформе Armadillo 1.1 (Lord *et al.*, 2012). Достоверность топологии филогенетических деревьев определяли посредством бутстрэп-анализа (1000 повторностей). Полученные нуклеотидные последовательности были размещены в базе данных NCBI GenBank.

Оценка морфолого-культуральных свойств штаммов. Фенотипические особенности и скорость роста штаммов грибов анализировали при их культивировании на трех агаризованных питательных средах: картофельно-сахарозной (КСА), овсяной (ОА) и среде Чапека (ЧА) в темноте при 25°C (Crous *et al.*, 2021). Через трое суток роста грибов измеряли размер каждой колонии в двух перпендикулярных направлениях и рассчитывали среднее значение диаметра колоний каждого штамма. Через 7–30 сут оценивали тип и окраску воздушного мицелия, пигментацию колоний.

Описание микроморфологических признаков проводили при культивировании или выращивании штаммов на КСА в темноте при 25°C в течение 7–14 сут. Морфологические структуры штаммов были исследованы и задокументированы с помощью микроскопа Olympus BX53 (Olympus America, США), подключенного к камере Supra (Jenoptik, Германия). Обработку фотографий проводили в программе Adobe Photoshop CC 2018 (Adobe, США).

Определение диапазона температур, оптимальных для накопления грибами биомассы, проводили методом глубинного культивирования. Каждый штамм выращивали в 100 мл жидкой среды Чапека в качалочных колбах объемом 750 мл в термостатируемых орбитальных шейкерах Innova 44R (Eppendorf, Германия). В объем питательной среды вносили по два диска диаметром 5 мм, вырезанных из культур грибов, выращенных на КСА при 25°C в течение 10–14 сут. Культивирование проводили при температурах 10, 15, 20, 25 и 30°C и постоянном перемешивании со скоростью 100 об./мин в течение 7 сут. Отделение биомассы грибов от культуральной жидкости проводили методом вакуум-фильтрации

Таблица 1. Штаммы грибов, использованные в филогенетическом исследовании

Вид	Номер штамма в коллекции	Растение-хозяин, субстрат	Страна, регион	Год	Номер нуклеотидной последовательности в GenBank		
					ITS	TEF	tub
<i>Arthrinium arundinis</i> <i>A. arundinis</i>	CBS 114316*	<i>Hordeum vulgare</i>	Иран		KF144884	KF145016	KF144974
	MFG 70050**	Пшеница, зерно	Россия, Краснодарский край	2019	OK563249***	OK626387	OK626371
<i>Nigrospora aurantiaca</i>	CGMCC3.18130 T	<i>Nelumbo</i> sp., листья	Китай		KX986064	KY019295	KY019465
<i>N. bambusae</i>	CGMCC3.18327 T	Бамбук, листья	Китай		KY385307	KY385313	KY385319
<i>N. brasiliensis</i>	CMM1214 T	<i>Nopalea cochenilifera</i>	Бразилия		KY569629	MK753271	MK720816
<i>N. camelliae-sinensis</i>	CGMCC3.1812 T	<i>Camellia sinensis</i>	Китай		KX985986	KY019293	KY019460
<i>N. chinensis</i>	CGMCC3.18127 T	<i>Machilus breviflora</i>	Китай		KX986023	KY019422	KY019462
<i>N. falsivesicularis</i>	CGMCC 3.19678 T	<i>Saccharum officinarum</i> , листья	Китай		MN215778	MN264017	MN329942
<i>N. globosa</i>	CGMCC3.19633 T	Почва	Китай		MK329121	MK336056	MK336134
<i>N. gorlenkoana</i>	CBS 480.73 T	<i>Vitis vinifera</i>	Казахстан		KX986048	KY019420	KY019456
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70030	Пшеница, зерно	Россия, Республика Башкирия	2018	OK563236	OK626374	OK626358
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70031	Пшеница, зерно	Россия, Белгородская обл.	2020	OK563237	OK626375	OK626359
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70032	Пшеница, зерно	Россия, Воронежская обл.	2020	OK563238	OK626376	OK626360
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70033	Пшеница, зерно	Россия, Краснодарский край	2018	OK563239	OK626377	OK626361
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70034	Пшеница, зерно	Россия, Краснодарский край	2020	OK563240	OK626378	OK626362
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70036	Пшеница, зерно	Россия, Новосибирская обл.	2018	OK563241	OK626379	OK626363
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70038	Пшеница, зерно	Россия, Омская обл.	2018	OK563242	OK626380	OK626364
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70039	Пшеница, зерно	Россия, Псковская обл.	2018	OK563243	OK626381	OK626365
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70040	Пшеница, зерно	Россия, Ростовская обл.	2020	OK563244	OK626382	OK626366
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70042	Пшеница, зерно	Россия, Тамбовская обл.	2020	OK563245	OK626383	OK626367
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70044	Пшеница, зерно	Россия, Челябинская обл.	2019	OK563246	OK626384	OK626368
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70045	Пшеница, зерно	Россия, Республика Чечня	2019	OK563247	OK626385	OK626369
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70048	Рапс, семена	Россия, Ленинградская обл.	2020	OK563248	OK626386	OK626370
<i>N. gorlenkoana</i>	MFG 70051	Овес, зерно	Россия, Московская обл.	2020	OK563250	OK626388	OK626372
<i>N. guilinensis</i>	CGMCC3.18124 T	<i>Camellia sinensis</i>	Китай		KX985983	KY019292	KY019459
<i>N. hainanensis</i>	CGMCC3.18129 T	<i>Musa paradisiaca</i>	Китай		KX986091	KY019415	KY019464
<i>N. laticolonia</i>	CGMCC3.18123 T	<i>Camellia sinensis</i>	Китай		KX985978	KY019291	KY019458
<i>N. macarangae</i>	MFLUCC 19-0141 T	<i>Macaranga tanarius</i> , листья	Тайвань		MW114318		
<i>N. magnoliae</i>	LC 6704	<i>Camellia sinensis</i>	Китай		KX986047	KY019373	KY019571
<i>N. magnoliae</i>	MFLUCC 19-0112 T	<i>Magnolia liliifera</i> , листья	Китай		MW285092	MK753271	MW438334
<i>N. musae</i>	CBS 319.34 T	<i>Musa paradisiaca</i>	Австралия		KX986076	KY019419	KY019455

Таблица 1. Окончание

Вид	Номер штамма в коллекции	Растение-хозяин, субстрат	Страна, регион	Год	Номер нуклеотидной последовательности в GenBank		
					ITS	TEF	tub
<i>N. oryzae</i>	LC 6759	<i>Oryza sativa</i>	Китай		KX986054	KY019374	KY019572
<i>N. osmanthi</i>	CGMCC3.18126 T	<i>Osmanthus</i> sp.	Китай		KX986010	KY019421	KY019461
<i>N. pyriformis</i>	CGMCC3.18122 T	<i>Citrus sinensis</i>	Китай		KX985940	KY019290	KY019457
<i>N. rubi</i>	CGMCC3.18326 T	<i>Rubus</i> sp.	Китай		KX985948	KY019302	KY019475
<i>N. saccharicola</i>	CGMCC3.19362 T	<i>Saccharum officinarum</i> , листья	Китай		MN215788	MN264027	MN329951
<i>N. sacchari-officinarum</i>	CGMCC3.19335 T	<i>Saccharum officinarum</i> , корни	Китай		MN215791	MN264030	MN329954
<i>N. singularis</i>	CGMCC3.19334 T	<i>Saccharum officinarum</i> , корни	Китай		MN215793	MN264032	MN329956
<i>N. sphaerica</i>	LC7298	<i>Nelumbo</i> sp.	Китай		KX985937	KY019401	KY019606
<i>N. vesicularifera</i>	CGMCC3.19333 T	<i>Saccharum officinarum</i> , листья	Китай		MN215812	MN264051	MN329975
<i>N. vesicularis</i>	CGMCC3.18128	<i>Musa paradisiaca</i>	Китай		KX986088	KY019294	KY019463
<i>N. zimmermanii</i>	CBS 290.62 T	<i>Saccharum officinarum</i>	Эквадор		KY385309	KY385311	KY385317
<i>Nigrospora</i> sp. 1	LC 2725	<i>Symplocos zizyphoides</i>	Китай		KX985960	KY019313	KY019487
<i>Nigrospora</i> sp.	MFG 70052	<i>Phragmites</i> sp.	Приморский край	2010	OK563251	OK626389	OK626373

Примечание. * — Штаммы, нуклеотидные последовательности которых использовались в филогенетическом анализе в качестве референсных; ** — полужирным шрифтом отмечены исследуемые штаммы из коллекции лаборатории микологии и фитопатологии ВИЗР; *** — полужирным шрифтом отмечены нуклеотидные последовательности, полученные в данном исследовании.

через бумажные фильтры “Красная лента” 90 мм (Экрос, Россия) с помощью насоса Millipore Vacuum Pump XF 54 (Merck, Германия). Биомассу высушивали при 50°C в течение суток и взвешивали. Значения pH культуральной жидкости определяли с помощью индикаторных бумажных полосок (Macherey-Nagel, Германия).

Оценка патогенности штаммов грибов. Патогенность штаммов грибов оценивали по влиянию на длину проростков семян зерновых культур, разложенных на поверхность колоний гриба. Зерно озимой пшеницы сорта Васса и пивоваренного ячменя сорта Деспина. поверхность стерилизовали 70% этанолом и замачивали на сутки в стерильной воде. Затем зерна с набухшим зародышем, без видимых повреждений, раскладывали на поверхность колоний штаммов грибов, предварительно выращенных на КСА при 25°C в течение 10 сут. В контроле зерна раскладывали на чистую КСА. Через 5 сут инкубации в темноте при температуре 25°C измеряли длину проростков, рассчитывали средние значения. Изменение длины проростков под воздействием гриба оценивали в процентах к их средней длине в контроле.

Статистический анализ. Использовали программы Microsoft Excel 2010 и Minitab 17 для расчета средних значений, стандартного отклонения, доверительных интервалов и построения графиков зависимостей.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Встречаемость грибов рода *Nigrospora*. Микологический анализ выявил повсеместное распространение грибов *Nigrospora* в зерне, выращенном в различных регионах России: они были обнаружены в 45.8% анализированных образцов (табл. 2). Зараженность зерна этими грибами, как правило, была низкой, но в отдельных случаях достигала высоких значений — до 19% (озимая пшеница, Курская обл., 2020 г.). Взаимосвязи между встречаемостью грибов рода *Nigrospora* и видом зерновой культуры, а также регионом её возделывания не выявлены.

Идентификация штаммов с помощью молекулярно-генетических методов. Филогенетический анализ комбинированных нуклеотидных последовательностей 16 штаммов, предварительно морфологически определенных как *Nigrospora* spp., а также 28 референсных штаммов грибов, включал 1038 пар нуклеотидов (п.н.) (ITS — 428 п.н., *tub* — 355 п.н., *TEF* — 255 п.н.), среди которых 544 п.н. были консервативными, 484 п.н. — вариативными, в т. ч. 388 п.н. — информативными.

С высокой бутстрэп-поддержкой ML/MP/VP 100/100/0.95 четырнадцать анализированных штаммов формировали кладу с референсным штаммом CBS 480.73 *N. gorklenkoana* Novobr., что подтверждает их принадлежность этому виду (рис. 1). Один штамм *Nigrospora* sp. MFG 70052,

Таблица 2. Встречаемость грибов рода *Nigrospora* в образцах зерна из различных регионов России (2017–2021 гг.)

Происхождение образцов зерна	Год урожая	Зерновая культура (число образцов)	Доля образцов зерна, зараженных грибами рода <i>Nigrospora</i> , %	Максимальная зараженность зерна грибами рода <i>Nigrospora</i> , %
Центральный ФО	2019	Овес (13)	8	1
	2020	Оз. пшеница (33)	55	19
	2021	Овес (16)	6	1
		Яр. ячмень (5)	67	7
Южный ФО	2021	Оз. пшеница (7)	29	1
		Яр. ячмень (1)	100	1
Северокавказский ФО	2019	Оз. пшеница (20)	60	9
Приволжский ФО	2020	Яр. пшеница (1)	100	2
Уральский ФО	2018	Яр. пшеница (23)	30	3
		Яр. ячмень (15)	53	6
	2019	Овес (4)	50	2
		Яр. пшеница (11)	45	10
Сибирский ФО		Яр. ячмень (8)	37	3
	2017	Яр. пшеница (26)	54	8
		Яр. ячмень (2)	100	12
	2018	Овес (5)	80	6
		Оз. пшеница (3)	33	6
		Яр. пшеница (20)	50	9
		Яр. ячмень (16)	44	2
	2019	Яр. пшеница (25)	56	6
		Яр. ячмень (8)	50	6

выделенный из тростника из Приморского края, представляет собой отдельную филогенетическую линию, и, вероятно, является представителем нового для науки вида грибов рода *Nigrospora*. Штамм MFG 70050 с бутстрэп-поддержкой ML/MP/BP 100/100/1.0 формировал общую кладу со штаммом *Arthrrium arundinis* (Corda) Dyko & B. Sutton CBS 114316. В дальнейшем, при оценке скорости роста и патогенности штаммов *N. gorlenkoana*, штамм MFG 70050 использовали для сравнения в качестве внешней группы.

Морфолого-культуральные свойства штаммов *N. gorlenkoana*. На КСА колонии *N. gorlenkoana* быстрорастущие, распростертые, плоские, с разреженным воздушным мицелием серого цвета (рис. 2). С возрастом воздушный мицелий становится плотнее, шерстисто-клочковатым, серовато-черным, с пучками стерильных гиф белого цвета. Реверс колонии оттенков серого цвета, неровный, с темными пятнами и просвечивающим рисунком субстратных гиф гриба. На ЧА культуры гриба *N. gorlenkoana* слабо растущие, плоские, с разреженным воздушным мицелием, почти не образующие споронии, в отличие от ОА, на которой колонии гриба образуют обильный, плотный, шерстистый, бело-серого цвета мице-

лий, с возрастом темнеющий за счет увеличения числа образующихся окрашенных спор.

Микроскопический анализ показал, что гифы воздушного мицелия *N. gorlenkoana* гладкие, гиалиновые, разветвленные, с хорошо заметными перегородками, диаметром 1.5–4.5 мкм (рис. 3). Гифы субстратного мицелия темноокрашены, с плотной оболочкой и заметными межклеточными перегородками, искривленные, с очевидными утолщениями, диаметром 2.0–5.5 мкм. Споронии образуются быстро на 2–3 сут. Конидиеносцы утолщенные, хорошо выраженные, прямые или изогнутые, бледно серо-охряные, длинные, иногда сводятся к конидиогенным клеткам. Конидиогенные клетки монобластические, одиночные, дискретные, часто расширены, от почти сферических, бочкообразных до ампуловидных, размерами 3.0–15.5 × 4.0–9.0 мкм. Конидии обильные, одноклеточные, одиночные, по одной на каждой конидиогенной клетке, шаровидные или широкоэллиптические, в начале образования имеют вид бесцветных или бледно-коричневых вздутых, которые по мере созревания становятся плотно-черными, блестящими, гладкими, размеры в диапазоне 13.0–14.0 × 10.6–16.5 мкм (в среднем 12.0 × 13.6 мкм).

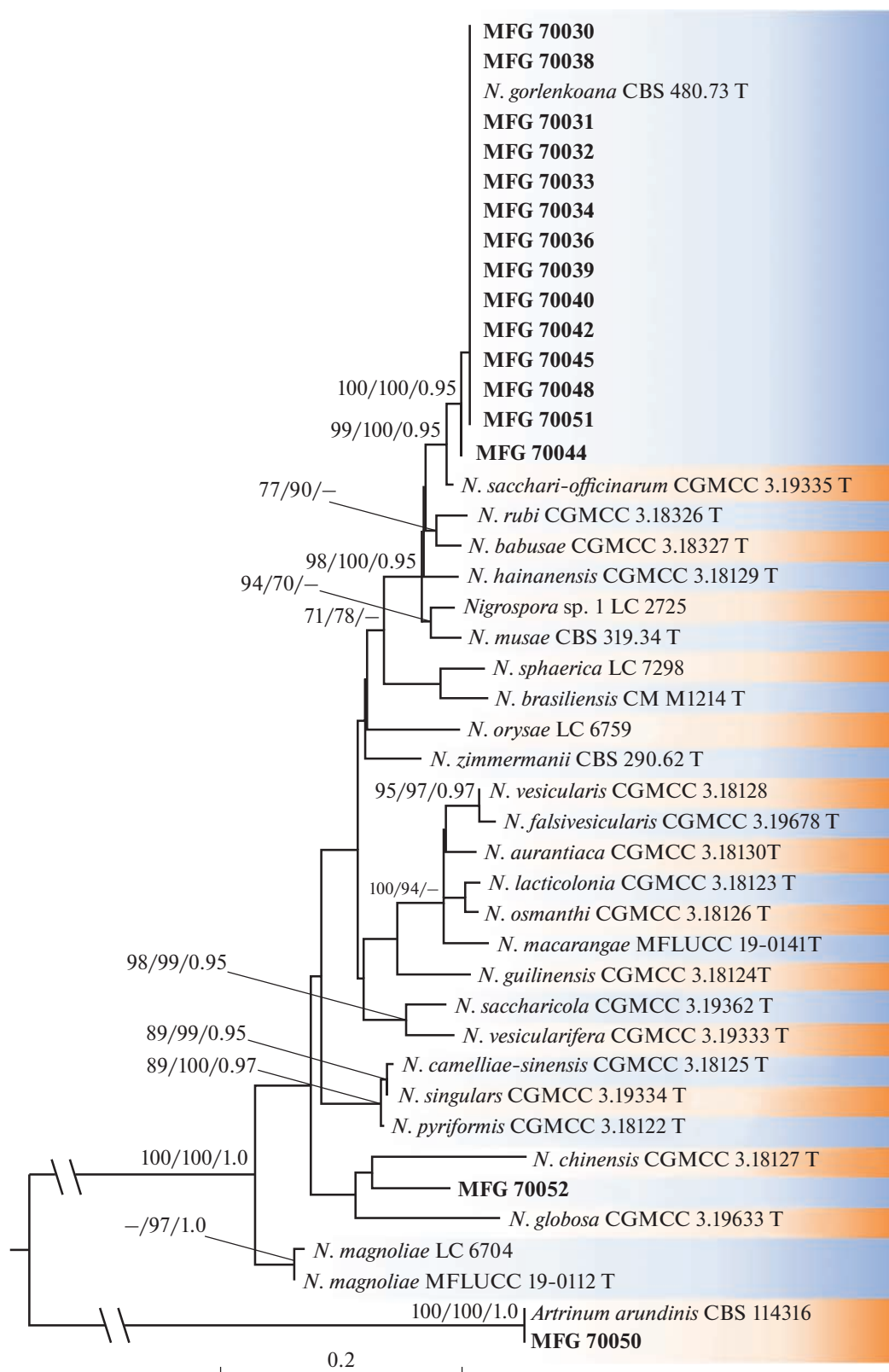


Рис. 1. Дендрограмма филогенетического сходства, построенная на основе комбинированных нуклеотидных последовательностей ITS, *TEF* и *tub* фрагментов генома методом максимального правдоподобия. В узлах приведены значения бутстреп-поддержки (>70%) при анализе методами максимального правдоподобия и максимальной экономии, а также значения Байесовской апостериорной вероятности (>0.95). полужирным шрифтом отмечены штаммы из коллекции MFG, включенные в исследование.

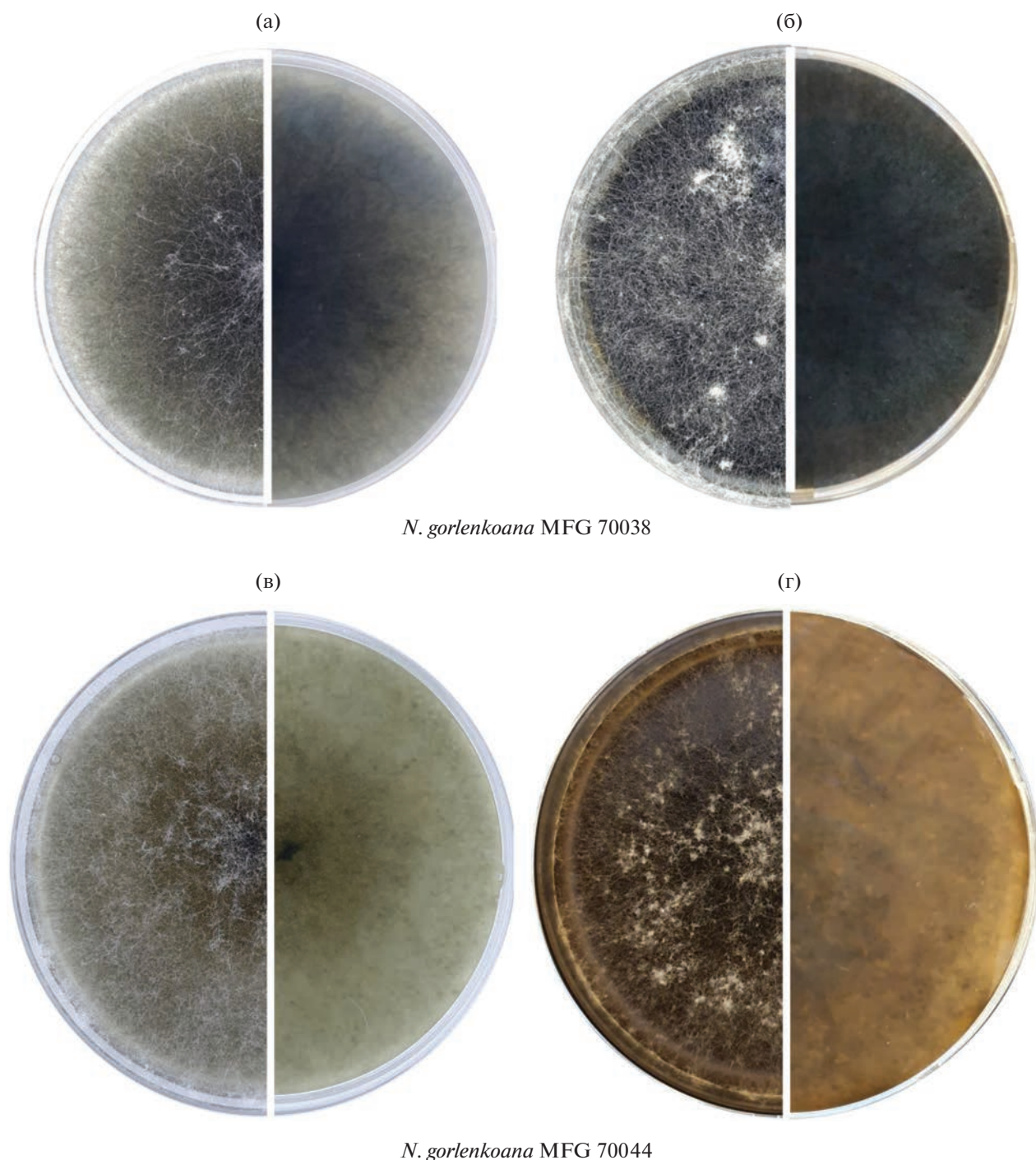


Рис. 2. Фенотипы штаммов грибов рода *Nigrospora*, выращенных на КСА в темноте при 25°C: возраст культур 7 сут (а, в) и 30 (б, г) суток.

Анализ скорости роста штаммов *N. gorlenkoana* выявил, что на третьи сутки культивирования диаметр колоний на КСА варьировал от 60 до 80 мм (в среднем 74.2 ± 1.8 мм), а на ОА — от 23 до 70 мм (в среднем 45.0 ± 3.4 мм). На ЧА скорость роста штаммов *N. gorlenkoana* была значительно ниже, чем на двух других агаризованных средах: диаметр

колоний грибов варьировал в широком диапазоне 10–53 мм и в среднем составил 31.2 ± 3.7 мм. У трех штаммов *N. gorlenkoana* выявлена относительно низкая скорость роста — через 3 сут диаметр их колоний на ЧА не превышал 18 мм. Размеры колонии *A. arundinis* MFG 70050 на всех трех средах оказались существенно меньше, по сравнению со

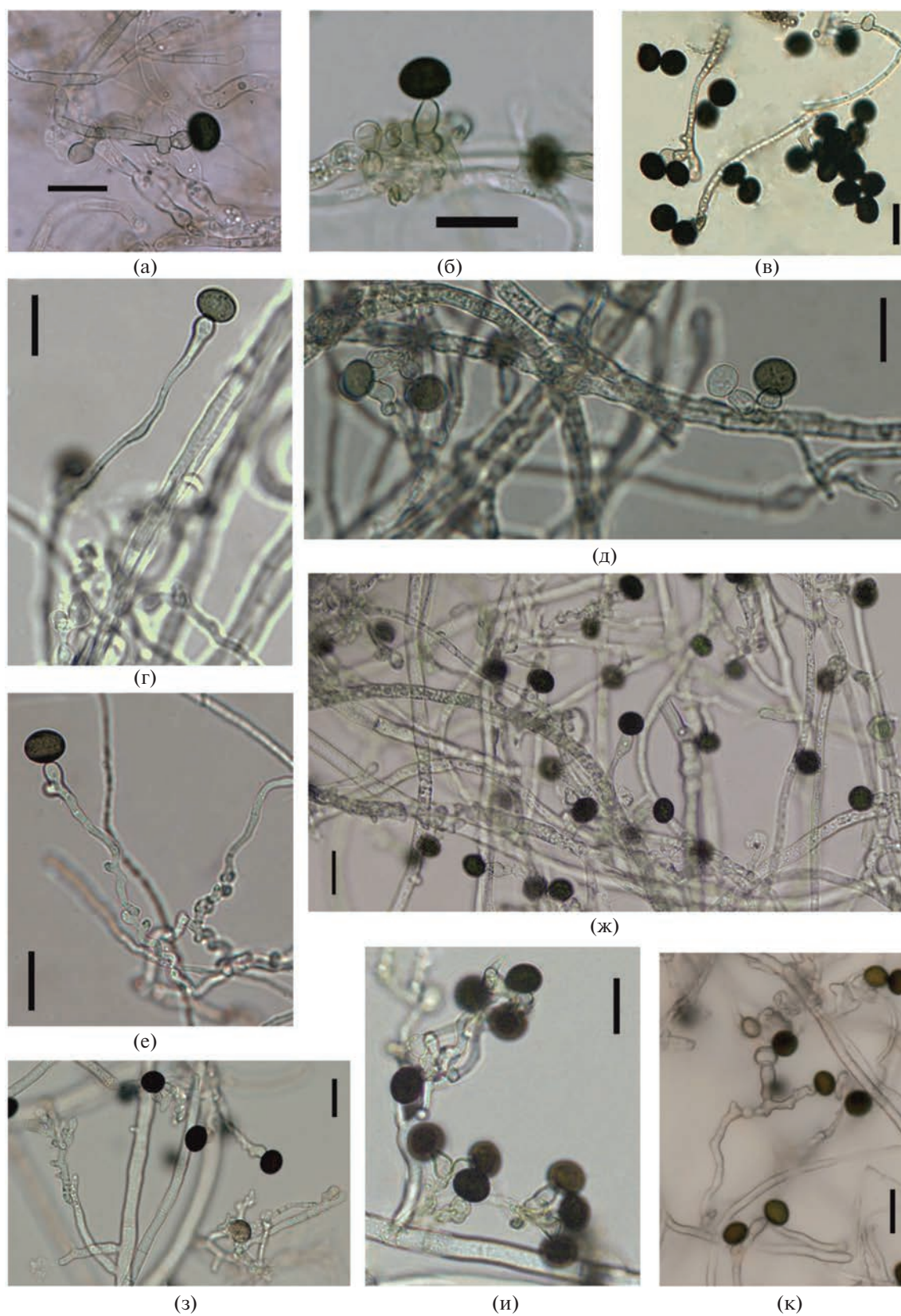


Рис. 3. Типичные микроструктуры гриба *N. gorlenkoana* (а–к). Гифы, конидиогенные клетки и конидии. КСА, в темноте, 25°C. Масштабные линейки: 20 мкм.

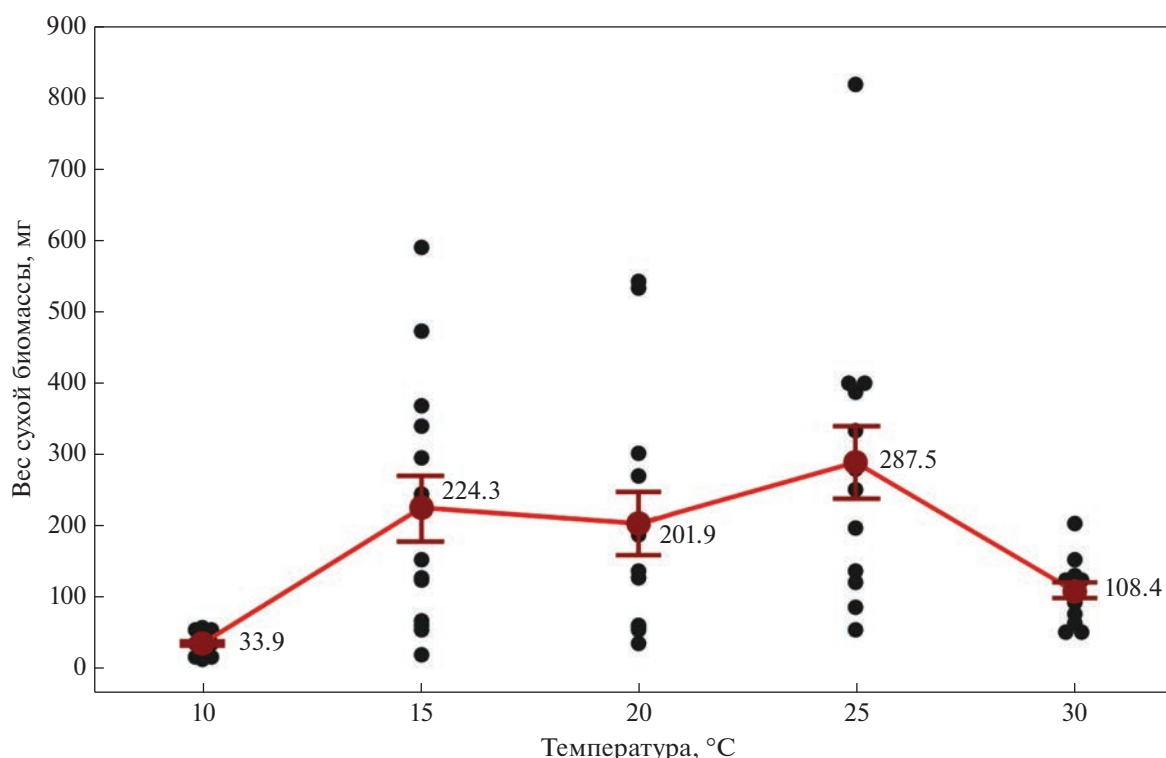


Рис. 4. Динамика накопления биомассы штаммов *N. gorlenkoana* при глубинном культивировании в диапазоне температур (среда Чапека, 7 сут, в темноте). Отрезками указаны доверительный интервал при уровне значимости $p < 0.05$.

штаммами *N. gorlenkoana*, и составили на КСА 53 ± 2 мм, на ОА — 38 ± 2 мм и на ЧА — 25.0 ± 0.1 мм.

Накопление биомассы штаммами *N. gorlenkoana* при глубинном культивировании на среде Чапека при температурах 10–30°C существенно варьировало от 13 мг при 10°C до 818 мг при 25°C (рис. 4). Сравнение средних показателей веса сухой биомассы, полученной при разных температурах культивирования, выявило широкий диапазон температур, при которых штаммы *N. gorlenkoana* росли одинаково хорошо — от 15°C (224 ± 86 мг) до 25°C (288 ± 96 мг). Оптимальной температурой для роста *A. arundinis* MFG 70050 являлась 25°C, при которой вес биомассы составил 540 ± 96 мг, что в 1.4–13.5 раз выше, чем при других четырех температурах.

Измерение pH культуральных жидкостей, полученных в процессе культивирования *Nigrospora* spp. при температуре 25°C, выявило изменение данного показателя от 5.5 (значение чистой среды Чапека) до 6.3. В то же время pH культуральной жидкости штамма *A. arundinis* MFG 70050 снизилось до 4.5.

Патогенность штаммов к проросткам пшеницы и ячменя. Всхожесть выбранных для экспериментов образцов зерна пшеницы и ячменя составляла 100% и 80%, соответственно. Длина проростков зерновых культур в контрольных вариантах зна-

чительно варьировала — от 7 до 109 мм у пшеницы и от 25 до 155 мм у ячменя. После недельной инкубации на поверхности колоний *N. gorlenkoana* и *A. arundinis* MFG 70050 выявлено достоверное снижение длины проростков пшеницы и ячменя, по сравнению с контролем (рис. 5).

Среди анализированных штаммов наиболее агрессивными по отношению к проросткам пшеницы являлись *N. gorlenkoana* MFG 70044 и *A. arundinis* MFG 70050 — длина проростков, полученных после культивирования на культурах этих грибов, составила всего 19.6 и 16.4% от контроля, соответственно. Только один штамм *N. gorlenkoana* MFG 70040 оказывал стимулирующее действие на прорастание зерна пшеницы, под влиянием которого длина проростков увеличилась до 120.8% от контроля.

Три штамма *N. gorlenkoana* MFG 70031, MFG 70038 и MFG 70044 можно охарактеризовать как наиболее агрессивные в отношении ячменя: длина проростков, после культивирования на поверхности колоний этих грибов составила 11.9–13.1% от контроля. Остальные анализированные штаммы *N. gorlenkoana*, а также *A. arundinis* MFG 70050, приводили к уменьшению длины проростков ячменя до 23.8–66.7% от контроля.

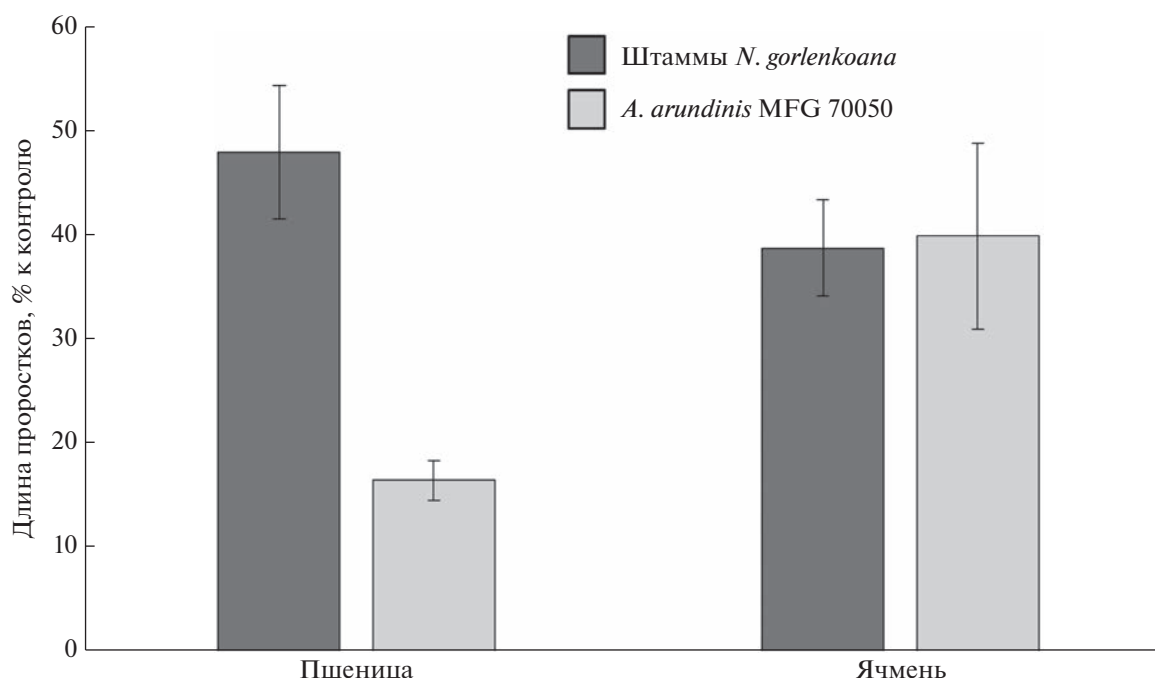


Рис. 5. Влияние штаммов грибов *N. gorlenkoana* и *A. arundinis* на длину проростков зерна пшеницы и ячменя. Отрезками указаны доверительный интервал при уровне значимости $p < 0.05$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Впервые на территории России в период 2017–2021 гг. проведен мониторинг зараженности зерна грибами рода *Nigrospora* и выявлено их присутствие в образцах пшеницы, ячменя и овса в европейской части страны (40.6% образцов), в Уральском регионе (41.0%) и в Западной Сибири (53.3%). Несмотря на достаточно частое обнаружение грибов *Nigrospora* в микобиоте зерновых культур, зараженность зерна ими, в большинстве случаев, была невысокой, что согласуется с информацией о встречаемости этих грибов в других странах. Микологический анализ образцов зерна пшеницы в Сербии показал, что гриб *N. oryzae* встречался в 16.1% образцов зерна, со средней зараженностью 2.4% (Levic *et al.*, 2012), а в другом исследовании этот вид был найден в 40% образцов со средней зараженностью 1.5% (Krulj *et al.*, 2016). Встречаемость *Nigrospora* spp. в микобиоте зерна пшеницы в Египте варьировала от 0 до 63% в зависимости от региона, тогда как зараженность в среднем не превышала 1% (Shabana *et al.*, 2021). В микобиоте растений пшеницы с симптомами поражения колоса и корневой гнили из Казахстана грибы рода *Nigrospora* также выявляли спорадически (Bozoğlu *et al.*, 2022).

С помощью филогенетического анализа комбинированных нуклеотидных последовательностей ITS, *tub* и *TEF* нами установлена принадлежность штаммов, выделенных из семян зерновых культур (пшеница, ячмень, овес, кукуруза) и

рапса, к виду *N. gorlenkoana*. Поскольку выбор штаммов для исследования был обусловлен только шириной охвата географического и растительного разнообразия, отнесение их к одному виду позволяет утверждать, что *N. gorlenkoana* является космополитом, повсеместно ассоциированным с сельскохозяйственными культурами. Три анализированных штамма *N. gorlenkoana* MFG70031, MFG70038, MFG70048 депонированы в Всероссийскую Коллекцию Микроорганизмов (ВКМ).

Это первая находка *N. gorlenkoana* на зерновых культурах в России. Ранее вид *N. gorlenkoana* был выявлен на листьях и ягодах винограда в Казахстане и описан Новобрановой Т.И. (1972) с указанием размеров конидий $12.0–16.0 \times 8.0–12.0$ мкм. Типовой штамм *N. gorlenkoana* CBS 480.73 = VKM F-1761 активно используется в филогенетических исследованиях (Wang *et al.*, 2017; Crous *et al.*, 2019; Hao *et al.*, 2020). Кроме того, вид *N. gorlenkoana* был выявлен на листьях *Cirsium setosum* (Willd.) Besser ex M.Bieb (Asteraceae) (Hao *et al.*, 2020), на корнях дуба *Quercus robur* L. (Jankowiak *et al.*, 2022), а также был выделен из четырех видов лишайников (Oh *et al.*, 2020) и из насекомых (Aghyl *et al.*, 2021).

Как правило, штаммы *Nigrospora* spp., изолированные из злаковых культур, определяли только до уровня рода (Moya-Elizondo *et al.*, 2015), или идентифицировали по морфологическим признакам как *N. oryzae* (Levic *et al.*, 2012; Abdullah, Atrosh, 2014; Krulj *et al.*, 2016). В некоторых исследованиях принадлежность выделенных грибов к

виду *N. oryzae* подтверждали молекулярно-генетическими исследованиями, проводя анализ одного локуса (Eken *et al.*, 2016; Bozoğlu *et al.*, 2022). Так, сравнение последовательности ITS штамма *Nigrospora* KW1 (KT429637), выделенного из зерна пшеницы из Казахстана, с базой данных NCBI GenBank выявило ее 98.1% сходство с последовательностью штамма *N. oryzae* 2684 (EU272488), изолированного из кустарника *Espeletia* sp. в Колумбии, что позволило авторам отнести штамм KW1 к виду *N. oryzae* (Eken *et al.*, 2016). В то же время, сходство последовательности данного штамма с последовательностью ITS типового штамма *N. gorlenkoana* CBS 480.73 (KX986048) составило 98.2%, и с последовательностями штаммов *N. gorlenkoana*, полученных в нашем исследовании, 98.1–98.2%. Аналогично, в исследовании Бозоглу с соавтр. (Bozoğlu *et al.*, 2022) идентичные между собой последовательности ITS пяти штаммов *Nigrospora* (OM685081–OM685085), выделенных из пшеницы в Казахстане, имели сходство 99.5% с последовательностью референсного штамма *N. oryzae* CBS 113884, тогда как с последовательностью ITS типового штамма *N. gorlenkoana* CBS 480.73 (KX986048) сходство было выше и составило 99.8%. Таким образом, можно предположить, что штаммы *Nigrospora* KT429637 и OM685081–OM685085, выделенные из зерновых культур в Казахстане, также относятся к виду *N. gorlenkoana*.

В нашем исследовании, один штамм *Nigrospora* sp. MFG 70052, выделенный из стебля тростника в Приморском крае, на основании филогенетического анализа и совокупности морфологических признаков, представлял собой отдельную генетическую линию, являющуюся сестринской виду *N. chinensis* и, по всей видимости, представляющий собой новый вид *Nigrospora*. Ранее, среди представителей рода *Nigrospora* были выявлены два штамма LC 2725 и LC 6704, ассоциированные соответственно с растениями *Symplocos zizyphoides* Stapf и *Camellia sinensis* (L.) Kuntze из Китая, которые в результате филогенетического анализа были выделены в отдельные генетические линии (Wang *et al.*, 2017). Позднее, штамм LC 6704 совместно со штаммом, выделенным из *Magnolia lilifera* (L.) Baill., был описан как новый для науки вид *N. magnoliae* N.I. de Silva, Lumyong & K.D. Hyde (de Silva *et al.*, 2021). Очевидно, что существующее видовое разнообразие рода *Nigrospora* требует дальнейшей инвентаризации.

Штамм MFG 70050 был охарактеризован нами как *A. arundinis* — представитель рода *Arthrimum*, филогенетически и морфологически близкого к роду *Nigrospora* (Нао *et al.*, 2020). Обнаружение этого вида на различных субстратах в России (Московская, Тверская области и о. Кунашир) документально подтверждено (http://www.sevin.ru/collections/microcoll/vkm_coll/fungi4.html).

Оценка роста штаммов *N. gorlenkoana* на среде Чапека при температуре от 10 до 30°C показала, что диапазон 15–25°C является оптимальным для накопления биомассы грибов, что, вероятно, обуславливает наблюдаемое повсеместное распространение грибов рода *Nigrospora* в природе. Также выявлено, что pH культуральной жидкости штаммов увеличивалась до 6.3 по сравнению с pH исходной среды 5.5. Ранее для штамма *Nigrospora* sp. NIOT, выделенного из морской воды, были выявлены сходные оптимальные условия для роста на жидкой картофельно-глюкозной среде — температура 20–30°C и pH 6.0–8.0 (Arumugam *et al.*, 2015), а для штамма *N. aurantiaca* CMU-A109, являющегося эндофитом *Cinnamomum verum* J.Presl, оптимальными для накопления биомассы являлись 25–27°C и pH среды 6–9 (Suwannarach *et al.*, 2019).

В данном исследовании наблюдалась неспособность отдельных штаммов *N. gorlenkoana*, выделенных из зерна пшеницы, активно расти как на ЧА, так и в жидкой среде Чапека, в отличие от богатых питательных сред КСА и ОА, что предполагает их ауксотрофность — неспособность синтезировать определенные органические соединения, необходимые для их роста. Зависимость роста некоторых штаммов гриба *N. oryzae* от присутствия в среде биотина и еще одного неустановленного вещества была продемонстрирована ранее (Allam, Yusef, 1974).

Анализируемые штаммы *N. gorlenkoana* и *A. arundinis* MFG 70050 вызывали заметное уменьшение длины проростков пшеницы и ячменя. Штамм *A. arundinis* MFG 70050 был сравнительно более агрессивным по отношению к пшенице, чем к ячменю. Ранее грибы *Arthrimum*, в т. ч. *A. arundinis*, уже выявляли на зерновых культурах, и было показано их негативное влияние на качество зерна пшеницы и ячменя (Martínez-Cano *et al.*, 1992; Mavragani *et al.*, 2007).

Информация о патогенности грибов рода *Nigrospora* в отношении злаков преимущественно относится к штаммам *N. oryzae* и *N. sphaerica*, тогда как о вредоносности гриба *N. gorlenkoana* доступные данные отсутствуют. В исследовании Бозоглу с соавтр. (Bozoğlu *et al.*, 2022) пять штаммов *N. oryzae* оказались патогенными в отношении проростков пшеницы при инокуляции суспензией конидий, однако агрессивность была невысокой, средний балл поражения составил 1.56 по 5-балльной шкале. Также при раскладывании семян пшеницы на поверхность колоний *N. oryzae* на проростках развивались некрозы (Eken *et al.*, 2016). Гриб *N. sphaerica* вызывал поражение проростков и развитие пятнистости листьев злаковых растений (Cui *et al.*, 2017; Han *et al.*, 2019). Причем, симптомы заболевания, вызываемого *N. sphaerica*, проявлялись на листьях *Cenchrus purpu-*

reus Schumach. всех возрастов, однако молодые листья были более восприимчивы (Han *et al.*, 2019). Выявлена высокая агрессивность *N. sphaerica* в отношении проростков сахарного тростника, тогда как взрослые растения оказались невосприимчивы в условиях искусственной инокуляции: авторы предполагают передачу инфекции с семенами (Cui *et al.*, 2017). В тоже время, несмотря на способность грибов рода *Nigrospora* вызывать заболевания растений, некоторые из них могут обитать в растениях эндофитно (Wang *et al.*, 2017).

Возможности, представляемые системным подходом к установлению таксономического статуса организма, могут быть успешно использованы для решения многих прикладных задач. В связи с выявлением грибов рода *Nigrospora* в микобиоте различных растений необходимо продолжить установление и уточнение видового разнообразия грибов этого рода и описания их свойств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Грибы рода *Nigrospora* были обнаружены в 45.8% анализированных образцов пшеницы, ячменя и овса, выращенных в шести федеральных округах России. Филогенетический анализ ДНК штаммов, выбранных случайным образом, выявил принадлежность 14 штаммов к виду *N. gorlenkoana*, тогда как один штамм представлял собой отдельную филогенетическую линию, а еще один был отнесен к виду *A. arundinis*. Включение в исследование штаммов грибов широкого географического происхождения позволяет утверждать, что вид *N. gorlenkoana* является типичным представителем микобиоты злаковых культур в России.

Штаммы *N. gorlenkoana* и *A. arundinis* оказывали негативное влияние на семенные качества зерна пшеницы и ячменя. В дальнейшем требуется установление видового состава грибов рода *Nigrospora*, ассоциированных с различными таксонами, так и двудольными растениями, выявление их вредоносности, а также мест сохранения во внешней среде и распространения инфекционного начала.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 19-76-30005).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Гагкаяева Т.Ю. Фитопатогенный гриб *Fusarium cerealis* на территории России // Микология и фитопатология. 2009. Т. 43. № 4. С. 331–342.

Матвиенко Е.В., Кинчарова М.Н. Фитосанитарная экспертиза семян сорго зернового // Современная микология в России. 2020. Т. 8. № 1. С. 337–338.

Новобранова Т.И. Новые виды несовершенных грибов из Алма-Атинской области // Новости систематики низших растений. 1972. Т. 9. С. 180–187.

Рубежняк И.Г. Оценка потенциала синтеза биологически активных веществ штаммами микроскопических грибов // Фундаментальные и прикладные исследования: проблемы и результаты. 2013. Т. 8. С. 7–11.

Abdullah S., Atrosh H. New records of fungi on wheat grains from Iraq // Sci. J. Univ. Zakho. 2014. V. 2. P. 256–265.

Aghyl H., Mehrabi-Koushki M., Esfandiari M. New records of the fungal species associated with insects in Iran // J. Appl. Res. Plant Prot. 2022. V. 11. P. 61–79.

Allam M.E., Yusef H.M. Biotin deficiency in *Nigrospora oryzae* // Mycopathol. Mycol. Appl. 1974. V. 52. P. 65–74.

Arumugam G., Srinivasan S., Joshi G., Gopal D., Ramalingam K. Production and characterization of bioactive metabolites from piezotolerant deep sea fungus *Nigrospora* sp. in submerged fermentation // J. Appl. Microbiol. 2015. V. 118. P. 99–111.

Bozoğlu T., Dervis S., Imren M., Amer M., Özdemir F., Paulitz T.C., Morgounov A., Dababat A.A., Özer G. Fungal pathogens associated with crown and root rot of wheat in Central, Eastern, and Southeastern Kazakhstan // J. Fungi. 2022. V. 8. 417.

Carbone I., Kohn L.M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes // Mycologia. 1999. V. 91. P. 553–556.

Crous P.W., Carnegie A.J., Wingfield M.J., Sharma R., Mughini G., Noordeloos M.E., Santini A., Shouche Y.S., Bezerra J.D.P., Dima B. *et al.* Fungal planet description sheets: 868–950 // Persoonia. 2019. V. 42. P. 291–473.

Crous P.W., Lombard L., Sandoval-Denis M., Seifert K.A., Schroers H.-J., Chaverri P., Gené J., Guarro J., Hirooka Y., Bensch K. *et al.* *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell // Stud. Mycol. 2021. V. 98. P. 1–184.

Cui Y., Wu B., Peng A., Li Z., Ling J., Xiaobing S. First report of *Nigrospora* leaf blight on sugarcane caused by *Nigrospora sphaerica* in China // Plant Dis. 2017. V. 102. P. 824.

Eken C., Spanbayev A., Tulegenova Z., Yechshzhanov T. First report of *Nigrospora oryzae* on wheat in Kazakhstan // Plant Dis. 2016. V. 100. P. 861.

Han Y.Z., Fan Z.W., Wu C.F., Li M.Y., Zhou D.D. First report of *nigrospora* leaf blight on elephant grass caused by *Nigrospora sphaerica* in China // Plant Dis. 2019. V. 103. P. 2681.

Hao Y., Aluthmuhandiram J.V.S., Chethana K.W.Th., Manawasinghe I.S., Li X., Liu M., Hyde K.D., Phillips A.J.L., Zhang W. *Nigrospora* species associated with various hosts from Shandong Peninsula, China // Mycobiology. 2020. V. 48. P. 169–183.

Harwooda J.S., Cutler H.G., Jacyno J.M. Nigrosporolide, a plant growth-inhibiting macrolide from the mould *Nigrospora sphaerica* // Nat. Prod. Lett. 1995. V. 6. P. 181–185.

- Jankowiak R., Stepniewska H., Bilański P., Taerum S. Fungi as potential factors limiting natural regeneration of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in mixed-species forest stands in Poland // Plant Pathol. 2022. V. 71. P. 805–817.
- Kim J.-C., Choi G.J., Park J.-H., Kim H.T., Cho K.Y. Activity against plant pathogenic fungi of phomalactone isolated from *Nigrospora sphaerica* // Pest. Manag. Sci. 2001. V. 57. P. 554–559.
- Krulj J., Bočarov-Stančić A., Krstović S., Igor J., Kojic J., Tomić A., Bodroža-Solarov M. Mycobiota on common wheat (*Triticum aestivum*) and spelt (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) grains from the region of Vojvodina in 2015 // Food Feed Res. 2016. V. 43. P. 1–8.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // Mol. Biol. Evol. 2018. V. 35. P. 1547–1549.
- Levic J., Stanković S., Krnjaja V., Tančić Živanov S., Ivanovic D., Bočarov-Stančić A. Relationships of mycobiota on rachides and kernels of wheat // Eur. J. Plant Pathol. 2012. V. 134. P. 149–256.
- Lord E., Leclercq M., Boc A., Diallo A.B., Makarenkov V. Armadillo 1.1: An original workflow platform for designing and conducting phylogenetic analysis and simulations // PLoS ONE. 2012. V. 7. e29903.
- Martínez-Cano C., Grey W.E., Sands D.C. First report of *Arthrrium arundinis* causing kernel blight on barley // Plant Dis. 1992. V. 76. P. 1077.
- Mason E.W. On species of the genus *Nigrospora* Zimmermann recorded on monocotyledons // Trans. Br. Mycol. Soc. 1927. V. 12. P. 152–165.
- Mavragani D.C., Abdellatif L., McConkey B., Hamel C., Vujanovic V. First report of damping-off of durum wheat caused by *Arthrrium sacchari* in the semi-arid Saskatchewan fields // Plant Dis. 2007. V. 91. P. 469.
- Meepagala K.M., Becnel J.J., Estep A.S. Phomalactone as the active constituent against mosquitoes from *Nigrospora sphaerica* // Agricultural Sci. 2015. V. 6. P. 1195–1201.
- Moya-Elizondo E., Arismendi N., Castro M.P., Doussoulin H. Distribution and prevalence of crown rot pathogens affecting wheat crops in southern Chile // Chil. J. Agric. Res. 2015. V. 75. P. 78–84.
- O'Donnell K., Cigelnik E. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous // Mol. Phylogenet. Evol. 1997. V. 7. P. 103–116.
- Oh S.-Y., Yang J.H., Woo J.-J., Oh S.-O., Hur J.-S. Diversity and distribution patterns of endolichenic fungi in Jeju island, South Korea // Sustainability. 2020. V. 12. 3769.
- Pan X.-X., Yuan M.-Q., Xiang S.-Y., Ma Y.-M., Zhou M., Zhu Y.-Y., Yang M.-Z. The symbioses of endophytic fungi shaped the metabolic profiles in grape leaves of different varieties // PLoS ONE. 2020. V. 15. e0238734.
- Ramesha K.P., Mohana N. C., Nuthan B.R., Rakshith D., Satish S. Antimicrobial metabolite profiling of *Nigrospora sphaerica* from *Adiantum philippense* L. // J. Genet. Eng. Biotechnol. 2020. V. 18. P. 66.
- Rashmi M., Kushveer J., Sarma V. A worldwide list of endophytic fungi with notes on ecology and diversity // Mycosphere. 2019. V. 10. P. 798–1079.
- Rathod D.P., Dar M.A., Gade A.K., Rai M.K. Griseofulvin producing endophytic *Nigrospora oryzae* from Indian *Emblca officinalis* gaertn: a new report // Austin. J. Biotechnol. Bioeng. 2014. V. 1. P. 5.
- Raza M., Zhang Z.F., Hyde K.D., Diao Y.-Z., Cai L. Culturable plant pathogenic fungi associated with sugarcane in southern China // Fun. Div. 2019. V. 99. P. 1–104.
- Shabana Y.M., Rashad Y.M., Ghoneem K.M., Arafat N.S., Aseel D.G., Qi A., Richard B., Fitt B.D.L. Biodiversity of pathogenic and toxigenic seed-borne mycoflora of wheat in Egypt and their correlations with weather variables // Biology. 2021. V. 10. P. 1025.
- Sharma P., Meena P.D., Chauhan J.S. First report of *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch causing stem blight on *Brassica juncea* in India // J. Phytopathol. 2013. V. 161. P. 439–441.
- de Silva N., Maharachchikumbura S., Thambugala K., Bhat D.J., Karunarathna S., Tennakoon D., Phookamsak R., Jayawardena R., Lumyong S., Hyde K. Morpho-molecular taxonomic studies reveal a high number of endophytic fungi from *Magnolia candolli* and *M. garrettii* in China and Thailand // Mycosphere. 2021. V. 12. P. 163–237.
- Starratt A.N., Loschiavo S.R. The production of aphidicolin by *Nigrospora sphaerica* // Can. J. Microbiol. 1974. V. 20. P. 416–417.
- Suwannarach N., Kumla J., Nishizak, Y., Sugimoto N., Meerak J., Matsui K., Lumyong S. Optimization and characterization of red pigment production from an endophytic fungus, *Nigrospora aurantiaca* CMU-ZY2045, and its potential source of natural dye for use in textile dyeing // Appl. Microbiol. Biotech. 2019. V. 103. P. 6973–6987.
- Sun X.-P., Xu Y., Cao F., Xu R.-F., Zhang X.-L., Wang C.-Y. Isoechinulin-type alkaloids from a soft coral-derived fungus *Nigrospora oryzae* // Chem. Natural Compoun. 2014. V. 50. P. 1153–1155.
- Waill A.E., Ghoson M.D. Chemical and bioactive metabolites of *Humicola* and *Nigrospora* secondary metabolites // J. Pharmaceutics and Pharmacology Res. 2022. V. 5. P. 1.
- Wang M., Liu F., Crous P.W., Cai L. Phylogenetic reassessment of *Nigrospora*: ubiquitous endophytes, plant and human pathogens // Persoonia. 2017. V. 39. P. 118–142.
- White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J.W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics // PCR Protocols: a guide to methods and applications / Eds Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J. N.Y.: Academic Press, 1990. P. 315–322.
- Wright E.R., Folgado M., Rivera M.C., Crelier A., Vasquez P., Lopez S.E. *Nigrospora sphaerica* causing leaf spot and twig and shoot blight on blueberry: a new host of the pathogen // Plant Dis. 2008. V. 92. P. 171.
- Wu Z., Xie Z., Wu M., Li X., Li W., Ding W., She Z., Li C. New antimicrobial cyclopentenones from *Nigrospora sphaerica* ZMT05, a fungus derived from *Oxya chinensis* Thunber // J. Agricultural Food Chem. 2018. V. 66. P. 5368–5372.
- Zhang Q.H., Tian L., Zhou L.D., Zhang Y., Li Z.F., Hua H.M., Pei Y.H. Two new compounds from the marine *Nigrospora sphaerica* // J. Asian Nat. Prod. Res. 2009. V. 11. P. 962–966.

Physiological and Biochemical characters of *Nigrospora gorlenkoana* Novobr. Occurring on Cereals

A. S. Orina^{1, #}, O. P. Gavrilova¹, and T. Yu. Gagkaeva¹

¹All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, 196608 Russia

[#]e-mail: orina-alex@yandex.ru

The ubiquitous distribution of *Nigrospora* fungi in the mycobiota of cereal grain in Russia has been established. Fourteen *Nigrospora* strains using phylogenetic analysis of ITS, *tub*, and *TEF* loci were identified as *N. gorlenkoana*, first identified in Russia. Morphological characteristics of *N. gorlenkoana* strains were analyzed on various nutrient media. A wide temperature range of 15–25°C was optimal for growth of *N. gorlenkoana* strains. This probably contributes to the wide distribution of *N. gorlenkoana* in nature. The pathogenicity of *N. gorlenkoana* strains to cereal crops was shown. The fungal strains reduced length of wheat and barley seedlings on average 48% and 39% compared to the control, respectively.

Keywords: cereals, fungi, phylogeny, pathogenicity

РОСТ ЭПИЛИТНЫХ ЛИШАЙНИКОВ В УСЛОВИЯХ ЮЖНОЙ КАРЕЛИИ

© 2023 г. А. А. Курбатов*, @, А. В. Сониная**, @@

*Научно-исследовательский институт биологии КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910 Россия

**Институт биологии, экологии и агротехнологий Петрозаводского государственного университета,
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, 185910 Россия

@E-mail: arkadiy1416@gmail.com

@@E-mail: angella_sonina@mail.ru

Поступила в редакцию 24.07.2022 г.

После доработки 05.09.2022 г.

Принята к публикации 05.09.2022 г.

На территории Государственного природного заповедника “Кивач” (Северо-запад России, Республика Карелия) в условиях супралиторали побережья реки Суны изучены особенности роста 3-х видов эпилитных лишайников — *Bellemerea alpina*, *Lecidea lapicida*, *Protoparmeliopsis muralis*. Анализировались данные за 11-летний период наблюдения. Для каждого исследуемого таллома с помощью регрессионного анализа создана модель роста, отражающая зависимость площади таллома от года измерения и позволяющая оценить возраст талломов. Получены данные о размерах (см²), скорости роста (см²/год), возрасте (лет) талломов. Для данных признаков оценен доверительный интервал средних и доверительный интервал возможных значений при вероятности $P = 95\%$.

Ключевые слова: эпилитные лишайники, модель роста, скорость роста, размер таллома, возраст таллома

DOI: 10.31857/S1026347022600674, **EDN:** WJAFKV

Работы по изучению роста разных экологических групп лишайников активно проводятся с середины XX столетия (Platt, Amsler, 1955; Andrews, Webber, 1964; Armstrong, 1974; Innes, 1985; Галанин, 1997; Beschel, 2019). Исследование роста и продолжительности жизни эпилитных лишайников во многом стимулировались практической задачей — использованием этих параметров в лichenометрическом датировании каменных поверхностей геологических и археологических объектов (Галанин, Глушкова, 2003). Также изучение роста эпилитной группы лишайников, восполняет пробел в представлениях о моделях роста лишайников, оценке возраста талломов и продолжительности жизни. Эти знания позволят прогнозировать развитие локальных популяций эпилитных лишайников (численность, размерно-возрастную структуру, проективное покрытие, плотность населения, занимаемую площадь), а при достаточном накоплении данных и развитие сообществ эпилитных лишайников.

В качестве показателя размера и скорости роста талломов чаще всего используется диаметр таллома (Platt, Amsler, 1955; Armstrong, 1974; Галанин, Глушкова, 2003). Модель роста талломов эпилитных лишайников представляется в виде фаз роста (Armstrong, 1974): 1) долинейная (прирост таллома с возрастом нарастает в логарифмиче-

ской прогрессии); 2) линейная (ежегодный прирост постоянный); 3) постлинейная (ежегодный прирост постепенно уменьшается).

Скорость роста и продолжительность жизни лишайников зависят от генетических особенностей конкретного вида и от характеристик места обитания, в частности: климатических условий; химического состава и физических свойств субстрата; а также видового состава синузий (Викторов, 1956; Домбровская, 1963; Innes, 1985; Галанин, Глушкова, 2003). Учитывая различия экологических условий, скорость роста эпилитных лишайников может существенно варьировать не только на региональном уровне, но и на уровне локальных местообитаний и даже внутри одного местообитания (Быков, Давыдов, 2011; Дьякова, Останин, 2013).

Самая медленная скорость роста отмечена у накипных лишайников (0.01–0.70 мм/год) (Турманина, 1979; Beschel, 2019). В связи с этим, по оценкам исследователей, накипные лишайники могут иметь значительно большую продолжительность жизни по сравнению с другими биоморфами лишайников или другими организмами. Так, по оценкам исследователей, в циркумполярных и высокогорных областях продолжительность жизни накипных жизненных форм лишайников может

достигать нескольких тысяч лет (Beschel, 1957; Reger, Pewe, 1969; Calkin, Ellis, 1980). В умеренной зоне средняя продолжительность жизни накипных видов лишайников ниже (500–600 лет) (Галанин, Глушкова, 2003; Галанин, 2012). Оценка возраста талломов лишайников чаще всего проводится косвенными методами, значительно меньше работ касается прямых наблюдений за изменением размеров талломов (Галанин, Глушкова, 2003).

Данная работа продолжает изучение роста эпилитной группы лишайников в условиях Южной Карелии (Курбатов, Сониная, 2020). Целью настоящего исследования являлось изучение особенностей и продолжительности роста лишайников 3-х видов: *Bellemerea alpina* (Sommerf.) Clauzade & Cl. Roux, *Lecidea lapicida* (Ach.) Ach., *Protomeliopsis muralis* (Schreb.) M. Choisy.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение роста эпилитных видов лишайников проведено на территории Государственного природного заповедника “Кивач” (Кондопожский район, Республика Карелия) в условиях средне-таежной подзоны, на диабазовых скальных выходах, в условиях супралиторали побережья реки Суны, в пределах мониторинговых площадок, заложенных в 2007 г.

Объектами исследования являлись: *B. alpina* – беллемерея альпийская, *L. lapicida* – лецидея камнерезная, *P. muralis* – протопармелиопсис настенный, характеризующиеся плагитропным типом роста, радиальными талломами, одноклеточными эллипсоидными спорами (*B. alpina* – $9\text{--}21 \times 6\text{--}8$ мкм, *L. lapicida* – $(7.2) 8\text{--}12 (16) \times (4.5) 6\text{--}7.2 (8)$ мкм, *P. muralis* – $7.1\text{--}15 \times 5\text{--}6$ мкм). Виды *B. alpina* и *L. lapicida* имеют накипной ареолированный таллом, *P. muralis* относится к классу накипных диморфных: в центральной части чешуйчато-ареолированный, по краю лопастной таллом. Все виды – эпилиты (*B. alpina*, *L. lapicida* – облигатные эпилиты, *P. muralis* изредка может встречаться на почве или древесине), приуроченные к кислым породам, встречающиеся в Северном полушарии (Purvis *et al.*, 1992; Голубкова и др., 1998). В таксономическом отношении все виды принадлежат к отряду Ascomycota, классу Lecanoromycetes, порядку Lecideales (*B. alpina*, *L. lapicida*) и Lecanorales (*P. muralis*), семействам Lecideaceae (*B. alpina*, *L. lapicida*) и Lecanoraceae (*P. muralis*) (Андреев и др., 2013; Westberg *et al.*, 2021).

Исследование роста талломов проводилось в течение 11 лет (2007–2018 гг.). За указанный период получены данные о росте 14-ти талломов *B. alpina*, 15-ти талломов *L. lapicida* и 17-ти талломов *P. muralis*.

Для получения данных о росте талломов фиксировали изменение размеров талломов по годам.

В качестве показателя, отражающего размер таллома, была использована площадь (см^2). Фиксирование площади талломов проводили в полевых условиях в сухую солнечную погоду. На прозрачную полиэтиленовую пленку обводились контуры талломов с использованием лупы ($\times 7$ -кратное увеличение). В лабораторных условиях контуры сканировались вместе с линейкой, по шкале линейки проводилось масштабирование и измерение площади талломов в программе Autocad (Курбатов, Сониная, 2020; Фадеева, Сониная, 2000, 2001). С помощью регрессионного анализа в среде Excel (Ивантер, Коросов, 2003) построены модели роста (зависимость размера таллома (см^2) от года измерения) для каждого исследуемого таллома. Скорость роста ($\text{см}^2/\text{год}$) и возраст (лет) талломов оценивались по моделям роста. Методом бутстреп (генерировалось 5000 фантомных выборок) в среде R произведен расчет доверительных интервалов средних изучаемых признаков – скорость роста, максимальных размеров и возраста талломов (Мастицкий, Шитиков, 2014). Также оценен интервал возможных значений признаков при вероятности $P = 95\%$. (Ивантер, Коросов, 2003). На основе полученных доверительных интервалов возможных значений изучаемых признаков построены теоретические модели роста талломов, прогнозирующие максимальную продолжительность роста и максимальный размер, которые талломы способны достигать в локальной популяции в зависимости от их скорости роста, таким образом, чтобы значения данных параметров оставались в пределах доверительного интервала возможных значений признаков при вероятности $P = 95\%$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование закономерностей роста у трех видов эпилитных лишайников, заселяющих один скальный выход на побережье реки Суна в условиях Южной Карелии, показало, что талломы исследуемых видов в диапазоне зафиксированных минимальных и максимальных размеров ($1\text{--}26 \text{ см}^2$) обладают линейным ростом. На рис. 1, 2, 3 представлены модели роста талломов, отражающие зависимость размера талломо от года измерения. Коэффициент a в уравнениях таких моделей ($y = ax + b$) соответствует скорости роста таллома. Полученные модели роста позволяют оценивать возраст талломов (рис. 4, 5, 6). Статистические показатели изучаемых параметров талломов (максимальный размер талломов, см^2 ; скорость роста, $\text{см}^2/\text{год}$; и возраст, лет) приведены в табл. 1.

Изучаемые параметры талломов имеют нормальное распределение (тест Шапиро–Уилка ($p > 0.05$)), что в соответствии с данным законом позволяет провести интервальную оценку статисти-

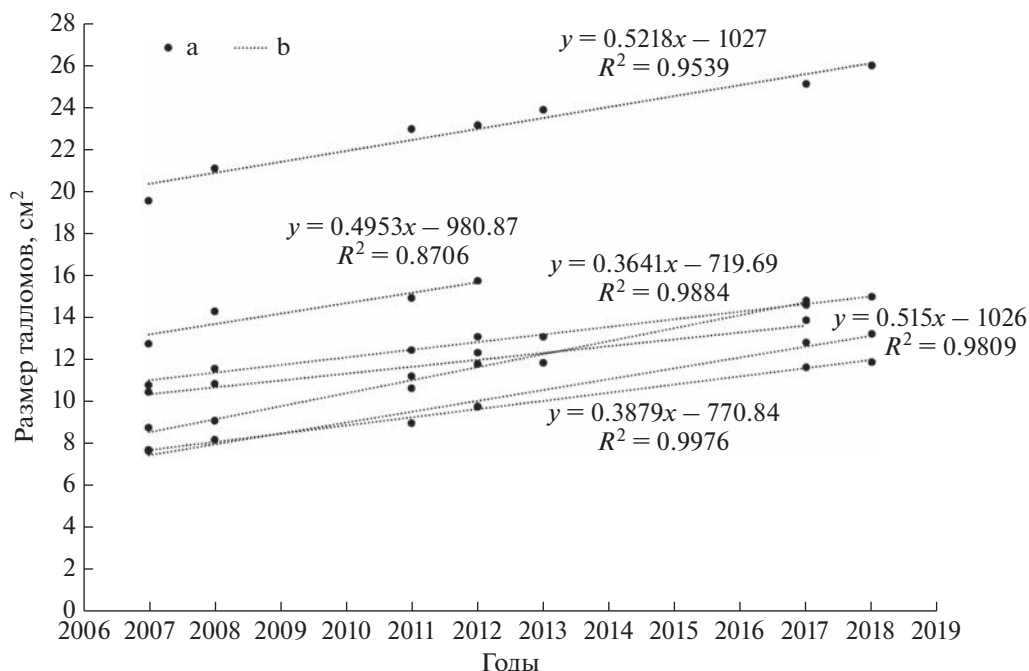


Рис. 1. Рост талломов *Bellemerea alpina*: а — эмпирические данные; б — линия тренда.

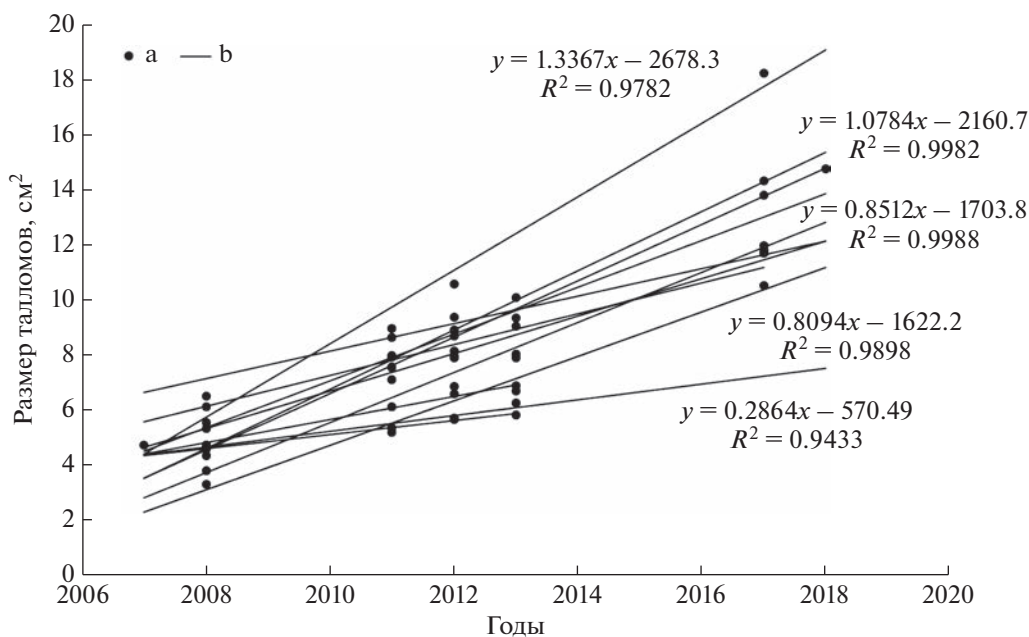


Рис. 2. Рост талломов *Lecidea laticida*: а — эмпирические данные; б — линия тренда.

стических показателей. Так в табл. 1 приведены доверительные интервалы средних значений изучаемых признаков (при вероятности $P = 95\%$). И, что не менее важно, приведены доверительные интервалы возможных значений изучаемых признаков, исходя из того, что при нормальном распределении признака 95% вариант генеральной

совокупности будет находиться в доверительном интервале $M \pm 1.96SD$ (табл. 1). При таком расчете 1.96 (квантиль распределения Стьюдента — t) корректируется в зависимости от объема выборки. Диапазон значений $M \pm t \cdot SD$ для размеров талломов, скорости роста, возраста отражает вариацию значений этих признаков в норме, позво-

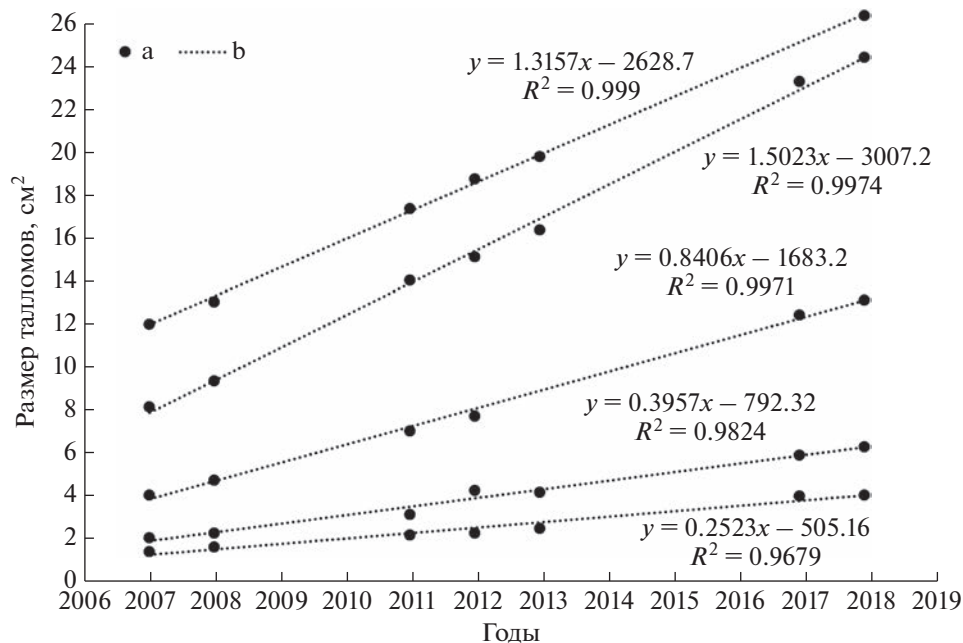


Рис. 3. Рост талломов *Protoparmeliopsis muralis*: а — эмпирические данные; б — линия тренда (Курбатов, Сони́на 2020).

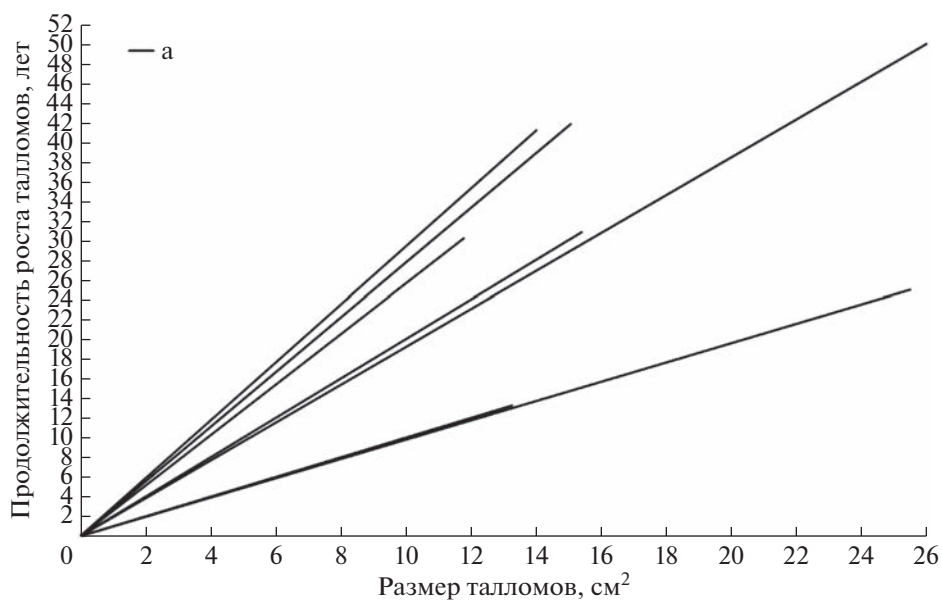


Рис. 4. Продолжительность роста талломов *Bellemerea alpina*, лет: а — теоретические данные.

ляет судить о минимальных и максимальных значениях данных признаков при вероятности 95%. Значения, выходящие за этот диапазон, можно считать аномальными, то есть нехарактерными для локальной популяции. Максимальное значение возраста талломов в интервале $M + t \cdot SD$ — должно соответствовать максимальной продолжительности роста. Данная величина должна быть близка к максимальной продолжительности жиз-

ни, которую некоторые талломы способны достигать в популяции, так как, по нашим наблюдениям, талломы после остановки роста могут полностью разрушаться за несколько лет.

Самой высокой средней скоростью роста обладают талломы вида *P. muralis* ($M = 0.88 \text{ см}^2/\text{год}$), несколько ниже скорость роста у талломов *L. lapicida* ($M = 0.74 \text{ см}^2/\text{год}$). По критериям Стьюдента и Фишера скорость роста этих видов значимо не

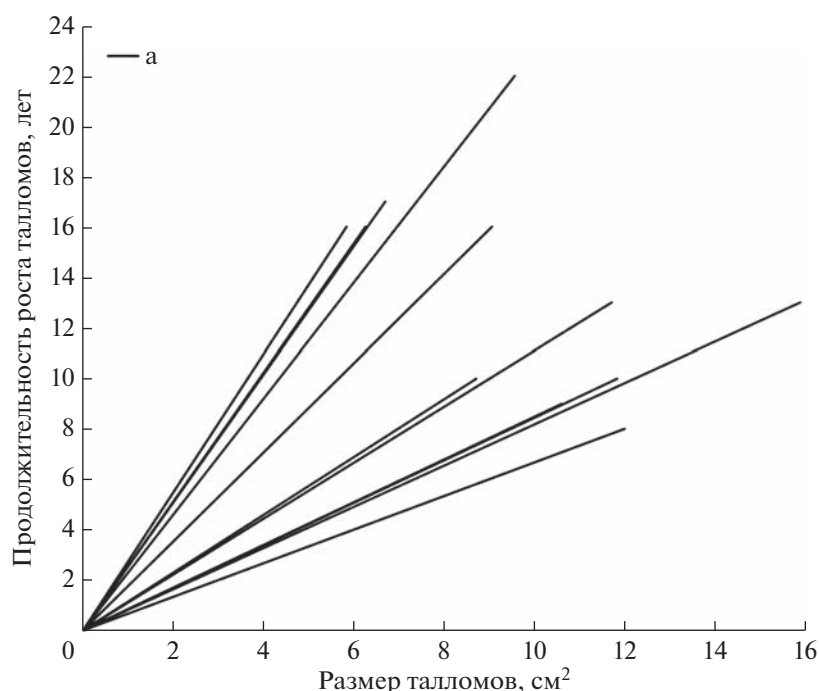


Рис. 5. Продолжительность роста талломов *Lecidea lapicida*, лет: а — теоретические данные.

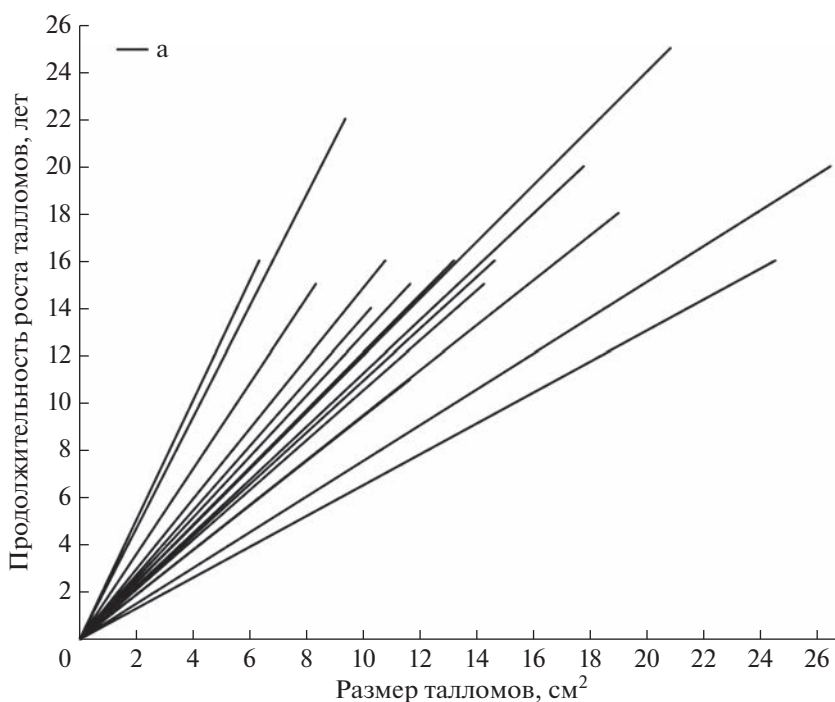


Рис. 6. Продолжительность роста талломов *Protoparmeliopsis muralis*, лет: а — теоретические данные.

отличается ($p > 0.05$). Размеры талломов данных видов отличаются значимо ($p < 0.05$), максимальный зафиксированный размер *L. lapicida* — 18 см², *P. muralis* — 26 см². По продолжительности роста

оба вида не отличаются ($p > 0.05$), максимальный возраст их талломов в пределах доверительного интервала возможных значений при вероятности $P = 95\%$ может достигать 25 лет (табл. 1).

Таблица 1. Параметры талломов

Параметры	Min	Max	M	$M \pm t \cdot mM$ $P = 95\%$		SD	$SD \pm t \cdot mSD$ $P = 95\%$		$M \pm t \cdot SD$ $P = 95\%$	
				min	max		min	max	min	max
<i>Bellemeria alpina</i>										
CP	0.34	0.62	0.48	0.41	0.54	0.10	0.05	0.12	0.25	0.70
MP	11.79	25.99	17.06	13.89	21.19	5.50	1.18	6.68	4.48	29.65
B	25	50	36	30	43	10	6	11	14	58
<i>Lecidea lapicida</i>										
CP	0.29	1.24	0.74	0.58	0.90	0.29	0.21	0.37	0.17	1.31
MP	5.83	18.24	10.70	9.07	12.41	3.53	2.08	4.46	3.11	18.30
B	8	23	15	13	18	5	3	6	5	25
<i>Protoparmeliopsis muralis</i>										
CP	0.40	1.50	0.88	0.73	1.04	0.31	0.19	0.40	0.20	1.56
MP	6.30	26.39	14.76	11.91	17.93	6.10	3.82	7.49	1.53	28.00
B	11	25	17	15	19	4	2	5	9	25

Примечание: Min – минимальное значение признака; Max – максимальное значение признака; M – среднее значение; SD – стандартное отклонение; P – статистическая вероятность, %; $M \pm t \cdot mM$ – доверительный интервал средней; $SD \pm t \cdot mSD$ – доверительный интервал стандартного отклонения; $M \pm t \cdot SD$ – доверительный интервал возможных значений признака; t – квантиль распределения Стюдента; min и max – минимальное и максимальное значение входящее в доверительный интервал; CP – скорость роста талломов, см²/год; MP – максимальный размер таллома (см²) достигнутый за период наблюдений; B – возраст таллома, лет.

Самой медленной скоростью роста, обладает *B. alpina* ($M = 0.48$ см²/год), по скорости роста вид значительно отличается от двух других ($p < 0.05$). *B. alpina*, как и *P. muralis*, может достигать относительно крупных размеров – 26 см². И при этом, в отличие от предыдущих видов, имеет значимо больший возраст ($p < 0.05$), максимальный возраст в пределах доверительного интервала возможных значений – 58 лет (табл. 1).

Очевидные взаимосвязи между размером и скоростью роста талломов позволяют обосновать продолжительность роста талломов и дают представление о их продолжительности жизни. При линейном росте взаимосвязи между данными параметрами талломов выглядит следующим образом:

$$ПР = \frac{P}{CP}, \text{ где}$$

ПР – продолжительность роста, лет; P – размер таллома, см²; CP – скорость роста, см²/год.

Чем больше максимальный размер таллома, достигаемый в процессе роста и/или меньше его скорость роста, тем продолжительность роста и соответственно продолжительность жизни больше. И наоборот, чем меньше максимально достигаемый размер таллома и/или больше скорость роста, тем меньше продолжительность роста и продолжительность жизни.

Так, относительно большой продолжительности роста *B. alpina* (58 лет) способствуют низкая скорость роста и большие размеры, достигаемые

талломами. Меньшей продолжительности роста *P. muralis* (25 лет), в данном случае, способствует высокая скорость роста, в то время как у *L. lapicida* (25 лет) при относительно одинаковой скорости роста с предыдущим видом – относительно небольшие размеры талломов.

Внутри одной популяции, у талломов с разной скоростью роста, данные взаимосвязи объясняют различия в достигаемых размерах и продолжительности роста. Проведено прогнозирование максимальных размеров и максимальной продолжительности роста талломов, обладающих разной скоростью роста, таким образом, чтобы значения данных параметров оставались в пределах доверительного интервала возможных значений признаков при вероятности $P = 95\%$. Теоретически, при достижении одного из параметров верхнего предела доверительного интервала возможных значений рост большинства талломов должен останавливаться. Линейный рост таллома в данном случае выражен уравнением без свободного члена – $y = ax$, где коэффициент a – это скорость роста таллома (см²/год); x – возраст таллома (лет); y – размер таллома (см²). Коэффициент a на графиках изменяется с шагом 0.1 в пределах диапазона скорости роста конкретного вида (рис. 7, 8, 9).

С помощью данных моделей выявлено, что медленно растущие талломы, за максимальную продолжительность роста, не успевают достигнуть максимальных размеров, характерных для локальной популяции, в силу недостаточной ско-

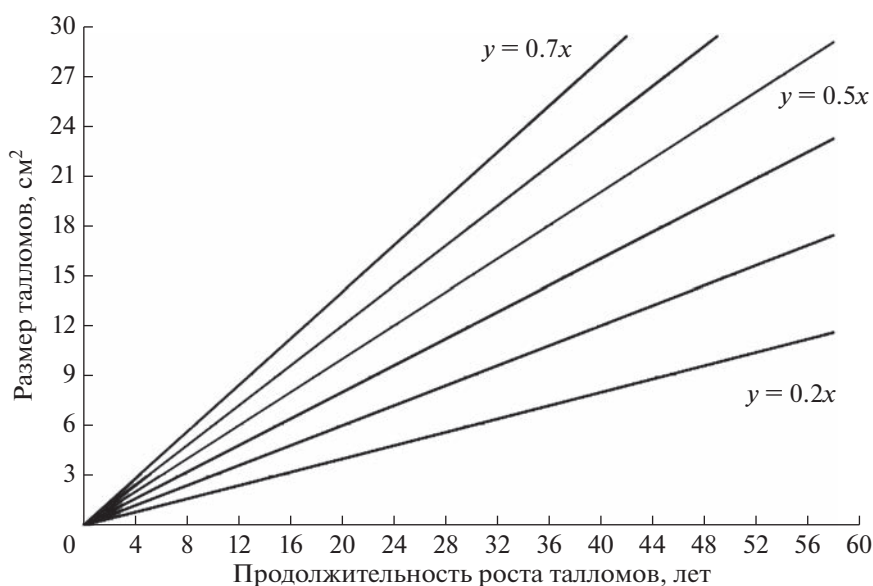


Рис. 7. Прогнозирование размера и возраста талломов *Bellemerea alpine* в зависимости от скорости роста: а – теоретические данные.

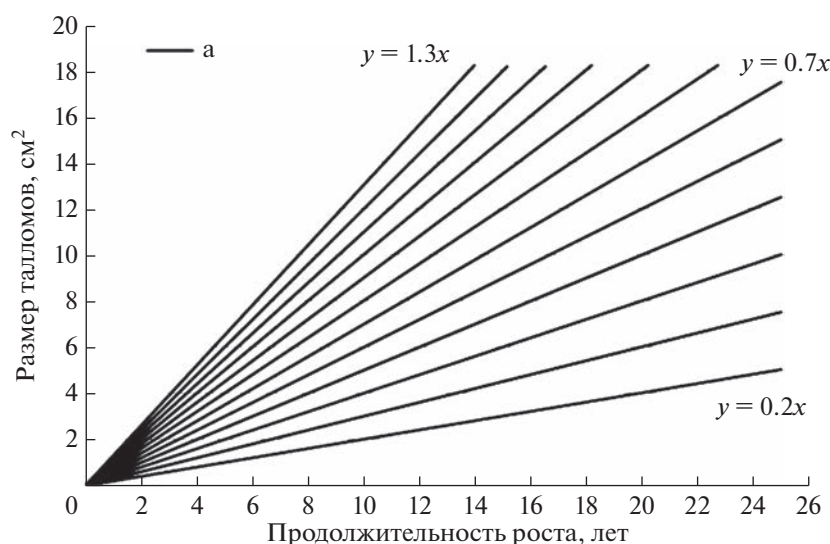


Рис. 8. Прогнозирование размера и возраста талломов *Lecidea lapicida* в зависимости от скорости роста: а – теоретические данные.

рости роста. Талломы, обладающие скоростью роста близкой к средней, могут достигать максимальных размеров и максимальной продолжительности роста, в силу оптимальности скорости роста. Такие талломы могут полностью реализовать потенциал роста, как во времени, так и по размеру. Быстрорастущие талломы значительно быстрее достигают максимальных размеров, поэтому их продолжительность роста и жизни сокращается.

Так, в ряду талломов *B. alpina* со скоростью роста от 0.2 до 0.5 см²/год, максимальные размеры

увеличиваются с 5 до 29 см². При скорости роста 0.5 см²/год таллом достигает максимальных размеров – 29 см² за 58 лет. При увеличении скорости роста 0.6–0.7 см²/год рост талломов ограничивается уже достигнутым максимальным размером, вследствие чего, продолжительность роста сокращается с 58 до 42 лет (рис. 7).

В ряду талломов *L. lapicida* обладающих скоростью роста от 0.2 до 0.7 см²/год, максимальные размеры увеличиваются с 5 до 18 см². При скорости роста 0.7 см²/год за 25 лет происходит достижение

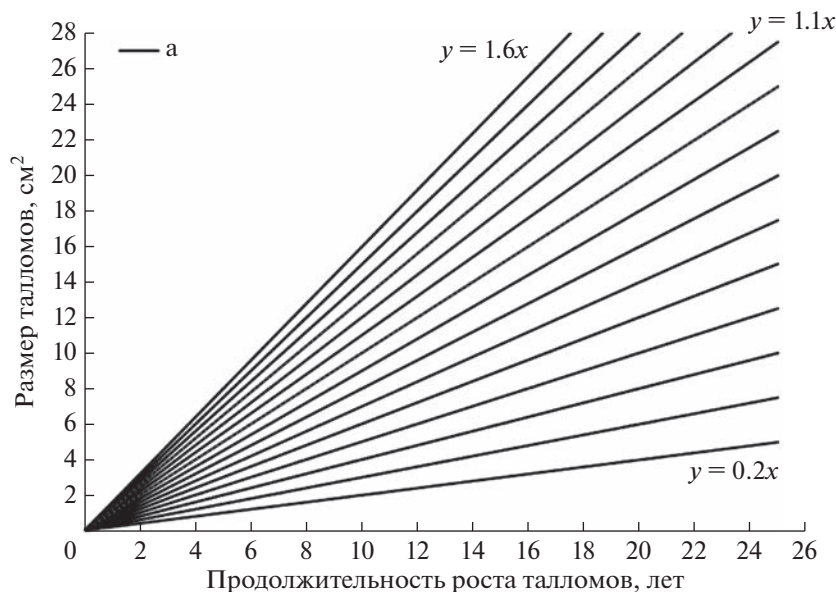


Рис. 9. Прогнозирование размера и возраста талломов *Protoparmeliopsis muralis* в зависимости от скорости роста: а — теоретические данные.

максимального размера — 18 см^2 . У талломов с более высокой скоростью роста — $0.8\text{--}1.4 \text{ см}^2/\text{год}$ продолжительность роста сокращается с 25 до 13 лет, в силу указанных выше причин (рис. 8).

Для талломов *P. muralis*, обладающих скоростью роста от 0.2 до $1.1 \text{ см}^2/\text{год}$, максимальные размеры увеличиваются с 5 до 28 см^2 . При скорости роста $1.1 \text{ см}^2/\text{год}$ за 25 лет (прогнозируемая максимальная продолжительность роста) талломы достигают максимального размера — 28 см^2 . У талломов с более высокой скоростью роста — $1.2\text{--}1.6 \text{ см}^2/\text{год}$ время роста сокращается с 25 до 17 лет, за счет быстрого достижения талломами максимальных размеров (рис. 9).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В научной литературе сформировалась теория о 3-х фазах роста эпилитных лишайников. Большинство исследований содержат данные о линейной фазе роста талломов, по-видимому, в силу наибольшей продолжительности данной фазы (Armstrong, 1973, 1974; Proctor, 1977; Галанин, Глушкова, 2003). Значительно меньше информации о долинейной фазе роста ювенильных талломов, размером менее 1 см^2 (Armstrong, 1974; Proctor, 1977) и постлинейной фазе сенильных разрушающихся особей (Hale, 1974).

В качестве показателя в исследованиях роста эпилитных лишайников чаще используется линейная характеристика — диаметр таллома (Armstrong, 1973), как правило, наибольший диаметр таллома, что, по всей видимости, связано с про-

стотой его измерения в полевых условиях. Часто со временем талломы теряют округлую форму, так как прирост краевой части талломов идет неравномерно, а рост некоторых участков талломов может полностью останавливаться. Поэтому, площадь должна более полно отражать размеры и скорость роста таллома, особенно при многолетних наблюдениях.

В данном исследовании не был проанализирован рост ювенильных талломов (размером менее 1 см^2), что связано с их малым присутствием в синусиях и сложностью фиксирования роста маленьких талломов на субстрате в естественных условиях. По немногочисленным данным литературы скорость роста ювенильных талломов в диаметре увеличивается нелинейно (Armstrong, 1974; Proctor, 1977), талломы в этот период набирают скорость роста. В публикации Проктора (Proctor, 1977) представлены данные роста талломов *Buellia canescens* (Dicks.) De not. У талломов менее 2.5 мм отмечается нелинейный рост, у талломов более 2.5 мм отмечен линейный рост. Значения скорости роста, соответствующие линейной фазе роста (1 мм в год), появляются при размерах талломов около 2 мм . Таллом данного вида фазу нелинейного роста проходит за 5 лет, достигая размера около 2 мм , после чего наступает линейная фаза роста. Похожие данные представлены и в публикации Армстронга (Armstrong, 1974) на примере талломов листоватых лишайников *Parmelia conspersa* (Ehrh ex Ach.) Ach. и *P. glabratula ssp. fuliginosa* (Fr. ex Duby.) Laund: переход к линейному росту происходит при диаметре талломов 2.5 мм и скорость роста 1 мм в год и более. Можно

предполагать, что нелинейная фаза роста проходит относительно быстро. Если перевести размер таллома диаметром (d) 2.5 мм в площадь (S) округлого таллома

$$S = \pi \frac{d^2}{4},$$

то она составит примерно 0.05 см², при такой площади таллома можно ожидать переход к линейному росту.

Стоит отметить, что нелинейность роста талломов на графиках также может вызываться, в случае, когда модель роста строится не по каждому таллому в отдельности, а по приростам выборки талломов разных размеров и обладающих разной скоростью роста, что в свою очередь вносит искажение в модель. Наиболее точные модели роста можно строить по каждому таллому в отдельности, но это более трудоемко и требует не один год наблюдений за ростом каждого исследуемого таллома (Armstrong, 1974; Proctor, 1977).

Рост площади талломов исследуемых видов в диапазоне от минимально зафиксированных размеров до максимальных (1–26 см²) происходил линейно. Данные результаты получены на основании 11-летнего периода наблюдений. Старым талломам свойственна фрагментация (разрушение таллома, часто начинающиеся в центральной части), по некоторым данным с этого момента может наступать постлинейная фаза, в которой скорость роста начинает снижаться (Hale, 1974), также существуют сообщения, что скорость роста после начала фрагментации может оставаться на том же уровне (Armstrong, 1974). Учитывая данные настоящего исследования, линейный тренд достаточно хорошо описывает рост площади талломов фактически до максимальных размеров, характерных для исследуемых видов, даже при наличии фрагментации. Вследствие сравнительно небольшой продолжительности жизни исследуемых видов остановка роста может происходить за короткий период, который сложно зафиксировать, а процесс фрагментации продолжится до полного разрушения таллома. По нашим наблюдениям некоторые талломы исследуемых видов после остановки роста могут полностью разрушаться за несколько лет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Талломы исследуемых видов в диапазоне зафиксированных размеров 1–26 см² обладают линейным ростом и имеют относительно постоянную скорость роста.

В пределах вероятности $P = 95\%$: максимальный размер *B. alpina* составляет 29.6 см², средняя скорость роста — $M = 0.48$ см²/год, максимальная продолжительность роста — 58 лет; максималь-

ный размер *L. lapicida* — 18.3 см², средняя скорость роста $M = 0.74$ см²/год, максимальная продолжительность роста — 25 лет; максимальный размер *P. muralis* составляет 28 см², средняя скорость роста $M = 0.88$ см²/год, максимальная продолжительность роста — 25 лет.

В пределах доверительных интервалов возможных значений изучаемых признаков ($P = 95\%$) спрогнозирована зависимость продолжительности роста и размера таллома от скорости роста. Так медленно растущие талломы, за максимальную продолжительность роста, не успевают достигнуть максимальных размеров, характерных для локальной популяции, в силу недостаточной скорости роста. Талломы, обладающие скоростью роста близкой к средней, могут достигать максимальных размеров и максимальной продолжительности роста, в силу оптимальности скорости роста, то есть полностью реализовать потенциал роста, как во времени, так и по размеру. Быстрорастущие талломы значительно быстрее достигают максимальных размеров, поэтому их продолжительность роста и жизни сокращается.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андреев М.П., Ахти Т., Войцехович А.А., Гагарина Л.В., Гимельбрант Д.Е., Давыдов Е.А., Конорева Л.А., Кузнецова Е.С., Макрый Т.В., Надеина О.В., Рандлане Т., Сааг А., Степанчикова И.С., Урбанавичус Г.П. Флора лишайников России. Биология, экология, разнообразие, распространение и методы изучения лишайников. Изд-во: Товарищество науч. изд. КМК, 2013. 532 с.
- Быков Н.И., Давыдов Е.А. Проблемы лихенометрического датирования археологических памятников Алтая. Экология древних и традиционных обществ: материалы науч. конф. Вып. 4. Тюмень: изд-во ИПОС СО РАН, 2011. С. 15–17.
- Викторов С.В. Лишайники как индикаторы литологических и геохимических условий в пустыне // Вестник Московского университета. Сер.: Биология. 1956. № 5. С. 115–119.
- Галанин А.А. Лихенометрический метод в изучении современных геоморфологических процессов на Северо-Востоке России: автореф. дис. канд. геогр. наук. Владивосток: ТИГ ДВО РАН, 1997. 21 с.
- Галанин А.А., Глушкова О.Ю. Лихенометрия // Вестник РФФИ. 2003. № 3. С. 3–38.
- Галанин А.А. Лихенометрический метод изучения криогенных процессов // Наука и техника в Якутии. 2012. № 1. С. 8–15.
- Голубкова Н.С., Андреев М.П., Котлов Ю.В., Макарова И.И. Определитель лишайников России. Вып. 7. Лецидеевые, Микареевые, Порпидиевые. Н.С. Голубкова (ред) СПб.: Наука, 1998. 166 с.
- Домбровская А.В. Влияние некоторых экологических факторов на распределение и рост кустистых и листоватых лишайников в Хибинах // Ботанический журн. 1963. № 5. С. 742–748.

- Дьякова Г.С., Останин О.В. Лихенометрический метод датирования: возможности и перспективы // География и природопользование Сибири. 2013. № 15. С. 36–44.
- Ивантер Э.В., Коросов А.В. Введение в количественную биологию. Петрозаводск, 2003. 304 с.
- Курбатов А.А., Сони́на А.В. Рост и оценка возраста эпилитного лишайника *Protoparmeliopsis muralis* (Schreb.) M. Choisy в Южной Карелии // Принципы экологии. 2020. № 1. С. 84–94.
- Мастыцкий С.Э., Шитиков В.К. Статистический анализ и визуализация данных с помощью R. Heidelberg – London – Togliatti: Creative Commons Publ., 2014. 401 p.
- Турманина В.И. Пути восстановления природных условий последнего тысячелетия и основные результаты. Ритмы гляциальных процессов. М., МГУ, 1979. С. 24–55.
- Фадеева М.А., Сони́на А.В. Лихенологические исследования онежских петроглифов в связи с оценкой их состояния. Труды Первой российской лихенологической школы. Материалы науч. конф. Петрозаводск, 2000. С. 238–250.
- Фадеева М.А., Сони́на А.В. Скорость роста эпилитных лишайников как показатель деструктивного воздействия лихенобиоты на онежские петроглифы. Актуальные проблемы геоботаники: современные направления исследований в России: методологии, методы и способы обработки материалов. Материалы науч. конф. Петрозаводск, 2001. С. 188–189.
- Andrews J.T., Webber P.J. A lichenometrical study of the northwestern margin of the Barnes Ice Cap. A geomorphological technique // Geogr. Bull. 1964. V. 22. P. 80–104.
- Armstrong R.A. Growth phases in the life of a lichen thallus // New Phytologist. 1974. V. 73. P. 913–918.
- Armstrong R.A. Seasonal growth and growth rate-colony size relationships in six species of saxicolous lichens // New Phytologist. 1973. № 5. P. 1023–1030.
- Beschel R.E. A project to use Lichens as indicators of climate and time. Arctic, Alpine Res, 1957. P. 60.
- Beschel R.E. Dating rock surfaces by lichen growth and its application to glaciology and physiography (lichenometry). Geology of the Arctic. Proc. of the Sci. Conf. University of Toronto Press, 2019. P. 1044–1062.
- Calkin P.E., Ellis J.M. A lichenometric dating curve and its application to Holocene glacier studies in the central Brooks Range, Alaska // Arctic and Alpine Research. 1980. V. 3. P. 245–264.
- Hale M.E. The biology of lichens. London, Edward Arnold Ltd, 1974. 181 p.
- Innes J.L. Lichenometry // Progress in physical geography, 1985. V. 2. P. 187–254.
- Platt R.B., Amsler F.P. A basic method for the immediate study of lichen growth rates and succession // J. Tennessee Academy of Science. 1955. V. 30. P. 177–183.
- Proctor M.C.F. The growth curve of the crustose lichen *Buellia canescens* (Dicks.) de Not // New Phytologist. 1977. V. 3. P. 659–663.
- Purvis O.W., Coppins B.J., Hawksworth D.L., James P.W., More D.M. Lichen Flora of Great Britain and Ireland. Natural History Museum Publications in association with the British Lichen Society, 1992. 710 p.
- Reger R.D., Pewe T.L. Lichenometric dating in the central Alaska Range. The Periglacial Environment. Pewe, T.L. (ed.) Montreal: McGill-Queen's University Press, 1969. P. 223–247.
- Westberg M., Moberg R., Myrdal M., Nordin A., Ekman S. Santesson's Checklist of Fennoscandian Lichen-forming and Lichenicolous Fungi. Uppsala University: Museum of Evolution, 2021. 933 p.

Growth of Epilithic Lichen under the Conditions of South Karelia

A. A. Kurbatov^{1, #} and A. V. Sonina^{2, ##}

¹Scientific Research Institute of Biology, KarRC RAS, st. Pushkinskaya, 11, Petrozavodsk, 185910 Russia

²Institute of Biology, Ecology and Agrotechnologies, Petrozavodsk State University, 33 Lenin Ave., Petrozavodsk, 185910 Russia

[#]e-mail: arkadiy1416@gmail.com

^{##}e-mail: angelella_sonina@mail.ru

On the territory of the Kivach State Nature Reserve (North-West Russia, the Republic of Karelia) in the supralittoral conditions of the Suna River coast, the growth characteristics of 3 epilithic lichen species – *Bellefleuria alpina*, *Lecidea lapicida*, *Protoparmeliopsis muralis* – were studied. Data were analyzed over an 11-year follow-up period. For each studied thallus, a growth model was created using regression analysis, which reflects the dependence of the area of the thallus on the year of measurement and makes it possible to estimate the age of the thalli. Data were obtained on the size (cm²), growth rate (cm²/year), and age (years) of thalli. For these signs, the confidence interval of the means and the confidence interval of possible values were estimated at a probability of $P = 95\%$.

Keywords: epilithic lichens, growth model, growth rate, thallus size, thallus age

УДК 575.224:582.475.4

КАРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗОЛИРОВАННОЙ ПОПУЛЯЦИИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*Pinus sylvestris*) ШИРИНСКОЙ СТЕПИ РЕСПУБЛИКИ ХАКАСИЯ

© 2023 г. Т. С. Седельникова*, @, А. В. Пименов*, С. П. Ефремов*

*Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН — обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, Академгородок, 50, стр. 28, Красноярск, 660036 Россия

@E-mail: tss@ksc.krasn.ru

Поступила в редакцию 23.08.2022 г.

После доработки 06.02.2023 г.

Принята к публикации 26.02.2023 г.

Представлены результаты кариологического исследования периферийной изолированной популяции сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), произрастающей в Ширинской степи Хакасии. В семенном потомстве деревьев выявлены нарушения числа хромосом (миксоплоидия) и широкий спектр хромосомных перестроек, включая уникальные множественные aberrации. Впервые на популяционном уровне диагностирована максимально высокая для данного вида встречаемость геномных и хромосомных перестроек. Фактически все семенное потомство карышской популяции сосны обыкновенной является мутантным, что свидетельствует о вероятных адаптивных изменениях генотипов в условиях изоляции.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris*, изоляция, нарушения числа хромосом, хромосомные перестройки, генетическая нестабильность

DOI: 10.31857/S1026347022600716, **EDN:** TPRBUQ

Краевые, или маргинальные популяции видов рода сосна (*Pinus* L.) занимают локальные территории на периферии ареалов и экологических границах распространения, приуроченных к высотно-поясным и интразональным ландшафтам. Существенное влияние на формирование генетической структуры маргинальных популяций сосен, обуславливающих различную степень их изоляции относительно насаждений из основной части ареалов, наряду с происхождением, оказывают пространственные, орографические, фенологические, фитоценоотические барьеры (Санников, Петрова, 2007; Седельникова, 2014).

Географическая и экологическая обособленность периферийных популяций сосен увеличивает вероятность самоопыления деревьев и скрещивания между близкими генотипами, приводит к ограничению потока генов через пыльцу и семена (Милютин и др., 2013). Описаны генетические эффекты, связанные с изоляцией популяций сосен. Так, в маргинальных популяциях сосны Палласа (*Pinus pallasiana* D. Don) в горах юга Крыма и меловой формы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L. var. *cretacea* Kalenicz. ex Kom.) в степных районах востока Украины обнаружен избыток гомозиготных генотипов (Korshikov *et al.*, 2007). В периферийных популяциях *P. sylvestris*, произрас-

тающих на юге Сибири, а также на болотах центральной части Марийской низменности, выявлено большое количество уникальных и редких аллелей (Тихонова, Семериков, 2010; Гладков, Шейкина, 2019). Исследования, проведенные в изолятах сосны веймутовой (*Pinus strobus* L.) в регионе Северное Онтаро в Канаде показали, что они характеризуются существенно более низкими параметрами аллельного и генотипического разнообразия по сравнению с популяциями из центральной части ареала (Chhatre, Rajora, 2014). Генетическое своеобразие присуще также реликтовым популяциям *P. sylvestris* из островных боров Восточно-Европейской равнины и южной окраины Уральской горной страны (Рябухина и др., 2020).

Маргинальные популяции сосен имеют ряд кариологических и цитогенетических особенностей. Существенная изменчивость кариотипа по морфометрическим параметрам хромосом обнаружена между изолированными популяциями сосны черной (*Pinus nigra* Arn.), располагающимися на периферии ареала, и другими группами популяций этого вида в горных районах Болгарии, а также между репродуктивно обособленными болотными и суходольными популяциями *P. sylvestris* в Западной Сибири (Муратова, Седельникова, 1993; Naydenov

et al., 2003). В периферийных популяциях *P. sylvestris*, произрастающих на юго-западной оконечности ареала (горы Португалии), южной границе произрастания и за ее пределами (сухие степи юга Сибири и Нижнего Поволжья), а также в условиях экологической изоляции (меловые субстраты Среднерусской возвышенности) выявлены цитогенетические аномалии (Сосна..., 1988; Седельникова, 2003; Буторина, Мозгалина, 2004; Машкина и др., 2012; Pavia, 2013; Седельникова, Пименов, 2021).

В отдельных работах, выполненных на объектах равнинной и горной территории Западной Сибири, прослежено совместное изолирующее влияние природной обстановки и факторов, связанных с хозяйственной деятельностью человека — мелиорации, рубок, рекреационной нагрузки, селекции — на генетическую структуру популяций сосен и цитогенетические признаки слагающих их деревьев (Пименов, Седельникова, 2006; Oreshkova *et al.*, 2014, 2020). Дальнейшие исследования влияния естественной и антропогенной изоляции на лесные экосистемы с участием сосны представляется весьма актуальным, поскольку позволяют не только проследивать микроэволюционные и адаптивные тренды в популяциях, но и прогнозировать риски снижения их биоразнообразия, изменения генофонда семенного потомства.

Целью настоящей работы, выполненной в контексте данной проблематики, является исследование числа хромосом, параметров кариотипа и хромосомных перестроек в изолированной экологически маргинальной популяции сосны обыкновенной в Ширинской степи Хакасии. Новизна проведенного исследования определяется уникальностью островного популяционного изолята *P. sylvestris*, произрастающего в экологически экстремальных лесорастительных условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованная популяция сосны обыкновенной расположена в Ширинском районе Республики Хакасия на остепненном склоне ступенчато-выпуклой формы горного обрамления левобережного сектора долины р. Карыш (54°24'33" с.ш. 89°59'11" в.д.), далее — популяция “Карыш” (рис. 1). Насаждение представляет собой сосняк низкотравно-мшистый пятнисто-мертвопокровный V класса бонитета, произрастающий на горном щебнисто-крупчатом мелкозем. Средние таксационные показатели деревьев составляют: возраст — 109 лет, высота — 15.0 м, диаметр — 21.2 см. По своей структуре это разновозрастное, преимущественно редкостойное насаждение с примесью лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) и березы повислой (*Betula pendula* Roth). Преобладают световые формы *P. sylvestris* с низкой кроной и сильно-сбежистой формой ствола, с большей частотой, по сравне-

нию с крупными региональными популяциями, в насаждении представлены карликовые и полукарликовые морфотипы сосны и деревья с “ведьмиными метлами”.

Напочвенный покров развит слабо, доминируют мертвопокровные участки с мощным слоем опавшей хвои и шишек. Подлесок редкий, представлен *Spiraea trilobata* L., *Spiraea chamaedryfolia* L., *Cotoneaster melanocarpus* Fisch. ex Blytt, *Caragana arborescens* Lam., *Caragana frutex* (L.) C. Koch, *Rosa acicularis* Lindl. Основу разреженного травянистого яруса составляют ксерофитные и мезо-ксерофитные виды: *Iris ruthenica* Ker-Gawl., *Pulsatilla patens* (L.) Mill., *Carex macroura* Meinsh., *Calamagrostis arundinacea* (L.) Roth, *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth, *Poa stepposa* (Kryl.) Roshev., *Stipa capillata* L., *Helictotrichon schellianum* (Hack.) Kitag., *Woodsia glabella* R. Br., *Woodsia ilvensis* (L.) R. Br. В мохово-лишайниковом ярусе господствует *Aulacomnium turgidum* (Wahlenb.) Schwägr., в дерновинках которого встречаются *Polytrichum gracile* Sm., *Polytrichum strictum* Sm., *Cladonia deformis* Hoffm., *Cladonia fimbriata* (L.) Fr.

В связи с хорошей инсоляцией для насаждения характерно обильное и регулярное семеношение, а также наличие жизнеспособного подроста, занимающего в основном расщелины скал и пологие участки с выраженным гумусовым горизонтом. Карышская популяция *P. sylvestris* — насаждение “островного” типа. Оно изолировано от ближайшей крупной группировки сосны естественного происхождения дистанционно (на расстояние около 30 км), фитоценотически (“буферными” древостоями лиственницы и березы) и орографически (сложно структурированными хребтово-долинными комплексами восточных отрогов Кузнецкого Алатау, с перепадами высот до 200–250 м) (рис. 1). Сочетание указанных факторов, блокирующих перенос пыльцы и семенного материала, определяет репродуктивную изоляцию популяции “Карыш”. Изолированное положение данной популяции сосны, сохраняющееся на протяжении длительного времени, усугубляется периодическими рубками и пожарами. Вследствие этого наилучшим состоянием отличаются группировки деревьев, произрастание которых приурочено к местам выхода гранитоидных пород на каменистых склонах с минимальным количеством травяно-подстилочного “горючего” материала.

Сбор семян осуществлялся в 2013 г., метеорологические параметры которого соответствуют среднегодовым значениям климата по метеостанции с. Ши́ра (<http://www.pogodaiklimat.ru/history/29756.htm>). Семена проращивали в год их сбора (осенью 2013 г.) в чашках Петри, проростки обрабатывали 1% р-ром колхицина в течение 4–6 ч, после промывания производили их фиксацию спиртово-уксусной смесью (3 : 1), хранили в хо-



Рис. 1. Картографическая визуализация расположения популяции *P. sylvestris* “Карыш” (1) относительно ближайшей крупной видовой группировки естественного генезиса (2) в Ширинском районе Республики Хакасия.

лодильнике при постоянной температуре от $+3$ до $+5^{\circ}\text{C}$.

Для кариологического анализа при изготовлении временных (“давленных”) препаратов применялась методика Л.Ф. Правдина с соавторами (1972), с собственными модификациями. Хранившиеся с момента фиксации 1% р-ром колхицина ($\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{NO}_6$) в холодильнике проростки извлекались из спиртово-уксусной смеси (3 : 1) и подвергались окрашиванию 1% р-ром ацетогематоксилина ($\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$). Для приготовления красителя 1 г сухого гематоксилина растворяли в 50 мл дистиллированной воды путем нагревания на водяной бане. После отстаивания раствора в него добавлялась “ледяная” уксусная кислота до нужного объема. В каждом из циклов окрашивания 5–6 корешков погружались вначале в 4% водный р-р железоммонийных квасцов ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) на 5–10 мин (до изменения окраски апикального участка корешка), а затем помещались в приготовленный краситель и выдерживались в течение 15–20 мин. Затем на предметном стекле от исследуемого корешка отрезался апикальный участок не более 3–5 мм длины и сразу же помещался в каплю 60% р-ра хлоралгидрата ($\text{C}_2\text{H}_3\text{Cl}_3\text{O}_2$), применяемого в целях просветления и мацерации препарата. В течении 2–5 мин препарат раздавли-

вался под покровным стеклом с помощью деревянной палочки и стального шпателя. Для удаления излишней влаги с препарата использовалась фильтровальная бумага. Препараты просматривали под микроскопом Axiostar plus (Carl Zeiss), с применением системы формирования изображений AxioVision. Метафазные пластинки фотографировали в иммерсионной системе (окуляр $\times 10$, объектив $\times 90$).

Всего было изучено 60 корневых меристем и 1508 клеток – популяционная выборка, полученная при проращивании семян, собранных методом случайной выборки с 50 деревьев различной селекционной ценности (по 5–10 шишек с каждого дерева), расположенных по трансекте от подножия до вершины горной гряды, включающей основные варианты почвенно-гидрологических и фитоценологических разностей.

Для измерения фотографировали в 30 препаратах (каждый препарат – один проросток) по одной метафазной пластинке с полным набором, хорошим разбросом и сходной степенью спирализации хромосом. В дальнейшем из сформированного пула метафазных пластинок для статистического анализа хромосомных параметров были выбраны 10 пластинок по модальному классу, в соответствии со значениями общей длины хромосомных

Таблица 1. Изменчивость числа хромосом, встречаемость и спектр хромосомных перестроек у *Pinus sylvestris* в популяции “Карыш”

Число изученных корневых меристем/клеток, шт.		60/1508	
Число корневых меристем с измененным числом хромосом, шт./%		56/93.3	
Число клеток с измененным числом хромосом, шт./%		163/10.8	
Хромосомный набор корневых меристем, шт./%	2n = 24		4/6.7
	2n = 24; 36		13/21.6
	2n = 24; 48		24/40.0
	2n = 24; 36; 48		17/28.3
	2n = 24; 27; 48		1/1.7
	2n = 36; 42; 48		1/1.7
Число корневых меристем с хромосомными перестройками шт./%			48/80.0
Число и спектр хромосомных перестроек в метафазных клетках, шт./%	Всего		153/10.1
	В том числе	Кольцевые хромосомы	75/5.0
		“надетые” кольцевые хромосомы	13/0.8
		Ацентрические кольца	10/0.6
		Полицентрические хромосомы	10/0.6
		Фрагменты	24/1.7
		Множественные нарушения	21/1.4

наборов (ΣLa , мкм), укладывающихся в интервале спирализации $x \pm 1\sigma$. Измерялись: длина длинного (L , μm) и короткого (S , μm) плеч каждой хромосомы набора. Определялись: абсолютная длина каждой хромосомы набора, C ($C = L + S$, μm); длина хромосом гаплоидного набора, LHC ($LHC = \Sigma C/2$, μm); относительная длина каждой хромосомы набора, (C /длина гаплоидного набора $\times 100$, %); центромерный индекс каждой хромосомы набора, CI ($CI = S/C \times 100$, %); соотношение плеч, или arm ratio, r ($r = L/S$, %). Размеры хромосом, с учетом их абсолютной длины, оценивались по классификации A. Lima-de-Faria (1980): мелкие ($<4 \mu m$), средние ($4-12 \mu m$), длинные ($>12 \mu m$). Выявление гомологов и определение типов хромосом проводили по стандартной номенклатуре (Levan *et al.*, 1964) на основе положения центромеры в соответствии со значениями показателей центромерного индекса (CI) и соотношения плеч (r): метацентрические (m) ($r = 1.01-1.69$, $CI = 37.5-50.0$), субметацентрические (sm) ($r = 1.70-2.99$, $CI = 37.5-25.0$), субтелоцентрические (st) ($r = 3.00-6.99$, $CI = 25.0-12.5$), телоцентрические (t) ($r > 7$, $CI < 12.5$).

Хромосомные перестройки анализировали на стадии метафазы митоза, учитывая их спектр и частоту встречаемости в пересчете на число исследованных корневых меристем и клеток (шт./%).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Диплоидный набор семенного потомства сосны обыкновенной из популяции “Карыш” включает 24 хромосомы ($2n = 2x = 24$). Основная часть, или 93.3% исследованных проростков семян является миксоплоидами, содержащими, наряду с диплоидными, клетки с кратно увеличенным числом хромосом – триплоидные ($2n = 3x = 36$) и тетраплоидные ($2n = 4x = 48$), а также клетки с измененным не кратно гаплоидному набору числом – анеуплоидные ($2n = 27$; $2n = 42$). Нарушения числа хромосом наблюдались примерно в каждой десятой клетке миксоплоидных проростков. Наиболее часто встречались проростки с тетраплоидными клетками, с меньшей частотой – проростки, имеющие одновременно тетраплоидные и триплоидные клетки, а также проростки с триплоидными клетками. Единично отмечены проростки, в которых совместно присутствовали тетраплоидные, триплоидные и анеуплоидные клетки (табл. 1). На рис. 2 представлены микрофотографии метафазных клеток *P. sylvestris* с различным числом хромосом.

Одновременное присутствие клеток разного уровня пloidности в тканях обуславливается соматической редукцией хромосом, их неразъединением, элиминацией, удвоением и другими причинами (Буторина, 1989). Как и в популяции “Карыш”, миксоплоидия и другие формы изменчивости числа хромосом встречаются в популяциях сосны обыкновенной, произрастающих на границах

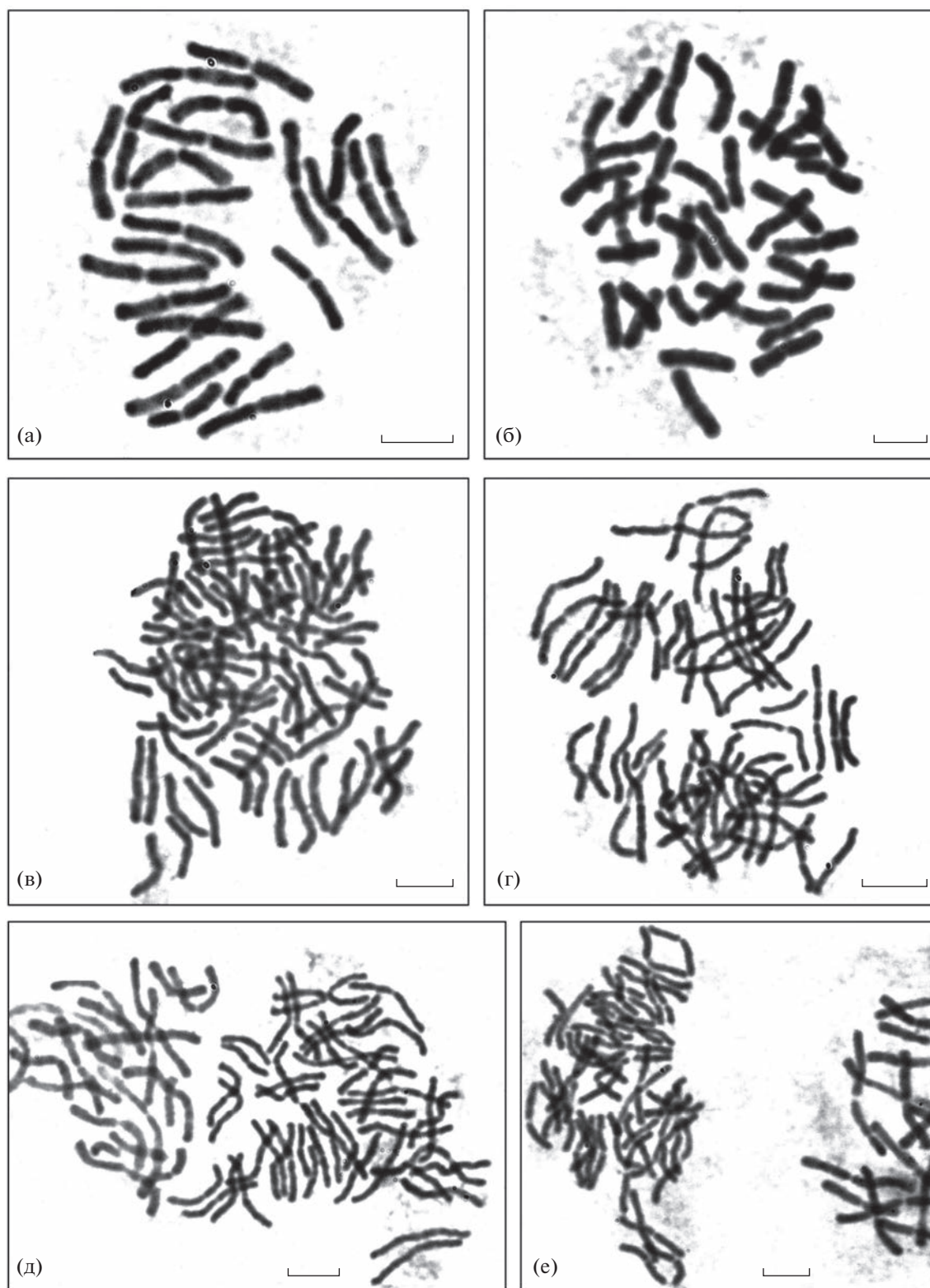


Рис. 2. Метафазные пластинки с различным числом хромосом в популяции *P. sylvestris* “Карыш”: (а) $2n = 24$; (б) $2n = 36$; (в), (г) $2n = 48$; (д), (е) $2n = 48$ и фрагмент $2n = 24$. Масштабная линейка – 10 μm .

Таблица 2. Морфометрические параметры хромосом *Pinus sylvestris* в популяции “Карыш”

Номера хромосом	Абсолютная длина, С		Относительная длина		Центромерный индекс, CI		Соотношение плеч, r	
	$x \pm m_x, \mu\text{m}$	CV, %	$x \pm m_x, \%$	CV, %	$x \pm m_x, \%$	CV, %	$x \pm m_x, \%$	CV, %
I–IX	16.9 ± 0.11	8.8	4.4 ± 0.02	7.3	48.2 ± 0.12	3.3	1.1 ± 0.01	6.7
X	14.1 ± 0.22	6.9	3.7 ± 0.06	6.8	45.7 ± 0.55	5.4	1.2 ± 0.03	10.3
XI	12.8 ± 0.17	5.9	3.3 ± 0.03	4.7	42.7 ± 0.33	3.5	1.3 ± 0.02	6.5
XII	11.5 ± 0.21	8.3	3.0 ± 0.05	7.2	41.9 ± 0.42	4.5	1.4 ± 0.02	7.9

ареалов и экологических пределах распространения. В семенном потомстве деревьев с наростами, опухольями, полукарликов и некоторых типичных особей, произрастающих в Центральной Якутии, Южном Забайкалье и Тыве, встречались миксоплоиды ($2n = 24, 36$ и $24, 48$), гипо- и гиперанеуплоиды ($c\ 2n = 22$ и 28). У сосны обыкновенной в Южном Забайкалье миксоплоидия ($2n = 24, 48$) отмечалась не только в потомстве, но и у материнских растений. В репродуктивно изолированной болотной популяции *P. sylvestris* в Западной Сибири миксоплоидия ($2n = 24, 36$ и $24, 48$) была обнаружена у деревьев с “ведьминой метлой”. У сосны обыкновенной, растущей за южным пределом ареала в Нижнем Поволжье, миксоплоиды ($2n = 24, 36; 24, 48$ и $24, 36, 48$) выявлялись в потомстве типичных деревьев (Муратова, Седельникова, 2004; Sedelnikova *et al.*, 2011; Машкина и др., 2012).

Предполагается, что миксоплоидия является одним из основных факторов, повышающих адаптивный потенциал растений, в том числе древесных, в неблагоприятных условиях среды (Буторина, 1989; Кунах, 2011). Онтогенетические вариации числа хромосом в соматических клетках способны влиять на репродуктивные свойства растений. Сочетание клеток различной пloidности у миксоплоидных растений приводит к изменению дозы генов, усилению пластичности их генома, обеспечению генетического разнообразия потомства (Кунах, 2011).

Проанализированы параметры хромосом карышской популяции сосны обыкновенной. Установлено, что в ее кариотипе содержится одиннадцать пар (I–XI) длинных хромосом, абсолютная длина (С) которых варьирует от 12.8 до $16.9 \mu\text{m}$, относительная длина — от 3.3 до 4.4% , и одна пара (XII) хромосом среднего размера, абсолютная длина (С) которых составляет $11.5 \mu\text{m}$, относительная длина — 3.0% . Суммарная длина гаплоидного набора хромосом (LHC) составляет $191.0 \pm 3.08 \mu\text{m}$. В соответствии с параметрами центромерного индекса (CI) и соотношения плеч (r), изменяющимися соответственно от 41.9 до 48.2% и от 1.1 до 1.4% ,

все хромосомы относятся к метацентрическому типу. Девять пар (I–IX) длинных симметричных хромосом образуют единую группу, две пары (X и XI) более асимметричных длинных и одна пара (XII) асимметричных средних хромосом идентифицируются индивидуально. Морфометрическая характеристика хромосом карышской популяции *P. sylvestris* приведена в табл. 2. Размеры и морфологические типы хромосом у *P. sylvestris* из популяции “Карыш” соответствуют параметрам, установленным для данного вида.

По литературным данным, диплоидный набор сосны обыкновенной из различных условий произрастания включает 12 пар хромосом метацентрического типа, длина которых составляет примерно 10 – $18 \mu\text{m}$. Три пары (X–XII) более коротких метацентрических хромосом в разных наборах в той или иной степени сдвинуты в сторону субметацентричности (Сосна..., 1988; Муратова, 1997; Kalashnik, Starova, 1997; Муратова, Седельникова, 2004; и др.). В маргинальных популяциях сосны обыкновенной размеры хромосом могут уменьшаться. Один из ее подвидов, сосна лапландская (*P. sylvestris* L. subsp. *lapponica* Fries), произрастающая на крайней северной границе распространения, а также болотная форма (*P. sylvestris* L. f. *nana* Pallas) отличаются мелкими размерами хромосом — 8 – $12 \mu\text{m}$ (Абатурова, Вишняков, 1980; Муратова, Седельникова, 1993). Возможно, что уменьшение длины хромосом болотной формы сосны связано с перестройками районов ядрышковых организаторов, предположительно, хромосомными транслокациями (Муратова, Седельникова, 2004).

В карышской популяции сосны обыкновенной выявлены разнообразные хромосомные перестройки, встречавшиеся примерно в 80.0% проростков семян в каждой десятой клетке (табл. 1). По характеру нарушений в основном наблюдались кольцевые структуры различного диаметра и морфологии — кольца с центромерой (кольцевые хромосомы) и ацентрические кольца, не имеющие центромеры. Иногда совместно встречались кольцевые хромосомы и кольца, “надетые”

на обычную хромосому, двойные кольца, а также одновременно две или три кольцевые структуры в одной клетке. С меньшей частотой встречаемости обнаружены хромосомы, имеющие несколько центромер — полицентрические (дицентрические, трицентрические), а также хроматиновые фрагменты крупных и мелких размеров. При наличии одной или нескольких кольцевых хромосом число хромосом не изменялось, оставаясь равным $2n = 24$. В том случае, когда присутствовали дицентрическая или трицентрическая хромосомы, число хромосом составляло, соответственно, $2n = 23$ или $2n = 22$ (при этом общее количество центромер оставалось всегда равным 24).

В некоторых клетках наблюдались сложные (множественные) хромосомные перестройки, включающие одновременно несколько типов аномалий. Множественные перестройки представлены кольцевыми структурами, встречающимися совместно с хромосомами, “скрученными в узел”, дицентрическими или трицентрическими хромосомами, фрагментами, а также кольцевыми хромосомами, “надетыми” на дицентрические хромосомы, дицентрическими и трицентрическими хромосомами с фрагментами. На рис. 3, 4 приведены микрофотографии некоторых хромосомных нарушений, выявленных в популяции сосны обыкновенной “Карыш”. Сочетание и морфологическое проявление хромосомных аномалий, составляющих множественные перестройки, в каждом конкретном случае уникальны.

Хромосомные перестройки свидетельствуют о наличии крупных структурных мутаций хромосом. Как правило, полицентрические хромосомы диагностируют перцентрическую инверсию, затрагивающую разные плечи хромосомы, кольцевые хромосомы — делеции теломерных участков с последующим соединением плеч в кольцо и формированием дистальных ацентрических фрагментов (у ацентрических колец замыкающийся в кольцо фрагмент не имеет центромеры). “Надетость” кольцевых хромосом является своеобразной формой структурной изменчивости хромосом и служит одним из прямых доказательств соматического кроссинговера (Дубинин, 1986; Коряков, Жимулев, 2009). Такие хромосомные перестройки, как ацентрические кольца и фрагменты, у сосны обыкновенной элиминируются в процессе клеточных делений. Кольцевые хромосомы могут проходить через митоз (Сосна..., 1988).

Многими авторами описаны различные типы хромосомных аномалий в маргинальных популяциях сосен. У *P. sylvestris* на северной границе произрастания в Центральной Якутии найдены мелкие и крупные ацентрические кольца, кольцевые хромосомы с фрагментами и без фрагментов, кольцевая хромосома 8-образной конфигурации, “надеты” кольцевые хромосомы, полицентриче-

ские и асимметричные (субacro- или акроцентрические) хромосомы, фрагменты, а также сложные мутации. В популяциях *P. sylvestris*, локализованных на южной границе ареала (Воронежская область, Хакасия, Тыва, юг Красноярского края, Южное Забайкалье) и за его пределами (Волгоградская область), выявлены кольцевые хромосомы, ацентрические кольца, “надеты” кольцевые хромосомы, полицентрические хромосомы, остаточные ядрышки в метафазе, микроядра, фрагменты, множественные нарушения, а также ана-телофазные аномалии митоза — отставание, забегание и неравномерное расхождение хромосом, мосты (Сосна..., 1988; Muratova, 1997; Седельникова, 2003, 2014; Муратова, Седельникова, 2004; Машкина и др., 2012; Пардаева и др., 2017; Седельникова, Пименов, 2021).

В изолированной популяции сосны обыкновенной “Рибера дас Неграс” в Португалии, произрастающей в горах Серра-ду-Жереш на юго-западном пределе распространения, встречалось одновременно до трех типов хромосомных aberrаций — кольцевых хромосом, фрагментов, а также полицентрических хромосом. Множественные хромосомные перестройки рассматриваются как характерные именно для периферийных популяций *P. sylvestris* (Pavia, 2013).

Несмотря на распространенность цитогенетических аномалий у сосен на периферии произрастания, с такой высокой частотой, как в карышской популяции *P. sylvestris*, на популяционном уровне они не выявлялись. По данным табл. 1, около 98% проростков семян карышской популяции сосны имеют нарушения числа хромосом и/или хромосомные перестройки. Ранее лишь у единичных карликовых особей сосны обыкновенной на южной окраине ареала в Южном Забайкалье были отмечены аномалии хромосом в 80–100% проростков (Сосна..., 1988).

При цитогенетическом исследовании *P. sylvestris* было установлено, что хромосомные мутации приводят к неравномерному распределению хромосом между дочерними клетками, потере генетического материала, возникновению анеуплоидии, повышению гетерогенности клеточных линий и другим последствиям (Машкина и др., 2012). Некоторые хромосомные повреждения “жесткого типа” (С-митоз, пульверизация и агглютинация хромосом), выявленные у сосны обыкновенной в условиях радиоактивного загрязнения в зоне Чернобыльской АЭС, являются летальными (Butorina, Evstratov, 1996). Хромосомные перестройки могут вызывать видимые изменения фенотипа и нарушение развития растений. Хромосомные мутации и другие цитогенетические аномалии наиболее часто наблюдались в популяциях *P. sylvestris* у деревьев, имеющих плакучую форму кроны, наросты,

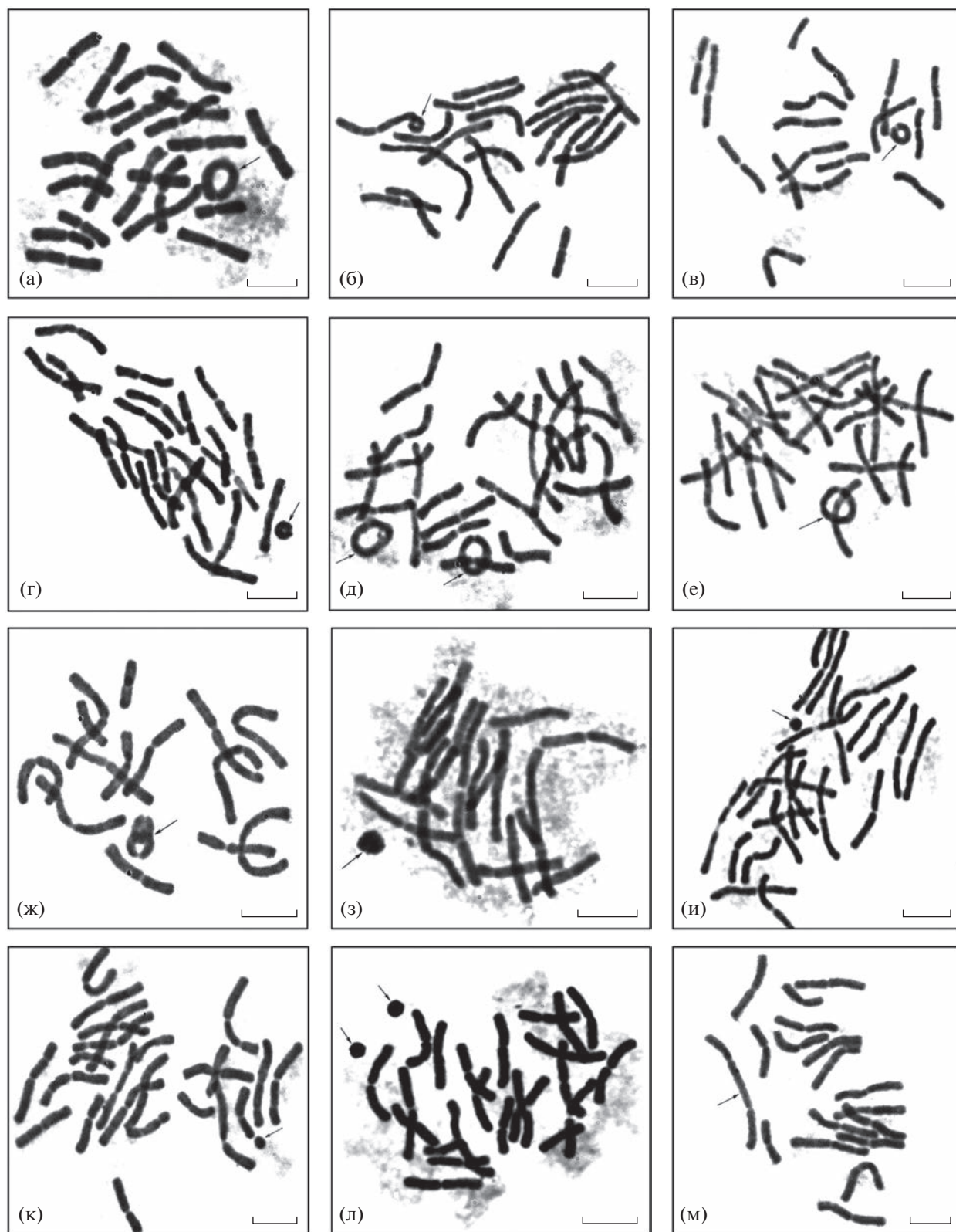


Рис. 3. Хромосомные перестройки в популяции *P. sylvestris* "Карыш": (а)–(г) – кольцевые хромосомы различного диаметра; (д) – кольцевая хромосома и "надетая" кольцевая хромосома; (е) – "надетая" кольцевая хромосома; (ж) – двойное кольцо; (з) – крупный хроматиновый фрагмент; (и), (к) – фрагменты; (л) – два фрагмента; (м) – дицентрическая хромосома. Масштабная линейка – 10 μm . Хромосомные перестройки указаны стрелками.

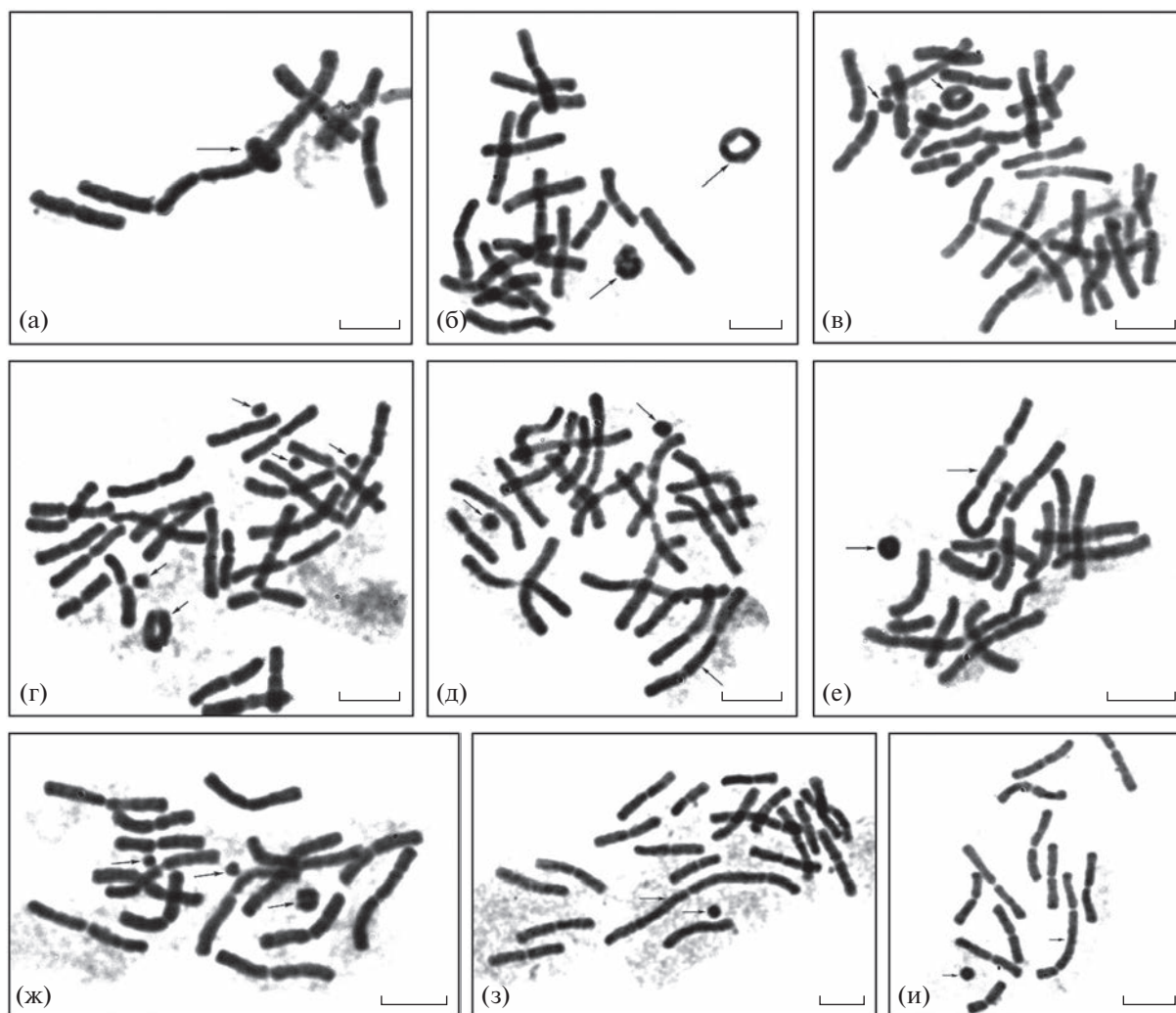


Рис. 4. Множественные мутации (состоящие более чем из одного типа хромосомных перестроек) в популяции *P. sylvestris* “Карыш”: (а) — “надетая” на дицентрическую хромосому кольцевая хромосома; (б) — кольцевая хромосома и “скрученная в узел” хромосома; (в) — кольцевая хромосома и фрагмент; (г) — кольцевая хромосома и четыре фрагмента; (д) — дицентрическая хромосома и два фрагмента; (е) — трицентрическая хромосома и ацентрическое кольцо; (ж) — кольцевая хромосома малого диаметра и два фрагмента; (з) — трицентрическая хромосома и фрагмент; (и) — дицентрическая хромосома и фрагмент. Масштабная линейка — 10 µm. Хромосомные перестройки указаны стрелками.

“ведьмины метла”, карликовых и полукарликовых (Седельникова, Муратова, 1999; Седельникова, 2003; Сосна..., 1988; Машкина и др., 2012). Массово такие формы деревьев встречаются только в маргинальных популяциях сосен, в экстремальных для их произрастания условиях.

Возможно, что некоторые хромосомные перестройки имеют адаптивное значение и благодаря этому распространяются в отдельных популяциях растений (Бадаева, Салина, 2013). Возникающие под воздействием неблагоприятных факторов хромосомные aberrации в популяциях *P. sylvestris* приводят к перераспределению наследственной информации между хромосомами, увеличению диапазона нормы реакции растений, мобилизации

дополнительного резерва их изменчивости (Машкина и др., 2012). Геномные и хромосомные перестройки различного типа в маргинальных насаждениях сосны обыкновенной свидетельствуют о повышении уровня генетической изменчивости семенного потомства в неблагоприятных условиях произрастания. При этом случайно появившаяся адаптивная мутация имеет больше шансов закрепиться в изолированной популяции.

Возможно, что некоторые хромосомные перестройки имеют адаптивное значение и благодаря этому распространяются в отдельных популяциях растений (Бадаева, Салина, 2013). Хромосомные перестройки имеют различное значение для эволюционной динамики геномов хвойных в экстре-

мальных условиях их произрастания. Считается, что эволюция генома видов семейства Pinaceae сопровождается в основном двумя типами хромосомных перестроек — инверсиями и реципрокными транслокациями (Puizina *et al.*, 2008). Хромосомные перестройки типа инсерций и дупликаций провоцируются мобильными генетическими элементами, возрастание активности которых в экстремальных условиях может играть адаптивную роль (Feschotte *et al.*, 2007). Возникающие под воздействием неблагоприятных факторов хромосомные аберрации в популяциях *P. sylvestris* приводят к перераспределению наследственной информации между хромосомами, увеличению диапазона нормы реакции растений, мобилизации дополнительного резерва их изменчивости (Машкина и др., 2012). Вероятно, возникновение хромосомных перестроек различного типа и их высокая концентрация в насаждениях сосны обыкновенной, произрастающих в условиях изоляции и экологической экстремальности, может рассматриваться как мера их генетического разнообразия и отражать определенную степень экологической пластичности. При этом случайно появившаяся адаптивная мутация имеет больше шансов закрепиться в изолированной популяции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что обособленная популяция сосны обыкновенной “Карыш”, произрастающая в Ширинской степи Хакасии, характеризуется высокой генетической нестабильностью. К общим признакам, присущим карышской популяции *P. sylvestris* и другим, ранее изученным периферийным популяциям данного вида, относится широкий спектр геномных и хромосомных перестроек, включая множественные аберрации. Специфической особенностью, отличающей карышскую популяцию сосны обыкновенной, является максимально высокая встречаемость нарушений числа хромосом (миксоплоидии) и хромосомных перестроек: фактически все семенное потомство деревьев является мутантным. Индуцирование геномных и хромосомных перестроек в семенном потомстве деревьев, по всей вероятности, происходит под воздействием комплекса факторов. В их числе: сухость и бедность, свойственная горным щебнисто-крупчатым мелкоземам остепненных ландшафтов; пространственно-, фитоценотически- и орографически-обусловленная репродуктивная изоляция насаждения от других популяций; антропогенное стресс-воздействие вследствие периодических рубок и пожаров. Появление мутантных растений (рассматриваемых на уровне проростков, содержащих генети-

чески различные группы клеток) свидетельствует об изменениях генетической структуры карышской популяции сосны обыкновенной и ее дифференциации. Геномные и хромосомные перестройки, наряду с высокой элиминацией их носителей, вероятно, приводят к формированию адаптированных генотипов, сохраняющих способность к выживанию и воспроизведению, повышают устойчивость популяции в условиях ее изоляции.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ КНЦ СО РАН по теме “Функционально-динамическая индикация биоразнообразия лесов Сибири” № 0287-2021-0009.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абатурова Г.А., Вишняков А.А. Кариотип лапландской сосны // Цитология и генетика. 1980. Т. 14. № 4. С. 36–40.
- Бадаева Е.Д., Салина Е.А. Структура генома и хромосомный анализ растений // Вавиловский журн. генетики и селекции. 2013. Т. 17. № 4/2. С. 1017–1043.
- Буторина А.К. Факторы эволюции кариотипов древесных // Успехи соврем. биол. 1989. Т. 108. Вып. 3(6). С. 342–357.
- Буторина А.К., Мозгалина И.Г. Особенности цитогенетических показателей сосны меловой и сосны обыкновенной // Экология. 2004. № 3. С. 185–189.
- Гладков Ю.Ф., Шейкина О.В. Генетический полиморфизм деревьев сосны обыкновенной из смежных болотной и суходольной ценопопуляций по ядерным микросателлитным локусам // Вестник ПГТУ. 2019. Т. 44. № 4. С. 70–79.
<https://doi.org/10.25686/2306-2827.2019.4.70>
- Дубинин Н.П. Общая генетика. 3-е изд. М.: Наука, 1986. 560 с.
- Коряков Д.Е., Жимулев И.Ф. Хромосомы. Структура и функции. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2009. 258 с.
- Кунах В.А. Пластичность генома соматических клеток и адаптивность растений // Молекулярная и прикладная генетика. 2011. Т. 12. С. 7–14.
- Машкина О.С., Тихонова И.В., Муратова Е.Н., Мурая Л.С. Цитогенетические особенности семенного потомства карликовых сосен на юге Восточной Сибири // Хвойные бореальной зоны. 2012. Т. XXX. № 1–2. С. 127–135.
- Милютин Л.И., Новикова Т.Н., Тараканов В.В., Тихонова И.В. Сосна степных и лесостепных боров Сибири. Новосибирск: ГЕО, 2013. 127 с.
- Муратова Е.Н., Седельникова Т.С. Кариологическое исследование болотных и суходольных популяций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) // Экология. 1993. № 6. С. 41–50.
- Муратова Е.Н., Седельникова Т.С. Геномные и хромосомные мутации у сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в экстремальных условиях произрастания // Хвойные бореальной зоны. 2004. Вып. 2. С. 128–140.

- Пардаева Е.Ю., Машикина О.С., Понов В.Н. Состояние генеративной сферы *Pinus sylvestris* L. по данным цитогенетического анализа в условиях изменяющегося климата на территории Воронежской области // Сибир. экол. журн. 2017. № 3. С. 313–320. <https://doi.org/10.15372/SEJ20170308>
- Пименов А.В., Седельникова Т.С. Аномалии митоза в проростках *Pinus sylvestris* (Pinaceae) на евтрофном осушенном болоте // Ботан. журн. 2006. Т. 91. № 10. С. 1537–1544.
- Правдин Л.Ф., Бударагин В.А., Круклис М.В., Шершуква О.П. Методика кариологического изучения хвойных пород // Лесоведение. 1972. № 2. С. 67–75.
- Рябухина М.В., Калякина Р.Г., Фризен Н.В. Молекулярно-генетические исследования популяций *Pinus sylvestris* L. на примере Восточно-Европейской равнины и южной окраины Уральской горной страны // Turczaninowia. 2020. Т. 23. № 1. С. 116–125. <https://doi.org/10.14258/turczaninowia.23.1.12>
- Санников С.Н., Петрова И.В. Феногеография популяций древесных растений: проблемы, методы и некоторые итоги // Хвойные бореальной зоны. 2007. Т. XXIV. № 2–3. С. 288–296.
- Седельникова Т.С. Хромосомные и геномные мутации у сосны обыкновенной в Нижнем Поволжье // Лесоведение. 2003. № 6. С. 28–33.
- Седельникова Т.С. Дифференциация популяций видов семейства Pinaceae в экосистемах лесных болот и суходолов Западной Сибири // Сибирский лесной журн. 2014. № 1. С. 93–103.
- Седельникова Т.С., Муратова Е.Н. Цитологическое изучение сосны обыкновенной типа “ведьмина метла” на болоте // Цитология. 1999. Т. 41. № 12. С. 1082.
- Седельникова Т.С., Пименов А.В. Изменчивость числа хромосом и хромосомные перестройки у *Pinus sylvestris* (Pinaceae) в засушливых условиях Нижнего Поволжья и Южной Сибири // Ботан. журн. 2021. Т. 106. № 4. С. 353–362. <https://doi.org/10.31857/S0006813621040116>
- Сосна обыкновенная в Южной Сибири / Отв. ред. Милютин Л.И. Красноярск: Изд-во ИЛиД СО АН СССР, 1988. 150 с.
- Тихонова И.В., Семериков В.Л. Генетический полиморфизм карликовых сосен на юге Средней Сибири // Экология. 2010. № 5. С. 330–335.
- Butorina A.K., Evstratov N. The first detected case of amitosis in pine // Forest Genetics. 1996. V. 3. № 3. P. 137–139.
- Chhatre V.E., Rajora O.P. Genetic divergence and signatures of natural selection in marginal populations of a Keystone, Long-Lived Conifer, Eastern white pine (*Pinus strobus*) from Northern Ontario // PLoS ONE. 2014. V. 9(5). P. e97291.
- Feschotte C., Pritham E.J. DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes // Annu. Rev. Genet. 2007. V. 41. P. 331–336. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.40.110405.090448>
- Kalashnik N., Starova N. Karyotype variability of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Ural mountain populations // Cytogenetic studies of forest trees and shrub species: contributions by members of the IUFRO Cytogenetics Working Party / Eds. Borzan Z., Schlarbaum S.E. Zagreb: Hrvatske sume, 1997. P. 131–147.
- Korshikov I.I., Pirko N.N., Mudrik E.A., Pirko Ya.V. Maintenance of genetic structure in progenies of marginal mountainous and steppe populations of three species of Pinaceae Lindl. family in Ukraine // Silvae Genetica. 2007. V. 56. № 1. P. 1–10. <https://doi.org/10.1515/sg-2007-0001>
- Levan A., Fredga K., Sandberg A.A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes // Hereditas. 1964. V. 52. P. 201–220.
- Lima-de-Faria A. Classification of genes, rearrangements and chromosomes according to the chromosome field // Hereditas. 1980. V. 93. P. 1–46.
- Muratova E.N. Cytogenetical study of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in the Central Yakutia // Cytogenetic studies of forest trees and shrub species: contributions by members of the IUFRO Cytogenetics Working Party / Eds. Borzan Z., Schlarbaum S.E. Zagreb: Hrvatske sume, 1997. P. 157–177.
- Naydenov K., Tremblay F., Ganchev P. Karyotypic diversity in European black pine (*Pinus nigra* Arn.) from Bulgarian provenances // Phyton. 2003. V. 43. Fasc. 19–28. P. 7.
- Oreshkova N.V., Sedel'nikova T.S., Pimenov A.V., Efremov S.P. Analysis of genetic structure and differentiation of the bog and dry land populations of *Pinus sibirica* Du Tour based on nuclear microsatellite loci // Russian J. Genetics. 2014. V. 50. № 9. P. 934–941. <https://doi.org/10.1134/S1022795414090105>
- Oreshkova N.V., Sedel'nikova T.S., Efremov S.P., Pimenov A.V. Genetic polymorphism of Siberian stone pine (*Pinus sibirica* Du Tour) in Kuznetsk Alatau // Contemporary Problems of Ecology. 2020. V. 13. № 6. P. 569–576. <https://doi.org/10.1134/S1995425520060116>
- Pavia I.M.M. Molecular and cytogenetic characterization of *Pinus sylvestris* L. populations. Dissertação de Mestrado em Genética Molecular Comparativa e Tecnológica. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. 2013. 102 p.
- Puizina J., Sviben T., Krajačić-Sokol I. et al. Cytogenetic and molecular characterization of the *Abies alba* genome and its relationship with other members of the Pinaceae // Plant Biol. 2008. № 10. P. 256–267. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2007.00018.x>
- Sedel'nikova T.S., Muratova E.N., Pimenov A.V. Variability of chromosome numbers in Gymnosperms // Biology bulletin reviews. 2011. V. 1. № 2. P. 100–109. <https://doi.org/10.1134/S2079086411020083>

Karyological Study of the Isolated Scots Pine (*Pinus sylvestris*) Population of the Shirinskaya Steppe of the Republic Of Khakasia

T. S. Sedel'nikova^{1, #}, A. V. Pimenov¹, and S. P. Efremov¹

¹ Federal Research Center Krasnoyarsk Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch. V.N. Sukachev Institute of Forest, Russian Academy of Science, Siberian Branch, Akademgorodok, 50/28, Krasnoyarsk, 660036 Russian

[#]e-mail: tss@ksc.krasn.ru

The results of a karyological study of a peripheral isolated population of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) growing in the Shirinskaya steppe of Khakassia are presented. In the seed progeny of trees, disturbances of the number of chromosomes (myxoploidy) and a wide range of chromosomal rearrangements, including unique multiple aberrations, were revealed. For the first time at the population level, the highest occurrence of genomic and chromosomal rearrangements for this species was diagnosed. In fact, all seed progeny of the studied Scots pine population is mutant, which indicates probable adaptive changes in genotypes under isolation.

Keywords: *Pinus sylvestris*, isolation, chromosome number disorders, chromosomal rearrangements, genetic instability

УДК 581.132.536.543:539

О ВЛИЯНИИ ДЛИН ВОЛН РАЗНЫХ ДИАПАЗОНОВ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИ АКТИВНОЙ РАДИАЦИИ НА ИЗОТОПНЫЙ СОСТАВ УГЛЕРОДА БИОМАССЫ РАСТЕНИЙ И ЕЕ ФРАКЦИЙ (НА ПРИМЕРЕ САЛАТА (*Lactuca sativa* L.) СОРТА АФИЦИОН)

© 2023 г. А. А. Ивлев*, @, Д. А. Товстыко*, М. П. Ломакин*, А. С. Шмаков*, Н. Н. Слепцов*,
В. А. Литвинский**, Н. М. Пржевальский*, И. Г. Тараканов*

*Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева,
Тимирязевская ул., 49, Москва, 127434 Россия

**Палеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН, Профсоюзная ул. 123, Москва 117647 Россия

@E-mail: aa.ilyev@list.ru

Поступила в редакцию 09.06.2022 г.

После доработки 15.01.2023 г.

Принята к публикации 15.01.2023 г.

Изучено влияние длин волн падающего света четырех диапазонов: коротковолнового красного (623–641 нм), длинноволнового красного (646–667 нм) дальнего красного (727–751 нм) и синего (452–477 нм) на изотопный состав углерода биомассы салата (*Lactuca sativa* L.) сорта Афицион. Наиболее сильное разнонаправленное влияние оказывают монохроматические синий и красный свет. Радиация из синего диапазона смещает изотопный состав углерода биомассы салата в сторону обогащения изотопом ^{12}C . Радиация из красного диапазона смещает изотопный состав углерода биомассы салата в сторону обогащения изотопом ^{13}C . На основании разработанной ранее модели фракционирования изотопов углерода в фотосинтезирующей клетке проанализированы изотопные сдвиги углерода биомассы листа растения. Показано, что в темновой период биомасса обогащается “легким” изотопом ^{12}C . Это является следствием темнового дыхания, во время которого растение теряет CO_2 , обогащенный ^{13}C . Показано, что причиной наблюдаемых изотопных различий водорастворимой и водонерастворимой фракций биомассы листа является разное участие в образовании этих фракций в процессе фотосинтеза, обогащенного изотопом ^{12}C ассимиляционного углеродного потока и обогащенного изотопом ^{13}C фотодыхательного углеродного потока.

Ключевые слова: длина волны оптического излучения, режим освещения, фракционирование изотопов углерода, фотосинтез, фотоассимиляционный и фотодыхательный углеродные потоки, Рубиско – ключевой фермент фотосинтеза

DOI: 10.31857/S1026347022600534, EDN: WCVSMA

Еще в первой середине прошлого века установлено, что фотосинтез сопровождается фракционированием изотопов углерода (Craig, 1954; O’Leary, 1981). В ранних работах считалось, что наблюдаемое при этом обогащение углерода биомассы фотосинтезирующего организма изотопом ^{12}C относительно ассимилируемого CO_2 связано с процессом ассимиляции. Однако позднее выяснилось, что, наряду с ассимиляцией, во фракционировании изотопов углерода принимает участие еще и другой процесс, происходящий одновременно с ассимиляцией на свету – процесс фотодыхания. Причем знак изотопного эффекта фотодыхания противоположен знаку эффекта ассимиляции (Ивлев, 1993; Igamberdiev *et al.*, 2001, 2004).

Много работ посвящено изучению факторов среды, влияющих на величину и знак изотопного

эффекта (Sackett *et al.*, 1965; Degens *et al.*, 1969; Smith *et al.*, 1976). В их числе влияние параметров падающего света (уровень интенсивности, условия освещения). Механизм влияния интенсивности света на величину изотопного эффекта фотосинтеза рассмотрен в работах (Roussel, Igamberdiev, 2011; Igamberdiev, Roussel, 2013).

Согласно этим авторам, усиление интенсивности светового потока обеспечивает усиление транспорта электронов через фотосистему II, которая ответственна за фотолиз воды. В результате фотолиза образуется кислород и возникает избыток восстановительной силы НАДФ $\cdot\text{H}_2$, от которых зависит соотношение концентраций CO_2/O_2 у мест карбоксилирования ключевого фермента фотосинтеза Рубиско (рибулозобисфосфат карбоксилазы/оксигеназы), ответственного за переключе-

Таблица 1. Результаты измерения изотопного состава углерода ($\delta^{13}\text{C}$) биомассы листа салата сорта Афицион при разных режимах освещения под влиянием длин волн из разных диапазонов. Октябрь 2019. Изотопный состав углерода дан в единицах PDBV

1	Вариант светового режима	Световой период. Отбор пробы 6 часов	Световой период. Отбор пробы 12 часов	Световой период. Отбор пробы 18 часов (за 6 часов до выключения света)	Световой период. Отбор пробы 18 часов (за 6 часов до включения света)
2	С + БК + К + ДК (контроль) среднее	–34.04	–33.91	–34.15	–33.61
3	С + БК + ДК (–К) среднее	–34.12	–34.42	–35.32	–33.69
4	С + БК + К (–ДК) среднее	–33.64	–34.20	–34.90	–34.26
5	БК + К + ДК (–С) среднее	–31.71	–32.39	–32.43	–31.76
6	С среднее	–36.60	–36.31	–36.54	–36.15
7	К среднее	–31.70	–31.67	–30.95	–30.68

Примечание. С – синий; БК – ближний красный; К – красный; ДК – дальний красный.

ния с ассимиляции на фотодыхание и обратно. Для обеспечения непрерывной работы фермента недостаток CO_2 , компенсируется потоком O_2 , который также, как и CO_2 , является субстратом, но в процессе фотодыхания. В результате углерод биомассы, синтезируемой при фотодыхании, обогащается изотопом ^{13}C .

Все упомянутые и другие работы, посвященные изучению влияния света, характеризуют его как один целый параметр. Однако свет, на самом деле, является сложным параметром, хотя бы потому что состоит из спектра волн разной длины. Насколько нам известно, до сих пор влияние длин волн на изотопный состав углерода растений никем не рассматривался. В настоящей работе мы изучали влияние отдельных длин волн из диапазона “белого” света на изотопный состав углерода биомассы листа салата (*Lactuca sativa* L.) сорта Афицион.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выращивание салата (*Lactuca sativa* L.) сорта Афицион проводили в климатических камерах (Urbangrower 150, China) при различных режимах освещения. Растения освещались светодиодными лампами, излучающими свет четырех диапазонов: коротковолновый красный (623–641 нм), длинноволновый красный (646–667 нм) дальний красный (727–751 нм) и синий (452–477). Контроль включает использование всех четырех режимов освещения одновременно (“белый” свет).

Суточный отбор проб растительной биомассы проводили с интервалом в 6 ч. Высушенный мате-

риал измельчали до порошка и отбирали в количествах, достаточных для 4-х повторностей. Измерения изотопного состава проводили на изотопном масс-спектрометре (Delta V, Thermo). Пробоподготовка сводилась к следующему. Порошок биомассы сжигался до CO_2 , который очищался от сопутствующих примесей и подавался в аналитическую часть прибора.

Для калибровки прибора и контроля за точностью результатов использовали стандарты IAEA глутаминовой кислоты (USGS40 и USGS41). Величины изотопного состава углерода приводятся в единицах (VPDB):

$$\delta^{13}\text{C} = \left\{ \left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{образ}} - \left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{станд}} \right\} \times 10^{-3}.$$

Погрешность определения, включая инструментальные и видовые ошибки, не превышала 0.1‰.

Детальнее методика и масс-спектрометрическое определение изотопного состава углерода образцов описаны в работе (Tarakanov *et al.*, 2021).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты измерения изотопного состава углерода ($\delta^{13}\text{C}$) биомассы листа салата при разных режимах освещения представлены в табл. 1.

Поскольку различия, превышающие 0.1‰, считались значимыми, результаты, приведенные в табл. 1, позволяют утверждать, что длины волн оказывают вполне отчетливое влияние на изотопный состав углерода биомассы листа растения. Эксперименты с различным набором длин волн падающего света показали их различное влияние

Таблица 2. Изотопные различия углерода биомассы листьев салата сорта Афицион при различных режимах освещения. Изотопный состав приводится в единицах PDBV $\delta^{13}\text{C}$ (‰)

Вариант светового Режима	$\delta^{13}\text{C}$ биомассы в конце светового периода	$\delta^{13}\text{C}$ биомассы в конце темнового периода	$\Delta \delta^{13}\text{C}$
С + БК + К + ДК (контроль)	–34.15	–33.61	–0.54
С + БК + ДК (-К)	–35.32	–33.69	–1.63
С + БК + К (-ДК)	–34.90	–34.26	–0.64
БК + К + ДК (-С)	–32.43	–31.76	–0.63
С	–36.54	–36.15	–0.34
К	–30.95	–30.68	–0.27

Примечание. Буквенные обозначения те же, что и в табл. 1.

на изотопный состав углерода биомассы листьев. Наблюдались отклонения по сравнению с изотопным составом углерода в контрольном опыте с комбинированным набором длин волн (при освещении “белым” светом). Примечательно, что наиболее сильное влияние противоположного знака оказывали монохроматические синий и красный свет. Обработка растения синим светом при 6-часовом освещении приводила к изотопному сдвигу в сторону обогащения биомассы “легким” изотопом ^{12}C относительно контрольного опыта на -2.56‰ , тогда как обработка растения красным светом при 6-часовом освещении приводила к изотопному сдвигу в сторону обогащения биомассы “тяжелым” изотопом ^{13}C относительно контрольного опыта на $+2.34\text{‰}$. Увеличение длительности светового периода на величину изотопных смещений не влияла. Также очевидно, что влияние волн синего и красного диапазонов существенно выше влияния волн других диапазонов.

Особый интерес вызывают результаты, представленные в двух последних столбцах табл. 1. В них приведены изотопные различия углерода биомассы листа при различных диапазонах длин волн падающего света и при режимах освещения, имитирующих “световой” и “темновой” периоды. Это неудивительно, поскольку в этом случае можно ожидать заметную перестройку метаболических потоков.

Действительно, как мы видим из табл. 2, во время светового периода углерод биомассы листа обогащается изотопом ^{12}C относительно углерода биомассы в конце темнового периода. Этот факт может означать, что в темновой период биомасса теряет “легкий” изотоп, который уносится вместе с CO_2 при темновом дыхании. Как видно из табл. 2, этот процесс не зависит от режима освещения. Обогащение биомассы изотопом ^{12}C происходит при всех режимах освещения.

Согласно существующим моделям фракционирования изотопов углерода при фотосинтезе,

обогащение биомассы изотопом ^{13}C происходит в том случае, если другой изотоп ^{12}C покидает биомассу с каким-либо продуктом метаболизма. Действительно, как мы видим из табл. 1 и 2, во время темнового периода углерод биомассы листа обогащается изотопом ^{13}C незначительно. Логично предположить, что этим продуктом является CO_2 , обогащенный ^{12}C .

Полученные нами данные согласуются с более ранними результатами Гесслера и коллег (Gessler *et al.*, 2008). Они исследовали суточные изотопные сдвиги у клешевины (*Ricinus communis* L.). Из приведенных ими данных видно (рис. 1), что суточные сдвиги изотопного состава углерода, аналогичные зафиксированным нами, наблюдаются не только у углерода биомассы листа клешевины, но и у углерода водорастворимой и водонерастворимой фракций листа, а также для углерода сока флоэмы.

Такая согласованность результатов, полученных независимыми исследователями для произвольно выбранных растений, приводит к выводу, что, скорее всего, это связано с перестройкой углеродных потоков при переходе от темнового периода и обратно. Причем данная перестройка сопровождается одинаковыми изотопными сдвигами, не зависящими от режима освещения. Это указывает на то, что наблюдаемые изотопные сдвиги являются результатом некоего общего механизма изотопного фракционирования углерода, проявляющегося при любых режимах освещения.

Изотопные различия водорастворимой и водонерастворимой фракций биомассы листа салата (*Lactuca sativa* L.), представленные в табл. 3, согласуются с данными обнаруженными ранее Гесслером и коллегами (Gessler *et al.*, 2008) у клешевины. Эти различия также не зависели от режима освещения, т.е., как и суточные изотопные сдвиги, они обусловлены клеточным механизмом изотопного фракционирования. Это подтверждается и данными табл. 4, которые показывают одинаковый

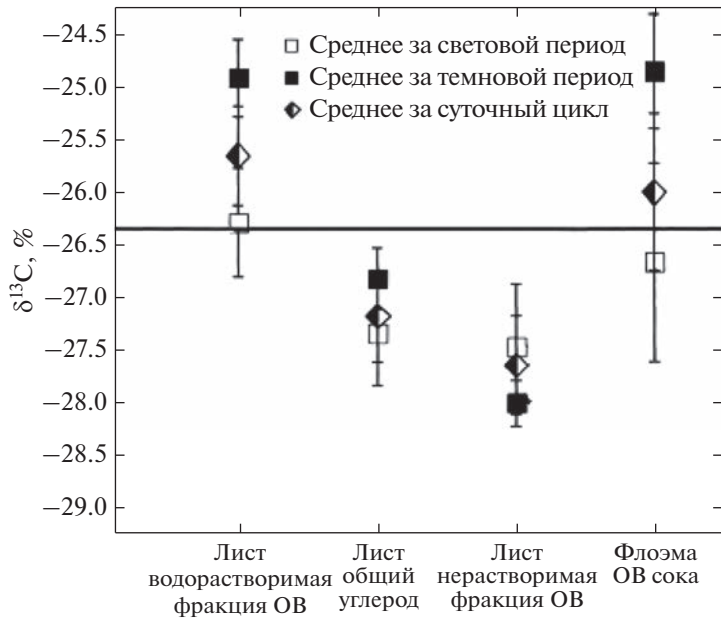


Рис. 1. Суточные колебания изотопного состава углерода биомассы листа листа клещевины (*Ricinus communis* L.), углерода водорастворимой и водонерастворимой фракций биомассы и углерода органического вещества сока флоэмы (Gessler *et al.*, 2008).

характер изотопных смещений углерода биомассы водорастворимой и водонерастворимой фракций для трех произвольно выбранных растений при освещении их “белым” светом.

Однако констатация факта существования изотопных различий еще не означает понимания природы их возникновения. Поэтому в настоящей работе мы попытались понять природу изотопных различий в растениях, привлекая для этого клеточную осцилляционную модель фотосинтеза (Ivlev, 2012), которую ранее мы пробовали применить при рассмотрении изотопных данных по клещевине (Ивлев, Тараканов, 2013). При этом мы понимаем ограниченность клеточной модели при описании изотопных сдвигов в растениях,

особенно в смысле учета динамики углеродных потоков.

Из анализа модели фракционирования изотопов углерода в фотосинтезирующей клетке (Ivlev, 2012) известно, что в клетке существуют углеродные потоки как обогащенные, так и обедненные изотопом ¹³C относительно общего углерода биомассы. Эти потоки связаны с тремя метаболическими узлами. Первый, рибулозобисфосфат-карбоксилазный узел, связан с реакцией карбоксилирования рибулозобисфосфата на входе CO₂ в цикл Кальвина–Бенсона. Этот узел ответствен за обогащение ассимилируемого клеткой углерода изотопом ¹²C относительно углерода CO₂ среды. Второй, глициндегидрогеназный узел, связан

Таблица 3. Изотопные различия углерода биомассы листа салата (*Lactuca sativa* L.) сорта Афицион при различных режимах освещения. Октябрь 2019 г. Изотопный состав приводится в единицах PDBV δ¹³C (‰)

Вариант светового Режима	δ ¹³ C биомассы в конце светового периода	δ ¹³ C биомассы в конце темнового период	Δ δ ¹³ C
С + БК + К + ДК (контроль)	–34.15	–33.61	–0.54
С + БК + ДК (- К)	–35.32	–33.69	–1.63
С + БК+ К (-ДК)	–34.90	–34.26	–0.64
БК + К + ДК (- С)	–32.43	–31.76	–0.63
С	–36.54	–36.15	–0.34
К	–30.95	–30.68	–0.27

Примечание. С – синий; БК – ближний красный; К – красный; ДК – дальний красный. Таблица взята из работы (Ивлев и др., 2022).

Таблица 4. Распределение изотопов углерода органического вещества в водорастворимой и водонерастворимой фракциях, выделенных из биомассы листа ряда растений, изотопный состав общего углерода листа при освещении “белым” светом. Изотопный состав углерода дан в единицах VPDB

Объект	Водорастворимая фракция	Общий углерод	Нерастворимая фракция	
Лист салата сорта Афицион (<i>Lactuca sativa</i>)	–31.0	–34.1	–34.7	Наст. работа
Лист горчицы сорта “Сарептский” (<i>Brassica juncea</i>)	–30.96		–34.7	Наст. работа
Лист клещевины (<i>Ricinus communis</i>)	–26.3	–27.3	–27.5	Gessler et al., 2008

с реакцией декарбоксилирования глицина, которая протекает в гликолатном цикле. Этот цикл ответствен за частичное окисление ассимилированного углерода и обеспечивает процесс фотодыхания. Фракционирование изотопов углерода при фотодыхании приводит к обогащению выдыхаемого клеткой CO_2 изотопом ^{13}C , другими словами, к снижению обогащения ассимилированного углерода (биомассы) изотопом ^{12}C , т.е. изотопный эффект ассимиляции и фотодыхания имеют противоположные знаки. Третий, пируватдегидрогеназный узел, связан с реакцией декарбоксилирования пирувата и находится на пересечении центральных метаболических путей. Фракционирование изотопов в нем отвечает за перераспределение изотопов внутри биомассы, т.е. за изотопные различия фракций, метаболитов, за внутримолекулярные распределения. На изотопный состав общего углерода биомассы фракционирование изотопов в третьем узле влияет значительно меньше. Поэтому мы уделили внимание двум первым узлам.

Главным регулятором соотношения потоков ассимиляции и фотодыхания и, соответственно, их вклада в биомассу, от которого зависит ее изотопный состав, является ключевой фермент фотосинтеза — Рубиско (рибулозобисфосфат карбоксилаза/оксигеназа), обладающий двойственной функцией, т.е. способностью функционировать как карбоксилаза, так и как оксигеназа. Фермент работает по механизму “пинг — понг”

Переключения Рубиско с карбоксилазной функции на оксигеназную, и обратно, происходят благодаря постоянно меняющемуся у мест карбоксилирования соотношения концентраций CO_2/O_2 . На рис. 2 изображена схема предполагаемого механизма переключения фермента с отрицательными обратными связями (Roussel *et al.*, 2007). Она предполагает, что при вхождении в клетку порции воздуха концентрация CO_2 в нем такова, что обеспечивает карбоксилирование РибФ, но ингибирует работу фермента как оксигеназы. Благодаря такой временной организации глюкозо-6-фосфат (Г6Ф), являющийся продуктом цик-

ла Кальвина-Бенсона, в тот момент, когда происходит карбоксилирование, в гликолатный цикл, где происходит глициндегидрогеназная реакция, не поступает. В процессе ассимиляции концентрация CO_2 в вошедшей порции падает, а относительная концентрация кислорода в ней возрастает. Кислород ингибирует карбоксилазную функцию Рубиско и инициирует оксигеназную, при этом Г6Ф поступает в гликолатный цикл.

Анализ системы дифференциальных кинетических уравнений, описывающих совокупность реакций, составляющих карбоксилазную и оксигеназную цепь, при подстановке в них реальных клеточных параметров, имеющихся в литературе (Dubinsky, Ivlev, 2011), допускает появление осцилляций. Была показана возможность существования области незатухающих колебаний, для которых период составляет величину порядка секунд. Наличие таких осцилляций подразумевает, что ассимиляция CO_2 и выброс из клетки CO_2 при фотодыхании происходят в виде отдельных дискретных порций, что было предсказано ранее (Ивлев, 1989).

С дискретностью связана еще одна возможность появления изотопных эффектов в фотосинтезирующих клетках. Она обусловлена способностью клетки изменять размер порций CO_2 , поступающих в клетку при ассимиляции, или удалять из клетки порции CO_2 при фотодыхании с помощью механизма газообмена. При попадании растений в среду с неблагоприятными условиями (например, при низкой влагодоступности, при высокой температуре, высокой интенсивности света и т.д.), эти условия, используя специальный устьичный аппарат, могут регулировать концентрацию CO_2 у мест карбоксилирования. Регуляция размера порций с помощью устьичного аппарата сопровождается истощением субстрата, что, в свою очередь, приводит к возникновению изотопного эффекта истощения Релея. В первую очередь, порцию покидают легкоизотопные молекулы, т.е. содержащие изотоп ^{12}C . Поэтому в остатке (т.е. в ассимилированном углероде) накапливается тяжелый изотоп ^{13}C .

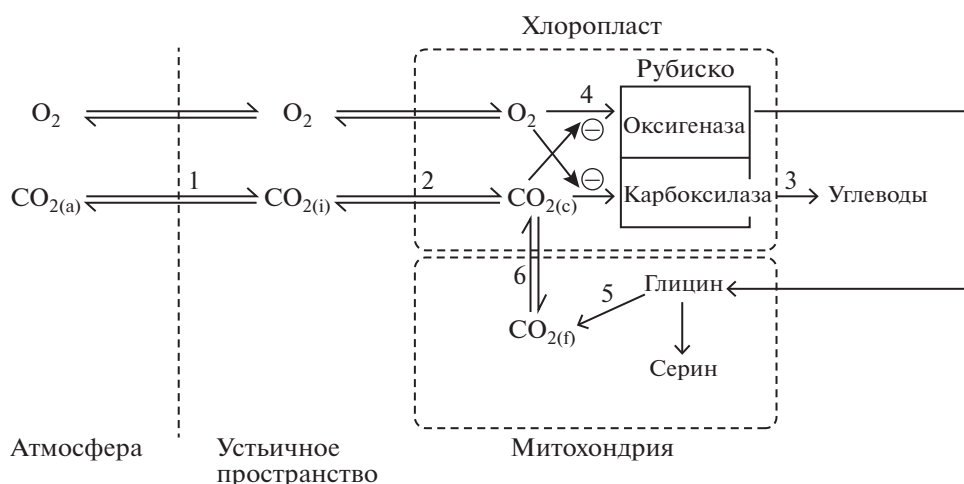


Рис. 2. Схема механизма с отрицательными обратными связями, переключающего рубиско с карбоксилазной функции на оксигеназную и обратно (Roussel *et al.*, 2007).

Поскольку биомасса листа состоит из фотосинтезирующих клеток, представления об осцилляционном механизме фотосинтеза и о ассимиляционном и фотодыхательном фондах вполне применимы для объяснения изотопных различий водорастворимой и водонерастворимой фракций биомассы. Действительно, рассмотрение изотопного фракционирования при осцилляционном фотосинтезе приводит к выводу, что в фотосинтезирующих клетках растений образуются два изотопноразличающихся углеродных фонда — ассимиляционный, обогащенный изотопом ^{12}C , и фотодыхательный, обогащенный изотопом ^{13}C . Благодаря строгой временной и пространственной организации метаболизма клетки заметного перемешивания потоков в клетке не происходит, и поэтому метаболиты, связанные с этими фондами, сохраняют унаследованные изотопные различия.

Таким образом, мы можем обосновать вывод относительно наблюдаемой разницы в изотопном составе углерода водорастворимой и водонерастворимой фракций биомассы листа ряда растений (табл. 2), которая не зависит от режима освещения.

Действительно, из биохимии растений известно, что водорастворимая фракция биомассы, в основном, состоит из водорастворимых углеводов. Основной структурной единицей синтеза практически всех углеводов в клетке является Г6Ф (Бернфельд, 1965). Глюкозо-6-фосфат образуется как в цикле Кальвина–Бенсона, так и в гликолатном цикле. В первом случае углеродный поток образует ассимиляционный фонд, обогащенный ^{12}C . Во втором случае углеродный поток

образует фотодыхательный фонд, углерод которого обогащен ^{13}C .

Водонерастворимая фракция включает такие компоненты, как лигнины, дипиды, белки, синтез которых связан с ассимиляционным фондом (Бернфельд, 1965)). Они используются на синтез волокна, стенок сосудов, эпидермиса, хлорофилла. Хотя не исключено, что углерод фотодыхательного фонда также может принимать участие в образовании водонерастворимой части, но доля углерода, из ассимиляционного фонда в ней будет гораздо выше. Таким образом, даже простой анализ показывает, что причиной изотопной утяжеленности водорастворимой фракции биомассы, по сравнению с водонерастворимой, является их связь с ассимиляционным и фотодыхательным фондами, возникающими при фотосинтезе.

В результате проведенного анализа можно сделать и другой важный вывод. Поскольку водорастворимые углеводы и, в первую очередь, сахара, являются основными транспортными агентами в растениях (Курсанов, 1976), то обогащенность сахарозы ^{13}C должна проявиться и при донорно-акцепторных отношениях в растениях при движении ассимилятов от листа к цветку (плоду).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эксперименты с различным набором длин волн падающего света показали их различное влияние на изотопный состав углерода биомассы листьев: наблюдаются отклонения по сравнению с изотопным составом углерода в контрольном опыте с комбинированным набором длин волн (при освещении “белым” светом). Наиболее сильное влияние противоположного знака оказывают монохроматические

синий и красный свет. Обработка растения синим светом при 6-часовом освещении привела к изотопному сдвигу в сторону обогащения биомассы “легким” изотопом ^{12}C относительно контрольного опыта на -2.56% , тогда как обработка растения красным светом при 6-часовом освещении привела к изотопному сдвигу в сторону обогащения биомассы “тяжелым” изотопом ^{13}C относительно контрольного опыта на $+2.34\%$. Примечательно, что указанные длины волн испытывают наибольшее поглощение при фотосинтезе.

Анализ изотопных смещений общего углерода в темновой и световой периоды позволяет заключить, что обогащенность углерода биомассы листа в темновой период изотопом ^{12}C является следствием потери изотопа ^{13}C при темновом дыхании в результате преимущественного выброса $^{13}\text{CO}_2$.

Показано, что в рамках предложенного ранее осцилляционного механизма фотосинтеза в процессе ассимиляции CO_2 возникают два углеродных фонда — ассимиляционный, обогащенный изотопом ^{12}C , и фотодыхательный, обогащенный изотопом ^{13}C . В рамках этих представлений наблюдаемая обогащенность углерода водорастворимой фракции биомассы листа изотопом ^{13}C относительно углерода водонерастворимой фракции объясняется тем, что синтез большинства компонентов водорастворимой фракции листа связан с фотодыхательным фондом клетки, тогда как синтез большинства компонентов водорастворимой фракции связан с ассимиляционным фондом клетки. Сделанное утверждение основывается на известной биохимии растительной клетки.

Реальный метаболизм отличается от модельного динамикой процесса, которая соответствует меняющемуся во времени функциональному состоянию организма. То же справедливо и для рассмотрения изменения изотопных сдвигов углерода биомассы. В подтверждение сказанного в следующей работе мы рассмотрим изотопные сдвиги углерода биомассы на стадии цветения и бутонизации.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022 от 16 ноября 2020 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня “Агротехнологии будущего”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бернфельд П. Биогенез углеводов // Биогенез природных соединений / Под ред. Гиномана Л.М. М.: Мир, 1965. С. 207–289.

Ивлев А.А. О потоках “легкого” и “тяжелого” углерода при сопряжении фотосинтеза и фотодыхания // Физиология растений. 1993. Т. 40. С. 872–880.

Ивлев А.А. О дискретности процесса ассимиляции CO_2 на свету C_3 -растениями // Биофизика. 1989. Т. 34. Вып. 5. С. 887–891.

Ивлев А.А., Тараканов И.Г. Интерпретация суточных вариаций изотопных характеристик углерода растений в рамках осцилляционной концепции фотосинтеза на примере клеверины (*Ricinus communis* L.). // Известия ТСХА. 2013. Вып. 1. С. 36–46.

Курсанов А.А. Транспорт ассимилятов в растении. М.: Наука, 1976. 644 с.

Craig H. Carbon-13 in plants and relation ships between carbon-13 and carbon-14 variations in nature // J. Geology 1954. V. 62. № 2. P. 53–92.

Degens E.T. Biogeochemistry of Stable Carbon Isotopes // Organic Geochemistry / Eds. G. Eglinton and M.T.J. Murphy. Berlin, N.Y.: Springer-Verlag, 1969. Ch. 7. P. 207–226.

Dubinsky A.Yu., Ivlev A.A. Computational analysis of the possibility of the oscillatory dynamics in the processes of CO_2 assimilation and photorespiration // Biosystems 2011. V. 103. P. 285–290.
<https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2010.11.003>

Igamberdiev A.U., Mikkelsen T.N., Ambus P., Bauwe H., Lea P.J., Gardeström P. Photorespiration contributes to stomatal regulation and carbon isotope fractionation: a study with barley, potato and *Arabidopsis* plants deficient in glycine decarboxylase // Photosynthesis Research. 2004. V. 81. P. 139–152.

Igamberdiev A.U., Ivlev A.A., Bykova N.V., Threlkeld Ch., Lea P.J., Gardeström P. Decarboxylation of glycine contributes to carbon isotope fractionation in photosynthetic organisms // Photosynthesis Research. 2001. V. 67. P. 177–184.

Igamberdiev A.U., Roussel M.R. Feedforward non-Michaelis mechanism for CO_2 uptake by Rubisco: Contribution of carbonic anhydrases and photorespiration to optimization of photosynthetic carbon assimilation // BioSystems. 2013. V. 107 P. 158–166.

Ivlev A.A. Oscillatory nature of metabolism and carbon isotope distribution in photosynthesizing cells Oscillatory nature of metabolism and carbon isotope distribution in photosynthesizing cells // Photosynthesis — fundamental aspects / Ed. Najafpour M.M. Intech Publishers. Croatia. 2012. P. 341–366.

Gessler A., Tcherkez G., Peuke A.D., Ghashghaie J.G., Farquhar G.D. Experimental evidence for diel variations of the carbon isotope composition in leaf, stem and phloem sap organic matter in *Ricinus communis* // Plant, Cell Environ. 2008. V. 31. P. 941–953.

O’Leary M.H. Carbon isotope fractionation in plants // Phytochemistry. 1981. V. 20. P. 553–567.

Roussel M.R., Ivlev A.A., Igamberdiev A.Y. Oscillations of the internal CO_2 concentration in tobacco leaves transferred to low CO_2 // J. Plant Physiol. 2007. V. 164. P. 1188–1196.

- Roussel M.R., Igamberdiev A.Y. Dynamics and mechanisms of oscillatory photosynthesis // *BioSystems*. 2011. V. 103. № 2. P. 230–238.
- Sackett W.M., Eckelmann W.R., Bender M.M., Be A.W.H. Temperature dependence of carbon isotope composition in marine plankton and sediments // *Science*. 1965. V. 148. P. 235–237.
- Smith B.N., Oliver J., McMillan C. Influence of carbon source, oxygen concentration, light intensity and temperature on $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in plant tissue // *Bot. Gaz.* 1976. V. 137. № 2. P. 99–104.
- Tarakanov I.G., Tovstyko D.A., Lomakin M.P., Shmakov A.S., Sleptsov N.N., Shmarev A.N., Litvinskiy V.A., Ivlev A.A. Effects of light spectral quality on the photosynthetic activity, biomass production, and carbon isotope fractionation in lettuce *Lactuca sativa* L., plants// *Plants*. 2022. V. 11. P. 441.
<https://doi.org/10.3390/plants11030441>

On the Influence of Wavelengths of Different Ranges of Photosynthetically Active Radiation on the Carbon Isotope Composition of Plant Biomass and Its Fractions (Using as the Example Lettuce (*Lactuca sativa* L.) of the Aficion Variety)

A. A. Ivlev^{1, #}, D. A. Tovstyko¹, M. P. Lomakin¹, A. S. Shmakov¹, N. N. Sleptsov¹, V. A. Litvinsky², N. M. Prjevalsky¹, and I. G. Tarakanov¹

¹Russian State Agrarian University – Moscow Agricultural Academy of K.A. Timiryazev, Timiryazevskaya str., 49, Moscow, 127434 Russia

²Paleontological Institute of A.A. Borisyak, RAS, Trade Union str., 123, Moscow 117647 Russia

[#]e-mail: aa.ivlev@list.ru

The influence of incident wavelengths of four ranges: short-wave red (623–641 nm), long-wave red (646–667 nm), far red (727–751 nm) and blue (452–477 nm) on the carbon isotopic composition of lettuce biomass (*Lactuca sativa* L.) of the Aficion variety was studied. Lettuce was grown in climatic chambers, lighting was provided by irradiators based on narrow-band LEDs. Monochromatic blue and red light have the strongest multidirectional influence. Radiation from the blue range shifts the carbon isotopic composition of lettuce biomass towards enrichment in ^{12}C . Radiation from the red range shifts the carbon isotopic composition of lettuce biomass towards enrichment in ^{13}C . Based on the previously developed model of carbon isotope fractionation in a photosynthesizing cell, carbon isotopic shifts of plant leaf biomass were analyzed. It is shown that in the dark period the biomass is enriched in ^{12}C . This is a consequence of dark respiration, during which the plant loses CO_2 enriched in ^{13}C . It is shown that the reason for the observed isotopic differences between the water-soluble and water-insoluble fractions of the leaf biomass is a result of the different participation of the assimilatory carbon flux, enriched in ^{12}C , and the photorespiratory carbon flux, enriched in ^{13}C , in the formation of these fractions during photosynthesis.

Keywords: optical radiation wavelength, illumination mode, carbon isotope fractionation, photosynthesis, photoassimilatory and photorespiratory carbon fluxes, Rubisco – the key enzyme of photosynthesis

УДК 598.2:576.895.1

ЖИЗНЕННЫЕ ЦИКЛЫ ЛЕГОЧНЫХ ГЕЛЬМИНТОВ НАЗЕМНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ

© 2023 г. С. О. Мовсесян*, **, @, М. А. Никогосян**, Р. А. Петросян**, Н. Б. Теренина*,
М. С. Панайотова-Пенчева***, А. В. Демяшкевич****, М. В. Воронин*,
Д. Н. Кузнецов*, М. В. Варданян**

*Центр Паразитологии Института Проблем Экологии и Эволюции им. А.Н. Северцова РАН,
Ленинский пр., 33, Москва, 119071 Россия

**Институт Зоологии Научного Центра зоологии и гидроэкологии НАН РА,
ул. П. Севака, 7, Ереван, 0014 Армения

***Институт экспериментальной морфологии, патологии и антропологии с музеем БАН,
ул. академика Г. Бончева, 25, София, 1113 Болгария

****Институт паразитологии им. В. Стефанского ПАН, ул. Тварда, 51/55, Варшава, 00-818 Польша
@E-mail: movsesyan@list.ru

Поступила в редакцию 15.11.2022 г.

После доработки 02.02.2023 г.

Принята к публикации 01.03.2023 г.

Работа представляет собой результат многолетних исследований авторов с привлечением анализа литературы. Для установления биоразнообразия легочных гельминтов обследовались 7 видов позвоночных по Армении, 13 – России, 7 – Болгарии и 10 – Польше, а также беспозвоночные, в основном, наземные моллюски. Были выделены три типа развития, характерные для легочных гельминтов. 1 – нематоды сем. Dictyocaulidae, развитие которых происходит прямым путем, без участия промежуточных хозяев. К этому типу относятся геогельминты, моноксенный тип развития. 2 – нематоды, жизненные циклы которых протекают с участием промежуточных хозяев, в основном, наземных моллюсков. К этому типу относятся виды сем. Protostrongylidae – биогельминты, диксенный тип. 3 – жизненные циклы протекают также с участием промежуточных хозяев, но это – позвоночные. К этому типу отнесены цестоды *Echinococcus granulosus* и *Alveococcus multilocularis*, т.е. биогельминты, диксенный тип.

Ключевые слова: легочные гельминты, жизненные циклы, типология, окончательные хозяева, промежуточные хозяева

DOI: 10.31857/S102634702260114X, EDN: WMGXRA

Результаты наших исследований биологического разнообразия легочных гельминтов животных и человека ранее частично публиковались в статьях по разным аспектам биоразнообразия этих гельминтов и вызываемых ими заболеваний. Так, в работах (Movsesyan *et al.*, 2014, Movsesyan, 2015) приводятся данные о характере зараженности овец протостронгидами в Армении в зависимости от природных ландшафтно-климатических зон. Также было установлено, что для всех природных зон Армении широко распространены протостронгилез, мюллерииоз, цистокаулез, причем в 25% случаев протостронгилеза приводят к ассоциированным легочным инфекциям (Мовсесян и др., 2009). Материалы по жизненным циклам протостронгилей представлены в работах (Мовсесян и др., 2010; Панайотова-Пенчева,

Мовсесян, 2012; Панайотова-Пенчева и др., 2012; Movsesyan *et al.*, 2016), где показана, в частности, роль многих видов наземных моллюсков в качестве промежуточных хозяев этих нематод.

В настоящей работе приведены сведения о жизненных циклах легочных гельминтов, основанные на результатах многолетних исследований авторов в Армении, Болгарии, Польше, России и анализе литературных данных. Как показано в предыдущем исследовании (Movsesyan *et al.*, 2021), обследованию на инвазированность легочными гельминтами были подвергнуты 16 видов млекопитающих, принадлежащих к Cervidae (6 видов), Bovidae (9), Leporidae (1). Из них 13 видов обследовано в Европейской части России, 7 в Болгарии, 10 в Польше и 7 в Армении. У этих животных были выявлены 29 видов гельминтов, в

том числе Dictyocaulidae (5 видов), Protostrongylidae (22), Taeniidae (2).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гельминтологический материал собирался от млекопитающих семейств Cervidae, Bovidae, Leporidae из Армении, Болгарии, Польши и южных регионов европейской части России и подвергался камеральной обработке общепринятыми в гельминтологии методами.

Для выявления личинок нематод в фекалиях использовали методы Вайда и Бояхчяна. Суть метода Вайда (Vajda, 1922 из Скрябин, Шульц, 1940), общепринятого в гельминтологии, заключалась в следующем: несколько свежих (не более 6 часов) фекальных катышков помещались в чашку Петри или часовое стекло, добавлялась вода, и через 5–10 мин катышки убирались, а оставшаяся жидкость помещалась под бинокляр для поиска вышедших личинок нематод. Метод, разработанный Бояхчяном (2007), заключался в следующем: брались 3–4 катышка фекалий, помещались в небольшие (20–30 см³) стеклянные или пластиковые флаконы с водой и закрывались. Флаконы с пробами выдерживались так на протяжении 3 часов без встряхивания. За это время личинки нематод выходили из фекалий в воду. Для сохранения личинок жидкость переносилась из флакона в такой же с 5–10 мл 10% формалина, а фекалии выкидывались. Флаконы затем плотно закрывались. В таком виде они могли храниться на протяжении долгого времени. Приготовленные таким образом пробы перевозились в лабораторию для микроскопического исследования.

Для обнаружения мелких, плохо различимых червей в бронхиолах и альвеолах использовался метод, разработанный Панайотовой-Пенчевой (Panayotova-Pencheva, 2011b). Отбирались фрагменты поврежденных легочных тканей в 1–2 см³ и кипятились на водяной бане при 100°C на протяжении 1.4 ч в 40% молочной кислоте. После этого мелкие (2–3 мм) фрагменты раздавливались между покровными стеклами и просматривались под микроскопом при увеличении 60, 160 и 400× для изучения таких структур как спиккулы.

Для определения видов моллюсков использовались фундаментальные монографии (Лихарев, Раммельмайер, 1952; Damianov, Likharev, 1975; Акрамовский, 1976; Сысоев, Шилейко, 2009). Для установления инвазированности промежуточных хозяев протостронгилид — наземных моллюсков, они собирались в основном в весенне-осенний период. Отделенные от тела моллюска ноги помещали между двумя предметными стеклами и раздавливали, а затем этот материал просматривали под микроскопом. При этом для диагностирования вида протостронгилид использовали только инвазионные

личинки, дифференциация которых более достоверна, чем неинвазионных.

Инвазированность моллюсков в основном была выявлена в природных условиях, в некоторых случаях были поставлены специальные опыты по их искусственному заражению:

В качестве источника заражения использовались отдельные пробы фекалий овец, коз и оленей. Часть пробы обследовалась на присутствие активных личинок первой стадии (L1), определялась интенсивность инвазии по Берману (Вагманн, 1917). Идентификация личинок проводилась в соответствии с монографиями Боева (1975) и Контримавичюса и др. (1976). Для заражения использовались только пробы фекалий с высокой интенсивностью инвазии. Наземные моллюски заражались путем прямого контакта с катышками фекалий. Заражаемый моллюск помещался в кристаллизатор, по дну которого была распределена фекальная масса с личинками L1 исследуемого рода нематод. Моллюски держались на фекалиях на протяжении полутора часов. В это время они активировались путем spraysивания водой, нагретой до +40°C. Зараженные моллюски содержались в стеклянных аквариумах с почвой, в которых поддерживалась высокая влажность за счет впрыскивания воды, при температуре +20...+25°C, кормились травой и двудольными растениями. Заражение пресноводных моллюсков проводилось по методу Урбана (Urban, 1980).

Личинки эхинококков и альвеококков легко обнаружимы при вскрытии зараженных органов (легких) по присутствию пузырьков (цист). Их видовая принадлежность определялись согласно монографии Абуладзе (1964).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как указано выше, всего на заражение легочными гельминтами обследовались 16 видов млекопитающих. Жвачные из семейств Bovidae и Cervidae в основном несли смешанную инвазию нематодами. Это указывает на широкую восприимчивость жвачных к протостронгилидам. В то же время, режим пастбы и питания также влияют на зараженность этих животных. Другие обследованные млекопитающие — семейство Leporidae — были заражены только одним видом легочных гельминтов, *Protostrongylus tauricus*.

По литературным данным (Фертиков и др., 1999; Самойловская, 2010) у диких копытных встречаются следующие виды легочных гельминтов:

у *Alces alces* — *Dictyocaulus filaria*, *D. viviparus*, *Muellerius capillaris*, *Elaphostrongylus cervi*, *Elaphostrongylus alcis*, *Varestrongylus capreoli*;

у *Cervus dama* (= *Dama dama*) — *D. filaria*, *D. viviparus*, *Varestrongylus saggittatus*;

у *Cervus nippon* — *D. filaria*, *D. viviparus*, *E. cervi*, *V. saggittatus*, *Muellerius capillaris*;

Таблица 1. Список видов дефинитивных хозяев легочных нематод

Вид хозяев	Россия	Армения	Болгария	Польша	Виды нематод
Order Artiodactyla					
Suborder Ruminantia					
Family Cervidae					
<i>Dama dama</i>	+	—	+	+	<i>Varestrongylus sagittatus</i> ; <i>D. filaria</i> ; <i>D. viviparus</i> ; <i>D. eckerti</i>
<i>Cervus nippon</i>	+	—	—	—	<i>E. cervi</i> ; <i>V. sagittatus</i> ; <i>D. filaria</i> ; <i>D. viviparus</i> ; <i>M. capillaris</i>
<i>C. elaphus</i>	+	—	+	+	<i>V. sagittatus</i> ; <i>E. cervi</i> ; <i>Dictyocaulus eckerti</i> ; <i>D. filaria</i> ; <i>D. viviparus</i>
<i>C. elaphus sibiricus</i>	+	—	—	—	<i>Varestrongylus capreoli</i> ; <i>V. sagittatus</i> ; <i>E. cervi</i>
<i>Capreolus capreolus</i>	+	—	—	+	<i>Varestrongylus capreoli</i> ; <i>Muellerius capillaris</i> ; <i>Dictyocaulus capreolus</i> ; <i>D. viviparus</i>
<i>Alces alces</i>	+	—	—	+	<i>E. cervi</i> ; <i>E. alcis</i> ; <i>V. capreoli</i> ; <i>Muellerius capillaris</i> ; <i>D. capreolus</i> ; <i>D. filaria</i> ; <i>D. viviparus</i>
Fam. Bovidae					
<i>Bison bonasus</i>	—	—	—	+	<i>Dictyocaulus viviparus</i>
<i>Bos taurus</i>	+	+	—	+	<i>Dictyocaulus viviparus</i>
<i>Rupicapra rupicapra</i>	+	—	+	—	<i>P. hobmaieri</i> ; <i>P. rupicaprae</i> ; <i>M. capillaris</i> ; <i>M. tenuispiculatus</i> ; <i>N. linearis</i>
<i>Capra aegagrus</i>	+	+	—	—	<i>P. muraschkinzewi</i> ; <i>P. rufescens</i> ; <i>M. capillaris</i> ; <i>C. ocreatus</i>
<i>Ovis ammon</i>	+	+	—	—	<i>P. davtianii</i> ; <i>P. hobmaieri</i> ; <i>P. raillietii</i> ; <i>C. ocreatus</i>
<i>Ovis musimon</i> / <i>Mouflon musimon</i>	—	—	+	+	<i>P. davtianii</i> ; <i>P. hobmaieri</i> ; <i>P. raillietii</i> ; <i>P. rufescens</i> ; <i>M. capillaris</i> ; <i>V. capreoli</i>
<i>Ovis ophion armeniana</i>	—	+	—	—	<i>P. davtianii</i> ; <i>P. muraschkinzewi</i> ; <i>C. ocreatus</i>
<i>Ovis aries</i> / <i>Ovis amm on. dom.</i>	+	+	+	+	<i>M. capillaris</i> ; <i>C. ocreatus</i> ; <i>N. linearis</i> ; <i>P. brevispiculum</i> ; <i>P. rufescens</i> ; <i>P. hobmaieri</i> ; <i>D. filaria</i>
<i>Capra hircus</i>	+	+	+	+	<i>M. capillaris</i> ; <i>N. linearis</i> ; <i>P. rufescens</i> ; <i>P. hobmaieri</i> ; <i>D. filaria</i>
Order Lagomorpha					
Family Leporidae					
<i>Lepus europeus</i>	+	—	+	—	<i>P. tauricus</i>
Всего 16 видов	13	6	7	9	

у *Capreolus capreolus* — *D. viviparus*, *M. capillaris*, *V. capreoli*;

у *Cervus elaphus* — *D. viviparus*, *E. cervi*, *V. capreoli*, *V. sagittatus*.

Общий список видов хозяев по изученным странам представлен в табл. 1.

Из группы легочных гельминтов, жизненные циклы которых протекают прямым путем, без участия промежуточных хозяев (геогельминтов) в вышеуказанных регионах были выявлены 5 видов: *D. filaria* (Rudolphi 1809); *D. viviparus* (Bloch 1782); *D. capreolus* Gibbons, Høglund 2002; *D. eckerti* Skrjabin 1931; *D. cervi* Pyziel et al., 2017.

В условиях Армении жизненные циклы *D. filaria* и *D. viviparus*, по данным Бояхчяна (2010) происходят следующим образом (рис. 1а): самки

диктиокаул после оплодотворения откладывают яйца, которые с мокротой попадают в ротовую полость хозяина и проглатываются со слюной. В пищеварительном тракте, в основном, в толстом отделе кишечника, из яиц выходят личинки 1-й стадии, которые с фекалиями животных выделяются во внешнюю среду. Во внешней среде личинки диктиокаул при температуре от +25 до +30°C совершают две линьки и достигают инвазионной стадии. Инвазионные личинки легко переносят высушивание в течение 1 мес. и замораживание в течение 15 сут, но при температуре +60°C они погибают.

Заражение животных происходит перорально при заглатывании вместе с травой или водой инвазионных личинок. Попав в кишечник дефини-

(a)

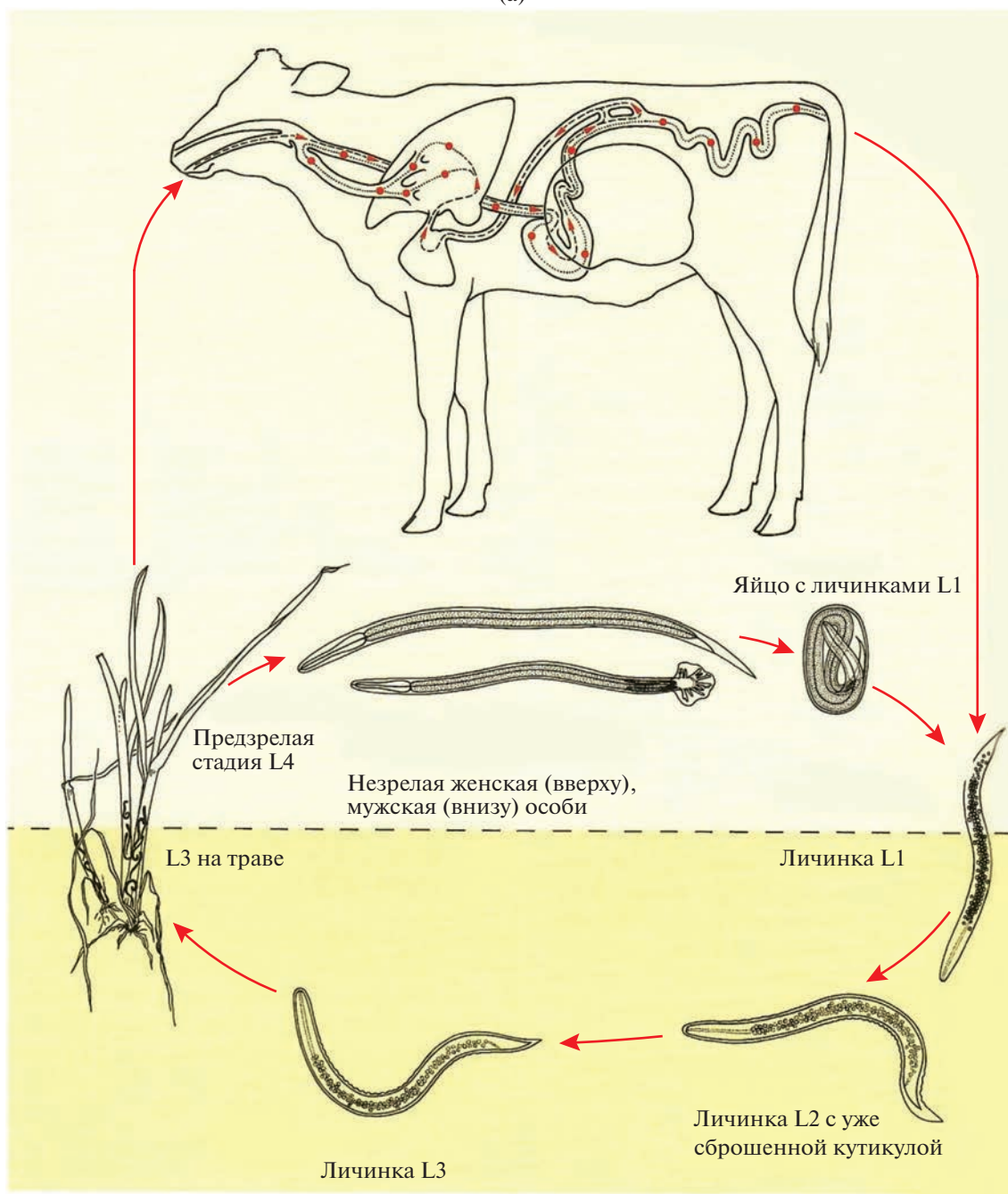


Рис. 1. Схемы жизненных циклов диктиокаула (a) и протостронгилид (б), по (Deplazes *et al.*, 2020).

тивного хозяина, инвазионные личинки диктиокаула проникают в стенку кишечника, затем в мезентериальные лимфатические сосуды и узлы, где совершают еще две линьки, лимфогенным путем личинки заносятся в правое предсердие и через легочную артерию — в легкие. В легких личинки разрывают стенки капилляров и проникают в просвет бронхов.

Личинки достигают половой зрелости в среднем через 1 месяц после заражения. Продолжи-

тельность паразитирования диктиокаула в организме хозяев варьирует от нескольких месяцев до 1.5–3 лет. По данным Галли (Gallie, Nunns, 1976), развитие личинок диктиокаула от L-1 до L-3 в условиях Северовосточной части Англии продолжалось в течение 4–9 дней в конце весны и летом, 1.5–4 нед. осенью и 5.5–7 нед. зимой.

В Польше показано, что свободноживущие личинки *D. eckerti* линяют дважды и достигают

(6)

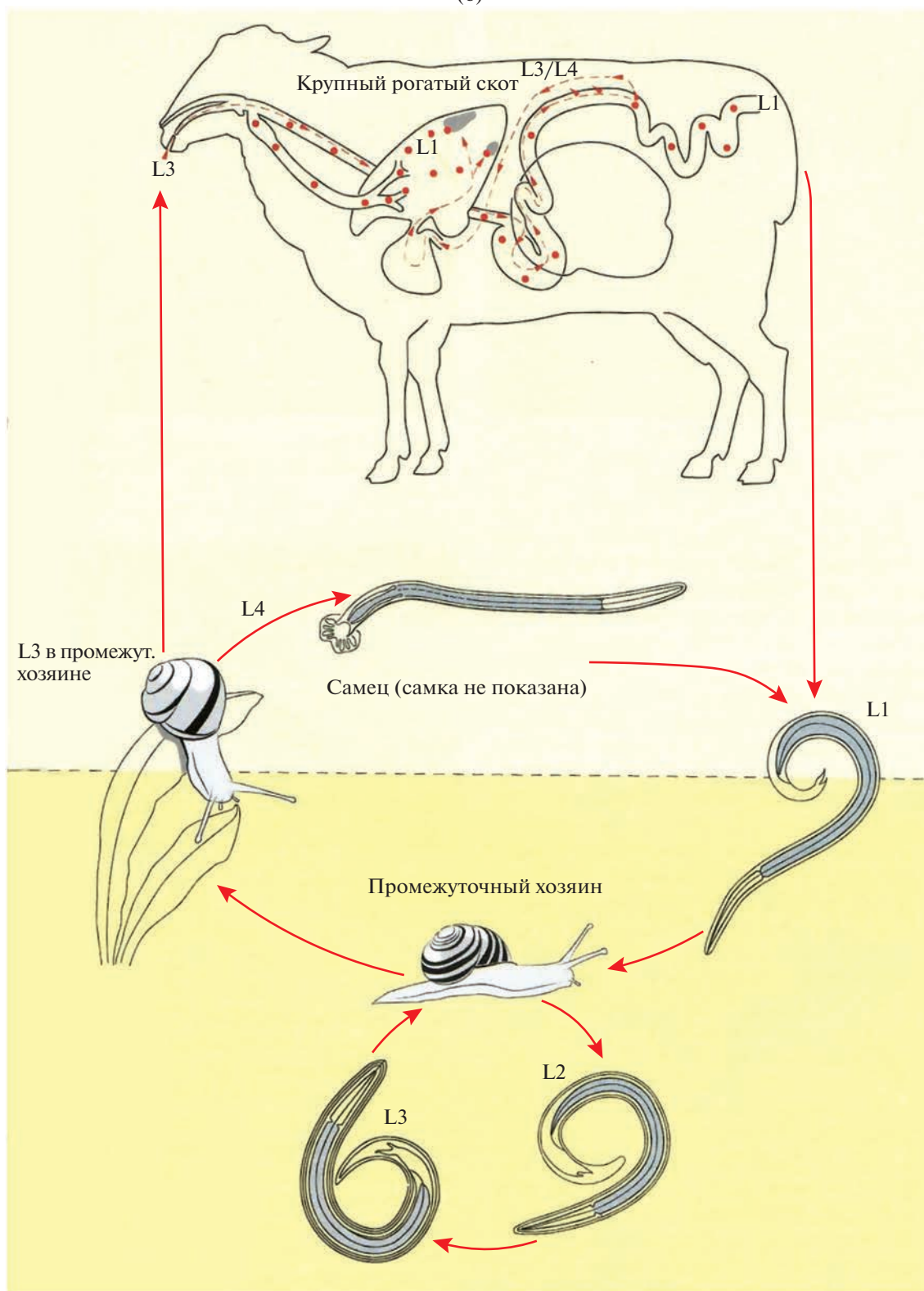


Рис. 1. Окончание.

зрелости в течение 20 дней при +5°C и 4 дней при +30°C (Demiaszkiewicz, 2005).

В обследованных нами регионах — было выявлено 20 видов семейства Protostrongylidae Leiper 1926, в том числе в Армении 8 видов, в Болгарии 12, Польше 14 и в Европейской части России 19 видов. Обзор жизненных циклов протостронгилид (рис. 16) приведен в докторских диссертациях Бояхчяна (2010) и Гадаева (2020). В этих обзорах указываются следующие особенности жизненных циклов этих нематод. Они являются яйцекладущими нематодами, и из яиц, отложенных ими в легких хозяев, выходят личинки 1-й стадии, которые при кашле со слюной попадают в ротовую полость, затем проглатываются и через желудочно-кишечный тракт выделяются с фекалиями во внешнюю среду. Дальнейшее развитие этих личинок 1-й стадии возможно лишь при попадании в организм промежуточного хозяина, каковым являются наземные моллюски.

Личинки 1-й стадии протостронгилид проникают в ногу моллюска, как активно, так и при проглатывании моллюсками. В организме моллюска личинки дважды линяют, линька сопровождается отслоением кутикулы (чехликов). Эти личинки уже инвазионные и способны заражать definitive хозяина. В условиях Армении жизненные циклы протостронгилид были изучены Э.А. Давтяном в 1940–1950, анализ этих исследований был приведен в докторской диссертации Бояхчяна (2010) и в публикациях (Мовсесян и др., 2010; Панайотова-Пенчева и др., 2012).

В целом, в обследованных регионах установлено зараженность протостронгилидами 78 видов моллюсков, включая 50 видов из России, 39 из Армении, 21 из Болгарии и 30 из Польши. Список видов моллюсков-промежуточных хозяев протостронгилид приводится в табл. 2 (по Мовсесяну и др., 2010, с изменениями). Исследования в условиях Армении показывают, что наиболее зараженными являются 9 видов моллюсков (рис. 2), из которых наибольшую роль играют *Helicella derbentina*, *Napaeopsis hohenackeri*. Моллюски в условиях нагорий и низменностей Армении были заражены протостронгилидами с экстенсивностью 3.0–13.0% весной и +17.2...+22.2% в летне-осенний период. В Европейской части России (Калининградская, Тверская и Ярославская области) исследования наземных моллюсков И.Н. Трушиным (1972, 1973) показали инвазированность моллюсков *Bradybaena fruticum* и *Deroceras reticulatum* личинками *M. capillaris*, *Protostrongylus kochi* и других видов Protostrongylidae.

Работа В.П. Кротенкова (2006) была преимущественно посвящена экологическим и эпизоотологическим особенностям данной группы. Он установил, что в условиях различных биотопов в Смоленской области различные виды моллюсков — *B. fruticum* (=fruticus), *Clausila pumilia*

(=pomila), *Cochlicopa lubrica*, *Brion circumscriptus*, *Euomphalia strigella*, *Pseudotrachia rubiginosa*, *Oxyloma sarsi* (=Succinea sarsi), *Perforatella bidentata*, *Succinella* (=Succinea) *oblonga*, *Succinea putris*, *Loritoides nitidus*, *Helix pomatia*, *Trochulus* (=Trichia) *hispida*, *Macrogastra ventricosa* (=Iphigena ventricosa) — принимают участие в жизненном цикле легочной нематоды *M. capillaris*. Видами моллюсков-хозяев, общими для всех этих биотопов, являются *S. putris*, *B. fruticum* и *O. sarsi*. Также было установлено, что в луговых биотопах в течение сентября максимальной была экстенсивность инвазии *B. fruticum* — $17.0 \pm 1.8\%$, при интенсивности инвазии 26.0 ± 1.8 личинок на разных стадиях морфогенеза. Экспериментальное заражение моллюсков в лабораторных и полевых условиях показало 100% заражаемость с интенсивностью инвазии от 6.0 ± 0.3 до 48.0 ± 0.6 личинок на моллюска.

Х.Х. Гадаев в своих работах (2013, 2015, 2020) по Чеченской республике показал, что в результате проведенных исследований и ревизии списка наземных моллюсков на пастбищных биотопах и путях миграции жвачных животных установлено 37 видов наземных моллюсков, относящихся к 23 родам и 14 семействам, где плотность заселения по биотопам на м² составила по всем поясам в среднем 1.0–2.2 экз. Промежуточными хозяевами нематод р. *Protostrongylus* являются 26 видов моллюсков, регистрирующиеся в равнинном, предгорном поясах с конца марта по октябрь, которые инвазированы личинками нематод р. *Protostrongylus* в среднем от 1.0 до 34.4%, а по отдельным видам моллюсков доминируют максимальной степенью инвазированности в естественных пастбищах *Vertigo antivertigo* (ЭИ = 59.6%, ИИ = 16.1 ± 4.1), *Chondrula tridens* (ЭИ = 58.1%, ИИ = $7.3 \pm 1/4$), *Euomphalia strigella* (ЭИ = 57.3%, ИИ = 11.4 ± 1.9), *Pupilla muscorum* (ЭИ = 50.4%, ИИ = 10.2 ± 1.6).

В условиях лаборатории из 26 видов моллюсков, подвергнутых экспериментальному заражению личинками *Protostrongylus* spp., облигатными промежуточными хозяевами *Protostrongylus* spp. определены только 6 видов моллюсков (*Euomphalia strigella*, *Xerosectes crenimargo*, *P. muscorum*, *Ch. tridens*, *V. antivertigo*, *H. derbentina*). ЭИ была 86.0–95.1% при сроках развития до инвазионной стадии 15–30 сут.

Н. А. Самойловская (2010, 2013) указывает наличие 12 видов наземных моллюсков в Национальном парке “Лосинный остров” Московской области РФ, из которых инвазированными личинками протостронгилид оказались *Bradybaena fruticus* на 0.2% при интенсивности инвазии 13 экз. и *S. putris* — на 0.4% при ИИ 2–7 экз. Дальнейшие исследования показали зараженность следующих моллюсков *Varestrongylus* и *Muelleria*: *B. fruticum*, *S. putris*, *C. lubrica*, *Zonitoides nitidus* с ЭИ 0.3–0.4%, ИИ — 2–7 экз.

Таблица 2. Виды моллюсков-промежуточных хозяев Protostrongylidae в исследованных регионах (по Мовсесян и др., 2010, с дополнениями)

Виды моллюсков	Обнаружены			
	Россия	Армения	Болгария	Польша
<i>Arianta arbustorum</i> (= <i>Helicigona arbustorum</i>)	+		+	+
<i>Arion circumscriptus</i>	+			
<i>A. fasciatus</i>			+	
<i>A. subfuscus</i>				+
<i>A. vulgaris</i> (= <i>A. lucitanicus</i>)			+	
<i>Cepaea nemoralis</i>	+		+	+
<i>C. vindobonensis</i>	+		+	+
<i>Cerņuella virgata</i>			+	
<i>Chondrula tridens</i>		+		
<i>Clausilia pumila</i>	+			
<i>Cochlicopa lubrica</i>	+			
<i>Cochlodina laminata</i> (= <i>Marpessa laminata</i>)	+			
<i>Chilandon bicallosa</i>			+	
<i>Deroceras agreste</i>	+			
<i>D. caucasicum</i>		+		
<i>D. reticulatum</i>	+			+
<i>D. transcaucasicum</i>	+	+		
<i>D. turcicum</i>				
<i>Discus ruderatus</i> (= <i>Goniodiscus ruderatus</i>)	+		+	
<i>Eopolita derbentina</i> (= <i>Oxychilus derbentinus</i>)	+	+		
<i>Euconulus fulvus</i>		+		
<i>Euomphalia strigella</i>	+			
<i>Fruticicola fruticum</i> (= <i>Bradybaena fruticum</i>)	+		+	+
<i>Fruticocampylaea narzanensis</i>	+	+		
<i>Georginapaeus hohenackeri</i> (= <i>Napaeopsis hohenackeri</i>)	+	+	+	
<i>Geminula isseliana</i> (= <i>Jaminia isseliana</i>)		+		
<i>Gibbulinopsis signata</i> (= <i>Pupilla signata</i>)		+	+	
<i>Gigantolimax daghestanus</i> (= <i>Vitrinoides florenskii</i>)	+	+		
<i>Gigantolimax koenigi</i> (= <i>Vitrinoides koenigi</i>)		+		
<i>G. monticola</i> (= <i>Vitrinoides monticola</i>)	+	+		
<i>Helicella candicans</i> (= <i>Helicella obvia</i>)			+	+
<i>Helix pomatia</i>	+			+
<i>H. lucorum</i>		+		
<i>Hesseola solidior</i>		+		
<i>Improvisa pupoides</i> (= <i>Imparietula pupoides</i>)	+	+		
<i>Kalitinaia crenimargo</i> (= <i>Helicella crenimargo</i>)	+	+		
<i>Krynckillius melanocephalus</i> (= <i>Agriolimax melanocephalus</i>)	+	+		
<i>Lacinaria plicata</i>	+			
<i>Limax flavus</i>	+	+		
<i>Levantina escheriana</i>		+		
<i>Macrogastra ventricosa</i> (= <i>Iphigena ventricosa</i>)	+		+	
<i>Mardigera obscura</i> (= <i>Ena obscura</i>)	+	+		
<i>Monacha cartusiana</i>	+		+	
<i>Monacha fruticola</i>	+			
<i>Orculella bulgarica</i>			+	
<i>O. ruderalis</i>	+	+		
<i>Oxychilus glaber</i>			+	
<i>Oxyloma dunkeri</i> (= <i>Succinea hungarica</i>)	+		+	
<i>Oxyloma elegans</i> (= <i>Succinea elegans</i>)	+			
<i>O. sarsi</i> (= <i>Succinea sarsi</i>)	+		+	
<i>Oxychilus cellarius</i>				
<i>Perforatella bidentata</i> (= <i>Perforatella bidens</i>)	+			+
<i>Phenacolimax annularis</i>		+		
<i>Pomatis rivulare</i>				
<i>Pseudotrichia rubiginosa</i> (= <i>Zenobiella rubiginosa</i>)	+	+		
<i>Pupilla bipapulata</i>		+		
<i>P. inops</i>		+		

Таблица 2. Окончание

Виды моллюсков	Обнаружены			
	Россия	Армения	Болгария	Польша
<i>P. muscorum</i>	+	+		
<i>P. triplicata</i>		+		
<i>Pseudochondrula tetrodon</i> (= <i>Imparietula tetrodon</i>)		+		
<i>Pyramidula rupestris</i>	+	+	+	
<i>Spyradium doliolum</i> (= <i>Orcula doliolum</i>)	+	+		
<i>Stenophalia pisiformis</i> (= <i>Euomphalia pisiformis</i>)	+	+		
<i>S. selecta</i> (= <i>E. selecta</i>)	+	+		
<i>Succinea putris</i>	+	+		+
<i>Succinella oblonga</i> (= <i>Succinea oblonga</i>)	+			
<i>Trochulus hispidus</i> (= <i>Trichia hispida</i>)	+			+
<i>Truncatellina callicratis</i>	+	+		
<i>T. cylindrica</i>	+	+		
<i>Tandonia kusceri</i>			+	
<i>Vallonia pulchella</i>	+	+		
<i>V. costata</i>	+			
<i>Vertigo antvertigo</i>		+		
<i>Vitrea contortula</i>	+		+	
<i>Xeropicta derbentina</i> (= <i>Helicella derbentina</i>)	+	+		
<i>Zebrina detrita</i>	+			
<i>Zonitoides nitidus</i>	+	+		+
77	50	39	21	12

В Болгарии было экспериментально установлено, что моллюски видов *B. fruticum*, *Cepaea vindobonensis*, *Ch. tridens*, *Deroceras turcicum*, *H. pomatia*, *Monacha cartusiana*, *Tandonia kusceri* являются подходящими хозяевами нематод рода *Muellerius*, а виды *Arion lusitanicus*, *B. fruticum*, *C. vindobonensis*, *H. pomatia*, *M. cartusiana* — нематод рода *Elaphostrongylus* (Panayotova-Pencheva, 2011a).

М.С. Панайотовой-Пенчевой с соавт. (Panayotova-Pencheva et al., 2015) был поставлен интересный эксперимент по заражению моллюсков с целью установления восприимчивости их к повторному заражению. Так, четыре последовательных заражения моллюсков вида *H. pomatia* проводились каждые 14–20 дней. Через две недели после каждого заражения моллюски вскрывались для определения экстенсивности и интенсивности инвазии, стадии развития паразита. Результаты показывают, что моллюски остаются подвержены инвазии нематодами после нескольких циклов заражения. Однако количество личинок паразитов в третьем и четвертом циклах заражения были ниже, чем в первом и втором. Это показывает существование в моллюсках в условиях повторяющихся заражений механизмов ограничения экстенсивности инвазии протостронгидами. Эти эксперименты показывают сложность взаимоотношений внутри системы “паразит-хозяин”, для дальнейшего уточнения которых требуются дополнительные исследования.

В Болгарии естественная зараженность моллюсков изучалась в регионе Велико-Трново. Была обнаружена зараженность 3 видов моллюсков:

Helicella obvia, *M. cartusiana* и *B. fruticum*. Экстенсивность инвазии была наиболее высокой летом — 30–35%, довольно высокой весной — 24%, и ниже всего осенью — 8.6% (Panayotova-Pencheva, 2005).

Исследования роли моллюсков в жизненных циклах протостронгирид в Польше были начаты еще в 1938 и показали присутствие личинок *M. capillaris* в наземных моллюсках *H. pomatia* и *S. putris* (Sitowski, 1938). Из 365 моллюсков *H. obvia*, вскрытых в районе Люблин, только в 6 обнаружены личинки *P. rufescens*. В лабораторных условиях развитие *P. rufescens* и *M. capillaris* происходило в *H. obvia*, *S. putris* и *C. vindobonensis*, в то время как *M. capillaris* также развивалась в *H. pomatia* и *Helicigona arbustorum*. Развития в *Deroceras agreste* и *L. stagnalis* не происходило несмотря на то, что личинки *Muelleria* проникали в их ногу. Также не происходило развития в *G. truncatula* и *P. corneus* (Sołtys, 1964).

К. Здиловетски (Zdzitowiecki, 1976) экспериментально заражал 14 видов наземных и пресноводных моллюсков личинками *M. capillaris*. Подверженными заражению оказались: *L. stagnalis*, *Galba corvus*, *Radix peregra*, *Physa fontinalis*, *Planorbis planorbis*, *Planorbarius corneus*, *S. putris*, *D. reticulatum*, *B. fruticum*, *H. arbustorum*, *Cepaea nemoralis*, *Perforatella bidens*, *Trichia hispida*. Наивысшая интенсивность инвазии обнаружена у *C. nemoralis* (430 личинок) и *H. arbustorum* (423 личинок). Автор высказал точку зрения, что легочные моллюски можно также отнести к промежуточным хозяевам *M. capillaris*.

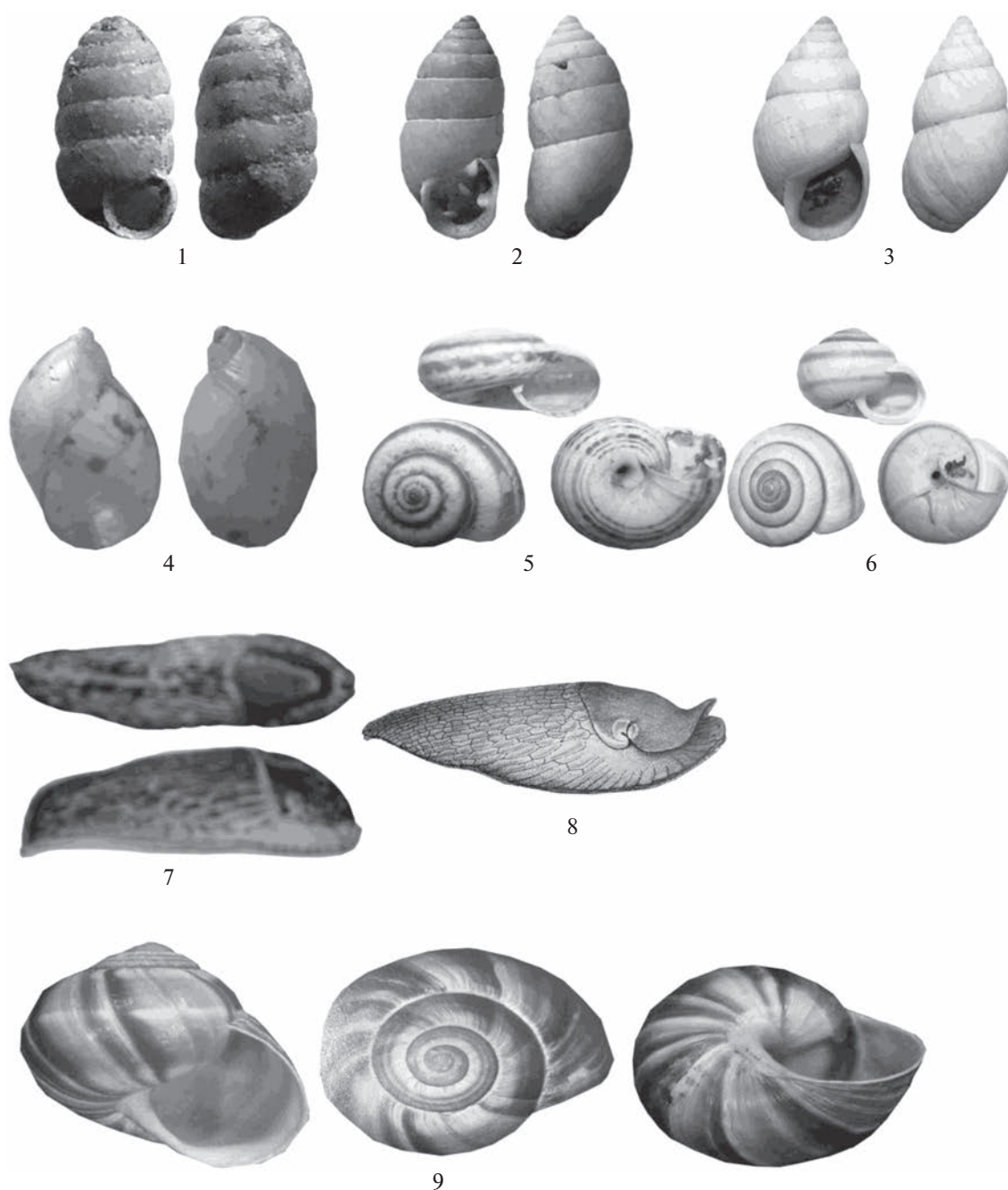


Рис. 2. Виды моллюсков, несущих основной поток инвазии протостронгидами, по (Мовсисяну и др., 2010). 1 – *Pupilla muscorum*; 2 – *Chondrula tridens*; 3 – *Napaeopsis hohenackeri*; 4 – *Succinea putris*; 5 – *Helicella derbentina*; 6 – *Hesseola solidior*; 7 – *Vitrinoides monticola*; 8 – *Deroceras caucasicum*; 9 – *Helix lucorum*.

В условиях Беловежской Пущи изучались моллюски *S. putris*, *B. fruticum*, *P. bidentata*, *Arion subfuscus* и *Z. nitidus*. Установлена их естественная зараженность *E. cervi* с ЭИ 6.6–27.4% (Demiaszkiewicz, 1987; Kuligowska, Demiaszkiewicz, 2010).

Из северных и южных районов Польши изучалась инвазированность следующих видов моллюсков: *S. putris*, *B. fruticum*, *P. bidentata*, *A. subfuscus*, *Z. nitidus* и *C. nemoralis*. У *S. putris* обнаружено

заражение *E. cervi* с ИИ до 150 личинок, *V. saginatus* – 41, *V. capreoli* – до 132, с ЭИ 23.5% для всех этих видов. Наибольшая зараженность выявлена в июне-июле. В одном случае моллюск *Z. nitidus* нес лишь одну личинку паразита. Другие виды моллюсков не были заражены (Misiewicz, Demiaszkiewicz, 1994).

При обследовании оленеводческой фермы в Косево обнаружена зараженность *S. putris* личин-

ками *E. cervi* и *Varestrongylus sagittatus* (Demiasz-kiewicz, Drózd, 1997).

При исследовании выживаемости личинок *M. capillaris* при различных температурах окружающей среды было установлено, что личинки этих нематод сохраняли выживаемость в фекалиях при температуре +18°C в течение 30 дней, в то время как 50% личинок, содержащихся в воде при +4...+20°C выживали в течение 28 дней. Также важен оказался возраст хозяина. Так, *M. capillaris* в фекалиях от молодых коз выживали при +18°C в течение 10 дней, а от старых — в течение 75 (Borecka, Gawor, 2001).

В Малопольском воеводстве (Подхале) промежуточными хозяевами протостронгирид в естественных условиях являются 6 видов моллюсков: *Deraceras reticulatus*, *D. agreste*, *A. subfuscus*, *Arion circumscriptus*, *Vallonia pulchella* и *Pupilla triplicata*. В том же районе 27 видов наземных и пресноводных моллюсков оказались восприимчивы к экспериментальному заражению протостронгидами: *S. putris*, *S. pfeiferi*, *S. oblonga*, *C. lubrica*, *C. edentula*, *Truncatellina cylindrica*, *V. antivertigo*, *Pupilla triplicata*, *Zenobiella incarnata*, *Zenobiella umbrosa*, *Trichia villosula*, *E. strigella*, *Helicigona faustina*, *Arianta arbustorum*, *Cepaea hortensis*, *H. pomatia*, *V. pulchella*, *Vallonia costata*, *Oxychilus cellarius*, *Z. snitidus*, *A. subfuscus*, *A. circumscriptus*, *D. reticulatum*,

D. agreste, *B. fruticum*, *H. obvia*, *Radix* (= *Lymnaea*) *peregra* (Urban, 1980).

Таким образом, в Польше промежуточными хозяевами протостронгирид являются 30 видов наземных моллюсков: *C. vindobonensis*, *C. nemoralis*, *T. hispida*, *S. putris*, *S. pfeiferi*, *S. oblonga*, *C. lubrica*, *C. edentula*, *T. cylindrica*, *V. antivertigo*, *P. triplicata*, *Z. incarnata*, *Z. umbrosa*, *T. villosula*, *E. strigella*, *H. faustina*, *A. arbustorum*, *C. hortensis*, *H. pomatia*, *V. pulchella*, *V. costata*, *O. cellarius*, *Z. nitidus*, *A. subfuscus*, *A. circumscriptus*, *D. reticulatum*, *D. agreste*, *B. fruticum*, *H. obvia*, *P. bidentata* и 6 видов пресноводных: *Lymnaea stagnalis*, *Galba* (= *Stagnicola*) *corvus*, *Radix* (= *Lymnaea*) *peregra*, *Ph. fontinalis*, *P. planorbis*, *P. s. corneus*.

Из группы биогельминтов, промежуточными хозяевами которых являются позвоночные животные, в обследованных регионах наиболее распространены оказались цестоды *Echinococcus granulosus* (повсеместно), а также *Alveococcus multilocularis* (рис. 3). Так, сведения по распространению и жизненным циклам *E. granulosus* в Армении приведены в монографии С.О. Мовсесян и др. (2006), диссертации А.Ш. Геворгян (2006). В работе Геворгян указано, что крупный рогатый скот на территории Армении был поражен цистными эхинококками на 49%, овцы и козы на 22%, свиньи на 15%.

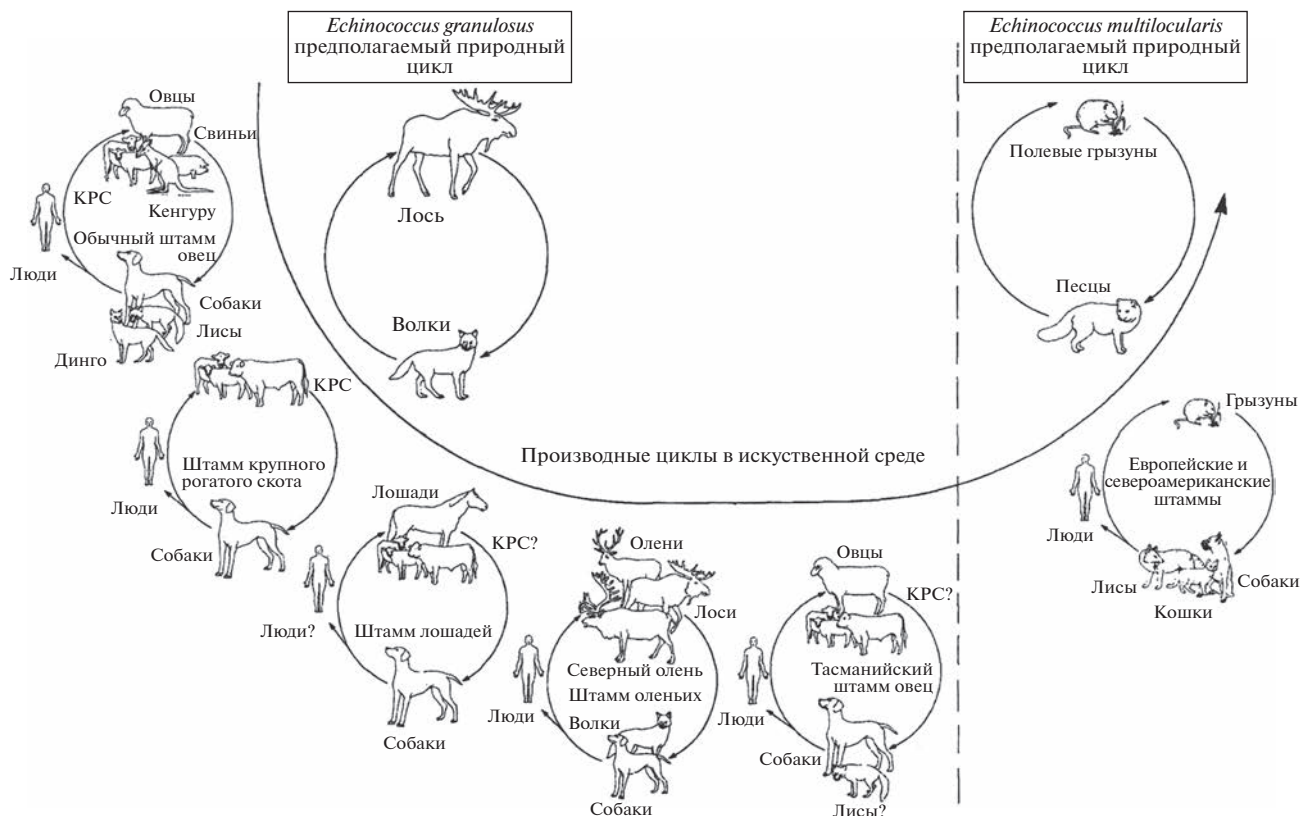


Рис. 3. Схемы жизненных циклов эхинококков и альвеококков по (Thompson, McManus, 2001).

Исследования среди населения Армении показали, что зараженность среди всех возрастных групп была выше всего у лиц 30–35 лет. Цисты эхинококков обнаруживались во всех органах, но легкие и печень были наиболее часто заражены, с частотой 42–43%. Альвеолярные эхинококки в Армении остаются не изученными.

Подробные сведения о распространении *E. granulosus* и *A. multilocularis* приведены в наших публикациях (Eckert *et al.*, 2001; Movsesyan *et al.*, 2021). В этих работах указаны повсеместное распространение *E. granulosus*, а для альвеококков — преимущественно в северных регионах РФ, но полноценное изучение альвеококка не проведено, поэтому мы предполагаем, что перспективные исследования пополнят регионы распространения альвеококка. В руководстве ВОЗ имеются данные по Болгарии и Польше (Eckert *et al.*, 2001). Так, в работе (Todorov, Boeva, 1997, 1999) указывалось, что в Болгарии для *E. granulosus* за 1983–1995 гг. выявлена инвазированность цистным эхинококком у овец на 32%, крупного рогатого скота на 19%, свиней на 1.5%, у человека на 100 000 населения было 3.3 случая.

В Польше цистный эхинококк выявлен у свиней от 0.4 до 1.2% (Gawog, 2016).

В этом же сборнике ВОЗ (Eckert *et al.*, 2001) указано, что исследования, проведенные Мальчевски (Malczewski *et al.*, 1999), за 1993–1998 гг. показали инвазированность лисиц зрелыми альвеококками на 2.6%. В то же время, более поздние исследования, проведенные Гавором с соавт. (Gawog *et al.*, 2008), показали инвазированность лисиц в северо-восточной, центральной и южной Польше от 13.59 до 39.6%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В регионах Армении, Болгарии, Польши и европейской части Российской Федерации заражение легочными гельминтами изучалось у 16 видов млекопитающих из семейств Cervidae (6 видов), Bovidae (9), Leporidae (1), включая 7 видов из Армении, 13 из России, 7 из Болгарии и 10 из Польши, а также у многих потенциальных хозяев-беспозвоночных, преимущественно легочных моллюсков. В них обнаружены 29 видов легочных гельминтов из семейств Dictyocaulidae (5 видов), Protostrongylidae (22), Taeniidae (2).

Общими для изучаемых территорий были следующие виды промежуточных хозяев-моллюсков: *Arianta arbustorum*, *Bradybaena fruticum*, *Cerpea nemoralis*, *C. vindobonensis*, *Georginapaeus* (= *Napaeopsis*) *hohenackeri*, *Pyramidula rupestris*, *Succinea putris*, *Vallonia pulchella*, *Zonitoides nitidus*. Продемонстрировано, что некоторые из этих видов играют важную роль для основного потока инвазии протостронгилидами.

Исходя из результатов многолетних исследований авторов настоящей статьи и литературных источников, мы подтверждаем предложенное нами ранее наличие трех типов жизненных циклов легочных гельминтов, на основе которых дана их биологическая классификация:

1. Жизненные циклы протекают без участия промежуточных хозяев, т.е., паразиты являются геогельминтами — моноксенны. Развитие по этому типу происходит у нематод сем. Dictyocaulidae.

2. Жизненные циклы происходят с участием промежуточных хозяев, каковыми являются беспозвоночные, принадлежащие, в основном, к наземным моллюскам. Развитие по этому типу происходит у нематод сем. Protostrongylidae. Диксенны, биогельминты.

3. Жизненные циклы происходят также с участием промежуточных хозяев, но в их качестве выступают позвоночные животные, т.е. диксенны, биогельминты. К этому типу относятся цестоды *E. granulosus* и *A. multilocularis* (Echinococcinae).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абуладзе К.И. Основы цестодологии, т. 4. Подотряд Taeniata. М.: Наука, 1964. С. 312–340.
- Акрамовский Н.Н. Фауна Республики Армения: Моллюски. Ереван: Армянская академия наук, 1976. 268 с.
- Боев С. Основы нематологии. Т. 25. Протостронгилиды. М.: Наука, 1975. 264 с.
- Бояхчян Г.А. Методы прижизненной диагностики гельминтозов овец и коз // Российский паразитологический журн. 2007. № 2. С. 122–124.
- Бояхчян Г.А. Легочные нематоды и нематодозы Армении: Дис. докт. биол. наук. Ереван: Институт зоологии НАН РА, 2010. С. 66–93.
- Гадаев Х.Х. Экологические основы формирования гельминтофауны диких животных // Российский паразитологический журн. 2013. № 1. С. 6–8.
- Гадаев Х.Х. Легочные стронгиляты в диких копытных Чеченской республики // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. М.: Наука, 2015. Вып. 15. С. 92–94.
- Гадаев Х.Х. Фауна легочных нематод и эпизоотология протостронгилоза жвачных животных в условиях Северо-Восточного Кавказа: Дис. докт. биол. наук. Грозный, 2020. 284 с.
- Геворгян А.Ш. Особенности распространения и биологии возбудителя цистного эхинококкоза (*Echinococcus granulosus* Batsch, 1786). Дис. канд. биол. наук. Ереван: Институт зоологии НАН РА, 2006.
- Контримавичюс В.Л., Делямур С.Л., Боев С.Н. Основы нематологии. Т. 26. Метастронгилоиды домашних и диких животных. М.: Наука, 1976. 237 с.
- Кротенков В.П. Эколого-эпизоотологические особенности и профилактика легочных нематодозов мелкого рогатого скота в Западном регионе РФ: Автореф. дис. докт. вет. наук. М., 2006. 40 с.

- Лихарев И.М., Раммельмейер Е.С. Наземные моллюски фауны СССР. М.—Ленинград: АН СССР, 1952. 512 с.
- Мовсесян С., Бояхчян Г., Арутюнова Л., Чубарян Ф., Петросян Р., Никогосян М. Протостронгилиды (Protostrongylidae) и вызываемые ими гельминтозы овец Армении // Российский паразитологический журн. 2009. № 4. С. 10—29.
- Мовсесян С.О., Бояхчян Г.А., Чубарян Ф.А., Петросян Р.А., Никогосян М.А., Арутюнова Л.Д., Панайотова-Пенчева М.С., Банков И., Демяшкевич А.В., Мальчевский А. Роль моллюсков в формировании биоразнообразия легочных нематод (Protostrongylidae) животных // Российский паразитологический журн. 2010. № 3. С. 43—60.
- Мовсесян С.О., Чубарян Ф.А., Никогосян М.А. Цестоды фауны юга Малого Кавказа. М.: Наука, 2006. 331 с.
- Панайотова-Пенчева М.С., Бояхчян Г.А., Байчева О., Мовсесян С.О. Протостронгилиды (биологические циклы, распространение, эпизоотология протостронгилидозов животных) // Труды Центра паразитологии. Т. 47: Морфология, систематика и экология паразитов. М.: Наука, 2012. С. 156—176.
- Панайотова-Пенчева М.С., Мовсесян С.О. Экспериментальные модели и методы в изучении жизненных циклов протостронгилид // Современные проблемы общей паразитологии. М.: Наука, 2012. С. 234—258.
- Самойловская Н.А. Экологический и эпизоотологический анализ паразитарных болезней диких жвачных Национального парка “Лосиный Остров”. Автореф. дис. канд. био. наук. М., 2010. 22 с.
- Самойловская Н.А. Фауна наземных моллюсков — промежуточных хозяев протостронгилид на природных территориях Центрального региона России // Российский паразитологический журн. 2013. № 1. С. 39—43.
- Скрябин К.И., Шульц Р.С. Основы общей гельминтологии. Т. 1. М.: Сельхозгиз, 1940. 470 с.
- Сысоев А., Шилейко А. Наземные моллюски и слизни России и сопредельных стран. София-М.: Пенсофт, 2009. 312 с.
- Трушин И.Н. О сезонной динамике инвазированности моллюска *Bradybaena fruticum* личинками мюллериев в Центральной нечерноземной зоне СССР // Труды Всесоюзного института гельминтологии. М.: Наука, 1972. вып. 19. С. 213—218.
- Трушин И.Н. Сезонная зараженность моллюсков *Dera-ceres reticulatus* личинками мюллериев в Ярославской области // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии. М.: Наука, 1973. вып. 10. С. 101—104.
- Фертиков В.И., Сонин М.Д., Рыковский А.С., Егоров А.Н. Гельминты диких копытных Национального парка Завидово и лесной зоны России. М., 1999. С. 46—53.
- Baermann G. Eine einfache Methode zur Auf?ndung von Ankylostomum (Nematoden) Larven in Erdproben // Tijdschr Diergeneesk. 1917. V. 57. P. 131—137.
- Borecka A., Gawor J. Influence of environmental factors and host on survival of first stage larvae of *Muellerius capillaris* // Wiadom. Parazytologiczne. 2001. V. 47. P. 769—773.
- Damianov S.G., Likharev I.M. Gastropoda terrestrial. Fauna of Bulgaria. V. 4. Sofia: Publishing house BAS, 1975. 426 p. (in Bulgarian).
- Demiaszkiewicz A.W. Some aspects of epizootology of elaphostrongylosis in red-deer in the Białowieża Forest // Medycyna Weterynaryjna. 1987. V. 43. P. 208—211.
- Demiaszkiewicz A.W. Helminty i wywoływane przez nie helmintozy dzikich przeżuwaczy // Kosmos. 2005. V. 266. P. 61—65.
- Demiaszkiewicz A.W., Drózd J. Occurrence of larvae of Protostrongylidae family in terrestrial snails on the area of deer farm in Kosewo // Wiadomości Parazytologiczne. 1997. V. 43. P. 431—434.
- Deplazes P., Joachim A., Mathis A., Strube Ch., Taubert A., von Samson-Himmelstjerna G., Zahner H. (ed. Eckert J.) Parasitologie für die Tiermedizin, 4 edition, Thieme. 2020. 687 p.
- Eckert J., Schatntz P.M., Gasser R.B., Torgerson P.R., Besonov A.S., Movsessian S.O., Nikogossian M.A. Geographic Distribution and Prevalence // WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern / Eds Eckert J., Gemmell M. F., Meslin F.-X., Pawłowski Z.S. Paris, France, 2001. P. 100—142.
- Gallie G.I., Nunns V.I. The bionomics of the free-living larvae and the transmission of *Dictyocaulus filaria* between lambs in North-East England // J. Helminthol. 1976. V. 50. № 2. P. 79—89.
- Gawor J. Cystic echinococcosis in humans and animals: Current epidemiological situation in Poland // Medycyna Weterynaryjna. 2016. V. 72. P. 666—670.
- Gawor J., Borecka A., Malczewski A. The infection of red foxes with *Echinococcus multilocularis* as potential risk for humans in Poland // Zycie weterynaryjne. 2008. V. 83 P. 24—27.
- Kuligowska I., Demiaszkiewicz A.W. Infection of terrestrial snails with larvae of *Elaphostrongylus cervi* (Nematoda, Protostrongylidae) in Białowieża National Park // Helminthologia. 2010. V. 47. P. 25—28.
- Malczewski A., Ramisz A., Rocki B., Bienko R., Balicka-Ramisz A., Eckert J. *Echinococcus multilocularis* in Red Foxes (*Vulpes vulpes*) in Poland: an Update of the Epidemiological Situation // Acta Parasitologica. 1999. V. 44. P. 68—72.
- Misiewicz I., Demiaszkiewicz A.W. Occurrence of larvae of Protostrongylidae family in terrestrial snails in the woods of Olsztyn and Silesian districts // Wiadomości Parazytologiczne. 1994. V. 40. P. 167—172.
- Movsesyan S. Lung helminths and helminthoses // BIT's 5th Annual World Congress of Microbes, July 31—August 2, Shanghai, China, 2015. P. 123.
- Movsesyan D., Boyakhchian G., Chubarian F., Nikogossian M., Petrosyan R., Arutyunova L., Gevorgyan H., Panayotova-Pencheva M., Demiaszkiewicz A., Voronin M. Biological classification of life cycles of lung helminths // Proceedings of the International Conference “Biological Diversity and Conservation Problems of the Fauna of the Caucasus — 2”, September 23—26, Yerevan, Armenia, 2014. P. 259—264.
- Movsesyan S.O., Nikogossian M.A., Petrosyan R.A., Terenina N.B., Panayotova-Pencheva M.S., Demiaszkiewicz A.W., Voronin M.V., Kuznetsov D.N. Biodiver-

- sity of lung helminths in terrestrial mammals from Eastern Europe // *Annals of Parasitology*. 2021. V. 67. № 4. P. 575–581.
- Movsesyan S.O., Panayotova-Pencheva M.S., Demiaszkiewicz A.W., Voronin M.V. Host-based formation of fauna of lung helminths, its biological and taxonomical classification // *Russian J. Parasitology*. 2016. V. 37. № 3. P. 346–369.
- Panayotova-Pencheva M. [Epidemiological studies on helminthoses in goats and sheep caused by Protostrongylidae Leiper, 1926] // *Veterinarski glasnik – Beograd*. 2005. V. 5/6. P. 619–633. (in Bulgarian)
- Panayotova-Pencheva M. Role of some snails species distributed in Bulgaria as intermediate hosts of small lungworms (Nematoda: Protostrongylidae) // *Comptes rendus de l'Academie Bulgare des Science*. 2011a. V. 64. № 3. P. 389–394.
- Panayotova-Pencheva M. Species composition and morphology of protostrongylids (Nematoda: Protostrongylidae) in ruminants from Bulgaria // *Parasitology Research*. 2011b. V. 109. № 4. P. 1015–1020.
- Panayotova-Pencheva M., Movsesyan S., Salkova D., Voronin M. Study of the susceptibility of *Helix pomatia* (Mollusca: Helicidae) to protostrongylids (Nematoda: Protostrongylidae) and multiple infection // *Russian J. parasitology*. 2015. № 3. P. 15–19.
- Pyziel A.M., Laskowski Z., Demiaszkiewicz A.W., Hoglund J. Phylogeny of *Dictyocaulus* spp. in wild ruminants with morphological description of *Dictyocaulus cervi* n. sp. (Nematoda: Trichostrongyloidea) from red deer, *Cervus elaphus* // *J. Parasitology*. 2017. V. 105. № 3. P. 506–518.
- Sitowski L. Oskrzelinek- *Muellerius (Strongylus) capillaris* Müller u sarn w Pieninach // *Rozprawy Biologiczne z Zakresu Medycyny Weterynaryjnej, Rolnictwa i Hodowli*. 1938. V. 16. P. 74–80.
- Sołtys A. Snails as intermediate hosts of nematodes of the family *Protostrongylidae* in sheep of the Lublin Palatinat // *Acta Parasitologica Polonica*. 1964. V. 12. № 23. P. 233–237.
- Thompson R.C.A., McManus D.P. Aetiology: parasites and life-cycles // *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern* / Eds Eckert J., Gemmell M.F., Meslin F.-X., Pawłowski Z.S. Paris, France, 2001. P. 100–142.
- Todorov T., Boeva V. Epidemiology of Echinococcosis in Bulgaria – a Comparative Study // *Arch. Int. Hidatid*. 1997. V. 32. P. 232–233.
- Todorov T., Boeva V. Human Echinococcosis in Bulgaria: a Comparative Epidemiological Analysis // *Bull. WHO*. 1999. V. 77. P. 110–118.
- Urban E. Studies on lung nematodes (Protostrongylidae, Dictyocaulidae) in sheep on the Podhale region, Tatra Highlands. II. Intermediate hosts of Protostrongylidae // *Acta Parasitologica Polonica*. 1980. V. 27. № 9. P. 63–74.
- Zdzitowiecki K. An experimental study on the infection of terrestrial and aquatic snails with *Muellerius capillaris* (Muller, 1889) larvae (Nematoda, Protostrongylidae) // *Acta Parasitologica Polonica*. 1976. V. 24. P. 139–163.

Life Cycles of Lung Helminths in Terrestrial Mammals from Eastern Europe and Their Biological Classification

S. O. Movsesyan^{1, 2, #}, M. A. Nikoghossian², R. A. Petrosian², N. B. Terenina¹,
M. S. Panayotova-Pencheva³, A. W. Demiaszkiewicz⁴, M. V. Voronin¹,
D. N. Kuznetsov¹, and M. V. Vardanyan²

¹Center of Parasitology, A.N. Severtsov's Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Leninsky prosp., 33, Moscow, 119071 Russia

²Institute of Zoology of Scientific Center for Zoology and Hydroecology, NAS of Republic of Armenia, P. Sevak str., 7, Yerevan, 0014 Armenia

³Institute of Experimental Morphology, Pathology and Anthropology with Museum, Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev Str., 25, Sofia, 1113 Bulgaria

⁴W. Stefański Institute of Parasitology, PAS, Twarda str., 51/55, Warsaw 00-818, Poland

[#]e-mail: movsesyan@list.ru

This article has been prepared based on the results of many years of the authors' studies in the framework of scientific cooperation between Academies of Science of Russia, Armenia, Bulgaria and Poland. It is a continuation of one published in *Annals of Parasitology: Biodiversity of Lung Helminths in Terrestrial Mammals from Eastern Europe* (2021). To determine the biological diversity of lung helminths various vertebrate hosts were studied, including 7 species from Armenia, 13 from Russia, 7 from Bulgaria and 10 from Poland, as well as many invertebrate potential hosts, mainly land mollusks. Three types of development cycles were found to be characteristic for lung helminths: 1 – Nematodes from family Dictyocaulidae developing in a direct way without using intermediate hosts, geohelminths or monoxenous type of development. 2 – Those nematodes life cycles of which include intermediate hosts which are mainly land mollusks. These are species from family Protostrongylidae – biohelminths, dioxenous type. 3 – Life cycles also include intermediate hosts, but here they are vertebrate. This type includes cestodes *Echinococcus granulosus* and *Alveococcus multilocularis* – biohelminths, dioxenous type.

УДК 591.3, 591.111.1

ВЛИЯНИЕ pH НА ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ГОЛОВАСТИКОВ МАЛОАЗИАТСКОЙ ЛЯГУШКИ

© 2023 г. Д. М. Гамидова*, @, А. И. Рабаданова*

*Дагестанский государственный университет, ул. Магомеда Гаджиева, 43а, Махачкала, 367000 Россия

@E-mail: Djamka_90@mail.ru

Поступила в редакцию 23.05.2022 г.

После доработки 27.04.2023 г.

Принята к публикации 28.04.2023 г.

В статье представлены результаты исследований влияния кислых (4.0, 5.0) и щелочной (9.0) значений pH на цитоморфологические параметры эритроцитов крови головастика малоазиатской лягушки. Показано негативное влияние pH 4.0 на цитоморфологические особенности эритроцитов, выражающееся в уменьшении их геометрических параметров (площади, объема), что в итоге приводит к ухудшению выполняемой ими функции. Изменения линейных и геометрических параметров клеток крови головастика при воздействии pH 5.0 и 9.0 в обеих сериях эксперимента позволяют судить об их направленности на повышение эффективности транспорта кислорода, то есть носят компенсаторный характер.

Ключевые слова: эритроциты, кислотность среды, pH, головастики, малоазиатская лягушка

DOI: 10.31857/S1026347022600443, **EDN:** WCQFEG

Кислотность среды, являясь одним из важнейших абиотических факторов, оказывает значительное влияние на распространение и численность земноводных (Pough, Wilson, 1976; Böhmer, Rahmann, 1990; Pierce, Wooten, 1992; Griffiths, Wijer, 1994; Beebe, 1995; Pounds, 2001; Gardner, 2001; Muths *et al.*, 2003; D'Amen *et al.*, 2007). Согласно имеющимся данным колебания pH в кислую сторону часто сопровождается гибелью эмбрионов и сокращением процента вылупившихся личинок (Pough, Wilson 1976; Saber, Dunson 1978; Cooke 1981; Freda, Dunson 1985; Cummins 1986; Böhmer, Rahmann, 1990; Griffiths, Wijer, 1994), тогда как защелачивание среды приводит к снижению темпов роста и развитию аномалий у личинок амфибий (Griffiths, Wijer, 1994). До сих пор не выяснены механизмы подобного влияния. Остается открытым вопрос о том, какие системы организма и на какой стадии развития земноводных более подвержены негативному влиянию колебаний концентрации ионов водорода в среде, оказывает ли данный фактор прямое или опосредованное влияние на процессы жизнедеятельности.

Наиболее удобной и информативной моделью для выяснения этих вопросов являются эритроциты — клетки крови, чутко реагирующие на изменения факторов среды и от которых во многом зависит интенсивность метаболизма (Passantino, 2007; Davis, 2008a, 2008b; Claver Agustin, 2009). Одной из самых важных функций эритроцитов

является перенос кислорода и углекислого газа, а их размер и форма являются показателями площади, доступной для газообмена.

В изученной нами литературе отсутствуют данные о влиянии pH на эритроциты крови личинок и взрослых особей амфибий. Большинство имеющихся данных описывают количественный состав (Arikan 1989, 1990; Arserim, Mermer, 2008; Dönmez *et al.*, 2009) и цитоморфологию (Atatür *et al.*, 1999; Arikan *et al.*, 2001; Zhelev *et al.*, 2006; Gao *et al.*, 2007; Grenat *et al.*, 2009a, 2009b) красных клеток крови взрослых представителей рода *Rana*. Несмотря на то, что данные клетки крови амфибий обладают высокой видоспецифичностью размеров (Gregory, 2001), результаты многих исследований показывают их изменчивость, обусловленную как загрязнением среды обитания, так и некоторыми другими факторами (Velcheva *et al.*, 2006; Mueller *et al.*, 2008; Kozłowski *et al.*, 2010). Подобные вариации размеров эритроцитов многие авторы связывают с поверхностью, доступной для газообмена, поскольку в маленьком эритроците скорость газообмена быстрее, чем в крупном (Bagaquet *et al.*, 2014).

Исследования по изучению размеров эритроцитов у личинок амфибий единичны (Bagaquet *et al.*, 2014), что может быть связано с трудностями взятия у них крови. Тем более отсутствуют данные, учитывающие влияние различных факторов. Поскольку эффективность снабжения клеток кис-

лородом определяет успешность протекания всех стадий онтогенеза, особенно личиночной, изучение изменения морфологии и морфометрии эритроцитов в период личиночного развития приобретает особую актуальность. Кроме того, личинки бесхвостых представляют интерес для изучения, поскольку они широко используются в качестве биоиндикаторов для обнаружения мутагенных агентов в воде (Шварц, 1968; Davis, 2008a; Baraquet, 2013; Замалетдинов и др., 2019).

Особый интерес представляет также изучение изменения размеров тела головастиков, а также связь между этими двумя параметрами у амфибий при действии разных значений pH. Сопоставление данных о действии разных значений pH на изменение размеров и формы эритроцитов головастиков, может дать более развернутую картину об оптимальных и лимитирующих значениях этого фактора для условий развития каждого отдельного вида.

Актуальность подобного рода исследований диктуется еще и тем, что в последние годы наряду с исчезновением многих редких видов земноводных, явно намечается тенденция к сокращению численности даже широко распространенных видов бесхвостых амфибий в некоторых районах Дагестана. Одним из таких видов является малоазиатская лягушка (*Rana macrocnemis* Boulenger, 1885), которая в Дагестане распространена в широком диапазоне высот от – 27 до 3200 м н.у.м. В основном она населяет горную часть республики, придерживаясь умеренно-увлажненных биотопов. Для нереста она предпочитает слабощелочные водоемы (Mazanaeva, 2000; Аскендеров, 2017). По нашим наблюдениям pH водоемов в предгорных и горных районах, где были обнаружены икринки и головастики, значительно варьирует. Это может быть вызвано действием многих факторов. При этом известна доминирующая роль земноводных в цепях питания. Поэтому изучение вопроса о возможных причинах сокращения данного вида является актуальным для экологической физиологии, аутоэкологии и зоологии.

В связи с вышеизложенным целью данного исследования является изучение характера влияния разных значений pH на цитоморфологические особенности эритроцитов крови *R. macrocnemis*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Условия содержания и выращивания эмбрионов и личинок Rana macrocnemis

Исследования проводились с конца февраля по июль 2020–2021 гг. В работе использовались фрагменты из 6–7 только что отложенных кладок *R. macrocnemis* (3200 икринок), собранных на территории Предгорного Дагестана (с. Ерси, Табасаранский район, высота 600 м н.у.м.). Экспери-

мент включал две серии опытов, в которых использовалось по восемь контейнеров, размером 35 × 25 × 35 (42 л). В первой серии изучался весь цикл эмбрионально-личиночного развития малоазиатской лягушки от недавно отложенных икринок до окончания метаморфоза (полная резорбция хвоста). Для этого икринки размещались поштучно в шесть экспериментальных контейнеров с различными значениями пониженной (4.0 и 5.0) и повышенной (9.0) pH, а также в три контрольных контейнера с обычной для природных водоемов pH (7.5–8.2). Во второй серии исследовалось постэмбриональное развитие *R. macrocnemis*, для чего личинки (выращивались при нормальной pH) сразу после их перехода к активному питанию размещались в контейнеры с различными значениями pH (4.0, 5.0 и 9.0). Плотность посадки составила 200 икринок (в первой серии) и 200 головастиков (во второй серии) на 25 л воды.

Объекты содержались в фильтрованной воде, полностью заменявшейся каждый день, что способствовало сохранению оптимальных значений кислорода в воде. Личинок после перехода на экзогенное питание кормили листьями шпината, предварительно ошпаренными кипятком, и аквариумным кормом для рыб. Измеряли процент насыщения кислородом с помощью микропроцессорного портативного оксиметра Hanna “HI 9145”, температуры с помощью аквариумных термометров “Barbus”, а также кислотность (с использованием карманного pH метра – pH Meterrange 0.00–14.00). Поскольку известно, что уровень pH постоянно меняется в зависимости от многих факторов, тестовые значения pH создавались и поддерживались путем добавления H_2SO_4 и NaOH, которые готовились из 0.1N стандарт/фильтров фиксанала после каждой смены воды. Измерение pH в контейнерах производилось 4 раза в день. При этом его изменения были незначительными.

В ходе эксперимента температура в помещении увеличивалась от 18°C в начале развития до 26°C – в конце. Подобное изменение температурного режима характерно и для природных условий. Концентрация кислорода в чистой фильтрованной воде в контейнерах при температуре около 24°C составляла 7.9 мг/л. Дополнительное снабжение воды кислородом не производилось, поскольку по литературным данным такая процедура не улучшает условий для развития икры и головастиков, так как связана с их сильным стрессом (Сулова, 2010). При измерении содержания кислорода было учтено количество особей на единицу объема (250 мл на 2 головастика). Это соотношение поддерживалось на протяжении всего эксперимента.

Измерение морфометрических параметров. На 28–30 стадиях личиночного развития у 20 случайно выловленных личинок в каждой серии при

различных pH производилось измерение линейно-весовых параметров. Для измерения общей длины личинок использовали штангенциркуль Electronic Digitalcaliper “ДЕКО” (с точностью 0.1 мм). Масса икринок измерялась с помощью торсионных весов “VT-500”, вес личинок определялся с помощью электронных весов “Масса-К” (с погрешностью 0.005 г).

Кровь для мазков брали через прямой прокол в сердце головастика на 28–30 стадиях развития (Gosner, 1960), после предварительного усыпления.

Для определения размеров эритроцитов и их ядер готовили мазки крови общепринятым гематологическим методом и окрашивали по Романовскому–Гимзе. Готовые мазки просматривали с иммерсией, при увеличении 1600. Измерения эритроцитов и ядер проводили через видеокуляр “TourCam 14.0 MP”, который встраивали в стереоскопический микроскоп МСП-1 “ЛОМО”. Полученные изображения обрабатывались с помощью программного обеспечения TopView.

Для расчета объема эритроцитов была использована следующая формула: $V = \frac{4}{3}\pi ab^2$, где V — объем, a — длинная полуось, b — короткая полуось эллипса. Толщину эритроцитов вычисляли по формуле: $T = \frac{\pi b}{4}$. При вычислении сферического индекса

(E) была использована формула: $E = \sqrt{1 - \left(\frac{b}{a}\right)^2}$.

Площадь эритроцитов и ядер оценивали, принимая их форму за эллипсоидальную, и рассчитывали соотношение сторон, отражающее форму клетки. На основании полученных данных подсчитали ядерно-цитоплазматическое отношение ЯЦО по формуле $S_{\text{я}}/S_{\text{ц}}$, $S_{\text{я}}$ — площадь ядра, $S_{\text{ц}}$ — площадь клетки.

Статистическая обработка данных. Различия между исследуемыми выборками определяли в результате регрессионного анализа данных в программе Excel 10 и Statistica 10. Достоверность различий оценивалась с использованием критерия Стьюдента (t), для выборок с нормальным распределением ($p \leq 0.05$). Рассчитывали среднее арифметическое по каждому морфометрическому параметру (Mean и стандартное отклонение SD). Нормальность распределения оценивали критериями Шапиро–Уилка, асимметрии и эксцесса. Для выборок с ненормальным распределением использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Рассчитывали коэффициент корреляции (r) и коэффициент вариации (CV). Влияние разных значений pH на исследуемые параметры у головастика определяли на основе однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эритроциты головастика малоазиатской лягушки имеют овальную форму с центрально расположенным овальным ядром. Длина эритроцитов в контроле в среднем составляет 18.3 ± 1.7 мкм, ширина — 13.3 ± 1.5 мкм. Длина и ширина ядер колеблется в пределах 8.9 ± 1.4 и 7.2 ± 1.0 мкм соответственно. Соотношение L/W при таких значениях длины и ширины эритроцитов составляет 1.4 ± 0.1 , а показатель сферичности (E) равен 0.7 ± 0.1 (табл. 1).

При содержании головастика в среде с различными значениями pH в обеих сериях опыта наблюдаются статистически значимые отличия от контроля ($p \leq 0.05$). Так, в первой серии при pH 5.0 длина и ширина эритроцитов достоверно снижаются и составляют 17.0 ± 1.2 и 10.6 ± 0.8 мкм соответственно. В щелочной среде (pH 9.0) длина эритроцитов, напротив, увеличивается до 19.5 ± 1.5 мкм, а ширина уменьшается до 11.3 ± 1.3 мкм. Несмотря на такое противоположное влияние разных значений pH на линейные размеры эритроцитов, в обоих случаях отмечается их удлинение, на что указывает увеличение соотношения L/W до 1.6 ± 0.1 (pH 5.0) и 1.8 ± 0.2 (pH 9.0), а также индекса сферичности — до 0.8 ± 0.1 .

Во второй серии эритроциты головастика, содержащихся при pH 4.0, имеют длину 17.6 ± 1.5 мкм, что достоверно меньше контрольных значений. Ширина клеток крови при этом не изменяется. Подобная динамика приводит к уменьшению индекса сферичности до 0.6 ± 0.1 , не влияя на соотношение L/W . При двух других значениях pH (5.0 и 9.0) наблюдается сходная тенденция: длина эритроцитов достоверно увеличивается, а ширина — снижается, что приводит к повышению соотношения L/W без изменения индекса сферичности.

Различия обнаруживаются также при распределении значений длины и ширины клеток (рис. 1). Так, в первой серии опытов наиболее широкий диапазон длины (14–24 мкм) и ширины (7–16 мкм) клеток крови наблюдается при pH 9.0. При этом наиболее высока встречаемость эритроцитов с длиной 18–20 мкм и шириной 10–11 мкм. У головастика, выращиваемых в кислой среде (pH 5.0), длина и ширина эритроцитов варьируют в меньшем диапазоне 14–21 и 8.5–12.5 мкм соответственно. Наиболее часто встречающаяся длина красных клеток при этом составляет 16–17 мкм, ширина — 11.0–11.5 мкм. То есть в кислой среде намечается тенденция к уменьшению длины эритроцитов и увеличению их ширины, а также уменьшению диапазона распределения.

Во второй серии опытов наименьший диапазон распределения по длине эритроцитов отмечен в среде с pH 4.0 (13–22 мкм), по ширине — в среде с pH 5.0 (6–18 мкм). В остальных условиях распределение длины колеблется от 12 до 26 мкм.

Таблица 1. Цитоморфологические параметры эритроцитов и их ядер *Rana macrocnemis* при воздействии разных значений pH

pH		Эритроциты							
		L	W	L/W	V	S	S/V	T	E
к	7.8	18.3 ± 1.7	13.3 ± 1.5	1.4 ± 0.1	444.5 ± 96.2	194.1 ± 36.9	0.44 ± 0.1	5.2 ± 0.6	0.7 ± 0.1
1	5	17.0 ± 1.2	10.6 ± 0.8	1.6 ± 0.1	250.0 ± 36.2	141.1 ± 13.1	0.56 ± 0.1	4.1 ± 0.3	0.8 ± 0.1
	9	19.5 ± 1.5	11.3 ± 1.3	1.8 ± 0.2	335.1 ± 90.4	173.7 ± 28.2	0.52 ± 0.2	4.4 ± 0.5	0.8 ± 0.1
2	4	17.6 ± 1.5	13.3 ± 1.2	1.3 ± 0.5	419.9 ± 96.8	185.8 ± 27.2	0.44 ± 0.1	5.2 ± 0.5	0.6 ± 0.1
	5	19.6 ± 2.1	12.3 ± 1.7	1.7 ± 0.3	398.9 ± 97.9	189.3 ± 31.9	0.47 ± 0.1	4.8 ± 0.7	0.7 ± 0.1
	9	19.2 ± 2.0	12.5 ± 1.4	1.6 ± 0.2	410.2 ± 97.1	190.6 ± 35.8	0.47 ± 0.1	4.9 ± 0.5	0.7 ± 0.1
Ядра эритроцитов									
к	7.8	8.9 ± 1.4	7.2 ± 1.0	1.2 ± 0.2	65.3 ± 24.9	51.8 ± 13.1	0.80 ± 0.2	2.8 ± 0.4	0.6 ± 0.1
1	5	8.4 ± 1.1	5.7 ± 0.8	1.5 ± 0.4	36.9 ± 10.6	37.7 ± 6.4	1.03 ± 0.1	2.3 ± 0.3	0.7 ± 0.2
	9	10.3 ± 1.4	7.1 ± 0.8	1.5 ± 0.3	70.2 ± 19.8	57.7 ± 10.6	0.82 ± 0.1	2.8 ± 0.3	0.7 ± 0.1
2	4	7.9 ± 1.1	6.1 ± 0.8	1.3 ± 0.3	39.8 ± 12.1	38.1 ± 7.6	0.96 ± 0.1	4.8 ± 0.6	0.5 ± 0.3
	5	9.9 ± 1.4	7.0 ± 1.3	1.5 ± 0.4	67.7 ± 26.1	54.7 ± 12.8	0.81 ± 0.1	2.8 ± 0.5	0.6 ± 0.1
	9	8.8 ± 1.1	7.1 ± 0.9	1.3 ± 0.2	60.9 ± 19.2	49.6 ± 10.5	0.82 ± 0.1	2.8 ± 0.3	0.5 ± 0.2

Примечание. Жирным шрифтом выделены достоверно значимые отличия ($p \leq 0.05$) между сериями; — — достоверно значимые отличия ($p \leq 0.05$) от контроля; L — длина, W — ширина, V — объем, S — площадь, S/V — соотношение площади поверхности к объему, T — толщина, E — индекс сферичности.

Диапазон распределения эритроцитов по ширине меньше, чем в контроле и составляет при pH 4.0 — 9—17 мкм, при pH 9.0 — 8—16 мкм. При этом в средах с изменением pH отмечается увеличение средних размеров эритроцитов без явно выраженной зависимости от значений кислотности среды.

Наблюдаемые изменения линейных значений эритроцитов отразились на их геометрических параметрах (объеме, площади, толщине), от которых зависит эффективность транспорта кислорода. В обеих сериях опыта объем эритроцитов снижается относительно контроля при всех значениях pH, особенно при pH 5.0. Так, в 1 серии опытов объем клеток крови ниже контрольных значений в 1.7 раз ($p \leq 0.05$), во второй — в 1.1 раза ($p \leq 0.05$). Что касается площади, то значения данного параметра ниже контроля в 1 серии опытов, особенно при pH 5.0 (на 27.3%, $p \leq 0.05$). Во второй серии изменения площади относительно контроля незначительны (рис. 2). Сходная тенденция характерна и для толщины красных клеток крови.

Распределение эритроцитов по объему и площади в контроле составляет 200—1000 мкм³ и 100—350 мкм² соответственно (наиболее часто встречаются эритроциты объемом 300—400 мкм³ и площадью 150—200 мкм²). Наиболее существенное влияние на диапазон распределения объема и площади pH оказывает в первой серии опытов. При pH 5.0 данный показатель сужается и составляет 150—400 мкм³ и 100—190 мкм² соответственно (наиболее часто встречаются эритроциты объемом 200—300 мкм³ и площадью 130—140 мкм²).

При pH 9.0 распределения по объему составляет 100—600 мкм³ (чаще встречаются эритроциты объемом 200—300 мкм³), по площади — 100—240 мкм² (наиболее часто встречаются эритроциты площадью 140—160 мкм²).

Обращает на себя внимание тот факт, что на фоне уменьшения, как объема, так и площади эритроцитов в первой серии мы наблюдаем повышение соотношения S/V, что указывает на увеличение поверхности эритроцита в единицу объема. Это позволяет эритроцитам легче менять свою форму (увеличивается степень их деформации) и проходить через узкие капилляры, что улучшает транспортные функции крови. Кроме того, при высоком соотношении площади и объема любая молекула гемоглобина ближе располагается к поверхности, что совместно с уменьшением толщины эритроцитов (табл. 1) обеспечивает максимально ускоренный газообмен. Это позволяет рассматривать подобные изменения как компенсаторную реакцию на сдвиги значений pH, как в кислую, так и в щелочную сторону.

Уменьшение геометрических параметров эритроцитов при действии pH 4.0; 5.0 и 9.0 во второй серии, однако, не приводит к изменению соотношения S/V, что также может указывать на компенсаторный характер изменений, приводящих к оптимальному соотношению размеров эритроцитов для эффективного выполнения газотранспортной функции.

Таким образом, геометрические параметры особенно подвержены изменениям в первой се-

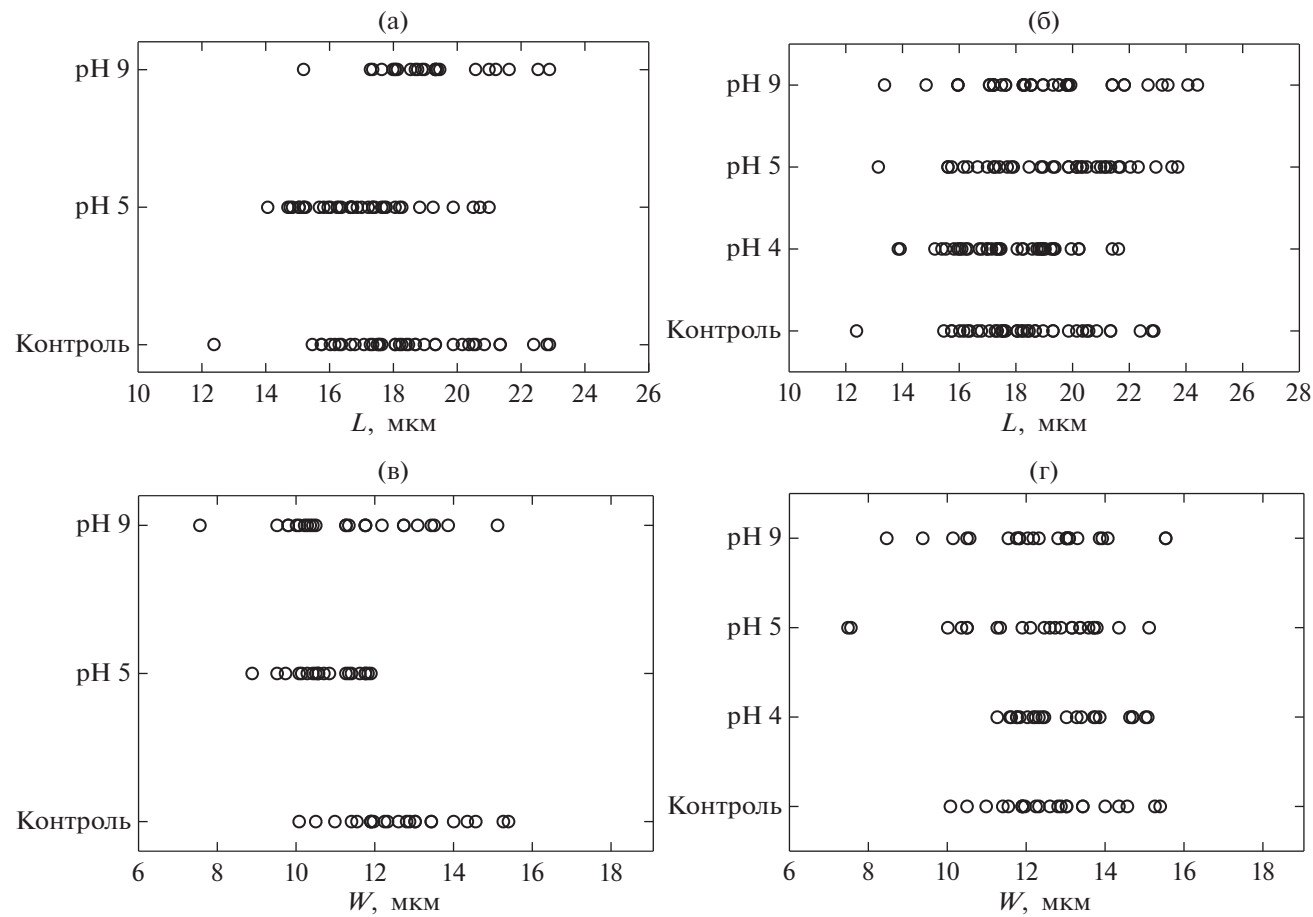


Рис. 1. Частота встречаемости параметров длины и ширины эритроцитов (мкм) *Rana macrocnemis* при разных pH в двух сериях: а, б – первая, в, г – вторая и в контроле.

рии опытов, что указывает на снижение кислородтранспортной функции крови при действии кислых значений pH 4.0, начиная с эмбрионального периода развития. Это подтверждается данными дисперсионного анализа, который отражается влияние pH на все исследуемые линейные и геометрические параметры (в среднем $R \geq 50\%$, табл. 2). Изменения же во второй серии опытов носят компенсаторный характер, что подтверждается отсутствием данного влияния на параметры, характеризующие кислородтранспортную

функцию – площадь, объем, толщину и ширину эритроцитов.

Исследование размеров ядер эритроцитов выявило достоверно значимые отличия не по всем исследуемым параметрам (см. табл. 1). Так, в первой серии опытов при pH 5.0 наблюдается значительное уменьшение ширины ядер (на 20.8% , $p \leq 0.05$) что приводит к увеличению соотношения L/W до 1.5 ± 0.4 и индекса сферичности до 0.7 ± 0.2 . Это указывает на удлинение ядер. При таких значениях длины и ширины практически уравниваются значения площади и объема ядер (36.9 ± 10.6 и

Таблица 2. Влияние разных значений pH на цитоморфологические особенности эритроцитов и параметры длины и веса тела головастика *Rana macrocnemis*

Серии	Эритроциты							Головастики	
	L	W	V	S	S/V	T	E	m	l
1	$p = 0.000$	$p = 0.000$	$p = 0.000$	$p = 0.000$	$p = 0.000$	$p = 0.000$	$p = 0.000$	$p = 0.597$	$p = 0.846$
2	$p = 0.010$	$p = 0.201$	$p = 0.946$	$p = 0.880$	$p = 0.040$	$p = 0.201$	$p = 0.000$	$p = 0.000$	$p = 0.000$

Примечание. Влияние фактора рассматривается при $p \leq 0.05$; L – длина, W – ширина, V – объем, S – площадь, S/V – соотношение площади поверхности к объему, T – толщина, E – индекс сферичности, m – масса головастика, l – длина головастика.

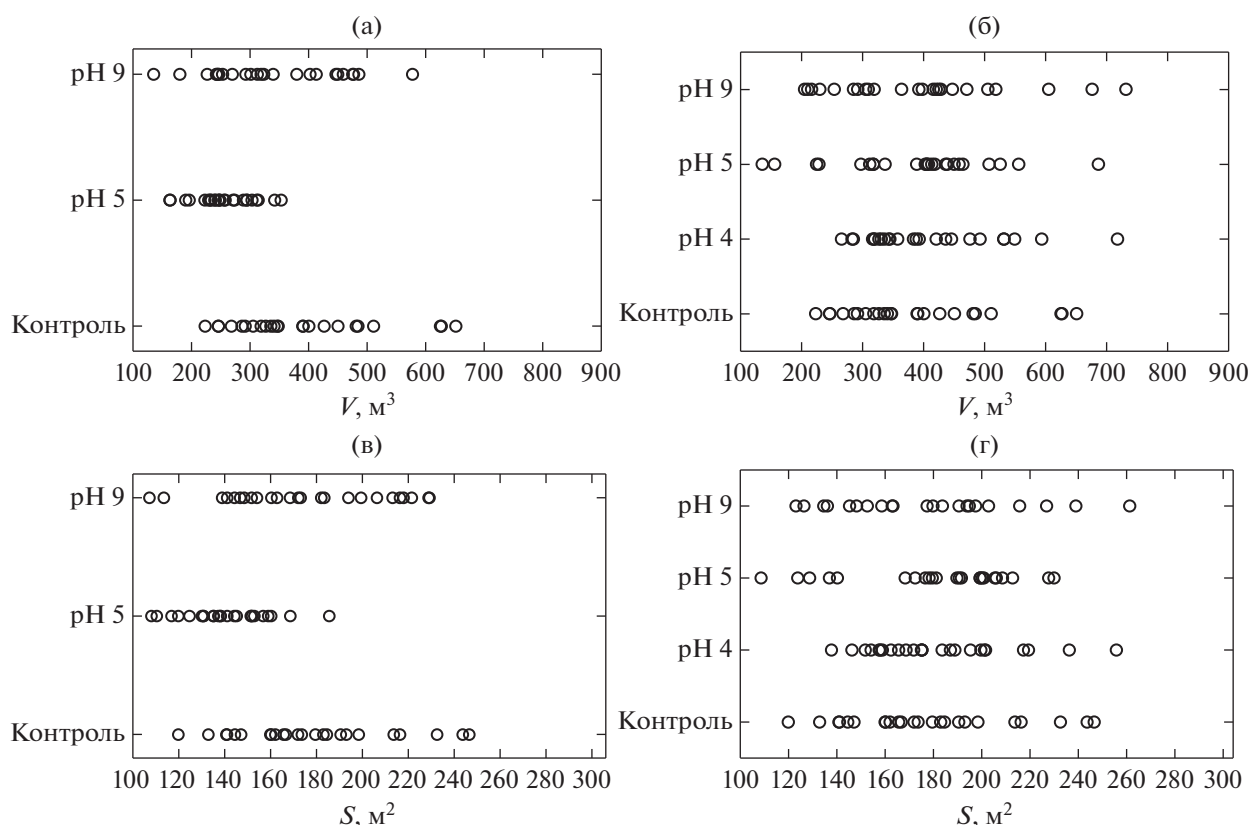


Рис. 2. Частота встречаемости параметров объема и площади эритроцитов (мкм) *Rana macrocnemis* при разных pH в двух сериях: а, б — первая, в, г — вторая и в контроле.

36.6 ± 6.4 мкм² соответственно), что сопровождается повышением соотношения S/V до 1.03. При pH 9.0 ядра также приобретают эллипсоидную форму, но уже за счет значимого увеличения их длины при незначительном уменьшении ширины, что в итоге приводит к тому же отношению L/W , как и при pH 5.0 (1.5 ± 0.3). Однако при таких линейных размерах отмечается увеличение площади и объема ядер (до 57.7 ± 10.6 и 70.2 ± 19.8 мкм² со-

ответственно), что сопровождается приближением соотношения S/V к значению контроля (0.82 ± 0.1).

Во второй серии наблюдаемые изменения носят разнонаправленный характер. Наибольшее влияние на размеры ядер эритроцитов оказывает pH 4.0. В данной среде наблюдается достоверно значимое уменьшение длины и ширины ядер, что не приводит, однако, к изменению их соотношения, которое составляет 1.3 ± 0.3 (как и в контроле). Однако, указанное изменение линейных размеров ядер сопровождается уменьшением их площади и объема до примерно одинаковых значений (39.8 ± 2.1 и 38.1 ± 7.6 мкм³) и приближению их соотношения к 1. При влиянии pH 5.0 и 9.0 изменение большинства параметров не являются достоверно значимыми.

Важной морфологической характеристикой эритроцитов, позволяющей оценить уровень метаболизма и выявить проявление компенсаторных реакций, является ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО), который определяется соотношением площади ядра ($S_{\text{я}}$) и площади клетки ($S_{\text{ц}}$). Результаты расчетов представлены в табл. 3.

Как видно из представленных данных в контроле ЯЦО составляет 0.36 ± 0.01 . Такие же значения обнаружены в первой серии независимо от

Таблица 3. Изменение ядерно-цитоплазматического индекса эритроцитов *Rana macrocnemis* при действии различных значений pH

pH		$S_{\text{ц}}$, мкм	$S_{\text{я}}$, мкм	ЯЦО
Контроль	7.8	142.3 ± 10.5	51.8 ± 13.1	0.36 ± 0.01
1 серия	5.0	103.4 ± 9.6	$37.7 \pm 6.4^*$	0.36 ± 0.01
	9.0	116.0 ± 7.7	57.7 ± 10.6	0.39 ± 0.03
2 серия	4.0	147.7 ± 11.2	$38.1 \pm 7.6^*$	0.26 ± 0.01
	5.0	134.6 ± 10.1	54.7 ± 12.8	$0.41 \pm 0.02^*$
	9.0	141.0 ± 13.1	49.6 ± 10.5	0.35 ± 0.01

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые отличия от контроля; * — между сериями.

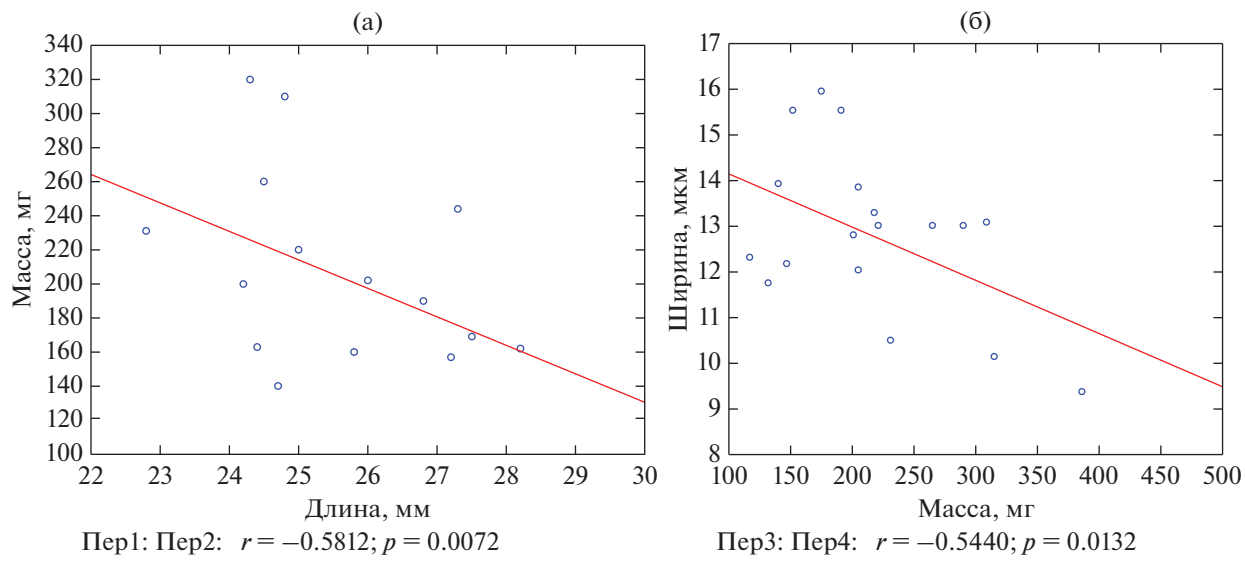


Рис. 3. Корреляционный анализ между массой (*m*) и длиной тела головастика (*l*) при pH 5.0 (а), массой тела и шириной эритроцита (*W*) при pH 9.0 (б) у *Rana macrocnemis*.

значения pH. Во второй серии отмечено снижение данного показателя до 0.26 ± 0.01 при pH 4.0 и повышение до 0.41 ± 0.02 – при pH 5.0. Повышение ЯЦО может оказывать влияние на интенсивность газообмена, диффузию кислорода сквозь мембрану эритроцита и как следствие кислородную емкость клетки (Bondarieva *et al.*, 2012; Донкова, Рубай, 2017).

А.К. Дэвис (Davis, 2008b, М. Дас и П.К. Махапатра (Das, Mahapatra 2012) в своих исследованиях указывают на то, что размеры эритроцитов меняются при росте и метаморфозе личинок амфибий. Однако, эта закономерность выявлена без учета воздействия условий среды, в частности, pH. В наших исследованиях масса тела головастика в обеих сериях опытов увеличивается при pH 9.0 на 22.1–23.7%. Во второй серии при pH 4.0 масса тела, напротив, снижается на 39.5% ($p \leq 0.05$), что отражается на данных дисперсионного анализа (см. табл. 2–3). В тоже время изменение pH не оказывает существенного влияния на длину тела личинок малоазиатской лягушки (достоверное снижение на 15.2% отмечено только при pH 4.0 (табл. 2). При этом в первой серии опытов корреляции с размерами эритроцитов не выявля-

но, тогда как во второй серии отмечена слабая отрицательная связь, ($r = 0.5$) между массой тела головастика и шириной при pH 9.0. В остальных случаях средняя корреляционная связь ($r = 0.6$) обнаружена только при pH 5.0 в первой серии между массой и длиной тела головастика (рис. 3).

В ходе корреляционного анализа в двух сериях между длиной и шириной эритроцитов и их ядер связь выявлена только в контроле ($r = 0.5$). Между остальными исследуемыми параметрами отмечены средние ($r \geq 0.5$) и высокие ($r \geq 0.8$) положительные корреляционные связи, значения коэффициентов которых приближены к контрольным (рис. 4), за исключением отсутствия связи между длиной и объемом ядер. Однако в первой серии при обоих значениях pH (5.0 и 9.0) выявлена отрицательная корреляция между объемом и сферичностью ($r = 0.6$), а также толщиной и сферичностью ($r = 0.7–0.8$) эритроцитов (рис. 4а) и их ядер (рис. 4б). Во второй серии между этими же параметрами такой же характер связи отмечается при pH 5.0. Следует отметить, что в контроле эти параметры между собой не коррелируют (рис. 4).

Таблица 4. Длина (мм) и масса тела, (мг) *Rana macrocnemis* при воздействии различных значений pH

Параметры	Контроль	1 серия		2 серия		
		pH 5	pH 9	pH 4	pH 5	pH 9
<i>l</i>	26.4 ± 2.0	26.3 ± 1.9	26.5 ± 3.6	$22.4 \pm 2.6^*$	27.0 ± 3.9	27.1 ± 4.6
<i>m</i>	189.9 ± 61.1	191.5 ± 56.8	$231.7 \pm 84.9^*$	$115.3 \pm 27.2^*$	176.3 ± 50.4	$235.2 \pm 91.7^*$

Примечание. Жирным шрифтом выделены достоверно значимые отличия ($p \leq 0.05$) между сериями; * – достоверно значимые отличия ($p \leq 0.05$) от контроля; *l* – длина тела, *m* – масса тела.

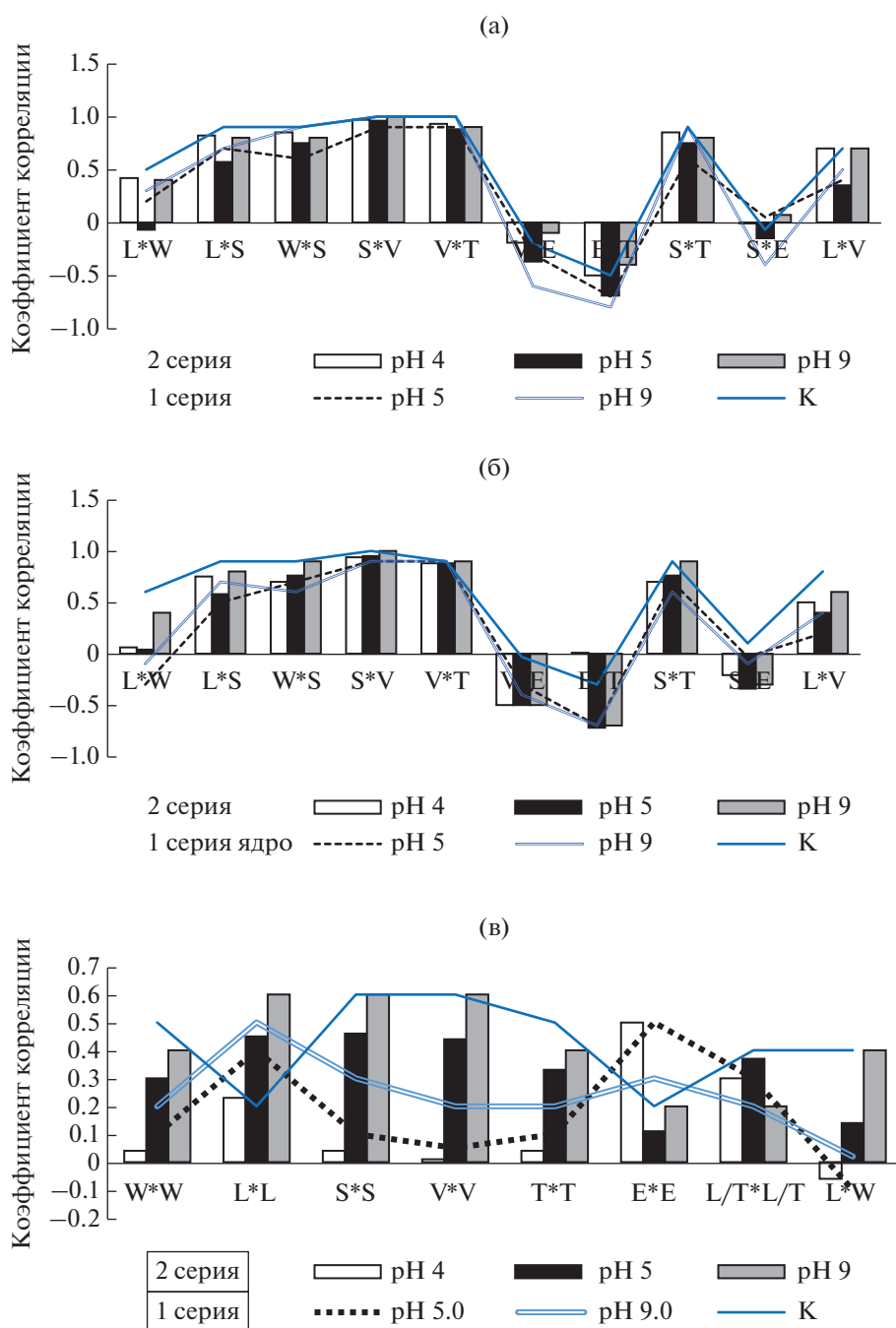


Рис. 4. Коэффициенты корреляции между параметрами эритроцитов (а), ядра (б) и эритроцит/ядро (в).

Разнонаправленный характер имеют данные, полученные при корреляционном анализе параметров эритроцитов и их ядер (рис. 4в). Разнонаправленный характер имеют данные корреляционного анализа между параметрами эритроцитов и их ядер (рис. 4в). Так, если в контроле наблюдается средняя корреляционная связь между большинством параметров ($r = 0.5$), то при кислых значениях pH (4.0 и 5.0) в обеих сериях она полностью отсутствует. Исключение отмечается

между сферичностью эритроцитов и их ядер при тех же значениях pH во второй серии. Более близкие значения к контролю отмечаются при pH 9.0 в первой серии. Изменения морфологии эритроцитов при изменении pH среды явно требует дальнейших исследований для выяснения физиологического механизма и последствий этих изменений. Наши результаты могут быть полезны в качестве эталонных значений для будущих исследований, а также могут быть использованы в со-

четании с другими гематологическими параметрами для изучения изменений, происходящих в клетках крови во время метаморфозы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кислотность среды является важным абиотическим фактором, лимитирующим рост и развитие водных организмов. В связи с неуклонным ростом антропогенной нагрузки на водные экосистемы данный показатель подвержен значительным колебаниям, что, несомненно, приводит к сдвигу многих параметров гидробионтов и необходимости включения механизмов адаптации. Перспективным представляется изучение механизмов адаптации на клеточном уровне. Наиболее удобной моделью в этом плане являются эритроциты крови, от которых зависит транспортировка кислорода, а значит и интенсивность метаболических процессов.

В наших исследованиях показано, что влияние кислотности среды сопровождается характерными изменениями цитоморфологии эритроцитов головастика малоазиатской лягушки. Во многом эти изменения зависят от того с эмбрионального (1 серия) или личиночного (2 серия) периодов началось влияние разных значений pH.

Изменение линейных размеров эритроцитов в первой серии при воздействии как кислых, так щелочных значений pH приводит к увеличению соотношения L/W и индекса сферичности. Это сопровождается уменьшением объема и площади эритроцитов и повышением соотношения S/V. Кроме того, отклоненные от нормы значения pH сужают диапазон изменений длины и ширины эритроцитов.

Во второй серии динамика размеров эритроцитов при pH 4.0 сопровождается уменьшением соотношения L/W и индекса сферичности. При двух других значениях pH (5.0 и 9.0) наблюдается повышение данного соотношения, не сопровождающееся, однако, изменением индекса сферичности. В этой серии также не обнаружено изменение поверхности эритроцита в единицу объема, несмотря на уменьшение объема и площади эритроцитов.

Подобные изменения указывают на негативное влияние pH 4.0 на цитоморфологические особенности эритроцитов, действие которого, по-видимому, связано с более глубокими изменениями, затрагивающими молекулярный, клеточный и организменный уровни. В частности, в наших предыдущих исследованиях показано, что данные значения pH снижают выживаемость головастика, уменьшают процент вылупления и замедляют метаморфоз.

Влияние же других значений pH (5.0 и 9.0) вызывает адаптивный эффект, выражающийся в итоге в повышении эффективности транспорта

кислорода, хоть и достигается это разными модификациями линейных и геометрических параметров эритроцитов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аскендеров А.Д. Земноводные Дагестана: распространение, экология, охрана: дис. ... канд. биол. наук. Ин-т экологии Волжского бассейна РАН, 2017. 223 с.
- Донкова Н.В., Рубай А.А. Цитологические и морфометрические особенности клеток крови тритона до и после тотальной резекции конечностей // Вестник КрасГАУ. 2017. № 6. С. 57–64.
- Сурова Г.С. Изменение абиотических условий при содержании головастика с разной плотностью (на примере личинок травяной лягушки-*Rana temporaria* и серой жабы-*Bufo bufo*) // Совр. герпетология. 2010. Т. 10. № 1/2. С. 26–39.
- Замалетдинов Р.И., Назаров Н.Г., Свинин А.О., Дробот Г.П., Сальникова Е.Ю. Биохимические особенности периферической крови особей прудовой лягушки *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882) из популяций, населяющих водоемы города Казани // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. 2019. № 1(25). С. 41–49. <https://doi.org/10.21685/2307-9150-2019-1-5>
- Шварц С.С. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных. Свердловск, 1968. 386 с.
- Arikan H. Anadolu'daki *Rana ridibunda* (Anura, Ranidae) populasyonlarının kan hücrelerinin sayısı bakımından incelenmesi // Turkish J. zoology, Ankara. 1989. V. 13. P. 54–59.
- Arikan H. *Rana ridibunda* (Anura, Ranidae) populasyonları üzerinde morfolojik ve serolojik araştırmalar // Turkish J. zoology, Ankara. 1990. V. 14. P. 40–83.
- Arikan H., Çevik E.E., Kaya U., Mermer A. Anadolu'daki dag kurbagalarında eritrosit ölçümleri // Anadolu university Journal of science and Technology, Eskişehir. 2001. V. 2. P. 387–391.
- Atatür M.K., Arikan H., Çevik E.E. Erythrocyte sizes of some anurans from Turkey // Turkish J. zoology, Ankara. 1999. V. 23. P. 111–114.
- Arserim S.K., Mermer A. Hematology of the Uludağ Frog, *Rana macrocnemis* Boulenger, 1885 in Uludağ National Park (Bursa, Turkey). E.U. Turk. // J. Fish. Aquat. 2008. Sc. 25. 39–46.
- Baraquet M. Intraspecific variation in erythrocyte sizes among populations of *Hypsiboas cordobae* (Anura: Hylidae) // Acta Herpetologica. 2013. № 8(2) P. 93–97. https://doi.org/10.13128/Acta_Herpetol-12954
- Baraquet M., Salas N.E., Martino A.L. Variation in the erythrocyte size among larvae, juveniles and adults of *Hypsiboas cordobae* (Anura, Hylidae) // Basic and Applied Herpetology. 2014. V. 28. P. 137–143. <https://doi.org/10.11160/bah.12010>
- Beebe T.J.C. Amphibian breeding and climate. Nature. 1995. V. 374. P. 219–220.
- Bondarieva A., Bibik Y.S., Samilo S.M., Shabanov D.A. Erythrocytes cytogenetic characteristics of green frogs from Siversky Donets centre of *Pelophylax esculentus*

- complex diversity // KarazinKharkiv Natl. Univ. Ser. Biol. 2012. V. 15. P. 116–123.
- Böhmer J., Rahmann H. Influence of surface water acidification on Amphibia // Fortsch. Zool. 1990. V. 38. P. 287–309.
- Claver J.A., Agustin I.E., Comparative Morphology, Development, and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates // J. Ex. Pet Medicine. 2009. V. 18. P. 87–97.
<https://doi.org/10.1053/j.jepm.2009.04.006>
- Cooke A.S. Tadpoles as indicators of harmful levels of pollution in the field // Environ. Pollut. 1981. V. 25. P. 23–133.
- Cummins C.P. Effects of aluminium and low pH on growth and development in *Rana temporaria* tadpoles // Qscolgiab (Berlin). 1986. V. 69. P. 248–252.
- D'Amen M., Vignoli L., Bologna M.A. The effects of temperature and pH on the embryonic development of two species of Triturus (Caudata: Salamandridae) // Amphibia-Reptilia. 2007. V. 28. P. 295–300.
<https://doi.org/10.1163/156853807780202521>
- Das M., Mahapatra P.K. Blood cell profiles of the tadpoles of the Dubois's tree frog, Polypedates teraiensis Dubois, 1986 (Anura: Rhacophoridae) // Scientific World J. 2012. 701746.
<https://doi.org/10.1100/2012/701746>
- Davis A.K. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologist // Functional Ecology. 2008a. V. 22. P. 760–772.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>
- Davis A.K. Ontogenetic changes in erythrocyte morphology in larval mole salamanders, *Ambystoma talpoideum*, measured with image analysis // Comp Clin Pathol. 2008b. V. 17. P. 23–28.
<https://doi.org/10.1007/s00580-007-0702-2>
- Dönmez F., Tosunoğlu M., Gül Ç. Hematological values in hermaphrodite, *Bufo bufo* (Linnaeus, 1758) // North-Western J. Zoology. 2009. V. 5. P. 97–103.
- Freda J., Dunson W.A. Field and laboratory studies of ion balance and growth rates of *Ranid* tadpoles chronically exposed to low pH // Copeia 1985. P. 415–423.
- Gao Z., Wang W., Abbas K., Zhou X., Yang Y., Diana J.S., Wang H., Wang H., Li Y., Sun Y. Haematological characterization of loach *Misgurnus anguillicaudatus*: Comparison among diploid, triploid and tetraploid specimens // Comp. Bio. Phys. A. 2007. V. 147. P. 1001–1008.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.03.006>
- Gardner T. Declining amphibian population: a global phenomenon in conservation biology // Animal Biodiversity and Conservation. 2001. V. 24.2. P. 25–44.
- Gosner K.L. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification // Herpetologica. 1960. V. 16. P. 183–190.
- Gregory T.R. The bigger the value, the larger the cell: genome size and red blood cell size in vertebrates // Blood Cells, Molecules, and Diseases. 2001. V. 27. P. 830–843.
<https://doi.org/10.1006/bcmd.2001.0457>
- Grenat P.R., Bionda C.L., Salas N.E., Martino A.L. Variation in erythrocyte size between juveniles and adults of *Odontophrynus americanus* // Amphibia-Reptilia. 2009a. V. 30. P. 141–145.
- Grenat P.R., Salas N.E., Martino A.L. Erythrocyte size as diagnostic character for the identification of live cryptic *Odontophrynus americanus* and *O. cordobae* (Anura: Cycloramphidae) // Zootaxa. 2009b. V. 2049. P. 67–68.
<https://doi.org/10.11646/zootaxa.2049.1.3>
- Griffiths R.A., de Wijer P. Differential effect of pH and temperature on embryonic development in the British newts (*Triturus*) // J. Zool., Lond. 1994. V. 234. P. 613–622.
- Kozłowski J., Czarnoleski M., François-Krassowska A., Maciak S., Pis T. Cell size is positively correlated between different tissues in passerine birds and amphibians, but not necessarily in mammals // Biol Lett. 2010. V. 6. P. 792–796.
<https://doi.org/10.1098/rsbl.2010.0288>
- Mazanaeva L.F. The distribution of Amphibians in Daghestan // Advances in Amphibian Research in the Former Soviet Union. Sophia. 2000. V. 5. P. 141–156.
- Mueller R.L., Gregory T.R., Gregory S.M., Hsieh A., Boore J.L. Genome size, cell size, and the evolution of enucleated erythrocytes in attenuate salamanders // Zoology (Jena). 2008. V. 111(3). P. 218–230.
<https://doi.org/10.1016/j.zool.2007.07.010>
- Muths E., Campbell D.H., Corn P.S. Hatching success in salamanders and chorus frog at two sites in Colorado USA: effects of acidic deposition and climate // Amphibia-Reptilia. 2003. V. 24. P. 27–36.
<https://doi.org/10.1163/156853803763806911>
- Passantino L., Massaro M.A., Jirillo F., Modugno D. Di., Ribaud M.R., Modugno G. Di., Passantino G.F., Jirillo E. Antigenically activated avian erythrocytes release cytokine-like factors: a conserved phylogenetic function discovered in fish // Immunopharmacol Immunotoxicol. 2007. V. 29. P. 141–152.
<https://doi.org/10.1080/08923970701284664>
- Pierce B.A., Wooten D.K. Acid tolerance of *Ambystoma texanum* from central Texas // J. Herp. 1992. V. 26. P. 230–232.
- Pough F.H., Wilson R.E. Acid precipitation and reproductive success of *Ambystoma salamanders* / Proc. Internat. Symp. Acid Rain and Forest Ecosystem 1. 1976. P. 531–544.
- Pounds J.A. Climate and amphibian declines // Nature. 2001. V. 410. P. 639–640.
<https://doi.org/10.1038/35070683>
- Saber P.A., Dunson W.A. Toxicity of bog water to embryonic and larval anuran amphibians. J. Exp. Zool 1978. V. 204. P. 33–42.
- Zhelev Z.M., Angelov M.V., Mollov I.A. A Study of some metric parameters of the erythrocytes in *Rana ridibunda* (Amphibia: Anura) derived from an area of highly developed chemical industry // Acta Zool. Bulgar. 2006. V. 58. P. 235–244.
- Velcheva I., Arnaudov A., Gecheva G., Mollov I. A study on some physiological parameters of three hydrobiotic species under the influence of copper // Proceedings of 2nd International Symposium of Ecologists of Montenegro, Kotor. 2006. P. 155–161.

Effect of pH on Cytomorphological Parameters of Erythrocytes of the *Rana macrocnemis* Tadpoles

D. M. Gamidova^{1, #} and A. I. Rabadanova¹

¹Dagestan State University, 43a Magomed Gadzhiyev str., Makhachkala, 367000 Russia

[#]e-mail: Djamka_90@mail.ru

The article presents the results of studies of the effect of acidic (4.0, 5.0) and alkaline (9.0) pH values on cytomorphological parameters of erythrocytes of *Rana macrocnemis* tadpoles. The negative effect of pH 4.0 on the cytomorphological features of erythrocytes is shown, expressed in a decrease in their geometric parameters (area, volume), which leads to a deterioration of their function. Changes in the linear and geometric parameters of tadpole blood cells when exposed to pH 5.0 and 9.0 in both series of the experiment allow us to judge their focus on improving the efficiency of oxygen transport, that is, they are compensatory in nature.

Keywords: erythrocytes, acidity, pH, tadpoles, *Rana macrocnemis*

ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

УДК 599.323.4:615.832.74:615.849.112.001.6

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОЖНЫХ ПОКРОВОВ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС ПОСЛЕ ТЕРМИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ И ИХ КОРРЕКЦИИ НАНОСЕКУНДНЫМИ МИКРОВОЛНОВЫМИ ИМПУЛЬСАМИ

© 2023 г. А. А. Гостюхина*, **, ***, @, В. В. Ярцев**, ***, ****, А. В. Самойлова*, ***, ****, М. А. Большаков*, ***, С. С. Евсеева**, ***, В. М. Мочалова***, К. В. Зайцев**, О. П. Кутенков*, В. В. Ростов*

*ФГУН Институт сильноточной электроники СО РАН, пр. Академический, 2/3, Томск, 634055 Россия

**ФГБУ Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии Федерального медико-биологического агентства, Московская обл., Солнечногорский р-н, д. Голубое, 141551 Россия

***ФГАОУВО “Национальный исследовательский Томский государственный университет”, пр. Ленина, 36, Томск, 634050 Россия

****ГБОУВПО “Сибирский государственный медицинский университет” Министерства здравоохранения Российской Федерации, Московский тракт, 2, Томск, 634050 Россия

@E-mail: antariks-tomsk2015@yandex.ru

Поступила в редакцию 17.03.2022 г.

После доработки 21.12.2022 г.

Принята к публикации 13.02.2023 г.

На модели термического ожога кожных покровов лабораторных крыс показано, что после 4-кратного локального облучения наносекундным импульсно-периодическим микроволновым излучением (ИПМИ, 10 ГГц, длительность импульсов 100 нс, частота повторения импульсов 8 Гц, пиковая плотность потока мощности (пППМ) 140 Вт/см²) увеличивается скорость заживления ран за счет ускоренного образования грануляционной ткани и уменьшения толщины струпа, что обеспечивает безрубцовое заживление.

Ключевые слова: термический ожог, наносекундные импульсы, гистологический анализ, микроволновое излучение, лабораторные крысы

DOI: 10.31857/S1026347022100250, **EDN:** TOPOXQ

По данным Минздрава в Российской Федерации уровень ожоговых травм среди взрослого населения составляет в среднем 50 случаев на 100 тысяч человек, среди детей — 80 на 100 тысяч. Термические ожоги занимают третье место среди прочих травм и выделены в отдельную рубрику в международной классификации болезней по МКБ-10 (Алексеев и др., 2016). Глубокие и обширные ожоги могут приводить к серьезным осложнениям, таким как сепсис (с развитием бактериальной инфекции), шок (вызванный гиповолемией), а также сокращение рубцовой ткани после неправильного заживления раны (Shpichka *et al.*, 2019).

В зоне ожоговой травмы неизбежно возникают инфицирование и воспаление, имеет место потеря белков, электролитов, воды, плазмы и другие варианты патологического реагирования. В связи с этим быстрое восстановление поврежденного кожного барьера является основным направлением лечения ожоговой патологии (Shpichka *et al.*, 2019). Поскольку стандартная методика аутотрансплан-

тации кожи имеет существенные ограничения и является дорогостоящей процедурой (Wood *et al.*, 2006; Atiyeh, Costagliola, 2007), в последние годы предприняты попытки разработки новых способов регенерации ожоговых травм, к которым может относиться метод коррекции импульсным микроволновым излучением. В научном сообществе использование тех или иных видов электромагнитного излучения (ЭМИ) в коррекции и лечении кожных травм вызывает ряд противоречий. Тем не менее, имеются данные о применении, в частности, электронных пучков для стерилизации аллогенных кожных трансплантатов человека (Labus *et al.*, 2022), о ранозаживляющем действии лазеротерапии (Rodrigo *et al.*, 2009) и регенеративном влиянии импульсных радиочастотных излучений (Гапеев, Чемерис, 2007; Athanasiou *et al.*, 2007; Strauch *et al.*, 2009; Гапеев, 2012). В этом плане перспективным представляется использование наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения (ИПМИ), для которого уже установлена способность стимулировать репаративную реге-

нерацию полнослойной кожной раны у лабораторных мышей (Князева и др., 2011). Кроме того, на предварительном этапе исследования данного фактора нами было показано, что наносекундное ИПМИ (10 ГГц, длительность импульсов 100 нс, частота повторения импульсов 8 Гц, пППМ 140 и 1500 Вт/см²) ускоряет процессы ранозаживления (Samoylova *et al.*, 2020; Гостюхина и др., 2022). Оказалось, что наиболее эффективным с точки зрения скорости заживления ран является облучение с интенсивностью — 140 Вт/см² (Гостюхина и др., 2022). Это представляет интерес для применения данного фактора в медицинской практике, поскольку указанный режим не превышает гигиенических уровней безопасного воздействия на организм (СанПиН 2.2.4/2.1.8.055-96., 1996). Таким образом, полученные результаты исследования динамики заживления ожоговых ран после термических повреждений и коррекции наносекундным ИПМИ у лабораторных крыс требовали гистологического подтверждения.

Цель настоящей работы — провести гистологическую оценку состояния кожи лабораторных крыс после термических повреждений и их коррекции наносекундными микроволновыми импульсами с пППМ 140 Вт/см² и частотой повторения импульсов 8 Гц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование выполнялось на 20 половозрелых самках крыс стока “Wistar” массой 230–250 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном световом режиме и на стандартном рационе со свободным доступом к воде и пище. Все процедуры с животными выполнялись в одно и то же время (с 9:00 до 11:00). Исследование проводилось в соответствии с этическими нормами работы с лабораторными животными (ETS № 123) и санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (Правила лабораторной практики в Российской Федерации). На проведение исследования получено разрешение Комиссии по биоэтике Биологического института НИ ТГУ (протокол № 15 от 14.06.2019 г.).

Экспериментальные животные случайным образом разделялись на две группы по 10 особей в каждой:

1. Контрольная группа ($n = 10$) — крысы, которые после моделирования термического ожога содержались в стандартных условиях вивария и не подвергались воздействию ИПМИ;

2. Опытная группа ($n = 10$) — крысы, которые после моделирования термического ожога подвергались однократно в течение четырех дней локальному воздействию наносекундным ИПМИ с

пППМ 140 Вт/см² с частотой повторения импульсов 8 Гц.

Моделирование термических ожогов. За сутки до моделирования ожога на дорсальной поверхности тела крысы осуществляли депиляцию участка кожи путем выбривания электрической ветеринарной машиной. Бритье и моделирование ожога проводили под CO₂ наркозом. Термическую рану создавали прикладыванием без усилия на 30 с, разогретого до 100°C металлического стержня диаметром 2 см к поверхности кожи в межлопаточной области. Площадь повреждения в контрольной и опытной группах составляла в среднем 340 ± 18 мм², что соответствует 8–9% от площади поверхности тела.

В течение всего эксперимента крысы содержались по две особи в специальных клетках, разделенных между собой прозрачной перегородкой для исключения контакта животных друг с другом и взаимного влияния на процесс заживления ожоговой раны. Наблюдение за процессом заживления ран после 4-кратного облучения осуществляли в динамике у контрольных и опытных крыс вплоть до образования келоидного рубца.

Динамику заживления термических ожогов оценивали с помощью электронного штангенциркуля по уменьшению площади участка поврежденной кожи (Князева и др., 2011; Гостюхина и др., 2022) и фиксировали фотокамерой Sony-DSC-F717 (Япония) с последующим анализом фотографий.

Облучение термических ожогов. Через 5 ч после формирования ожога ежедневно в течение 4 последующих дней ожоговые раны лабораторных крыс подвергали однократному воздействию наносекундным ИПМИ (4000 импульсов за сеанс/день, пППМ 140 Вт/см², частота повторения импульсов 8 Гц). Для локального воздействия на термическую рану и устранения возможности облучения всего организма остальная часть тела животных укрывалась радиопоглощающим материалом. Продолжительность однократного облучения с указанными параметрами воздействия составляла 8 минут. В качестве источника ЭМИ использовался импульсный лабораторный СВЧ-генератор (несущая частота 10 ГГц, длительность импульсов на полувисоте 100 нс). Во время воздействий животные в специальных пластиковых контейнерах диаметром 10 см и длиной 30 см помещали на расстоянии 20 см от рупора антенны генератора, в зоне сформировавшейся волны ИПМИ. При радиочастотном электромагнитном воздействии возможен нагрев тканей и, соответственно, повышение температуры облучаемой ткани, поэтому во время воздействия с помощью волоконно-оптического термометра МТ-4МО-1 (Россия) осуществляли температурный контроль. При использованной интенсивности ИПМИ температура нагрева

тканей в области раны не превышала 0.05°C . Выбор режима воздействия (длительность, пППМ, частота повторения) основан на результатах предыдущих исследований, как наиболее эффективно влияющего на скорость репаративной регенерации полнослойных кожных и термических ран (Князева и др., 2011; Гостюхина и др., 2022).

Гистологический анализ. На 30 день после моделирования термического ожога животных вывели из эксперимента путем передозировки CO_2 -наркоза. Для проведения гистологического анализа вырезали участок кожи, включающий пораженную и соседнюю интактную области. Гистологическую обработку материала проводили стандартными методиками (Коржевский, 2010; Exbrayat, 2013; Ярцев, 2019). После фиксации в 10% растворе забуференного формалина образцы кожи обезживали в растворах этанола возрастающей крепости (70, 95, 98%), просветляли в бутаноле и заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм изготавливали на ротационном микротоме RMD-3000 (“MTPoint”, Россия) и переносили на предметные стекла с белок-глицериновым покрытием. Окраску полученных срезов осуществляли гематоксилином Майера–эозином и модифицированным азановым методом. Всего было получено 60 микропрепаратов. Микроскопию препаратов, изготовление снимков выбранных показательных образцов, а также измерения осуществляли с помощью микроскопа AxioLab A1, камеры AxioCamERc 5s и программы ZEN 2 (“CarlZeissMicroscop”, Германия).

На микрофотоснимках измеряли общую площадь исследуемого фрагмента (ПФ, мкм^2), площадь грануляционной ткани (ПГТ, мкм^2), разрывов в исследуемом фрагменте (ПР, мкм^2), толщину новообразованного эпидермиса (ТЭ, мкм) или длину раны — расстояние между краями раны (ДР, мкм) — для ран с неполной эпителизацией. На основе первичных измерений рассчитывали относительную площадь грануляционной ткани (ОПГТ):

$$\text{ОПГТ} = \text{ПГТ} \times 100 / \text{ПФ} - \text{ПР} (\%). \quad (1)$$

Для сравнения экспериментальных групп использовали показатели ТЭ, ДР, ОПГТ.

Статистическая обработка данных. В ходе статистической обработки результатов гистологического анализа рассчитывали: среднее значение ($\bar{x}$), минимум (min) и максимум (max), стандартное отклонение (σ), стандартную ошибку средней ($m_{\bar{x}}$), коэффициент вариации (Cv), уровень значимости (p). Для оценки характера распределения использовали критерий Краскела–Уоллиса. Для сравнения результатов групп применяли точный критерий Фишера и тест Стьюдента. При проверке статистических гипотез достоверным считали уровень значимости менее 5% ($p < 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гистологический анализ показал, что на 30-е сутки эксперимента после моделирования ожогов и 4х-кратного облучения наносекундным ИПМИ с пППМ 140 Вт/см^2 , с частотой повторения импульсов 8 Гц термические раны у всех исследованных групп животных находились в фазе регенерации (рис. 1).

В контрольной группе полная эпителизация ран была выявлена в 33% случаев. Относительная площадь грануляционной ткани (t -test: $t = -2.2$, $p > 0.05$) и толщина новообразованного эпидермиса (t -test: $t = 1.4$, $p > 0.05$) у крыс данной группы с незавершенной эпителизацией ран (67%) не отличались от таковых с полной эпителизацией.

У облученных животных (опытная группа) в 67% случаев установлена полная эпителизация ожоговых ран. В данной группе крысы с незавершенной эпителизацией ран статистически отличались от таковых с полностью эпителизованными ранами по толщине новообразованного эпидермиса (t -test: $t = 1.21$, $p \leq 0.05$). Этот показатель оказался в 3.88 раза меньше толщины у животных с незавершенной эпителизацией раны (табл. 1).

Сравнение показателей опытных и контрольных групп животных с не полностью эпителизованными ранами продемонстрировало статистически значимые различия по величине относительной площади грануляционной ткани (t -test: $t = -2.37$, $p \leq 0.05$), в то время как по толщине эпидермиса различия отсутствовали (t -test: $t = -1.87$, $p > 0.05$). После облучения раны имели в 4.22 раза большую относительную площадь грануляционной ткани по сравнению с таковыми у контрольных животных (табл. 1).

В случае с полной эпителизацией ран животные опытной и контрольной групп отличались только по площади грануляционной ткани (t -test: $t = -3.83$, $p < 0.05$), которая была в 5.66 раз больше у животных после облучения (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты работы подтвердили ранее полученные данные о том, что воздействие наносекундным ИПМИ с интенсивностью 140 Вт/см^2 с частотой повторения импульсов 8 Гц способствует ускорению процесса регенерации ожоговых ран (Гостюхина и др., 2022). По результатам гистологического анализа было установлено, что животные, термические травмы которых подвергались облучению, имели более выраженную степень эпителизации ран. При этом, вне зависимости от степени эпителизации у крыс после облучения наблюдался больший размер области грануляционной ткани по отношению к контрольной группе.

Из литературных источников следует, что заживление кожных ран представляет собой слож-

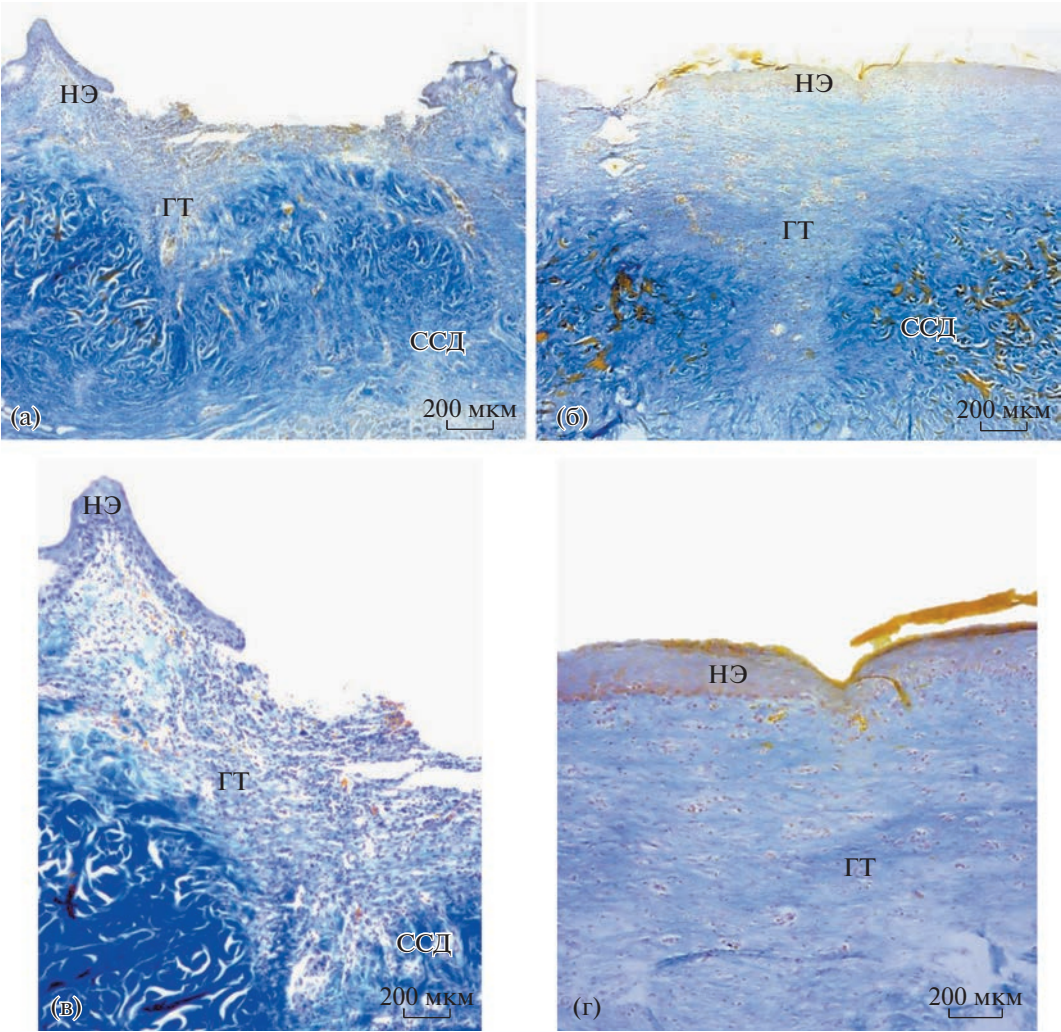


Рис. 1. Поперечные срезы центральной области ожоговых ран кожных покровов крыс контрольной (а, в) и опытной (б, г) групп на 30-е сутки заживления. Окраска модифицированным азановым методом НЭ – новообразованный эпидермис, ГТ – грануляционная ткань, ССД – сетчатый слой дермы.

Таблица 1. Показатели поврежденного участка кожных покровов крыс на 30-е сутки эксперимента после моделирования ожоговой травмы и 4-кратного воздействия наносекундным ИПМИ

Группа	Параметр		
	относительная площадь грануляционной ткани, мм ²	толщина новообразованного эпидермиса, мкм	длина раны, мм
	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$
Крысы с не полностью эпителизированными ранами после ожоговой травмы			
Контрольные	0.50 ± 0.20	49.22 ± 21.15	2.19 ± 0.70
Опытные	2.39 ± 1.86	37.71 ± 53.32	4.85 ± 5.07
Крысы с полностью эпителизированными ранами после ожоговой травмы			
Контрольные	0.27 ± 0.03	65.21 ± 10.31	
Опытные	1.53 ± 1.05	146.33 ± 116.99	

ное взаимодействие между разными типами клеток, цитокинами и нейрососудистой системой (Fox *et al.*, 2008). Использование новых технологий регенерации ткани способно заметно улучшать восстановление кожи, в частности, посредством реэпидермизации, ангиогенеза и заселения гипертрофических рубцов и келоидов (Sakallioğlu *et al.*, 2006). Известно, что ЭМИ разных диапазонов и интенсивностей также способно стимулировать репаративную регенерацию в поврежденных тканях (Бессонов и др., 2000; Лушников и др., 2003; Rodrigo *et al.*, 2009; Strauch *et al.*, 2009) за счет усиления кальций-кальмодулинового связывания в клетках и активации NO-синтазы (Pilla, 2008; Strauch *et al.*, 2009). Поэтому, не исключено, что наносекундное ИПМИ обладает аналогичным биологическим эффектом.

Увеличение толщины новообразованного эпидермиса после облучения указывает на то, что возможный эффект воздействия ИПМИ связан с активацией фибробластов. Фибробласты, являясь основными клетками дермы, продуцируют коллаген, эластин и протеогликаны, важные компоненты межклеточного вещества, а также секретируют различные факторы роста (TGF- β) и цитокины (TNF- α) (Bainbridge, 2013; Tracy *et al.*, 2016). Такой потенциальный набор мишеней влияет не только на элементы дермы, но и на пролиферацию и дифференцировку кератиноцитов (Wang *et al.*, 2007). Помимо этого, фибробласты являются важным компонентом процесса ранозаживления, поскольку участвуют в образовании и увеличении размеров грануляционной ткани, что продемонстрировано в ходе гистологического исследования. Не исключено, что участие ИПМИ в активации фибробластов может быть важнейшим вариантом успешного ранозаживления.

Таким образом, полученная гистологическая картина регенерации кожных покровов крыс после моделирования термического повреждения и локального облучения наносекундным ИПМИ позволяет утверждать, что использование данного энергетического воздействия для заживления ран представляет перспективное направление для разработки новых технологий в области косметологии и комбустеологии. Для их успешного продвижения в практическое использование требуются соответствующие доклинические и клинические исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Алексеев А.А., Бобровников А.Э., Малютина Н.Б. Экстренная и неотложная медицинская помощь после ожоговой травмы // Медицинский алфавит. 2016. Т. 2. № 15(278). С. 6–12.

Бессонов А.Е., Чемерис Н.К., Ганеев А.Б. Репаративная регенерация тканей под воздействием электромагнитных волн миллиметрового, инфракрасного и

части видимого диапазонов, генерируемых терапевтическим аппаратом “Минитаг” НИР НЦИМ “ЛИДО” // Физ.-хим. основы информ. медицины. ИБК РАН. Пушкино. 2000. С. 18.

Ганеев А.Б., Чемерис Н.К. Механизмы биологического действия электромагнитного излучения крайне высоких частот на уровне организма // Биомедицинская радиоэлектроника. 2007. № 8–9. С. 30–46.

Ганеев А.Б. Механизмы противовоспалительного и противоопухолевого действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высоких частот // Миллиметровые волны в биологии и медицине. 2012. № 3. С. 3.

Гостюхина А.А., Самойлова А.В., Большаков М.А., Мочалова В.М., Зайцев К.В., Кутенков О.П., Ростов В.В. Стимуляция заживления ожоговых ран у крыс наносекундным импульсно-периодическим микроволновым излучением // Известия РАН. Серия биологическая. 2022. № 5. С. 530–537. <https://doi.org/10.31857/S1026347022050080>

Князева И.Р., Медведев М.А., Жаркова Л.П., Гостюхина А.А., Кутенков О.П., Ростов В.В., Большаков М.А. Действие наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения на процессы регенерации // Бюллетень сибирской медицины. 2011. № 6. С. 109–113.

Коржевский Д.Э. Основы гистологической техники. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2010. 95 с.

URL: <http://sun.tsu.ru/limit/2016/000550786/000550786.pdf>.

Лушников К.В., Ганеев А.Б., Шумилина Ю.В. Снижение интенсивности клеточного иммунного ответа и неспецифического воспаления при действии электромагнитного излучения крайне высоких частот // Биофизика. 2003. Т. 38. № 5. С. 918–925.

Ярцев В.В. Основы гистологической техники для зоологов: учебно-методическое пособие для биологических специальностей вузов [для студентов, обучающихся по направлению 06.04.01 Биология / авт.-сост.]. М-во науки и высш. образования, Нац. исслед. Том. гос. ун-т. Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2019. 84 с.

URL: <http://vital.lib.tsu.ru/vital/access/manager/Repository/vtls:000660316>.

Athanasiou A., Karkambounas S., Batistatou A. The effect of pulsed electromagnetic fields on secondary skin wound healing: an experimental study // Bioelectromagnetics. 2007. V. 28. P. 362–368.

Atiyeh B.S., Costagliola M. Cultured epithelial autograft (CEA) in burn treatment: three decades later // Burns. 2007. V. 33. P. 405–413.

Bainbridge P. Wound healing and the role of fibroblasts // J. Wound Care. 2013. V. 22. № 8. P. 407–412.

Exbrayat J.M. Classical methods of visualization. Histochemical and cytochemical methods of visualization / Boca Raton, London, N.Y.: CRC Press Taylor and Francis Group, 2013. 367 p.

Fox A., Smythe J., Fisher N., Tyler M.P.H., McGrouther D.A., Watt S.M., Harris A.L. Mobilization of endothelial progenitor cells into the circulation in burned patients // Br J Surg. 2008. V. 95. P. 244–251.

- Labus W., Kitala D., Klama-Baryla A., Szapski M., Kraut M., Smętek W., Glik J., Kucharzewski M., Rojczyk E., Utrata-Wesolek A., Trzebicka B., Szeluga U., Sobota M., Poloczek R., Kamiński A. Influence of electron beam irradiation on extracellular matrix of the human allogeneic skin grafts *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2022. V. 110(3). P. 547–563.
<https://doi.org/10.1002/jbm.b.34934>
- Pilla A. Proposed electrochemical mechanism of EMF modulation of tissue repair // *Thebioelectromagnetic society 30th annual meeting abstract collection*, San Diego, California. 2008. P. 147.
- Rodrigo S.M., Cunha A., Pozza D.H., Blaya D.S., Moraes J.F., Blessmann J.B., Weber, Oliveira M.G. Analysis of the systemic effect of red and infrared laser therapy on wound repair // *Photomed Laser Surg*. 2009. V. 27(6). P. 929–935.
<https://doi.org/10.1089/pho.2008.2306>
- Sakallıoglu E.A., Basaran O., Ozdemir B.H., Arat Z., Yucel M., Haberal M. Local and systemic interactions related to serum transforming growth factor- β levels in burn wounds of various depths // *Burns*. 2006. V. 32. P. 980–985.
- Samoylova A.V., Gostyukhina A.A., Rostov V.V., Bolshakov M.A., Zaitsev K.V., Kutenkov O.P. Dynamics of Burn Wound Healing in Rats Irradiated by Nanosecond Microwave Pulses // *Biomedical J. Scientific and Technical Research*. 2020. V. 32. № 2. P. 24791–24792.
- Shpichka A., Butnaru D., Bezrukov E.A., Sukhanov R.B., Atal A., Burdukovskii V., Zhang Yu., Timashev P. Skin tissue regeneration for burn injury // *Stem Cell Research & Therapy*. 2019. V. 10. № 94.
<https://doi.org/10.1186/s13287-019-1203-3>
- Strauch B., Herman C., Dabb R., Ignarro L.J., Pilla A.A. Evidence-based use of pulsed electromagnetic field therapy in clinical plastic surgery // *Aesthet. Surg. J*. 2009. № 29(2). P. 135–143.
<https://doi.org/10.1016/j.asj.2009.02.001>
- Tracy L.E., Minasia R.A., Caterson E.J. Extracellular matrix and dermal fibroblast function in the healing wound // *Adv Wound Care*. 2016. V. 5. P. 119–136.
- Wang J.H.C., Thampatty B.P., Lin J.S., Im H.J. Mechano-regulation of gene expression in fibroblasts. *Gene*. 2007. V. 391. P. 1–15.
- Wood F.M., Kolybaba M.L., Allen P. The use of cultured epithelial autograft in the treatment of major burn injuries: a critical review of the literature // *Burns*. 2006. V. 32. P. 395–401.

Histological Assessment of the Laboratory Rats Skin after Thermal Damages Treated with Nanosecond Microwave Pulses

A. A. Gostyukhina^{1, 2, 3, #}, V. V. Yartsev^{2, 3, 4}, A. V. Samoylova^{1, 3, 4}, M. A. Bolshakov^{1, 3}, S. S. Evseeva^{2, 3}, V. M. Mochalova³, K. V. Zaitsev², O. P. Kutenkov¹, and V. V. Rostov¹

¹ Institute of High Current Electronics SB RAS, Akademicheskoy Ave., 2/3, Tomsk, 634055 Russia

² Federal Scientific and Clinical Center of Medical Rehabilitation and Balneology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Goluboe village, Solnechnogorsk district, Moscow region, 141551 Russia

³ National research Tomsk State University, Lenin Str., 36, Tomsk, 634050 Russia

⁴ Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow tract, 2, Tomsk, 634050 Russia

#e-mail: antariks-tomsk2015@yandex.ru

The effect of nanosecond repetitively pulsed microwave radiation (RPMR, 10 GHz, 100 ns pulse duration, 8 Hz pulse repetition rate, 140 W/cm² peak power flux density (pPFD)) on the treatment of a model thermal burn of the skin of laboratory rats was investigated. It is established that after 4-fold local irradiation, the rate of wound healing increases; it is due to the accelerated formation of granulation tissue and a decrease in the thickness of the scab, which ensures scarless healing.

Keywords: burn wound, nanosecond pulses, microwave radiation, histology, rats

УДК 612.017.1(470.1)

ТРАНСПОРТНЫЕ ФУНКЦИИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ У ЖИТЕЛЕЙ ЕВРОПЕЙСКОЙ ТЕРРИТОРИИ АРКТИКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

© 2023 г. К. О. Пашинская*, @, А. В. Самодова*, Л. К. Добродеева*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова Уральского отделения Российской академии наук,
ул. Набережная Северной Двины, 23, Архангельск, 163069 Россия

@E-mail: nefksu@mail.ru

Поступила в редакцию 06.05.2022 г.

После доработки 09.02.2023 г.

Принята к публикации 10.02.2023 г.

В работе представлены данные об уровне содержания сывороточных иммуноглобулинов у жителей Севера и Арктики Европейской территории РФ. У лиц, проживающих в условиях Арктики, средняя концентрация IgM, IgA и IgE выше в 1.4–2.6 раза, частота повышенных концентраций выше в 2.4–8.8 раза. Установлена высокая частота дефицита содержания IgG в 72.3%, что свидетельствует о торможении переключения синтеза антител с преимущественным преобладанием IgM и IgA. В условиях неблагоприятного климата значительно увеличивается и расширяется спектр антигенных структур. Активизация продукции антител обусловлена повышенным уровнем антигенного воздействия на организм и увеличением содержания, многообразия во внутрисосудистой среде продуктов тканевого обмена со свойствами аутоантигенов. Выявлено, что концентрация иммуноглобулинов значима в формировании циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). У жителей Арктики Европейской территории РФ повышенные концентрации IgM и IgA ассоциированы с увеличением содержания нейтрофильных гранулоцитов и цитокина интерферона-гамма (ИФН-γ), что в свою очередь направлено на обеспечение эффективности клиренса продуктов жизнедеятельности в условиях гипоксии.

Ключевые слова: иммуноглобулины, нейтрофильные гранулоциты, циркулирующие иммунные комплексы, ИФН-γ, Арктика

DOI: 10.31857/S1026347022600364, **EDN:** WCJDKV

Иммуноглобулины кроме распознавания экзогенных и эндогенных антигенов участвуют в поддержании гомеостаза в организме. Стимуляция синтеза антител обусловлена потребностью в связывании субстрата или компонента, обладающего антигенной активностью при увеличении содержания во внутрисосудистой среде для элиминации, транспорта или блокады активности. Иммуноглобулины связывают транспортные формы метаболитов, продукты обмена, продукты жизнедеятельности, продукты клеточного распада, ферменты, токсины и гормоны.

Недостаточность утилизации и выведения из организма различных продуктов жизнедеятельности является патогенетическим фактором большинства социально значимых болезней. Значительное напряжение транспортного обеспечения и недостаточность утилизации продуктов обмена возникает в результате высокого напряжения регуляции метаболических процессов при действии комплекса неблагоприятных климатических условий.

Специфическое связывание и элиминация биологически активных веществ, продуктов клеточного метаболизма, компонентов клеточного распада, растворимых форм мембранных рецепторов происходит иммуноглобулинами с образованием циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Кроме того, иммуноглобулины связывают антигены функционально неактивных и апоптических клеток, окисленные эпитопы липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), функционально не активные белки плазмы крови, что определяет их роль в физиологическом клиренсе для поддержания гомеостаза биологических жидкостей организма (Зиганшина и др., 2013).

Для северян изменение иммунного статуса характеризуется активизацией цитотоксических лимфоцитов (Th1, CD8+), естественных клеток-киллеров (CD16+) и повышенной активностью синтеза иммуноглобулинов на фоне дефицита функционально зрелых лимфоцитов (CD3+) и дефицита фагоцитарной защиты нейтрофильных гранулоцитов (Добродеева, Жилина, 2004). У лиц, ро-

дившихся и проживающих на Севере, происходит активизация образования антител и аутоантител, зависящая от эффективности адаптации к дискомфортным условиям. Высокая активность аутоантителообразования характерна для жителей Арктики, что подтверждается более высокой частотой регистрации повышенных титров лейкоагглютининов, гемагглютининов, аутоантител к тиреоглобулину (Добродеева и др., 2014).

Длительное воздействие экстремально неблагоприятных климатогеографических факторов в условиях Севера и Арктики обуславливает сокращение резервных возможностей организма. Лимитирующим фактором адаптации человека является развитие циркулярного гипоксического синдрома. Процесс адаптации к гипоксии сопряжен с экспрессией в клетках гипоксией индуцируемого фактора (hypoxia-inducible factor, HIF), регулирующего системные и клеточные реакции в ответ на недостаточность кислорода. Кроме того, HIF обеспечивает адаптированность клеток иммунной системы к гипоксическому микроокружению в очагах воспаления.

Рецепторное взаимодействие иммуноглобулинов с моноцитами, макрофагами, нейтрофильными гранулоцитами обуславливает активизацию фагоцитоза. Взаимодействие антител с естественными клетками-киллерами и Т-лимфоцитами приводит к стимуляции антителозависимой цитотоксичности.

Представляло интерес изучение взаимосвязи содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови с иммунологическими параметрами у практически здоровых на период обследования людей, проживающих на Европейской территории РФ за полярным кругом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено иммунологическое обследование 628 практически здоровых на момент обследования людей, из них 437 — проживающих на Севере (64°57' с.ш.) и 191 — проживающих на территории за полярным кругом Европейской территории РФ (севернее 66°33' с.ш.—67°56' с.ш.). У жителей Европейского Севера и Арктики проведен анализ содержания иммуноглобулинов и частоты регистрации пониженных и повышенных концентраций. Последующий статистический анализ параметров иммунологического обследования у жителей Арктики обусловлен высокой частотой регистрации повышенных концентраций IgM, IgA и взаимосвязью увеличения содержания иммуноглобулинов данных классов. Анализируя подгруппу лиц, проживающих в условиях Арктики дополнительно сформированы группы сравнения: 1 — лица с содержанием в крови IgM и IgA в норме ($n = 38$) и 2 — лица с повышенными концентрациями в крови IgM и IgA ($n = 61$) — 99 жителей Мурманской области

(84.85% женского и 15.15% мужского пола в возрасте 48.19 ± 1.66 лет). Территория Мурманской области относится к экстремально-дискомфортной зоне с интенсивным воздействием природно-климатических факторов на организм человека, проявляющимся критическим напряжением адаптационных систем (Селин и др., 2011; Васильев, Селин, 2014; Виноградова, 2015).

Все исследования проводили с согласия волонтеров и в соответствии с требованиями документа “Хельсинкская декларация Всемирной медицинской ассоциации. Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта” (1964 г. с изменением и дополнением от 2013 г.). Критерии включения в исследование: 1) проживание на Европейской территории РФ, входящей в состав Арктической зоны: Архангельская и Мурманская области; 2) заполнение информированного согласия на обследование. Тип исследования: ретроспективный, выборки случайные.

Комплекс иммунологического исследования включал изучение гемограммы, фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови. Количество и соотношение клеток гемограммы подсчитывали в мазках крови, окрашенных по методу Романовского—Гимза. Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли с помощью тест-набора “Реакомплекс” (Россия). Содержание иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA, IgE) и цитокина интерферон-гамма (ИНФ- γ) в сыворотке крови изучали методом иммуноферментного анализа. Концентрацию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови определяли стандартным методом преципитации с использованием 3.5, 4.0, 7.5% ПЭГ-6000. Реакции оценивали с помощью фотометра Multiskan MS (LabSystems, Финляндия) и автоматического иммуноферментного анализатора “Evolis” фирмы “Bio-RAD” (Германия).

Статистическая обработка полученных данных проведена с применением пакета прикладных программ “Statistica 21.0” (StatSoft, США). Результаты представлены в качестве средней арифметической величины и ошибки средней ($M \pm m$). Для сравнения между группами использовали независимый выборочный t -критерий и непараметрический U -критерий Манна—Уитни. Взаимосвязь между содержанием IgM, IgA и иммунологическими параметрами проанализирована с помощью корреляционного анализа. Для данных двумерного нормального распределения был рассчитан коэффициент корреляции Пирсона. Для двумерных данных ненормального распределения был рассчитан коэффициент корреляции Спирмена. Критический уровень значимости (p) в работе принимался равным 0.05.

Таблица 1. Среднее содержание и частота регистрации пониженных, повышенных концентраций иммуноглобулинов у жителей Севера и Арктики Европейской территории РФ

Показатель	Предел содержания	Жители Европейского Севера <i>n</i> = 437			Жители Арктики <i>n</i> = 191		
		<i>M</i> ± <i>m</i>	частота регистрации, %		<i>M</i> ± <i>m</i>	частота регистрации, %	
			пониженных уровней	повышенных уровней		пониженных уровней	повышенных уровней
IgM, г/л	0.9–2.2	1.78 ± 0.03	—	7.6	2.57 ± 0.07***	—	63.7
IgG, г/л	7.0–26.0	17.64 ± 0.12	—	—	3.64 ± 0.24***	72.3	—
IgA, г/л	1.2–5.4	1.74 ± 0.07	55.6	4.8	4.63 ± 0.24***	—	42.1
IgE, МЕ/мл	20–100	48.46 ± 2.36	—	7.9	94.70 ± 8.48***	—	18.7

Примечание. Уровень достоверности различия показателей *** – $p < 0.001$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У жителей Арктики средняя концентрация IgM, IgA и IgE в периферической венозной крови в 1.4–2.6 раза выше по сравнению с таковыми у лиц, проживающих в более благоприятных климатических условиях. Более высокие значения среднего содержания иммуноглобулинов у жителей Арктики соответствуют норме, однако значительно выше (в 2.4–8.8 раза) частота регистрации повышенных концентраций IgM (>2.2 г/л), IgA (>5.4 г/л) и IgE (>100 МЕ/мл) (табл. 1). Кроме того, у жителей Арктики содержание IgG в 72.3% находилось ниже референсного предела (<7.0 г/л). У 55.6% жителей Севера Европейской территории РФ установлен дефицит содержания IgA (<1.2 г/л) (табл. 1).

Наиболее высокая частота регистрации повышенных уровней иммуноглобулинов у жителей Арктики свидетельствует о длительной активации гуморального звена (Добродеева и др., 2014). Активация антителообразования характерна для жителей Севера и Арктики Европейской территории РФ (Евсеева, 2010).

В более ранних научных исследованиях приведены данные о нарушении гуморального иммунитета у жителей Севера и Арктики Европейской территории РФ. Так, по данным иммунологического обследования коренного населения Мурманской области с 1965 г. по 1992 г. выявлено изменение содержания иммуноглобулинов в крови: снижение концентрации IgG и повышение концентраций IgM, IgA (Шубик, 2011а, б). У практически здоровых жителей Архангельской области установлен дисбаланс гуморальных механизмов иммунной системы с высокими концентрациями IgM, IgG, IgE, аутоантител и ЦИК на фоне низкого уровня содержания IgA, дефицита фагоцитарной защиты нейтрофильных гранулоцитов, недостаточности функционально активных лимфоцитов (CD3+), высокого уровня содержания активированных лимфоцитов (CD25+, CD71+) и

лимфоцитов с цитотоксической активностью (CD8+, CD16+) (Добродеева и др., 2004; Добродеева, 2005; Щеголева и др., 2016).

Переключение синтеза иммуноглобулинов на изотип G, A, E происходит при активации В-лимфоцитов после получения дополнительных ко-стимулирующих сигналов при взаимодействии с Т-хелперами в зародышевых центрах фолликулов периферических лимфоидных органов (Лушова и др., 2019). При действии цитокинов фолликулярных Т-хелперов происходит переключение изотипа иммуноглобулинов. Интерферон-гамма (ИФН-γ) влияет на экспрессию IgG2, интерлейкин-21 (IL-21) способен переключать синтез изотипов на IgG3, IgG1 и IgA, а при совместном действии с интерлейкином-4 (IL-4) способствует продукции IgG1 и IgE (Воронина, Талаев, 2018; Лушова и др., 2019). Переключение синтеза полиреактивных IgM на IgA В-лимфоцитами лимфоидной ткани кишечника возможно без участия Т-хелперов под влиянием активирующих факторов дендритных клеток (He *et al.*, 2007; Pabst, 2012; Brandtzaeg, 2013).

Действие IgA в секретах слизистых оболочек (секреторный IgA, sIgA) направлено на эффективное предотвращение антигенного воздействия на организм (Добродеева и др., 2014). Установлена прямая взаимосвязь сорбционной способности эпителия слизистых с содержанием секреторного и сывороточного IgA (Добродеева и др., 2018). Неэффективность защитного действия IgA обуславливает возможность проникновения большого количества антигенов, в том числе и аллергенов. IgE компенсируют дефицит IgA, широко распространенный на Севере. С дефицитом IgA связано развитие аллергии и аутоиммунного процесса (Добродеева, 2010; Добродеева и др., 2014; Singh *et al.*, 2014).

IgE за счет определения линейных и конформационных эпитопов антигенов отличаются особой чувствительностью в индикации и связывании (Bennich *et al.*, 1976; Maurer *et al.*, 1995; Добродеева, 2010; Добродеева и др., 2014). При рецепторном свя-

Таблица 2. Средняя концентрация и частота регистрации повышенных уровней циркулирующих иммунных комплексов у жителей Севера и Арктики Европейской территории РФ

Показатель	Предел содержания	Жители Европейского Севера <i>n</i> = 437		Жители Арктики <i>n</i> = 191	
		$M \pm m$	частота регистрации повышенных уровней, %	$M \pm m$	частота регистрации, повышенных уровней, %
ЦИК IgA, г/л	0.6–3.6	1.25 ± 0.18	—	$7.02 \pm 0.44^{***}$	37.16
ЦИК IgM, г/л	0.6–3.6	2.04 ± 0.21	—	$7.69 \pm 0.43^{***}$	40.71
ЦИК IgG, г/л	0.6–3.6	3.39 ± 0.27	9.84	$4.20 \pm 0.34^*$	22.23

Примечание. Уровень достоверности различия показателей * — $p < 0.05$, *** — $p < 0.001$.

зывании лимфоцитами, макрофагами и эозинофилами комплекса антиген-IgE реализуется более высокий потенциал антителозависимых реакций и, следовательно, более высокий уровень эффективности связывания, нейтрализации и клиренса антигенов. Повышенные уровни IgE регистрируются у практически здоровых людей, проживающих на Севере Европейской территории РФ в диапазоне 16–40% (Добродеева, 2010). Повышение содержания IgE происходит при развитии аллергических реакций. Паразитарные заболевания (аскаридоз, стронгилоидоз и др.) являются распространенной причиной высокого уровня IgE в крови. Повышенные концентрации IgE наблюдаются при хронических воспалительных процессах, аутоиммунных и опухолевых заболеваниях (Добродеева, 2010; Мачарадзе, 2017).

Установлено, что у жителей Севера и Арктики Европейской территории РФ повышенные концентрации IgE в крови связаны с более высоким уровнем дисбактериоза, инфицированностью паразитами, нарушением толерантности к пищевым и микробным антигенам желудочно-кишечного тракта (Меньшикова, 2015). Существует ассоциация повышенного содержания IgE в период полярной ночи и в дни магнитных бурь. Аномально высокие уровни IgE установлены у лиц, постоянно подвергающихся воздействию малых доз радиации (Гущин, 2000; Манько и др., 2000; Лебедев, Понякина, 2003).

На синтез иммуноглобулинов В-лимфоцитами оказывает влияние перепрограммирование клеток на гликолитический метаболизм при активации HIF в условиях гипоксии, а именно отмечается ухудшение выработки высокоафинных IgG (Krzywinska, Stockman, 2018; Титова и др., 2020). Активность гуморального ответа IgG и IgA снижается при преимущественном преобладании содержания IgM. Таким образом, дисиммуноглобулинемия у обследованных лиц в условиях Арктики проявляется дефицитом IgG на фоне повышенных концентраций IgM и IgA. Торможение переключения синтеза IgM на IgG обуславливает ослабление защитной функции антител в тканях

(Самодова, Цыпышева, 2015). У жителей Европейского Севера дисиммуноглобулинемия подтверждается дефицитом IgA (табл. 1).

В условиях Арктики увеличивается продукция секреторных IgM, IgA и IgE. Указанные классы иммуноглобулинов имеют свои особенности и преимущества перед IgG: наибольшее разнообразие специфического распознавания характерно для IgA, более высокая чувствительность в индикации антигена отличает IgE и самая большая валентность свойственна IgM. Надо полагать, что в условиях неблагоприятного климата значительно расширяется спектр антигенных структур, в том числе трудно идентифицируемых. В неблагоприятных климатических условиях повышенный уровень антигенного влияния активизирует общие системные реакции, увеличивая содержание иммуноглобулинов в крови.

У жителей Арктики выше средняя концентрация циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) с превышением референсного предела содержания (>3.6 г/л) в 22.23–40.71% (табл. 2). Кроме того, в условиях Арктики уровень содержания ЦИК с IgM и IgA больше в 1.67–1.83 раза, чем комплексов с IgG ($p < 0.001$). Значительное превышение концентраций ЦИК с IgA и IgM, по сравнению с таковыми, включающими IgG подтверждает связь активизации системных реакций продукции IgM и IgA.

У жителей Арктики одновременно повышенные концентрации IgM и IgA ассоциировано с увеличением содержания циркулирующих нейтрофильных гранулоцитов (3.23 ± 0.36 до $4.38 \pm 0.32 \times 10^9$ кл/л, $p < 0.001$) выше нормативного уровня ($>5.5 \times 10^9$ кл/л) в 20.63%. Нейтрофилы имеют все три рецептора к Fc (RI — CD64 или CD89, RII — CD32; RIII — CD16 (Климович, Самойлович, 2006; Нестерова и др., 2011; Зиганшина и др., 2013;). Активизация эффекторных клеточных функций нейтрофильных гранулоцитов происходит при связывании двух молекул FcRI с ЦИК IgA (Климович, Самойлович, 2006). IgM обладают большей активностью в связывании антигенов с последующим удалением ЦИК с IgM

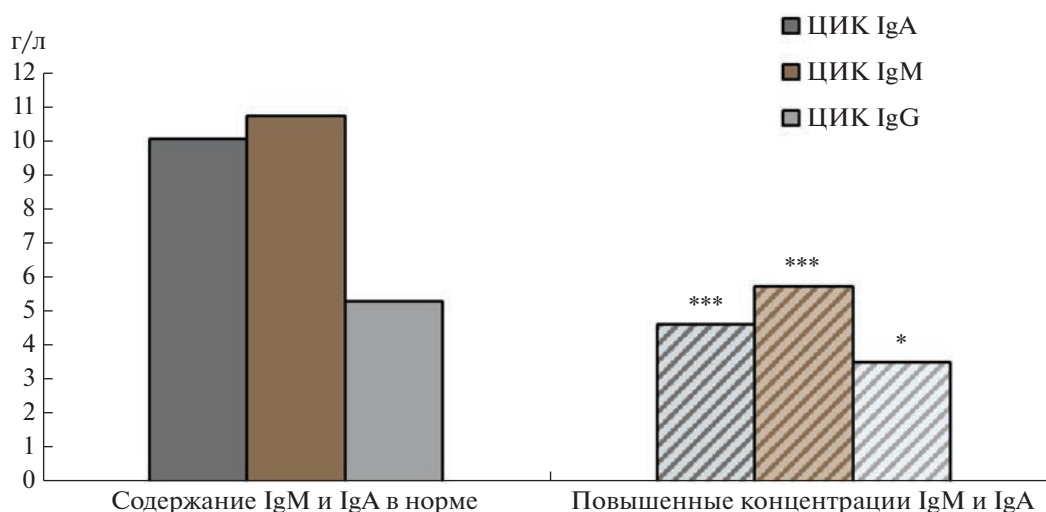


Рис. 1. Концентрация иммунных комплексов в зависимости от содержания сывороточных IgM и IgA у жителей Арктики. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ — достоверность различий при сравнении концентраций ЦИК при повышенных уровнях содержания иммуноглобулинов.

путем рецепторного эндоцитоза нейтрофилами (Зиганшина и др., 2013).

Активизация нейтрофилов при связывании FcR-рецепторов с иммуноглобулинами направлена на клиренс ЦИК (Виноградова и др., 2008; Алиева и др., 2015). Действительно, увеличение содержания нейтрофильных гранулоцитов при повышении концентраций IgM и IgA сопряжено со снижением концентраций ЦИК, содержащих IgM и IgA ($r = -0.22$; $p < 0.05-0.01$). Однако нейтрофильный лейкоцитоз не ассоциирован с активизацией фагоцитарной защиты, поскольку процент активных фагоцитов практически не нарастает (48.04 ± 0.76 и 53.52 ± 1.61 , %) и не установлено увеличения интенсивности фагоцитоза по фагоцитарному числу (соответственно 5.02 ± 0.13 и 5.62 ± 0.17 , усл. ед.). Нейтрофильные гранулоциты дифференцируются на фагоциты и на клетки с преимущественно секреторными функциями (Yang et al., 2000; Sanchez-Torres et al., 2001; Nathan, 2006; Aguilar-Ruiz et al., 2011). Снижение процента активных фагоцитов обычно сочетается с увеличением супероксид-анион-образующей способности (Гусакова, Новикова, 2013; Добродеева и др., 2021). В миграционные и немиграционные эффекты нейтрофилов вовлечены одни и те же рецепторы к Fc-фрагментам иммуноглобулинов и компонентам комплемента (Zigmond, 1977). Следовательно, увеличение содержания нейтрофилов в крови у лиц, проживающих в неблагоприятных климатических условиях Арктики Европейской территории РФ происходит с активизацией миграционно-транспортной функции. Во внутрисосудистой среде циркулирующие нейтрофилы пребывают в состоянии покоя, не происходит адгезии и продуцирования АФК.

Циркулирующие нейтрофилы выполняют преимущественно роль по поддержанию гомеостаза и выступают в роли антигенпрезентирующих клеток за счет экспрессии рецепторов PRR (паттерн распознающие рецепторы, pattern-recognition receptors), которые распознают молекулярные паттерны, связанные с повреждением (DAMPs) (Галкин, Демидова, 2015).

Как уже было отмечено, у жителей Арктики уровень ЦИК был достоверно ниже при повышении концентраций IgM и IgA (ЦИК IgM 3.44 ± 0.25 против 7.69 ± 0.43 г/л; ЦИК IgA 3.33 ± 0.34 против 7.02 ± 0.44 г/л; ЦИК IgG 3.40 ± 0.15 против 4.20 ± 0.34 г/л, $p < 0.05-0.001$) (рис. 1). Обратная взаимосвязь содержания ЦИК IgA, IgM с уровнем иммуноглобулинов соответствующего класса подтверждает значимость концентрации сывороточных антител в формировании циркулирующих иммунных комплексов.

Повышенные уровни содержания иммуноглобулинов могут тормозить формирование комплекса или повышать активность его диссоциации. По принципу обратимой биомолекулярной реакции связывания при изменении концентрации одного из реагентов соответственно может меняться содержание комплекса, но только при условии, если концентрация еще не достигла полного насыщения. Таким образом, повышенные концентрации иммуноглобулинов могут тормозить формирование ЦИК в результате обеспечения полного насыщения взаимосвязей.

Известно, что величина ЦИК зависит от соотношения входящих в комплекс структур. Малые по массе комплексы, чаще растворимы и способны к диффундированию. Большие комплексы (>50 кДа) всегда содержат избыток антител, легко

перегруппировываются, легко адгезируют и при повышении концентрации данных комплексов возникает возможность преципитации. Повышенные концентрации сывороточных IgM, IgA, IgE могут создавать риск отложения, преципитации ЦИК на различных плотных структурах клеточного и неклеточного строения.

Взаимодействие иммунокомпетентных клеток с ЦИК (антиген-антитело, антиген-компонент комплекса) способствует активизации, мобилизации цитотоксического потенциала, индукции окислительного взрыва, дегрануляции. Связывание ЦИК идет с рецепторами клеток для Fc-фрагмента иммуноглобулинов, для C3, C1 — компонентов комплекса и с любыми частицами, нагруженными их фрагментами. Экзоцитоз гидролитических ферментов и активных форм кислорода (АФК) вызывает лизис ЦИК и транспортирующих клеток. Клетки с низкой метаболической активностью доставляют ЦИК фиксированным макрофагам (Малежик, Карпова, 2008; Ярилин, 2010; Бельченко, 2013; Dobrodeeva *et al.*, 2021).

При повышении концентраций IgM и IgA установлено увеличение содержания ИФН- γ , соответственно, 73.24 ± 8.21 против 17.40 ± 4.95 пг/мл; $p < 0.001$ выше референсного предела содержания (>25.0 пг/мл). ИФН- γ продуцируют нейтрофильные гранулоциты, цитотоксические лимфоциты и естественные клетки-киллеры при контакте с микроорганизмами (Radsak *et al.*, 2000; Scapini *et al.*, 2000; Супрун, 2015). ИФН- γ обладает иммунорегуляторными свойствами. Под влиянием ИФН- γ экспрессируется ген рецептора Fc γ RI (CD64) нейтрофильными гранулоцитами в активированном состоянии, усиливая внешний экзоцитоз клеток. ИФН- γ индуцирует активацию естественных клеток-киллеров, созревание цитотоксических лимфоцитов и опсонизацию внеклеточных патогенов иммуноглобулинами, секреция которых усиливается при действии данного цитокина при дифференцировке В-лимфоцитов.

Повышение содержания цитокинов в крови свидетельствует о необходимости системной регуляции. ИФН- γ через кислород зависимый механизм (АФК-зависимый механизм) в условиях нормоксии и гипоксии способствует стабилизации и активизации гипоксией индуцируемого фактора (HIF) (Haddad, Harb, 2005). В основном активность HIF увеличивается в условиях гипоксии, что приводит к повышению экспрессии генов, которые обеспечивают физиологические реакции адаптации (Michels, 2004). В условиях Арктики гипоксические состояния широко распространены (Авцын, 1985; Ким, 2014, 2015). На клеточном уровне адаптация к гипоксии достигается повышением эффективности путей выработки энергии, активности анаэробного гликолиза и снижением энергопотребляющих процессов (Michels, 2004;

Haddad, Harb, 2005). Обеспеченность лимфоцитов периферической крови АТФ обуславливает активационную и реакционную способность Т-клеток (Зубаткина и др., 2020). Переход клетки на гликолитический тип метаболизма характерен для эффекторных Т-лимфоцитов (Tao *et al.*, 2015). Изучение роли HIF в регуляции направленности и интенсивности метаболизма Т-клеток служит предметом исследований для коррекции иммунных нарушений (Зубаткина и др., 2021).

Под влиянием комплекса неблагоприятных климатических факторов Арктики происходит увеличение антигенного воздействия и увеличение содержания, многообразия продуктов тканевого обмена со свойствами аутоантигенов. Для обеспечения эффективного связывания, транспорта, утилизации, элиминации антигенов и/или аутоантигенов происходит активизация синтеза антител и/или аутоантител, что подтверждается повышенными концентрациями IgM, IgA и ЦИК. Увеличение содержания ИФН- γ и нейтрофильных гранулоцитов направлено на повышение эффективности клиренса продуктов жизнедеятельности в условиях гипоксии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повышенный уровень антигенного влияния активизирует общие системные реакции у жителей Арктики, увеличивая содержание в крови иммуноглобулинов классов М, А и Е, обладающих повышенной активностью связывания и выявляющих даже малые концентрации разнообразных антигенов.

В условиях неблагоприятного климата значительно увеличивается и расширяется спектр антигенов, в том числе с появлением трудно идентифицируемых антигенных структур и в малых количествах.

Снижение концентрации ЦИК в сыворотке крови ассоциировано с повышением содержания циркулирующих нейтрофильных гранулоцитов с преимущественно секреторной функцией и осуществляющих клиренс комплексов.

Активация секреции ИФН- γ , стимулируя кислородзависимые механизмы нейтрофилов и синтез иммуноглобулинов, повышает эффективность клиренса продуктов жизнедеятельности в условиях гипоксии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Авцын А.П. Патология человека на Севере. М.: Медицина, 1985. 416 с.
- Алиева Т.Р., Алиев С.Д., Аллахвердиева Л.И. Изменения концентрации циркулирующих иммунных комплексов, активности компонента и уровня IgE и IgG в крови и лимфе при экспериментальном ана-

- филактическом шоке и феномене Артюса // Иммунология. 2015. № 36(2). С. 107–110.
- Бельченко Д.И. Функциональная система нелимфоидных клеток в эритроцитарном клиренсе циркулирующих иммунных комплексов // Иммунология. 2013. № 2. С. 88–90.
- Васильев В.В., Селин В.С. Метод комплексного природохозяйственного районирования и выделение южной границы Российской Арктики // Вестник Кольского научного центра РАН. 2014. № 1(16). С. 64–71.
- Виноградова В.В. Природно-климатические и биоклиматические условия жизни населения Мурманской области // Известия РАН. Серия географическая. 2015. № 6. С. 90–99.
- Виноградова Ю.Е., Цветаева Н.В., Леках И.В., Варламова Е.Ю., Шинкарина А.П., Саенко А.С. Свободно циркулирующие и скрытые аутоантитела в сыворотке больных аутоиммунными цитопениями // Иммунология. 2008. Т. 29. № 3. С. 163–166.
- Воронина Е.В., Талаев В.Ю. Созревание фолликулярных Т-хелперов // Иммунология. 2018. Т. 39. № 4. С. 230–238.
<https://doi.org/10.18821/0206-4952-2018-39-4-230-238>
- Галкин А.А., Демидова В.С. Нейтрофилы и синдром системного воспалительного ответа // Раны и раневые инфекции. Журн. им. профессора Б.М. Костюченко. 2015. Т. 2. С. 25–31.
<https://doi.org/10.17650/2408-9613-2015-2-2-25-31>
- Гусакова Н.В., Новикова И.А. Функциональная активность нейтрофилов при хронической рецидивирующей герпетической инфекции // Медицинская иммунология. 2013. Т. 15. № 2. С. 169–176.
- Гущин И.С. Физиология иммуноглобулина Е // Рос. физиол. журн. им. Сеченова. 2000. Т. 86. № 3. С. 268–279.
- Добродеева Л.К. Содержание иммуноглобулина Е в сыворотке крови у людей, проживающих на Европейской территории России // Экология человека. 2010. № 5. С. 3–10.
- Добродеева Л.К. Пределы физиологического колебания в периферической крови метаболитов, гормонов, лимфоцитов, цитокинов и иммуноглобулинов у жителей Архангельской области: Информационные материалы. Архангельск, 2005. 52 с.
- Добродеева Л.К., Балашова С.Н., Добродеев К.Г. Нейтропения и регуляция иммунитета у человека в условиях Арктики. Екатеринбург: УрО РАН, 2021. 198 с.
- Добродеева Л.К., Жилина Л.П. Иммунологическая реактивность и состояние здоровья населения Архангельской области. Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 180 с.
- Добродеева Л.К., Самодова А.В., Карякина О.Е. Взаимосвязи в системе иммунитета. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2014. 198 с.
- Добродеева Л.К., Штаборов В.А., Меньшикова Е.А., Добродеев К.Г. Активность иммунных реакций в зависимости от характера питания и состояния органов желудочно-кишечного тракта. Екатеринбург: УрО РАН, 2018. 171 с.
- Евсеева И.В. Показатели иммунного статуса в двух коренных этнических группах севера // Экология человека. 2010. № 10. С. 37–41.
- Зиганшина М.М., Бовин Н.В., Сухих Г.Т. Естественные антитела как ключевой элемент механизма, поддерживающего гомеостаз в иммунной системе // Иммунология. 2013. № 5. С. 277–282.
- Зубаткина О.В., Добродеева Л.К., Попов А.А., Самодова А.В., Круглов С.Д. Обеспеченность аденозинтрифосфатом лимфоцитов периферической крови у жителей Европейского севера России // Экология человека. 2020. № 8. С. 20–25.
<https://doi.org/10.33396/1728-0869-2020-8-20-25>
- Зубаткина О.В., Добродеева Л.К., Самодова А.В., Круглов С.Д. Уровень внутриклеточных регуляторов метаболизма лимфоцитов периферической крови у жителей Европейского севера России // Экология человека. 2021. № 9. С. 43–47.
<https://doi.org/10.33396/1728-0869-2021-9-43-47>
- Ким Л.Б. Влияние полярного стажа на кислородтранспортную функцию крови у северян различного возраста // Арктика и Север. 2014. № 17. С. 150–162.
- Ким Л.Б. Транспорт кислорода при адаптации человека к условиям Арктики и кардиореспираторной патологии. Новосибирск: Наука, 2015. 216 с.
- Климович В.Б., Самойлович М.П. Иммуноглобулин А (IgA) и его рецепторы // Медицинская Иммунология. 2006. Т. 8. № 4. С. 483–500.
- Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунная недостаточность (выявление и лечение). М.: Медицинская книга, 2003. 443 с.
- Лушова А.А., Жеремян Э.А., Астахова Е.А., Спиридонова А.Б., Бязрова М.Г., Филатов А.В. Субпопуляции В-лимфоцитов: функции и молекулярные маркеры // Иммунология. 2019. Т. 40. № 6. С. 63–76.
<https://doi.org/10.24411/0206-4952-2019-16009>
- Малежик Л.П., Карпова Н.И. Фагоцитоз, гомеостаз и розеткообразование у детей при острой респираторной вирусной инфекции // Российский иммунологический журн. 2008. Т. 2(11). № 2–3. С. 333.
- Манько В.М., Орадовская И.В., Лусс Л.В., Пинегин Б.В., Ильина Н.И., Киселев М.Ф., Галкин Г.Н. Разработка и внедрение системы комплексного иммунологического мониторинга за персоналом объектов по уничтожению ядерного оружия // Иммунология. 2000. № 1. С. 49–56.
- Мачарадзе Д.Ш. Современные клинические аспекты оценки уровней общего и специфических IgE // Педиатрия. Журн. им. Г.Н. Сперанского. 2017. С. 121–127.
- Меньшикова Е.А. Влияние характера питания на иммунные реакции жителей Севера // Экология человека. 2015. № 12. С. 10–15.
- Нестерова И.В., Евлевский А.А., Фомичева Е.В., Колесникова Н.В., Ковалева С.В., Чудилова Г.А., Ломтадзе Л.В., Коков Е.А., Кокова Л.Н. Особенности спонтанной и индуцированной реструктуризации хроматина и функционирования кислородзависимых цитотоксических механизмов нейтрофильных гранулоцитов при колоректальном раке //

- Российский аллергологический журн. 2011. Т. 5. № 3/4. С. 254–261.
- Самодова А.В., Цыпышева О.Б. Соотношение внеклеточного пула рецепторов и уровня иммунных реакций у людей, проживающих в условиях Заполярья // Экология человека. 2015. № 12. С. 21–27.
- Селин В.С., Васильев В.В., Широкова Л.Н. Российская Арктика: география, экономика, районирование. Апатиты: КНЦ РАН, 2011. 203 с.
- Супрун Е.Н. Цитокины и аутоантитела к ним (часть 1) // Аллергология и иммунология в педиатрии. 2015. № 4. С. 44–49.
- Тимова О.В., Кузубова Н.А., Лебедева Е.С. Роль гипоксического сигнального пути в адаптации клеток к гипоксии // РМЖ. Медицинское обозрение. 2020. № 4. С. 207–213.
<https://doi.org/10.32364/2587-6821-2020-4-4-207-213>
- Шубик В.М. Последствия ядерных испытаний на Новой Земле. Здоровье жителей Крайнего Севера, проживающих вблизи Северного ядерного полигона // Медицина экстремальных ситуаций. 2011а. № 4(38). С. 71–79.
- Шубик В.М. Проблемы экологической иммунологии на Крайнем Севере // Междисциплинарный научный и прикладной журн. “Биосфера”. 2011б. Т. 3. № 3. С. 391–408.
- Щеголева Л.С., Сергеева Т.Б., Шашкова Е.Ю., Филиппова О.Е., Поповская Е.В. Особенность иммунологической активности периферической крови у лиц разных возрастных групп Приполярного региона // Экология человека. 2016. № 8. С. 15–20.
- Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЕОТАР-Медиа, 2010. 749 с.
- Aguilar-Ruiz S.R., Torres-Aguilar H., Gonzalez-Dominguez E., Narvaez J., Gonzalez-Perez G., Vargas-Ayala G., Meraz-Rios M.A., Garcia-Zepeda E.A., Sanchez-Torres C. Human CD16+ and CD16– monocyte subsets display unique effector properties in inflammatory conditions in vivo // J. Leukocyte Biol. 2011. V. 90. № 6. P. 1119–1131.
<https://doi.org/10.1189/jlb.0111022>
- Bennish H.H., Johansson S.G.O., Bahr-Lindstrom H., Karlsson T. Structure of immunoglobulin (IgE) // Molecular and Biological Aspects of the Acute Allergic Reaction. 1976. V. 1. P. 175–194.
- Brandtzaeg P. Secretory IgA: designed for antimicrobial defense // Front. Immunol. 2013. V. 4. P. 222–239.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00222>
- Dobrodeeva L.K., Samodova A.V., Balashova S.N., Pashinskaya K.O. Intercellular Interactions in Peripheral Venous Blood in Practically Healthy Residents of High Latitudes // BioMed Research International. 2021. V. 2021. 11 p.
<https://doi.org/10.1155/2021/7086108>
- Haddad J.J., Harb H.L. Cytokines and the regulation of hypoxia inducible factor (HIF)-1 α // International Immunopharmacology. 2005. V. 5. № 3. P. 461–483.
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2004.11.009>
- He B., Xu W., Santini P.A., Polydorides A., Chiu A., Estrella J., Shan M., Chadburn A., Villanacci V., Plebani A., Knowles D.M., Rescigno M., Cerutti A. Intestinal bacteria trigger T-cell-independent IgA2 class switching by epithelial cell secretion of the cytokine APRIL // Immunity. 2007. V. 26. № 6. P. 812–826.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.04.014>
- Krzywinska E., Stockman C. Hypoxia, metabolism and immune cell function // Biomedicines. 2018. V. 6. № 2. P. 56–76.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines6020056>
- Maurer D., Ebner C., Reininger B., Fiebiger E., Kraft D., Kinet J.P., Stingl G. The High affinity receptor (Fc ϵ RI) mediates IgE-dependent allergen presentation // J. Immunology. 1995. V. 154. № 12. P. 6285–6290.
- Michels C. Physiological and pathological responses to hypoxia // American J. Pathology. 2004. V. 164. № 6. P. 1875–1882.
[https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63747-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63747-9)
- Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities // Nature Reviews. Immunology. 2006. V. 6. № 3. P. 173–182.
<https://doi.org/10.1038/nri1785>
- Pabst O. New concepts in the generation and function of IgA // Nature Rev. Immunol. 2012. V. 12. № 12. P. 821–832.
<https://doi.org/10.1038/nri3322>
- Radsak M., Iking-Konert C., Stegmaier S., Andrassy K., Hansch G.M. Polymorphonuclear neutrophils as accessory cells for T-cell proliferation // Immunology. 2000. V. 101. № 4. P. 521–530.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.2000.00140.x>
- Sanchez-Torres C., Garcia-Roto S., Cornejo-Cortes M.A., Rivas-Carvalho A., Sanchez-Schmitz G. CD16+ and CD16– human blood monocyte subsets differentiate in vitro to dendritic cells with different abilities to stimulate CD4+ T-cells // Int. Immunol. 2001. V. 13. № 2. P. 1571–1581. DOI 10.1093/intimm/13.12.1571
- Scapini P., Lapinet-Vera J., Gasperini S., Calzetti F., Bazzoni F., Cassatella M.A. The neutrophil as a cellular source of chemokines // Immunological Reviews. 2000. V. 177. № 1. P. 195–203.
<https://doi.org/10.1034/j.1600-065x.2000.17706.x>
- Singh K., Chang C., Gershwin M.E. IgA deficiency and autoimmunity // Autoimmun. Rev. 2014. V. 13. P. 163–177.
<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2013.10.005>
- Tao J.H., Barbi J., Pan F. Hypoxia-inducible factors in T lymphocyte differentiation and function // The American Journal of Physiology: Cell Physiology. 2015. V. 309. № 9. P. 580–589.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00204.2015>
- Yang D., Chen Q., Chertov O., Oppenheim J.J. Human neutrophil defensins selectively chemoattract naive T and immature dendritic cells // J. Leukoc. Biol. 2000. V. 68. № 1. P. 9–14.
- Zigmond S.H. Ability of polymorphonuclear leucocytes to orient in gradients of chemotactic factors // J. Cell. Biol. 1977. V. 75. P. 606–616.
<https://doi.org/10.1083/jcb.75.2.606>

Transport Functions of Serum Immunoglobulins Among the Residents of the European Arctic of the Russian Federation

K. O. Pashinskaya^{1, #}, A. V. Samodova¹, and L. K. Dobrodeeva¹

¹*N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Embankment of the Northern Dvina street, 23, Arkhangelsk, 163069 Russia*

[#]*e-mail: nefksu@mail.ru*

The paper presents data on the level of serum immunoglobulins in residents of the North and Arctic of the European territory of the Russian Federation. In people living in the Arctic, the average concentration of IgM, IgA and IgE is 1.4–2.6 times higher, the frequency of elevated concentrations is 2.4–8.8 times higher. A high frequency of IgG deficiency of 72.3% was established, which indicates inhibition of switching of antibody synthesis with a predominant predominance of IgM and IgA. In an unfavorable climate, the spectrum of antigenic structures increases and expands significantly. Activation of antibody production is due to an increased level of antigenic effects on the body and an increase in the content, diversity in the intravascular environment of tissue metabolism products with the properties of autoantigens. It was revealed that the concentration of immunoglobulins is significant in the formation of circulating immune complexes (CIC). In residents of the Arctic of the European territory of the Russian Federation, increased concentrations of IgM and IgA are associated with an increase in the content of neutrophil granulocytes and interferon-gamma cytokine (IFN- γ), which in turn is aimed at ensuring the effectiveness of the clearance of waste products in hypoxia.

Keywords: immunoglobulins, neutrophilic granulocytes, circulating immune complexes, IFN- γ , Arctic

УДК 595.14.142.2(268.48)

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СООБЩЕСТВ ПОЛИХЕТ В РАЙОНЕ ЗАПАДНОГО ШПИЦБЕРГЕНА

© 2023 г. Д. Р. Дикаева[@]

Мурманский морской биологический институт РАН, ул. Владимирская, 17, Мурманск, 183010 Россия

[@]E-mail: dinara.dikaeva@yandex.ru

Поступила в редакцию 13.12.2021 г.

После доработки 03.02.2023 г.

Принята к публикации 06.02.2023 г.

На основе материала, собранного в 2019 г. в экспедициях ММБИ получены новые данные о распределении сообществ полихет в районе Западного Шпицбергена, которые дополняют и уточняют результаты предыдущих исследований. В районе исследования выявлены видовые комплексы полихет, состав и структура которых обусловлены сложностью рельефа морского дна, определяющего состав и структуру грунта, а также особенностью гидрологического режима в результате взаимодействия атлантических и арктических водных масс. Проведено сравнение распределения сообществ полихет с результатами предыдущих исследований.

Ключевые слова: полихеты, сообщество, Западный Шпицберген

DOI: 10.31857/S102634702110067X, **EDN:** TNQVSN

Заметное влияние на ледовые условия архипелага Шпицберген оказывает воздействие атлантических вод Западно-Шпицбергенского течения, распространяющихся вдоль западных и северо-западных берегов архипелага и арктических вод, распространяющихся вдоль его восточных берегов. Воды Западно-Шпицбергенского течения переносят большую часть всего объема атлантических вод, поступающих в Арктический бассейн, и являются основным переносчиком тепла в Центральную Арктику (Блошкина, Фильчук, 2018). В последние десятилетия, многими исследователями отмечается увеличение температуры атлантических вод, а также потепление промежуточных и придонных слоев во фьордах Западного Шпицбергена, затоки атлантических вод внутрь фьордов становятся все более регулярными, их объем увеличивается (Моисеев, Ионов, 2006; Тисленко, Иванов, 2015; Блошкина, Фильчук 2018). С увеличением теплосодержания вод отмечается проникновение в арктические воды многих бореальных атлантических видов донных беспозвоночных. Поэтому, изучение донных сообществ в приатлантическом секторе Арктики вызывает особый интерес.

В результате климатических флуктуаций фьорды архипелага Шпицберген претерпевают серьезные изменения (Мавлюдов, 2012; Мавлюдов, Кудинов, 2018). Изменения условий среды особенно наглядно отражается на видовом составе и количественных характеристиках донных беспозвоноч-

ных, в том числе полихет — одной их многочисленных групп донных беспозвоночных.

В настоящее время достаточно полно изучено распределение бентосных сообществ, в том числе полихет во фьордах и заливах Западного Шпицбергена (Włodarska–Kowalczyk, Pearson 2004; Renaud *et al.*, 2007; Дикаева, Фролова 2008, 2014, 2018; Фролова, Дикаева, 2009; Любина и др. 2011; Weslawski *et al.*, 2012). Однако работы, посвященные изучению сообществ полихет вдоль склонов западного побережья Шпицбергена и в районе залива Стур-фьорд, практически отсутствуют. Особый интерес вызывает район вдоль западного побережья Шпицбергена, подверженный сильному влиянию теплых атлантических водных масс Западно-Шпицбергенского течения.

В результате экспедиционных исследований ММБИ в 2019 г. были продолжены исследования в заливе Ис-фьорд, а также изучены новые районы вдоль западного побережья Шпицбергена и в районе пролива Стур-фьорд. Данная работа продолжает исследования по изучению распределения полихет в районе Западного Шпицбергена (Дикаева, Фролова, 2014, 2018) с целью выявления изменений в распределении сообществ полихет в разные периоды исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования охватывали залив Ис-фьорд, Грен-фьорд, бухта Колс, Билле-фьорд, Стур-фьорд,

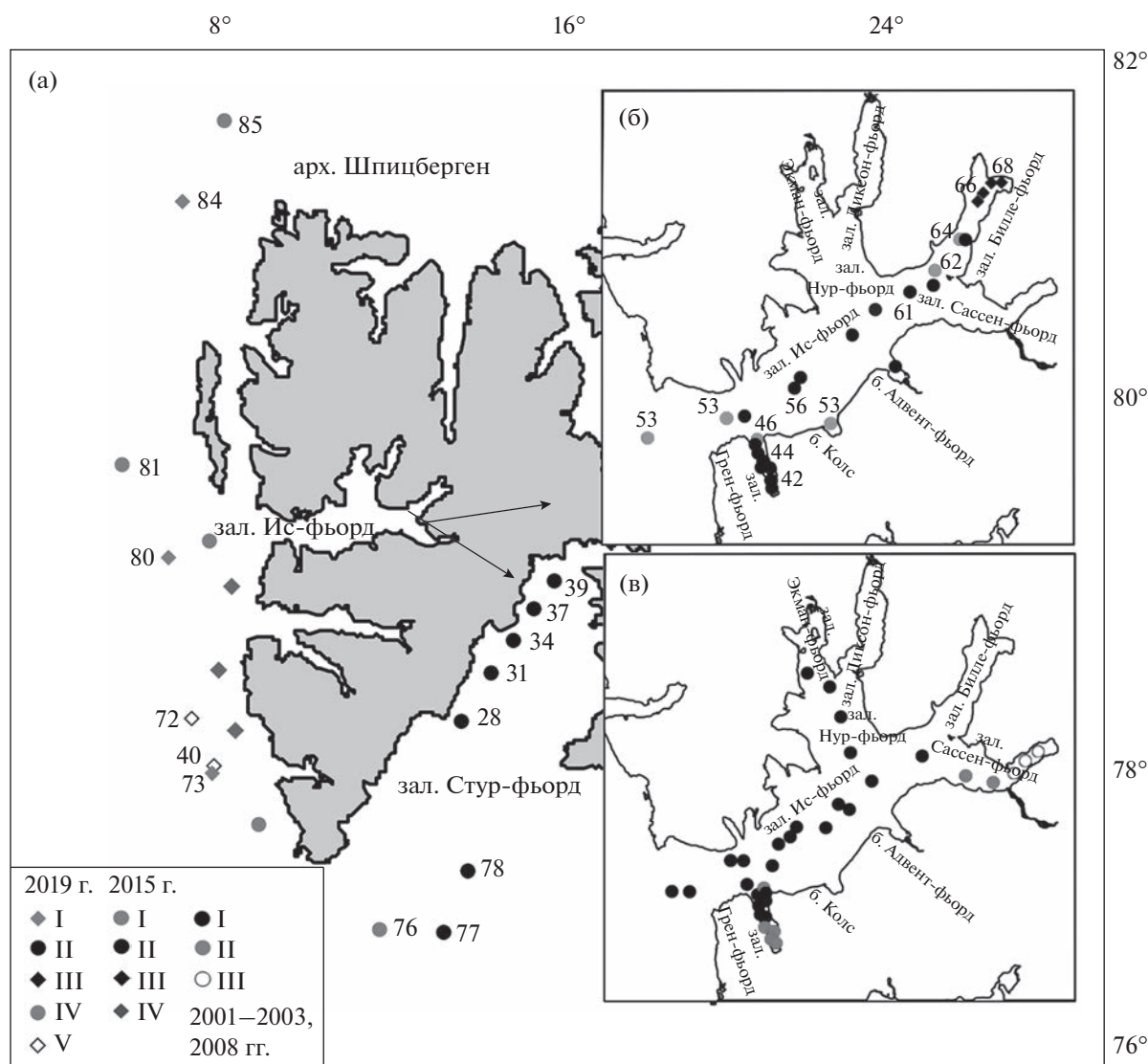


Рис. 1. Карта-схема расположения бентосных станций и видовых комплексов в районе Западного Шпицбергена в 2019; 2015; 2001–2003, 2008 гг. Точки с обозначением станций – пробы отобранные в 2019 г, без обозначения станций – пробы отобранные в 2015 г. (а, б); пробы отобранные в 2001–2003, 2008 гг. (в). Здесь и на рис. 2 цифрами обозначены I, II, III, IV, V обозначены комплексы полихет: 2019 г.: I – комплекс с доминированием *Maldanidae* g. sp., *P. jeffreysii*, II – *M. sarsi*, III – *A. malmgreni*, IV – *S. fragilis*, *S. typicus*, *C. biceps biceps*, V – *N. hyperborea* 2015 г. (Дикаева, Фролова, 2018): I – комплекс с доминированием *N. hyperborea*, Cirratulidae g. sp., II – *M. sarsi*, III – Lumbrineridae g. sp., Cirratulidae g. sp., *A. malmgreni*, IV – *P. (Spirorbides) cancellata*. 2001–2003, 2008 гг. (Дикаева, Фролова, 2014): I – комплекс с доминированием *M. sarsi*, *S. typicus*, II – Cirratulidae g. sp., III – *A. malmgreni*.

а также станции вдоль склона западного побережья Шпицбергена (рис. 1).

Материалом послужили 78 количественных проб с 27 станций, собранные с борта научно-исследовательского судна НИС “Дальние Зеленцы” в ходе комплексной экспедиции Мурманского биологического института в июне, июле, декабре 2019 г (рис. 1).

Отбор проб с глубины от 49 до 505 м производили дночерпателем ван-Вина (площадь захвата 0.1 м²) в 3-кратной повторности. Собранный грунт промывали через капроновое сито с размером

ячей 0.75 мм, фиксировали 4% формалином с последующим переводом беспозвоночных в 70%-ный спирт. При взвешивании полихет массу трубок, построенных из частичек ила и песка, не учитывали. Массу полихет *Spiochaetopterus typicus* M. Sars, 1856 и полихет семейства Serpulidae, строящих трубки из органического вещества, вырабатываемого ими самими, определяли с учетом массы “живых” трубок. Мелких полихет *Galathowenia oculata* (Zachs, 1923) взвешивали вместе с песчаными трубками. Массу без трубок пересчитывали с учетом коэффициента отношения чистой массы

к массе с трубкой (1/7) (Лейбсон, 1939). Измерение температуры и солености производили в ходе рейса STD-зондом SEACAT SBE 19 plus, состав грунта определялся визуальным методом. Идентификация многощетинковых червей осуществлялась автором. При оценке биогеографического состава многощетинковых червей, мы пользовались классификацией ареалов полихет предложенной И.А. Жирковым (2001). Выделение групп станций по сходству видового состава выполняли с помощью кластерного анализа методом средневзвешенного на основе коэффициента сходства Брэя–Куртиса (Bray, Curtis, 1957). В качестве меры обилия при выявлении доминантной группы видов использовали показатель относительной интенсивности метаболизма, позволяющий оценить значимость отдельных видов как по биомассе, так и по численности особей

$$M = kN^{0.25}B^{0.75},$$

где N – численность организмов, B – биомасса, k – таксоно-специфический коэффициент удельной интенсивности метаболизма (Денисенко и др. 2006). Сравнение распределения видовых комплексов полихет в заливе Ис-фьорд и вдоль Западного побережья Шпицбергена проводилось с данными предыдущих исследований (Дикаева, Фролова 2014, 2018).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В районе исследования отмечено 135 таксонов многощетинковых червей, из них 107 определены до вида (табл. 1). Количество видов на станции варьировало от 14 до 59 видов, максимальное количество видов было отмечено вдоль западного побережья Шпицбергена на илисто-песчаных, глинистых грунтах с камнями и гравием на глубине 87 м (табл. 2). Минимальное количество видов отмечено на входе в залив Ис-фьорд на песчаных коричневых илах с черной глиной, галькой и щебнем на глубине 430 м. В районе исследования только десять видов были наиболее широко распространены, частота их встречаемости достигала более 80%: *Cirratulidae* g.sp. (100%), *Eteone flava* (Fabricius, 1780) (93%), *Heteromastus filiformis* (Claparede, 1864) (93%), *Scoletoma fragilis* (O.F. Müller, 1776) (93%), *Galathowenia oculata* (89%), *Lumbrineridae* g. sp. (89%), *Maldane sarsi* Malmgren, 1865 (89%), *Terebellides stroemii* Sars, 1835 (85%). В биогеографическом составе бореально-арктические виды преобладают как по количеству видов (77%), так и по биомассе (81%). Количество бореальных видов (17%) превышает количество арктических (6%), доля данных групп в общей биомассе достаточно низкая (бореальные – 5%, арктические – 1%). Максимальное количество бореальных видов отмечено вдоль склонов Западного Шпицбергена (ст. 81, 84).

Сравнение станций по видовому составу методом кластерного анализа на основе интенсивности метаболизма позволило выделить в исследованном районе несколько видовых комплексов (рис. 2).

Первый комплекс объединил две станции вдоль южного склона западного побережья Шпицбергена на глубине от 49 до 381 м на песчанистых грунтах с плотной глиной, камнями и ракушей, где по метаболизму и биомассе доминировали *Maldanidae* g. sp., *Paramphionome jeffreysii* (McIntosh, 1868). Здесь отмечено низкое видовое разнообразие, минимальные значения биомассы (1.2 ± 0.4 г/м²) и плотности поселения (237 ± 62 экз./м²). В биогеографическом составе преобладают бореально-арктические виды (67%), доля бореальных видов (28%) максимально для всего района исследования, доля арктических составляет 5%.

В районе залива Стур-фьорд и Ис-фьорд (в центральной части Ис-фьорда и в заливе Грен-фьорд) отмечен второй видовой комплекс расположенный на глубине 71–269 м на илисто-песчаных, глинистых грунтах с вкраплением камней, при температуре воды от -1.8 до $+3.4^\circ\text{C}$, где по метаболизму и биомассе доминирует детритофаг, безвыборочно поглощающий грунт *M. sarsi*, по численности доминируют *Cirratulidae* g.sp. Комплекс характеризуется максимальными значениями биомассы (72 ± 12 г/м²) и плотности поселения (4191 ± 602 экз./м²). В биогеографическом составе преобладают бореально-арктические виды (78%), доля бореальных видов составляет 18%, доля арктических – 4%.

Третий комплекс обнаружен в кутовой части залива Билле-фьорд на глубине 152–172 м на светло-коричневых “ледниковых” илах с глиной с отрицательной температурой воды (-1.88°C). По метаболизму и биомассе доминирует плотоядная полихета *Aglaophamus malmgreni* (Théel, 1879), по численности доминируют виды-оппортунисты семейства *Cirratulidae*. Данный комплекс характеризуется невысокими значениями биомассы (25.5 ± 7.7 г/м²) и высокой плотностью поселения (2365 ± 339 экз./м²). В биогеографическом составе преобладают бореально-арктические виды (76%), доля бореальных видов составляет 18%, доля арктических – 6%.

Четвертый комплекс отмечен в заливе Ис-фьорд и вдоль западного побережья Шпицбергена (северная часть) на глубине от 82 до 505 м на песчанистых илах с глиной, галькой, камнями. Здесь отмечены низкие значения биомассы (13.5 ± 5 г/м²) и плотности поселения (1048 ± 212 экз./м²). Эта группа станций подразделяется на два комплекса, которые отличаются набором доминирующих видов. В районе залива Ис-фьорд по доли интенсивности метаболизма и биомассе доминирует плотоядная полихета *S. fragilis* (O.F. Müller, 1776), а в северной части и южной оконечности

Таблица 1. Список видов многостетинковых червей в районах архипелага Западный Шпицберген в 2019 г.

Таксон	Ис-фьорд	Грен-фьорд	Билле-фьорд	Стур-фьорд	Склоны Шпицбергена
<i>Aglaophamus malmgreni</i> (Theel, 1879)	+	—	+	+	+
<i>Amage auricula</i> Malmgren, 1866	—	—	—	—	+
<i>Ampharete borealis</i> (M. Sars, 1856)	—	+	—	—	—
<i>Ampharete finmarchica</i> (M. Sars, 1865)	—	+	+	+	+
<i>Ampharete</i> gr. <i>Lindstroemi</i> Malmgren in Hessle, 1917	—	—	—	+	—
Ampharetidae g. sp.	+	+	+	+	+
<i>Amphicteis gunneri</i> (M. Sars, 1835)	—	+	—	—	+
<i>Amphicteis ninonae</i> Jirkov, 1985	—	—	—	+	—
<i>Amphitrite cirrata</i> Müller, 1776	—	—	—	—	+
<i>Anobothrus gracilis</i> (Malmgren, 1866)	—	—	+	+	+
<i>Apistobrachius tullbergi</i> (Théel, 1879)	—	—	—	+	+
<i>Apomatus globifer</i> Théel, 1878	—	—	—	—	+
<i>Aricidea hartmanae</i> (Strelzov, 1968)	+	+	+	+	+
<i>Aricidea quadrilobata</i> Webster & Benedict, 1887	+	—	+	—	+
<i>Artacama proboscidea</i> Malmgren, 1866	+	+	—	+	+
<i>Bispira</i> sp.	—	—	—	—	+
<i>Bradabyssa villosa</i> (Rathke, 1843)	+	—	—	+	—
<i>Branchiomma arcticum</i> (Ditlevsen, 1937)	—	—	—	—	+
<i>Bushiella</i> (<i>Jugaria</i>) <i>quadrangularis</i> (Stimpson, 1853)	+	—	+	—	—
<i>Bushiella</i> sp.	+	+	—	—	—
<i>Bylgides elegans</i> (Théel, 1879)	—	+	—	+	—
<i>Capitella capitata</i> (Fabricius, 1780)	+	+	—	+	+
<i>Chirimia biceps biceps</i> (Sars, 1861)	—	—	—	+	+
<i>Chitinopoma serrula</i> (Stimpson, 1853)	—	—	—	—	+
<i>Chone duneri</i> Malmgren, 1867	+	—	+	—	+
<i>Chone infundibuliformis</i> Krøyer, 1856	—	—	—	—	+
<i>Chone murmanica</i> Lukasch, 1910	+	+	+	+	+
<i>Chone</i> sp.	+	—	+	—	+
<i>Circeis armoricana</i> Saint-Joseph, 1894	+	+	—	—	—
Cirratulidae g. sp.	+	+	+	+	+
<i>Cirrophorus branchiatus</i> Ehlers, 1908	+	+	+	—	+
<i>Cistenides hyperborea</i> Malmgren, 1866	—	+	—	+	+
<i>Cossura longocirrata</i> Webster & Benedict, 1887	+	+	—	+	+
<i>Diplocirrus glaucus</i> (Malmgren, 1867)	—	—	—	+	—
<i>Dipolydora caulleryi</i> (Mesnil, 1897)	+	+	—	+	—
<i>Dipolydora coeca</i> (Örsted, 1843)	—	—	—	+	—
Dorvilleidae g. sp.	—	—	—	—	+
<i>Enipo torelli</i> (Malmgren, 1865)	—	—	—	+	—
<i>Eteone agg. flava</i> (Fabricius, 1780)	+	+	+	+	+
<i>Eteone spetsbergensis</i> Malmgren, 1865	+	—	+	+	+
<i>Euchone analis</i> (Krøyer, 1856)	—	—	—	+	+

Таблица 1. Продолжение

Таксон	Ис-фьорд	Грен-фьорд	Билле-фьорд	Стур-фьорд	Склоны Шпицбергена
<i>Euclymeninae</i> g. sp.	—	—	—	—	+
<i>Exogoninae</i> g. sp.	+	—	+	+	+
<i>Fabricia stellaris stellaris</i> (O. F. Müller, 1774)	—	—	—	—	+
<i>Filograna implexa</i> Berkeley, 1835	—	—	—	—	+
<i>Galathowenia oculata</i> (Zachs, 1923)	+	+	+	+	+
<i>Gattyana amondseni</i> (Malmgren, 1867)	—	—	—	+	+
<i>Gattyana cirrhosa</i> (Pallas, 1766)	—	+	—	+	—
<i>Glycera capitata</i> Örsted, 1842	+	+	—	—	+
<i>Glycera lapidum</i> Quatrefages, 1866	—	—	—	—	+
<i>Glyphanostomum pallescens</i> (Théel, 1879)	+	—	+	+	+
<i>Harmothoe imbricata</i> (Linnaeus, 1767)	—	+	—	+	+
<i>Harmothoe</i> sp.	+	—	—	—	+
Hesionidae g. sp.	—	—	—	—	+
<i>Heteromastus filiformis</i> (Claparède, 1864)	+	+	+	+	+
<i>Hyalopomatus claparedii</i> Marenzeller, 1878	+	—	—	—	—
<i>Lanassa venusta venusta</i> (Malm, 1874)	—	+	—	+	—
<i>Laonice cirrata</i> (M. Sars, 1851)	—	+	+	+	+
<i>Laonome kroeyri</i> Malmgren, 1866	+	—	—	—	+
<i>Laphania boeckii</i> Malmgren, 1866	—	+	—	—	+
<i>Leaena ebranchiata</i> (M. Sars, 1865)	+	+	+	+	+
<i>Leitoscoloplos acutus</i> (Verrill, 1873)	+	+	+	+	+
<i>Levinsenia gracilis</i> (Tauber, 1879)	+	+	+	+	+
<i>Lumbriclymene minor</i> Arwidsson, 1906	+	+	+	+	+
Lumbrineridae g. sp.	+	+	+	+	+
<i>Lysippe labiata</i> Malmgren, 1866	+	+	+	+	+
<i>Maldane arctica</i> Detinova, 1985	—	—	—	+	+
<i>Maldane sarsi</i> Malmgren, 1865	+	+	+	+	+
Maldanidae g. sp.	+	—	—	—	+
<i>Melinna elisabethae</i> McIntosh, 1914	+	+	+	+	+
<i>Micronephthys</i> sp.	—	—	—	—	+
<i>Myriochele heeri</i> Malmgren, 1867	+	+	+	+	+
<i>Neopolynoe paradoxa</i> (Anon, 1888)	—	—	—	+	—
Nephtyidae g. sp.	—	—	—	+	—
<i>Nephtys ciliata</i> (Müller, 1776)	+	—	—	+	+
<i>Nephtys paradoxa</i> Malm, 1874	—	—	—	—	+
<i>Nicolea zostericola</i> Örsted, 1844	—	—	—	+	—
<i>Nicomache lumbricalis</i> (Fabricius, 1780)	+	+	—	—	+
<i>Nicomache</i> sp.	—	—	—	—	+
<i>Nothria hyperborea</i> (Hansen, 1878)	—	+	+	+	+
<i>Notomastus latericeus</i> Sars, 1851	—	—	—	—	+
<i>Notoproctus oculatus</i> Arwidsson, 1906	—	—	—	—	+

Таблица 1. Продолжение

Таксон	Ис-фьорд	Грен-фьорд	Билле-фьорд	Стур-фьорд	Склоны Шпицбергена
<i>Ophelina abranchiata</i> Støp-Bowitz, 1948	—	—	—	—	+
<i>Ophelina acuminata</i> Örsted, 1843	+	+	—	—	+
<i>Ophelina cylindrica</i> (Hansen, 1879)	—	—	—	+	—
<i>Ophelina</i> sp.	+	—	+	—	—
<i>Owenia fusiformis</i> Delle Chiaje, 1844	—	—	—	—	+
Oweniidae g. sp.	—	—	—	—	+
<i>Paradexiospira cancellata</i> (Fabricius, 1780)	—	—	—	+	+
<i>Paradexiospira</i> (<i>Paradexiospira</i>) <i>violacea</i> (Levinsen, 1883)	—	—	—	—	+
<i>Paradexiospira</i> (<i>Spirorbides</i>) <i>vitrea</i> (Fabricius, 1780)	+	—	—	—	—
<i>Paradoneis lyra</i> (Southern, 1914)	+	+	—	+	+
<i>Paramphinome jeffreysii</i> (McIntosh, 1868)	—	—	—	—	+
<i>Petaloproctus tenuis</i> (Théel, 1879)	—	+	—	—	+
<i>Pherusa plumosa</i> (Müller, 1776)	—	+	—	—	+
<i>Pholoe longa</i> (O.F. Müller, 1776)	+	+	+	+	+
<i>Pholoe</i> sp.	+	—	+	+	+
<i>Phyllodoce groenlandica</i> Örsted, 1842	+	+	—	+	+
<i>Pista cristata</i> (Müller, 1776)	—	—	—	—	+
<i>Pista maculata</i> (Dalyell, 1853)	—	—	—	—	+
<i>Polycirrus arcticus</i> Sars, 1865	—	—	+	+	+
<i>Polycirrus medusa</i> Grube, 1850	+	—	—	+	+
<i>Polycirrus</i> sp.	—	—	—	—	+
<i>Polydora</i> sp.	+	—	+	+	+
Polynoidae g. sp.	+	+	—	+	+
<i>Polyphysia crassa</i> (Örsted, 1843)	—	—	+	—	—
<i>Praxillella gracilis</i> (M. Sars, 1861)	+	+	+	+	+
<i>Praxillella praetermissa</i> (Malmgren, 1865)	+	—	—	—	+
<i>Praxillura longissima</i> Arwidsson, 1906	—	—	—	—	+
<i>Prionospio cirrifera</i> Wirén, 1883	+	—	—	+	+
<i>Protula tubularia</i> (Montagu, 1803)	—	—	—	—	+
<i>Pseudoscalibregma parvum</i> (Hansen, 1879)	—	—	—	—	+
<i>Rhodine gracilior</i> Tauber, 1879	+	+	—	+	+
Sabellidae g. sp.	+	—	—	—	+
<i>Saphobranchia longisetosa</i> (Marenzeller, 1890)	+	—	—	—	+
<i>Scalibregma inflatum</i> Rathke, 1843	+	+	+	+	+
<i>Scoletoma fragilis</i> (O.F. Müller, 1776)	+	+	+	+	+
Serpulidae g. sp.	+	—	+	—	+
<i>Sosane wireni</i> (Hessle, 1917)	—	—	—	—	+
<i>Sphaerodorum gracilis</i> (Rathke, 1843)	+	—	—	—	+
<i>Sphaerodoropsis philippi</i> (Fauvel, 1911)	—	—	—	—	+
<i>Sphaerodoridium kolchaki</i> sp. n.	—	—	—	+	—
<i>Spio limicola</i> Verrill, 1879	+	—	—	+	+

Таблица 1. Окончание

Таксон	Ис-фьорд	Грен-фьорд	Билле-фьорд	Стур-фьорд	Склоны Шпицбергена
<i>Spio armata</i> (Thulin, 1957)	+	+	–	–	+
<i>Spiochaetopterus typicus</i> M Sars, 1856	+	+	–	+	+
Spionidae g. sp.	–	–	–	–	+
<i>Spiophanes kroyeri</i> Grube, 1860	+	+	–	+	+
Spirorbinae g. sp.	+	–	+	+	+
Syllidae g. sp.	+	+	+	+	+
<i>Terebellides</i> sp.	–	–	–	+	–
<i>Terebellides stroemii</i> Sars, 1835	+	+	+	+	+
<i>Terebellides gracilis</i> Malm, 1874	–	–	–	+	+
Terebellidae g. sp.	+	+	+	+	+
<i>Thelepus cincinnatus</i> (Fabricius, 1780)	–	–	–	–	+
<i>Trichobranchus roseus</i> (Malm, 1874)	–	+	–	–	–

западного побережья архипелага Шпицберген доминируют детритофаг *Spiochaetopterus typicus* и *Chirimia biceps biceps* (Sars, 1861). В биогеографическом составе преобладают бореально-арктические виды (78%), доля бореальных видов составляет 15%, доля арктических – 7%.

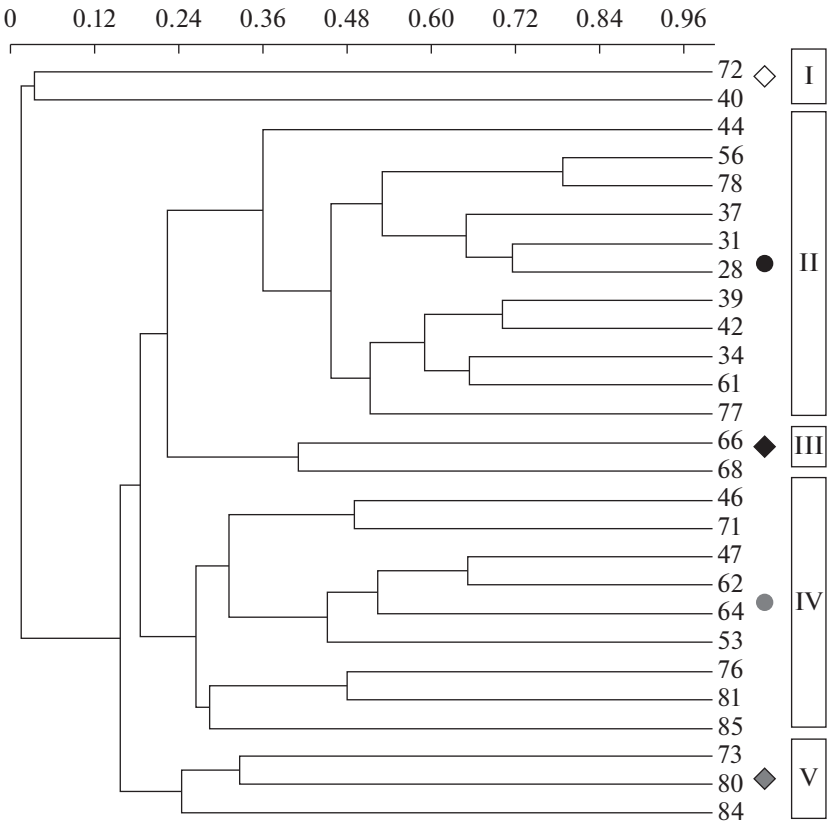


Рис. 2. Дендрограмма сходства видового состава полихет.

Таблица 2. Количественные характеристики сообществ полихет в районе Западного Шпицбергена

№ станции	Глубина, м	Температура, С°	Количество видов	Биомасса, г/м ²	Численность, экз./м ²	Доминирующий вид (по метаболизму)
28	115	−1.8	45	83 ± 11	6723 ± 1730	<i>Maldane sarsi</i>
31	91	−1.28	38	111 ± 15	4323 ± 553	<i>Maldane sarsi</i>
34	97	−1.79	26	31 ± 3	2567 ± 140	<i>Maldane sarsi</i>
37	83	−1.73	43	70 ± 11	2600 ± 106	<i>Maldane sarsi</i>
39	89	−1.71	29	51 ± 7	3023 ± 106	<i>Maldane sarsi</i>
40	49	2.06	21	0.7 ± 0.3	223 ± 62	<i>Chitinopoma serrula</i>
42	71	3.4	35	53 ± 13	3037 ± 148	<i>Maldane sarsi</i>
44	141	2.64	25	176 ± 16	7553 ± 586	<i>Maldane sarsi</i>
46	137	2.75	39	24 ± 8	1440 ± 316	<i>Nicomache lumbricalis</i>
47	220	1.36	24	6 ± 4	803 ± 243	Lumbrineridae g. sp.
53	430	0.19	14	13 ± 1	605 ± 27	<i>Maldane sarsi</i>
56	222	−0.2	30	57 ± 19	4130 ± 977	<i>Maldane sarsi</i>
61	215	2.2	27	27 ± 16	1810 ± 756	<i>Maldane sarsi</i>
62	97	0.4	28	3 ± 1	757 ± 151	Lumbrineridae g. sp.
64	82	−1.78	21	4 ± 1	1000 ± 287	Cirratulidae g. sp.
66	152	−1.88	21	23 ± 10	1470 ± 333	<i>Aglaophamus malmgreni</i>
68	172	−1.88	20	28 ± 6	3260 ± 346	<i>Aglaophamus malmgreni</i>
71	90	2.76	28	22 ± 8	847 ± 216	<i>Scoletoma fragilis</i>
72	381	2.81	17	2 ± 1	250 ± 100	Maldanidae g. sp., <i>Paramphinoe jeffreysii</i>
73	87	2.46	59	37 ± 9	2750 ± 1035	<i>Nothria hyperborea</i>
76	239	−0.25	42	20 ± 14	1270 ± 342	<i>Spiochaetopterus typicus</i>
77	269	−1.38	39	37 ± 17	4703 ± 1311	Lumbrineridae g. sp.
78	149	0.17	34	96 ± 4	5626 ± 206	<i>Maldane sarsi</i>
80	115	4.2	50	15 ± 4	1193 ± 189	<i>Nephtys paradoxa</i>
81	226	4.02	47	12 ± 7	1100 ± 323	<i>Spiochaetopterus typicus</i>
84	325	4.46	47	10 ± 3	3716 ± 2752	<i>Nothria hyperborea</i>
85	505	0.34	34	18 ± 0.3	1613 ± 3	<i>Chirimia biceps biceps</i>

Вдоль западного побережья Шпицбергена на глубинах от 87 до 325 м на песчаных, глинистых грунтах с примесью камней и гальки, при преимущественно положительной температуре придонных вод (+2.46...+4.46°С) отмечен пятый фаунистический комплекс. В данном комплексе отмечена средняя биомасса (20.7 ± 5.4 г/м²) и высокая плотность поселения (2533 ± 1325 экз./м²). Здесь по метаболизму и биомассе доминирует плотоядная полихета *Nothria hyperborea* (Hansen, 1878), по численности доминирует бореальный вид *Filograna implexa* Berkeley, 1835.

В биогеографическом составе преобладают бореально-арктические виды (79%), доля бореальных видов составляет 16%, доля арктических — 5%.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ полученных данных показал, что на большинстве станций залива Ис-фьорд и Стур-фьорд на мягких илисто-глинистых грунтах доминирует детритофаг *M. sarsi*. Частота встречаемости данного вида в районе исследования составляет 89%, доля в общей биомассе — 60%. По данным предыдущих исследований (Дикаева, Фролова, 2014, 2018) детритофаг *M. sarsi* также занимал доминирующее положение в составе сообществ полихет в районе залива Ис-фьорд и в отходящем от него заливе Грен-фьорд (рис. 1).

Один из массовых видов полихет Баренцева моря *S. typicus*, доминирует в районе исследования на двух станциях вдоль склонов западного побережья Шпицбергена. Частота встречаемости

данного вида составляет 52%, доля в общей биомассе полихет варьирует от 1 до 50%. В предыдущих исследованиях *S. typicus* был встречен на небольшом количестве станций во внешней и центральной части залива Ис-фьорд. В Баренцевом море собирающий детритофаг *S. typicus* доминирует в глубоководных районах со стабильными условиями среды, где оседание взвеси преобладает над его переносом. Вероятно, нестабильные условия среды и непостоянство гидрологических условий в районе архипелага Шпицберген создают неблагоприятные условия для существования здесь собирающего детритофага *S. typicus*, что приводит к низкой частоте встречаемости и невысоким значениям биомассы данного вида.

В районе исследования, при продвижении к внутренним участкам залива Билле-фьорд, также как в предыдущих исследованиях (Дикаева, Фролова, 2014, 2018) отмечено доминирование плотоядной полихеты *A. malmgreni* и мелких видов-оппортунистов семейства Cirratulidae (рис. 1). Донные сообщества, обитающие в “приледниковых” участках заливов, подвержены постоянным изменяющимся условиям среды. Приливные ледники, расположенные во внутренних участках арктических фьордов, сбрасывают холодные пресные воды, с большим количеством обломочного материала и минеральной взвеси, большая часть которых оседает на дно фьордов. Высокая скорость седиментация приводит к образованию плотных глинистых отложений с низким содержанием органического вещества, что оказывает влияние на распределение донных сообществ в данных районах. Наличие минерального осадка во внутренних участках фьордов Шпицбергена вызывает серьезный стресс для донных организмов, особенно для детритофагов (доля грунтоеда *M. sarsi* в общей биомассе снижается до 1%), что приводит к снижению биомассы полихет и доминированию по плотности поселения мелких видов-оппортунистов в данных районах исследования. Сходная тенденция распределения видового состава и количественных характеристик донных организмов в кутовых “приледниковых” и “ледниковых” заливах Западного Шпицбергена отмечена в предыдущих исследованиях (Włodarska-Kowalczyk, Pearson 2004; Renaud *et al.*, 2007; Дикаева, Фролова 2008, 2014, 2018; Фролова, Дикаева, 2009; Любина и др. 2011).

Во внешней части залива Ис-фьорд и Билле-фьорд, а также вдоль западного побережья Шпицбергена, в районах подверженных влиянию теплых вод Западно-Шпицбергенского и холодных вод Восточно-Шпицбергенского течений отмечено доминирование плотоядных видов полихет *S. fragilis*, *N. hyperborea*. По данным наших предыдущих исследований Lumbrineridae g. sp. и *N. hyperborea* также доминировали вдоль склона Западного

побережья Шпицбергена и в заливе Билле-фьорд (Дикаева, Фролова, 2018).

В настоящем исследовании по сравнению с данными 2015 г. отмечена смена доминирующих видов вдоль склонов западного побережья Шпицбергена (Дикаева, Фролова 2018). В предыдущих исследованиях в данном районе был отмечен комплекс с доминированием мелких сестонофагов. В современный период исследования доминирует плотоядный вид *N. hyperborea*, а также Maldanidae g. sp., *Paramphionome jeffreysii*. Изменение в составе доминирующих видов, вероятно, связано с разной глубиной отбора проб в разные периоды исследования. Ранее пробы были отобраны на глубине менее 50 м (45–46 м), в настоящее время отбор проб производился на больших глубинах (86–325 м).

Сравнивая настоящие данные с результатами предыдущих исследований существенных изменений в биогеографическом составе сообществ полихет не выявлено. Во все периоды исследований (2001–2003, 2008, 2015, 2019 гг.) отмечено доминирование бореально-арктических видов (75, 77, 77%) количество бореальных видов (16, 16, 17%) превышает количество арктических (9, 7, 6%). Однако анализ биогеографического состава полихет во фьордах Шпицбергена показал увеличение в 2019 г. доли бореальных видов вдоль склонов Западного Шпицбергена в районе влияния атлантических водных масс (рис. 3). В 2019 г. в северной части западного побережья Шпицбергена (ст. 74) на глубине 325 м, на песчано-каменистых грунтах был отмечен бореальный вид *F. implexa*, ранее не встреченный в дночерпательных пробах, но встречающийся в последнее время в траловых сборах вдоль склона Западного Шпицбергена (Захаров и др., 2018). Данный вид обитает на каменистых грунтах и плохо улавливается дночерпателем. Появление бореального вида *F. implexa* вдоль склонов Западного Шпицбергена, возможно, связано с предшествующим теплым периодом с высокими показателями теплосодержания вод, а также с увеличением затора теплых атлантических водных масс (Моисеев, Громов, 2009; Тищенко, Иванов, 2015; Блошкина, Фильчук, 2018). При потеплении пелагические личинки бореальных видов разносятся течениями и выживают севернее границ своих ареалов. Также, важным зоогеографическим фактором является подводная топография и экспозиция склонов рельефа дна (Матишов и др., 2011). Вдоль склона Западного Шпицбергена, в гляциальных желобах — каналах распространения атлантических водных масс, бореальные виды находят оптимальные условия, при которых они живут и размножаются.

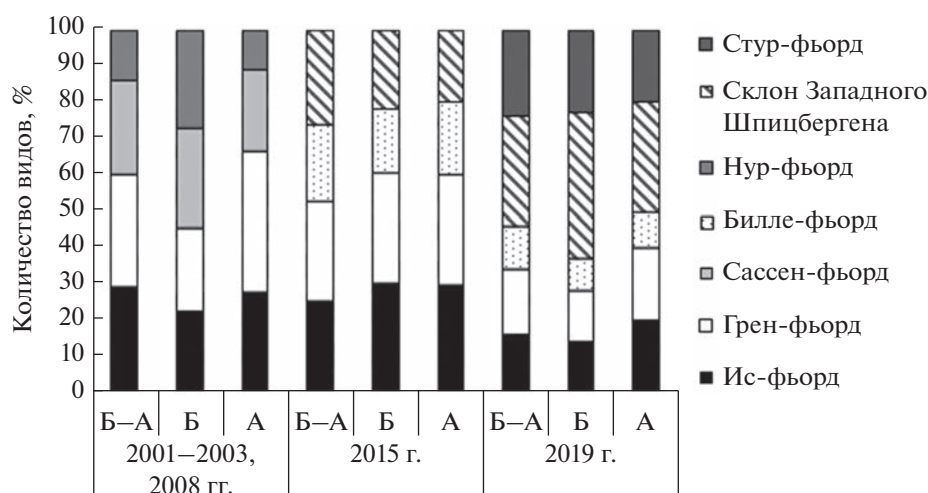


Рис. 3. Соотношение биогеографических групп полихет в заливах Западного Шпицбергена и на прилегающих к нему акваториях в 2001–2003, 2008, 2015, 2019 гг.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате анализа полученных данных отмечена стабильность сообществ полихет в заливе Ис-фьорд. Во все периоды исследований в данном районе доминирует детритофаг *Maldane sarsi*. Своеобразный гидрологический режим, перепады глубин и мозаичность грунтов вдоль склонов Западного Шпицбергена обуславливают разнообразие донных сообществ с отсутствием постоянного доминанта, отличающихся низкими значениями биомассы, но высокой плотностью поселения. Нестабильные условия среды во внутренних “приледниковых” районах Западного Шпицбергена приводят к развитию здесь “арктических” донных сообществ, наиболее приспособленных к изменяющимся условиям среды. Увеличение встречаемости бореальных видов вдоль склонов Западного побережья Шпицбергена, возможно связано как с недостаточной изученностью фауны, так и с недавним расширением их ареалов на север в результате увеличения теплосодержания атлантических водных масс. Структура сообществ полихет вдоль склонов Западного Шпицбергена, может служить индикатором изменений условий среды в период климатических флуктуаций. Полученные нами данные существенно дополняют сведения о донных сообществах в районе Западного Шпицбергена и являются основой для дальнейших мониторинговых исследований, с целью выявления изменений в составе и структуре донных сообществ полихет.

Автор выражает благодарность участникам экспедиции Е.А. Гарбулю, О.Л. Зиминой, К.К. Москвину, З.Ю. Румянцевой за сбор бентосных проб.

Работа выполнена в рамках государственного задания ММБИ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Блошкина Е.В., Фильчук К.В. Современное состояние вод фьордов Западного Шпицбергена // Проблемы Арктики и Антарктики. 2018. Т. 64. № 2. С. 125–140. <https://doi.org/10.30758/0555-2648-2018-64-2-125-140>
- Денисенко Н.В., Денисенко С.Г., Фролов А.А. Зообентос горла воронки Белого моря: структура и особенности распределения в прибрежье Кольского полуострова // Морские беспозвоночные Арктики, Антарктики и Субантарктики // Исследования фауны морей. СПб.: 2006. Вып. 56(64). С. 15–34.
- Дикаева Д.Р., Фролова Е.А. Распределение полихет в заливе Белльсунн (Западный Шпицберген) // Природа шельфа и архипелагов европейской Арктики. Материалы международной научной конференции. М.: ГЕОС, 2008. Вып. 8. С. 116–119.
- Дикаева Д.Р., Фролова Е.А. Современное распределение сообществ полихет во фьордах Западного Шпицбергена // Вестник МГТУ. 2014. Т. 17. № 1. С. 119–127.
- Дикаева Д.Р., Фролова Е.А. Распределение сообществ полихет в районе Западного Шпицбергена в зимний период (декабрь 2015 г.) // Докл. РАН. 2018. Т. 480. № 5. С. 1–5. <https://doi.org/10.7868/S0869565218050274>
- Жирков И.А. Полихеты Северного Ледовитого океана. М.: Янус-К, 2001. 632 с.
- Захаров Д.В., Стрелкова Н.А., Манушин И.Е., Зиминая О.Л., Йоргенсен Л.Л., Любин П.А., Носова Т.Б., Журавлева Н.Е., Голиков А.В., Блинова Д.Ю. Атлас мегабентосных организмов Баренцева моря и вспомогательных акваторий. Мурманск: ПИНРО, 2018. 534 с.
- Лейбсон Р.Г. Количественный учет донной фауны Мотовского залива // Тр. ВНИРО. 1939. Т. 4. С. 127–192.
- Любина О.С., Зиминая О.Л., Фролова Е.А., Любин П.А., Фролов А.А., Дикаева Д.Р., Ахметчина О.Ю., Гарбуль Е.А. Особенности распределения бентосных сообществ во фьордах Западного Шпицбергена //

- Проблемы Арктики и Антарктики. 2011. № 1(87). С. 28–40.
- Мавлюдов Б.Р. Влияние изменения климата на ледники земли Норденшельда, Шпицберген // Комплексные исследования природы архипелага Шпицбергена. Материалы междунар. научн. конф. М.: ГЕОС, 2012. Вып. 11. С. 160–164.
- Мавлюдов Б.Р., Кудиков А.В. Изменение ледника Альдегонда с начала XX века // Комплексные исследования природы архипелага Шпицбергена и прилегающего шельфа. Тез. докл. XIV всерос. научн. конф. с междунар. участием. Апатиты: Изд-во ФИЦ КНЦ РАН, 2018. С. 72–73.
- Матишов Г.Г., Моисеев Д.В., Любина О.С., Жичкин А.П., Дженьюк С.Л., Макаревич П.Р., Фролова Е.А. Гидробиологические индикаторы циклических изменений климата Западной Арктики в XX–XXI вв. // Вестник южного научного центра РАН. 2011. Т. 7. № 2. С. 54–68.
- Моисеев Д.В., Громов М.С. Термохалинные условия в заливах и фьордах о. Западный Шпицберген летом 2003 и 2008 гг. // Комплексные исследования природы архипелага Шпицберген. М.: ГЕОС, 2009. С. 332–335.
- Моисеев Д.В., Ионов В.В. Некоторые результаты океанологических исследований в заливах и фьордах о. Западный Шпицберген летом 2001 и 2002 гг. // Комплексные исследования природы архипелага Шпицбергена. Апатиты: Изд. КНЦ РАН, 2006. Вып. 5. С. 261–270.
- Тисленко Д.И., Иванов Б.В. Долгопериодная изменчивость температуры атлантических вод во фьордах Западный Шпицберген в период первого (1920–1940 гг.) и современного потепления в Арктике // Проблемы Арктики и Антарктики. 2015. № 2(104). С. 93–100.
- Фролова Е.А., Дикаева Д.Р. Сообщества полихет сублиторали системы Ис-фьорда (Западный Шпицберген) // Проблемы морской палеоэкологии и биогеографии в эпоху глобальных изменений: Материалы VIII Всероссийской школы по морской биологии и IX международной научной конференции “Комплексные исследования природы архипелага Шпицберген” М.: ГЕОС, 2009. Вып. 9. С. 407–411.
- Bray J.R., Curtis J.T. 1957 An ordination of the upland forest communities of Southern Wisconsin Ecol. Monogr. V. 27. P. 325–349.
<https://doi.org/10.2307/1942268>
- Renaud P.E., Włodarska-Kowalczyk M., Trannum H., Holte B., Węśławski J.M., Cochrane S., Dahle S., Guliksen B. Multidecadal stability of benthic community structure in a high-Arctic glacial fjord (van Mijenfjord, Spitsbergen) // Polar Biology. 2007. V. 30(3). P. 295–305.
<https://doi.org/10.1007/s00300-006-0183-9>
- Węśławski J.M., Włodarska-Kowalczyk M., Kedra M., Legeżyńska J. Eight species that rule today’s European Arctic fjord benthos // Polish Polar Research. 2012. V. 33. № 3. P. 225–238.
<https://doi.org/10.2478/v10183-012-0016-1>
- Włodarska-Kowalczyk M., Pearson T. Soft-bottom faunal associations and factors affecting species Distributions in an Arctic glacial fjord (Kongsfjord, Spitsbergen) // Polar Biology. 2004. V. 27. P. 155–167.
<https://doi.org/10.1007/s00300-003-0568-y>

Distribution of Polychaete Communities in the West Spitsbergen

D. R. Dikaeva*

Murmansk Marine Biological Institute Russian Academy of Sciences, Murmansk, 183010 Russia

*e-mail: dinara.dikaeva@yandex.ru

Based on the material collected in the expeditions conducted by MMBI in 2019, new data on the distribution of polychaete communities in the area of Western Spitsbergen has been obtained, complementing and refining the results of previous studies. Species complexes of polychaetes have been identified in the study area. The composition of said complexes is mainly determined by the complexity of seabed topography shaping the constitution and structure of the sediment, coupled with specifics of the hydrological regime as a result of Atlantic and Arctic water mass interaction. The distribution of polychaete communities is compared with the results of previous studies.

Keywords: Polychaeta (Annelida), communities, West Spitsbergen

УДК 632.937.16:632.654

СМЕРТНОСТЬ НАСЕКОМЫХ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ БАКУЛОВИРУСА: МОДЕЛЬ ФАЗОВЫХ ПЕРЕХОДОВ ВТОРОГО РОДА

© 2023 г. В. Г. Суховольский*, @, Д. К. Куренчиков**, Ю. Д. Иванова***, А. В. Ковалев****

*Институт леса им. В.Н. Сукачева — обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН,
Академгородок, 50/28, Красноярск, 660036 Россия

**Институт водных и экологических проблем ХФИЦ ДВО РАН, ул. Дикопольцева, 56, Хабаровск, 680000 Россия

***Институт биофизики — обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН,
Академгородок, 50/50, Красноярск, 660036 Россия

****ФИЦ КНЦ СО РАН, Академгородок, 50, Красноярск, 660036 Россия

@E-mail: soukhovolsky@yandex.ru

Поступила в редакцию 01.07.2022 г.

После доработки 24.03.2023 г.

Принята к публикации 24.03.2023 г.

Рассмотрена возможность применения математической модели фазовых переходов второго рода с двумя свободными параметрами для описания эпизоотии кольчатого шелкопряда *Malacosoma neustria* L. и непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L. под воздействием вируса ядерного полиэдроза. Для оценки чувствительности насекомых к воздействию бакуловирусов проводились лабораторные эксперименты по оценке выживаемости гусениц под различной инфекционной нагрузкой. В модели описывался процесс гибели особей в зависимости от двух факторов — титра вирусов как дозы воздействия и продолжительности жизни особи в зависимости от титра вирусов. Информация о продолжительности жизни насекомых после воздействия вируса представлена в виде функции выживания. В настоящей работе рассмотрена возможность построения модели времени жизни насекомых после воздействия бакуловирусов как аналога фазового перехода второго рода в физических системах и даны оценки параметров моделей для двух видов насекомых при разных титрах бакуловирусов и при разном возрасте гусениц. Показано, что продолжительность латентного периода и времени гибели всех особей в выборке линейно уменьшается с ростом логарифма титра вирусов.

Ключевые слова: вирус ядерного полиэдроза, кольчатый шелкопряд, *Malacosoma neustria*, непарный шелкопряд, *Lymantria dispar*, динамика популяций, смертность, моделирование, фазовые переходы второго рода

DOI: 10.31857/S1026347022600595, EDN: WIYGJR

Вспышки массового размножения насекомых-вредителей наносят огромный экологический и хозяйственный ущерб лесным насаждениям. В связи с этим разработка научно обоснованных, эффективных мер борьбы с насекомыми-вредителями крайне важна для сохранения лесных насаждений. Бакуловирусы, особенно распространенные у чешуекрылых (Moscardi, 1999; Cory, Myers, 2003), привлекли наибольшее внимание в качестве агентов биологической борьбы с насекомыми. Бакуловирусы инфицируют личиночные стадии, и насекомому необходимо их проглотить, чтобы вызвать инфекцию. Заражение бакуловирусами обычно приводит к летальному исходу и, следовательно, может влиять на плотность популяции хозяев, особенно если передача вируса увеличивается с увеличением плотности популяции вида-хозяина. Теоретические взаимосвязи динамики насекомых-хозяев и мик-

ропаразитов широко исследовались в математических моделях (начиная с модели (Anderson, May, 1980)). Более поздние модели учитывают такие факторы, как изменение параметров передачи вирусов (Getz, Pickering, 1983), вертикальный перенос вирусов (Regniere, 1984). Ряд моделей учитывает зависимость как от плотности, так и вертикальный перенос (Vezina, Peterman, 1985) и нелинейный перенос вирусов (Hochberg, 1991). В моделях учитывается также зависимость заражения насекомых-хозяев от плотности (White *et al.*, 1996; Bonsall *et al.*, 1999), стадия развития хозяина (Briggs, Godfray, 1996), неоднородность восприимчивости гусениц хозяев к вирусу (Dwyer *et al.*, 1997), возможность сублетальной инфекции гусениц хозяев (Boots, Norman, 2000).

Бакуловирусная инфекция обычно влияет на развитие личинок, задерживая их линьку. Такие эффекты ведут к увеличению доступных вирусу

ресурсов хозяина. Этот процесс зависит от дозы вирусов (Cory *et al.*, 2004). Реакция личинок чешуекрылых на патогены (такие, как бакуловирусы) сильно зависит от дозы воздействия вирусов, поэтому важно изучить реакцию гусениц на воздействия различных титров (концентраций) патогенов. При малых титрах бакуловируса развитие хозяина с меньшей вероятностью может остановиться (Cory *et al.*, 2004), и хозяин перейдет в следующую возрастную стадию.

При ухудшении состоянии гусениц-хозяев они могут стать более уязвимым при последующем заражении бакуловирусами. Напротив, при улучшении состояния гусениц вида-хозяина может уменьшиться риск их гибели при новой атаке патогена (Ulrich, Schmid-Hempel, 2012).

Модели вируса и болезни насекомых-хозяев обычно оцениваются по тому, генерируют ли они циклическую популяционную динамику нескольких поколений хозяев или нет. Однако многие из них нереалистичны по другим характеристикам, таким как уровни инфицирования (Bowers *et al.*, 1993), например, почти 100% заражение для трех поколений максимальной плотности хозяев в модели (Dwyer *et al.*, 2000). Длительные высокие уровни инфекции не наблюдаются в природных популяциях (Woods, Elkinton, 1987; Myers, 2000).

В России среди бакуловирусов наибольшее распространение получило использование вируса ядерного полиэдрома (ВЯП) (Ilinykh *et al.*, 2013). При этом для оценки влияния бакуловирусов на динамику численности популяций лесных насекомых-вредителей и разработки стратегий воздействия на популяции в ходе вспышек массового размножения вредителей следует рассматривать как эндогенные факторы (в частности, генетическую структуру географических штаммов ВЯП и дозу воздействия), так и экзогенные факторы — возраст гусениц насекомых, состояние корма, погодные условия (Elam *et al.*, 1990; Engelhard, Volkman, 1995).

К сожалению, эксперименты и натурные наблюдения за воздействием внешних факторов на смертность особей в популяции достаточно трудны технически. Для упрощения оценок смертности необходимы определенные теоретические представления о динамике смертности под воздействием внешних факторов.

Известно, что гибель насекомых под воздействием внешних биотических факторов (бактерий, грибов, вирусов) растянута во времени даже при максимальной стандартизации процесса заражения: равномерном распределении вирусов в суспензии, возраста личинок, температуры среды, качества корма. При этом даже у выживших после воздействия вирусов гусениц может наблюдаться задержка развития особей (Goldberg *et al.*, 2002), снижение массы куколок (Myers *et al.*, 2000;

Matthews *et al.*, 2001), уменьшение плодовитости самок (Matthews *et al.*, 2001; Milks *et al.*, 2002). Для оценки чувствительности насекомых к воздействию бакуловирусов проводятся лабораторные эксперименты по смертности гусениц под различной инфекционной нагрузкой. Обычно для описания влияния вирусов на насекомых используются таблицы, в которых вводятся даты с момента начала воздействия и доли погибших гусениц. Использование таких таблиц позволяет оценить скорость гибели гусениц, однако при использовании табличного представления трудно сопоставлять результаты различных экспериментов. Поэтому для описания результатов воздействия вирусов на гусениц хозяев предпочтительнее использовать те или иные математические модели.

Оценки времени жизни насекомых после обработки относятся к классу моделей времени жизни (models of duration) (Cox, Oakes, 1984). Объектом анализа в данном случае будет выступать зависимость времени T жизни после точечного воздействия некоторой дозы патогена.

Информацию о продолжительности жизни насекомых после воздействия вируса можно представить в виде функции выживания, равной 1 в момент воздействия и постепенно спадающей до нуля. Продолжительность жизни T является неотрицательной случайной величиной. При проведении экспериментов с воздействием ВЯП на насекомых не учитывается точное время гибели особи, замеры выживаемости производятся через некоторые интервалы и в этом случае длительность жизни рассматривается как дискретная величина. При моделировании времени жизни используются как непараметрические, так и параметрические модели (Kalbfleisch, Prentice, 2002; Kleinbaum, Klein, 2012). При использовании параметрических моделей необходимо выбрать тип функции распределения времен жизни. При этом важно, чтобы модели времени жизни обладали свойством структурной устойчивости — при небольших изменениях внешних параметров свойства модели не должны сильно изменяться.

В настоящей работе рассмотрена возможность построения модели времени жизни насекомых после воздействия бакуловирусов как аналога фазового перехода второго рода в физических системах и даны оценки параметров моделей для двух видов насекомых при разных титрах бакуловирусов и при разном возрасте гусениц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах по оценке влияния бакуловирусов на гусениц насекомых-филлофагов, использовались гусеницы двух видов насекомых: кольчатого шелкопряда (*Malacosoma neustria* L., Lasiocampidae, Lepidoptera) и непарного шелко-

пряда (*Lymantria dispar* L., Eribidae, Lepidoptera). Эксперименты проводились, соответственно, в 2018 и 2007 гг. Во время проведения лабораторных экспериментов популяции насекомых находились в эруптивной фазе многолетней динамики численности (Исаев и др., 2001).

Гусеницы непарного шелкопряда для эксперимента были получены из кладок яиц, собранных в хвойно-широколиственном лесу в окрестностях г. Хабаровск (48°31' с.ш., 135°06' в.д.). Собранные кладки провели зиму в естественных условиях: в лесной подстилке широколистного леса. После вылупления гусеницы содержались на букетах листьев дуба монгольского (*Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb.) в садках, по 25 экземпляров в каждом. Объем садка составлял 5 литров. На горловине каждого садка фиксировалась ткань, обеспечивающая доступ кислорода к гусеницам. Садки сохранялись в темноте, чтобы избежать положительного гелиотаксиса гусениц.

В ходе экспериментов оценивалось выживание гусениц этого вида под воздействием множественного нуклеополиэдровируса *L. dispar* (LdMNPV) (Rohrmann, 2013), представляющего собой высокопатогенный, специфичный для хозяина альфа-бакуловirus (вирус ядерного полиэдроза — ВЯП), который используется в качестве основы биологических инсектицидов для борьбы с непарным шелкопрядом *L. dispar* (Podgwaite, 1999; Elkinton, 2009; Harrison *et al.*, 2013; Han *et al.*, 2015). Личинок заражали двумя штаммами LdMNPV из коллекции Лаборатории экологической физиологии Института систематики и экологии животных (ИСЭЖ, Новосибирск, Россия): штаммом 27/0 (выделен на территории Новосибирской области) и штаммом 31/0 (выделен на территории Алтайского края). Модельные гусеницы инфицировались по достижению третьего возраста, перорально, через предлагаемый гусеницам корм, на который была нанесена суспензия LdMNPV с разным титром (концентрацией) вирусов. Для работы с LdMNPV из коллекции ИСЭЖ был предоставлен раствор с начальным стандартным титром 2×10^8 полиэдров/мл. Начальный титр определяется в ИСЭЖ при помощи камеры Горяева под оптическим микроскопом. Далее перед началом эксперимента раствор с начальным титром разводился водой в нужных пропорциях для получения титров с меньшей концентрацией вирусов.

При обработке гусениц суспензиями вирусов использовалась следующая методика (Ilynykh *et al.*, 2013): четыре стандартные ветви кормовых растений для личинок непарного шелкопряда равномерно распределяли на полиэтиленовой платформе площадью 0.25 квадратных метра и обрабатывали 2.5 мл суспензии LdMNPV, распределенной с помощью ручного опрыскивателя емкостью 5 мл. Заражение проводили через двое суток после

линьки личинок второй стадии. После сушки ветку растения помещали в отдельную емкость с личинками непарного шелкопряда. Личинки находились на зараженной вирусом листе в течение 72 ч. В качестве контрольной группы использовали необработанных насекомых.

Гусеницы кольчатого шелкопряда были собраны в природе, в мелколистном лесу, на левом берегу р. Амур, напротив г. Хабаровск (48°52' с.ш., 134°89' в.д.). В лаборатории гусеницы содержались на букетах листьев черемухи обыкновенной (*Prunus padus* L.), в садках, по 25 особей в садке. Искусственного инфицирования не проводилось, так как исследовалось естественное заражение патогенами указанной популяции.

Наблюдались два исхода экспериментов:

- особи выживали и окукливались;
- особи погибали от воздействия вирусной (непарный шелкопряд) или вирусно-бактериальной (кольчатый шелкопряд) инфекции.

Процесс гибели насекомых под воздействием естественных патогенов в общем, и вируса ядерного полиэдроза, в частности, можно рассматривать как аналог фазового перехода второго рода, когда некоторый интегральный параметр изучаемой системы изменяется в зависимости от воздействия внешнего фактора.

Типичным примером фазового перехода второго рода в физических системах является намагничивание металла. Если температура металла выше некоторой критической величины T_c (температуры Кюри) магнитный момент образца равен нулю. При понижении температуры образца ниже температуры Кюри магнитный момент начинает возрастать, и задача моделирования заключается в расчете критической температуры для разных образцов и выявлении связи температуры образца с его намагничиванием. Учет факторов, воздействие которых ведет к фазовому переходу второго рода, достаточно сложен, и для упрощения расчетов используются так называемые феноменологические модели, согласно которым функция состояния системы выражается некоторой степенной функцией от некоторой общей характеристики объекта (параметра порядка) и температуры образца (Ландау, Лифшиц, 1976).

Если популяцию насекомых рассматривать как объект воздействия, то в качестве интегральной характеристики состояния популяции (параметра порядка) будем рассматривать долю q живых особей в популяции через период времени T после начала воздействия. В момент t_0 начала воздействия $q(t_0) = 1$. В течение латентного периода времени $T_c = t_c - t_0$, когда после начала воздействия особи насекомых не погибают, $q(T \leq T_c) = 1$. Через некоторое время t ($t > t_c$) после начала воздействия насекомые начинают погибать. Если че-

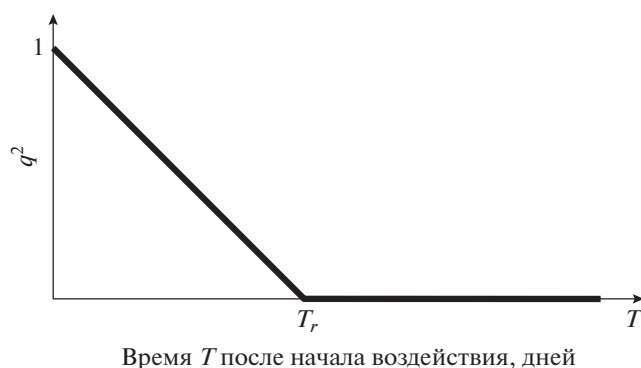


Рис. 1. Величина квадрата параметра порядка q^2 как решение (4) уравнения состояния популяции через время T после начала воздействия бакуловирусов. (T_r — время гибели всех гусениц в эксперименте).

рез время t_r после начала воздействия все особи погибнут, то тогда $q(t \geq t_r) = 0$.

Функцию состояния особей в популяции $G = f(T, q)$ за период T после воздействия можно представить в виде степенного ряда функции состояния популяции G по степеням доли q живых особей в популяции, рассматриваемой как параметр порядка. При этом фазовые переходы второго рода будут описываться как разложение функции G по четным степеням параметра порядка q (Ландау, Лифшиц, 1976):

$$G = G_0 + Aq^2 + bq^4, \quad (1)$$

где $b = \text{const}$, A есть линейная функция от внешней переменной T — продолжительности эксперимента.

Коэффициент A в (1) запишем как линейно зависящий от T :

$$A = a(T - T_r). \quad (2)$$

Значение параметра порядка для фаз жизни и смерти будет находиться из решения уравнения $\frac{\partial G}{\partial q} = 0$, характеризующего минимумы функции G :

$$\frac{\partial G}{\partial q} = 2a(T - T_r)q + 4bq^3 = 0. \quad (3)$$

Уравнение (3) имеет два решения:

$$q = 0 \quad \text{при} \quad T > T_r \quad \text{и} \quad q^2 = \frac{a(T_r - T)}{2b} \quad \text{при} \quad T \leq T_r. \quad (4)$$

Решение $q = 0$ характеризует полную гибель насекомых под воздействием бакуловирусов через время T_r после начала воздействия. Второе решение (гибель части насекомых) реализуется, когда продолжительность жизни особей после воздействия меньше критического значения T_r . Графически решения (4) представлены на рис. 1.

Необходимо также учесть, что после заражения гусеница не умирает мгновенно — вирусы должны размножиться и для этого требуется некоторое время T_c (латентный период реакции гусениц на воздействие вируса). С учетом существования латентного периода реакции особей на воздействие бакуловирусов, между переменными T и q^2 можно записать следующую зависимость:

$$q^2 = \begin{cases} 1, & T \leq T_c, \\ 1 - bT, & T_c < T \leq T_r, \\ 0, & T > T_r, \end{cases} \quad (5)$$

где T_c — латентный период — время между моментом инфицирования и гибелью первой особи в группе; T_r — время гибели всех особей в экспериментальной группе; a — константа, b — скорость гибели особей после прохождения латентного периода.

Параметры моделей фазового перехода второго рода для гусениц хабаровской популяции непарного шелкопряда, инфицированных вирусным полиэдрозом с разной концентрацией (титром) P , приведены в табл. 1–3.

Важной особенностью моделей фазовых переходов, позволяющих использовать их для описания критических явлений в самых разных системах, является то, что в рамках теории фазовых переходов вводится принцип универсальности, согласно которому процессы фазовых переходов зависят только от некоторых основных свойств систем, таких как размерность и число компонентов параметра порядка (Bruce, Cowley, 1981).

Знание параметров T_c , T_r и b крайне важно при планировании защитных мероприятий. Верификация модели (5) будет заключаться в проверке ее применимости для разных видов насекомых и различных титров вирусов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На рис. 2 приведены результаты обработки данных экспериментов по воздействию вируса (штамм 27/0 Новосибирский) в дозе 2×10^8 полиэдров/мл на гусениц природной популяции непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L. в Хабаровском крае.

Как видно из рис. 2, латентный период T_c воздействия ВЯП характеризовался точкой пересечения функции $q^2 = 2.965 - 0.302T$ и прямой $q^2 = 1$ в точке $T_c = 6.51$ дней. Воздействие вируса после прохождения латентного периода характеризовалось скоростью гибели особей после воздействия вируса $b = 0.302$ и временем гибели $T_r = 9.82$ дней всех особей в группе.

Сходный вид связи между q^2 и T наблюдался и при воздействии ВЯП штамма 31/0 (Алтайский) в

Таблица 1. Параметры моделей фазового перехода второго рода для групп особей непарного шелкопряда, обработанного ВЯП с разным титром

Штамм	Титр, полиэдр/мл	b	a	R^2	T_c	T_r
Алтайский	2×10^8	0.416	3.804	0.985	6.740	9.144
	2×10^7	0.201	2.372	0.986	6.826	11.801
	2×10^6	0.205	2.619	0.997	7.898	12.776
	2×10^5	0.118	1.903	0.987	7.653	16.127
Новосибирский	2×10^8	0.302	2.965	0.9386	6.507	9.818
	2×10^7	0.387	4.341	0.994	8.633	11.217
	2×10^6	0.272	3.365	0.983	8.695	12.371
	2×10^5	0.099	1.864	0.919	8.727	18.828

дозе 2×10^8 полиэдров/мл на гусениц хабаровской популяции непарного шелкопряда (рис. 3).

Использование модели фазовых переходов второго рода позволило оценить влияние бакуловirusов на популяцию вредителей по связи титра вирусом и времени полной гибели особей в экспериментальной группе (рис. 4).

Как видно из рис. 4, латентные периоды для алтайского и новосибирского штаммов на популяцию хабаровского непарного шелкопряда различались не более чем на 1–1.5 дней и слабо зависели от титра.

Угловой коэффициент $\frac{\partial T_c}{\partial \lg P} = -2.18$ уравнения на рис. 5 характеризовал восприимчивость насекомых к титру ВЯП. Чем больше значение u по модулю, тем интенсивнее насекомые гибнут с увеличением титра ВЯП.

В реальных условиях факторами гибели особей насекомых в популяции наряду с бакуловirusами являются бактериальные заболевания и возникает своеобразная конкуренция между бактериями и вирусами за тело насекомых как жизненный ресурс. На рис. 6 отражена динамика смертности особей кольчатого шелкопряда от вируса ядерного полиэдра в эксперименте, начавшемся 09 мая 2018 г.

Данные о динамике смертности особей кольчатого шелкопряда под воздействием бакуловirusов приведены в табл. 2. В этой таблице введены следующие параметры: Q_m – доля особей в эксперименте, погибших от воздействия ВЯП к концу эксперимента; $T_r = a/b$ – расчетный период вымирания особей при условии отсутствия гибели от бактерий и окукливания; $T_m = \frac{a - Q_m}{b}$ – период времени от начала эксперимента до его прекращения в связи с гибелью или окукливанием всех особей.

Так как особи кольчатого шелкопряда для экспериментов были взяты из одной популяции, то из табл. 2 следует, что эксперименты по воздействию бакуловirusов на особей кольчатого шелкопряда, начинавшиеся в разные даты, проводились на гусеницах разных возрастов. И чем в более раннем возрасте гусениц начинался эксперимент, тем больше был латентный период T_c воздействия. Чем старше были гусеницы кольчатого шелкопряда к началу эксперимента, тем меньше была продолжительность их жизни T_m после начала эксперимента. Таким образом, при воздействии на вредителей в более ранних возрастах, для повышения эффективности контроля численности вредителей, необходимо использовать раствор ВЯП с более высоким титром.

При подавлении вспышек массового размножения крайне важно выбрать оптимальную дозу титра ВЯП. Обычно при этом проводят предварительные эксперименты по оценке смертности гусениц при разных дозах воздействия. Однако для проведения этих экспериментов требуется время (до двух недель), в течение которых будет продолжаться повреждение листового аппарата гусеницами вредителя. Используя предлагаемую модель, можно сократить время предварительной оценки дозы воздействия, используя связь между параметром b модели и временем полной гибели

Таблица 2. Динамика смертности особей кольчатого шелкопряда под воздействием бакуловirusов

Дата воздействия	b	a	R^2	Q_m	T_c , дней	T_r , дней	T_m , дней
9.05.2018	0.04	1.65	0.98	0.46	18.57	47.14	33.90
15.05.2018	0.13	2.13	0.98	0.03	8.84	16.70	16.49
22.05.2018	0.09	1.21	0.90	0.19	2.28	13.14	11.09
29.05.2018	0.05	1.03	0.96	0.55	0.69	22.43	10.49
5.06.2018	0.06	1.17	0.97	0.50	2.62	18.06	10.31

Таблица 3. Результаты расчетов кривых смертности насекомых под воздействием бакуловирусов (по данным из работы Shrestha *et al.*, 2019)

Параметр уравнения (5)	Генотип кормового растения — соевых бобов								
	Bragg	Gasoy	Tracy	Braxton	Clark	Cook	Davis	Stone-wall	Willians
b	0.76	0.37	0.36	0.35	0.49	0.47	0.54	0.82	0.72
a	5.56	2.98	2.86	2.65	3.53	3.47	4.01	5.56	5.08
R^2	0.97	0.96	0.94	0.98	0.97	1.00	1.00	1.00	0.99
T_r	7.28	8.08	7.88	7.53	7.23	7.35	7.45	6.79	7.05
T_c	5.97	5.36	5.12	4.69	5.18	5.23	5.59	5.57	5.66
LT_{50}	6.99	7.38	7.25	6.86	6.69	6.85	6.96	6.48	6.71

T_r гусениц (рис. 7). Как видно, если известно значение b , можно достаточно точно оценить время T_r полной гибели гусениц под воздействием ВЯП. Так как зависимость между продолжительностью времени эксперимента после прохождения латентного периода T_c и квадратом доли выживших гусениц к моменту времени T с высокой точностью описывается линейным уравнением $q^2 = 1 - bT$ (коэффициенты детерминации $R^2 > 0.90$), то оценить коэффициент b можно по данным двух–трех измерений и тем самым сократить продолжительность эксперимента по оценке необходимой дозы воздействия ВЯП.

В большинстве работ для описания динамики гибели гусениц используются таблицы, что не позволяет “свернуть” данные и перейти к некоторым интегральным показателям смертности. Тем

не менее, табличные данные могут быть использованы для построения предлагаемой модели. Покажем, что расчеты результатов проведенных нами экспериментов и вид функций гибели вредителей хорошо согласуются с литературными данными (Shrestha *et al.*, 2019). По табличным данным, представленным в этой работе, нами были вычислены кривые гибели личинок осеннего армейского червя *Spodoptera frugiperda* после их заражения бакуловирусом. В эксперименте для питания насекомых использовались листья соевых бобов разных генотипов. Для каждого генотипа соевых бобов, по данным экспериментов, нами оценивалась доля q выживших особей *S. frugiperda* на моменты времени T . Коэффициенты уравнения (5) находились по регрессионному уравнению для пар (T, q^2) . На рис. 8 в качестве

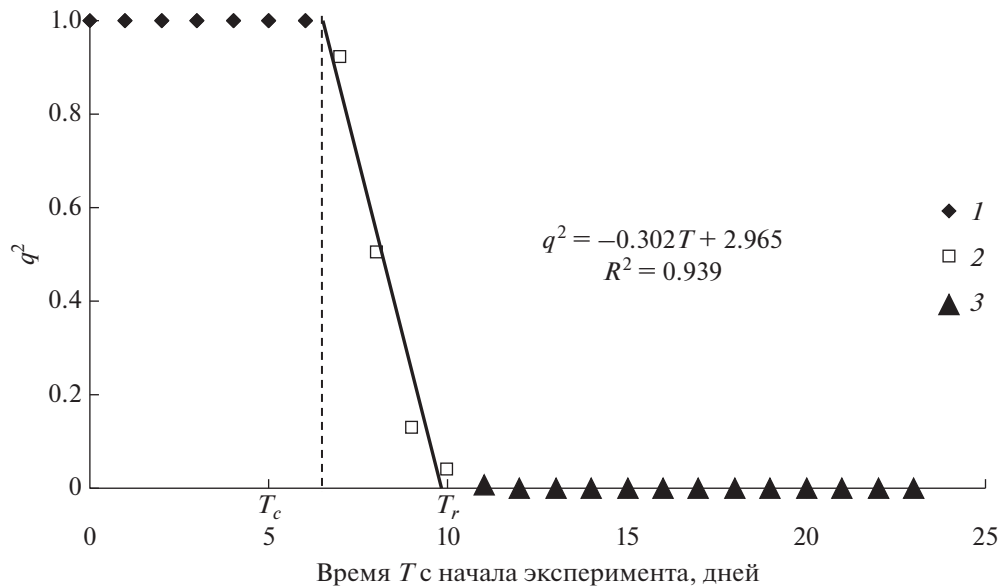


Рис. 2. Связь квадрата параметра порядка q^2 с продолжительностью T времени после воздействия вируса на выборку (штамм Новосибирский). Фазы состояния особей: 1 — латентный период (все особи живы), 2 — фаза смертности (гусеницы постепенно умирают), 3 — пост-мортальный период (все или почти все особи умерли).

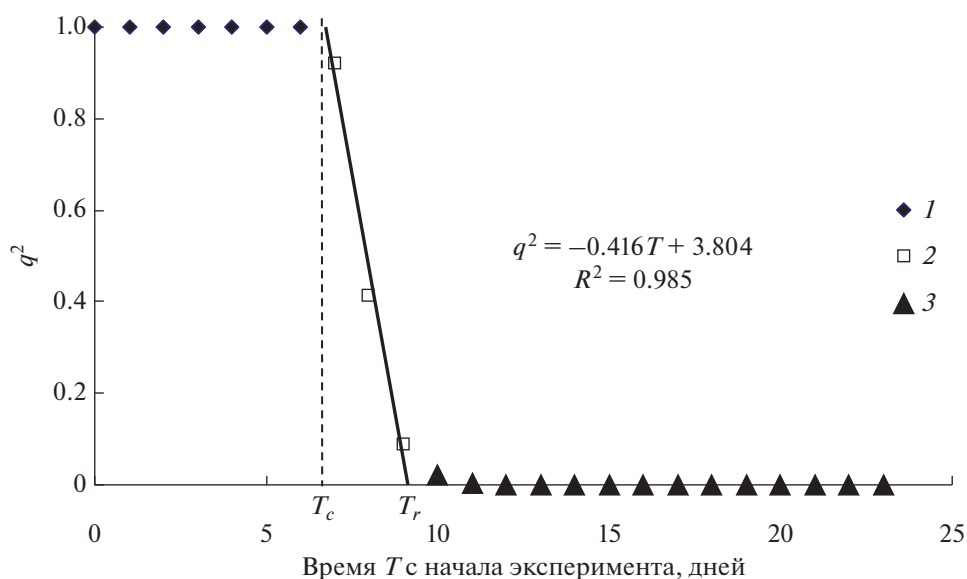


Рис. 3. Связь квадрата параметра порядка q^2 с продолжительностью T времени после воздействия вируса штамма Алтайский на выборку. Фазы состояния особей: 1 – латентный период (все особи живы), 2 – фаза смертности (гусеницы постепенно умирают), 3 – пост-мортальный период (все или почти все особи умерли).

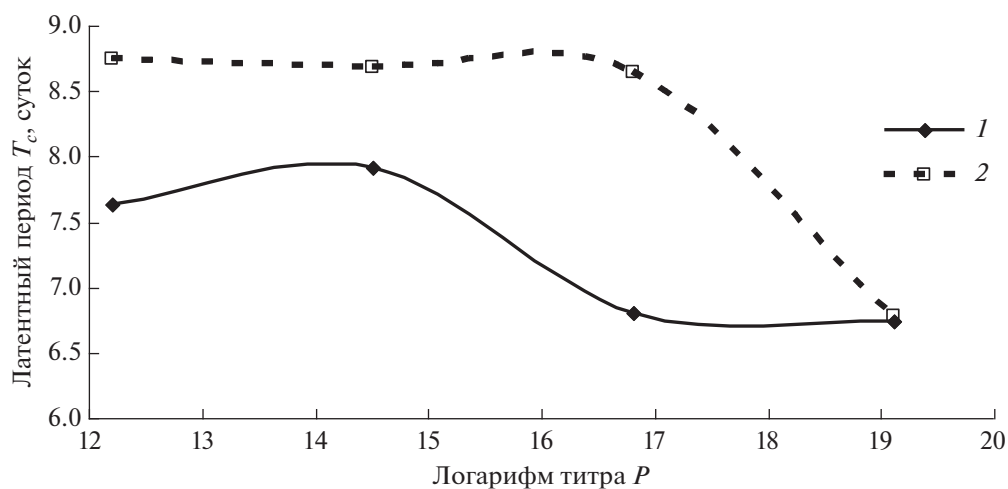


Рис. 4. Латентный период T_c в зависимости от логарифма титра P ВЯП для алтайского (1) и новосибирского (2) штаммов для особей в популяции непарного шелкопряда.

примера приведена кривая смертности личинок *S. frugiperda* для генотипа Braxton соевых бобов.

В табл. 3 приведены результаты расчетов по данным, приведенным в работе (Shrestha *et al.*, 2019), кривых смертности согласно модели (5) для девяти генотипов кормового растения – соевых бобов. К параметрам уравнения (5) добавлен широко используемый показатель LT_{50} – период времени, за который погибла половина популяции (т.е. $q^2 = 0.25$)

Как видно из табл. 3, кривые смертности хорошо описываются уравнением (5). Величины ко-

эффициентов детерминации R^2 регрессионных уравнений весьма близки к 1. Из табл. 3 следует, что характеристики кривых смертности для разных генотипов кормовых растений различались.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Более 50 энтомопатогенных вирусов, бактерий, грибов и нематод в настоящее время коммерчески производятся и используются в качестве микробных пестицидов. В глобальном масштабе микробные пестициды составляют лишь

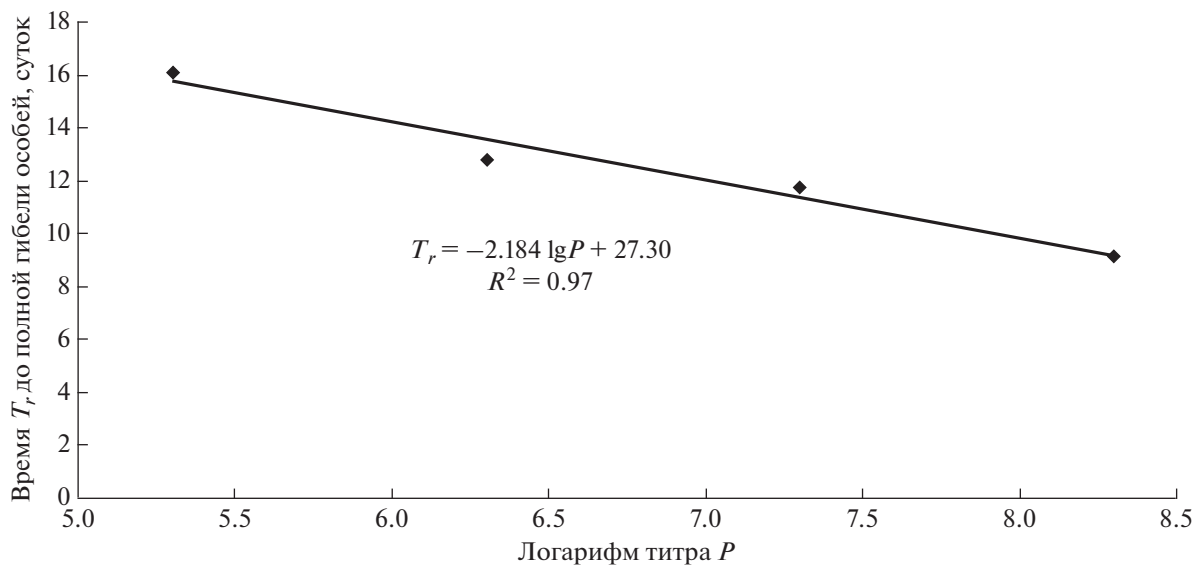


Рис. 5. Время T_r полной гибели особей в популяции непарного шелкопряда в зависимости от логарифма (десятичного) титра бакуловируса алтайского штамма.

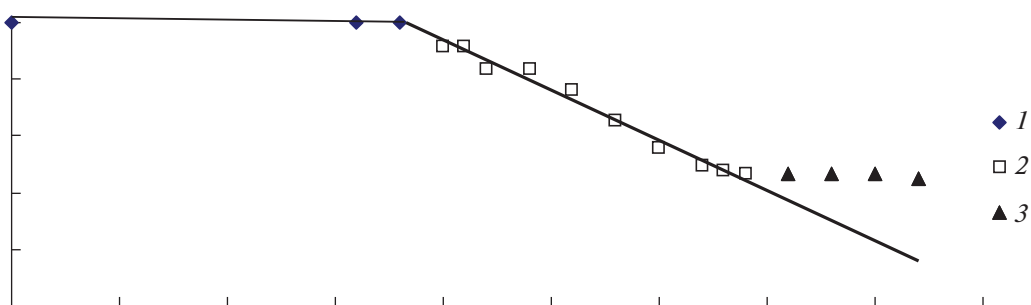


Рис. 6. Гибель гусениц кольчатого шелкопряда в эксперименте. q^2 — квадрат доли живых особей в группе; 1 — латентный период T_c , в течение которого гусеницы после воздействия еще не умирали, 2 — период, в ходе которого наблюдалась смертность гусениц от вируса, 3 — период, когда смертность гусениц от вироза прекращается в связи с гибелью остальных особей от бактериальных болезней или окукливания.

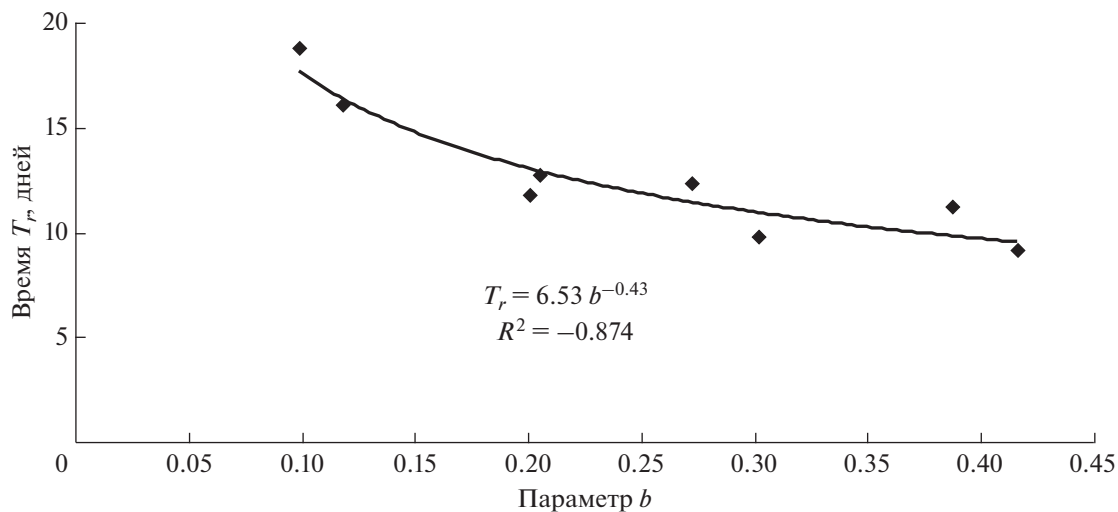


Рис. 7. Связь между параметром b уравнения (5) и временем T_r полной гибели гусениц под воздействием ВЯП.

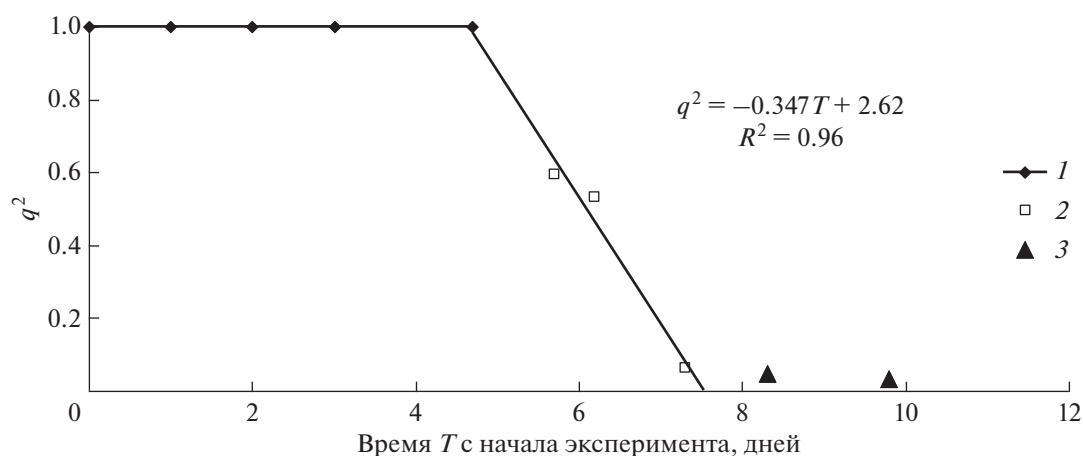


Рис. 8. Кривая выживания личинок насекомых после заражения бакуловирусом личинок *S. frugiperda*, питавшихся бобами генотипа Braxton (1 — латентный период, 2 — период смертности особей, 3 — период после смерти всех особей в популяции (расчеты по данным (Scholefield *et al.*, 2019)).

приблизительно 1–2% от всех продаваемых пестицидов (Thakore, 2006, Marrone, 2007, Bailey *et al.*, 2010). Однако за последнее десятилетие они продемонстрировали долгосрочный рост, в отличие от химических пестицидов, которые постоянно сокращаются на мировом рынке (Thakore, 2006, Bailey *et al.*, 2010). Акцент на бакуловирусы в значительной степени обусловлен важностью этих патогенов в борьбе с некоторыми глобально важными видами чешуекрылых вредителей. Эти виды вредителей имеют явную склонность к быстрому развитию устойчивости к обычным химическим инсектицидам, что затрудняет борьбу с ними. Более низкая скорость уничтожения бакуловирусов по сравнению с большинством синтетических инсектицидов остается серьезным препятствием на пути их более широкого применения, поэтому необходимы исследования, обосновывающие методики использования препаратов бакуловирусов для борьбы с вредителями (Copping, Menn, 2000, Szezyk *et al.*, 2006).

Существующие теоретические модели на основе систем дифференциальных уравнений мало пригодны для практического применения в связи с большим числом переменных и свободных параметров (Saxena *et al.*, 2018; Shrestha *et al.*, 2019).

Полученные данные согласуются с представлениями о том, что смертность особей в популяции под воздействием бакуловирусов может варьировать в зависимости от характеристик кормового растения (Martemyanov *et al.*, 2012). Подобный эффект может объяснить различный уровень смертности гусениц при заражении бакуловирусами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенная математическая модель гибели гусениц насекомых-дендрофагов под воздействием ВЯП как фазового перехода второго рода показала корректность предложенного подхода для описания воздействия бакуловирусов на разные виды лесных насекомых. Использование предложенной модели позволило оценить целый ряд показателей, характеризующих влияние ВЯП на популяцию и уменьшить продолжительность экспериментов по оценке восприимчивости гусениц вредителей к воздействию ВЯП, что важно при выборе стратегии воздействия на популяцию.

Кроме воздействия вирусов, на динамику смертности гусениц могут оказывать влияние внешние факторы (например, погода) и такие эффекты также необходимо учесть при организации борьбы с вредителями. В модели фазовых переходов второго рода эти влияния можно рассматривать как влияние некоторого постоянного внешнего поля h (например, температуры окружающей среды, гидротермического коэффициента — отношения суммарных осадков за сезон к средней температуре воздуха или состояния кормового растения для гусениц насекомых). Эти факторы могут воздействовать также и на кормовые растения, а через них опосредовано и на взаимодействие вирусов с насекомыми. Тогда можно модифицировать уравнение (1) и использовать его в следующем виде: $G = G_0 + Aq^2 + bq^4 + cqh$. Такая модификация уравнения (1) позволяет учесть и влияние модифицирующих факторов на взаимодействия в системе “вирус — насекомые — растения”.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант № 21-46-07005).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Исаев А.С., Хлебопрос Р.Г., Недорезов Л.В., Кондаков Ю.П., Киселев В.В., Суховольский В.Г. Популяционная динамика лесных насекомых. М.: Наука, 2001. 374 с.
- Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Статистическая физика. Ч. I. М.: Наука, 1976. 584 с.
- Anderson R.M., May R.M. Infectious diseases and population cycles of forest insects // *Science*. 1980. V. 210. P. 658–661.
- Bailey D., Chandler W.P., Grant J., Greaves G., Prince M. Tatchell. Biopesticides: Pest Management and Regulation. CABI International, Wallingford. 2010. 232 p.
- Bonsall M., Godfray H.C.J., Briggs C., Hassell M.P. Does host self-regulation increase the likelihood of insect-pathogen population cycles? // *Am. Nat.* 1999. V. 153. P. 228–235.
- Boots M., Norman R. Sublethal infection and the population dynamics of host-microparasite interactions // *J. Anim. Ecol.* 2000. V. 69. P. 517–524.
- Bowers R., Begon M., Hodgkinson D. Host-pathogen population cycles in forest insects? Lessons from simple models reconsidered // *Oikos*. 1993. V. 67. P. 529–538.
- Briggs C.J., Godfray H.C.J. The dynamics of insect-pathogen interactions in seasonal environments // *Theor. Popul. Biol.* 1996. V. 50. P. 149–177.
- Bruce A.D., Cowley R.A. Structural phase transitions. L.: Taylor & Francis, 1981. 326 p.
- Copping L.G., Menn J.J. Biopesticides: a review of their actions, applications and efficacy // *Pest Manage Sci.* 2000. V. 56. P. 651–676.
- Cory J.S., Clarke E.E., Brown M.L., Hails R.S., O'Reilly D.R. Microparasite manipulation of an insect: the influence of the egt gene on the interaction between a baculovirus and its lepidopteran host // *Funct. Ecol.* 2004. V. 18. P. 443–450.
- Cory J.S., Myers J.H. The ecology and evolution of insect baculoviruses // *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 2003. V. 34. P. 239–272.
- Cox D.R., Oakes D. Analysis of survival data. CRC Press, Boca Raton, 1984. 208 p.
- Dwyer G., Dushoff J., Elkinton J.S., Levin S.A. Pathogen-driven outbreaks in forest defoliators revisited: building models from experimental data // *Am. Nat.* 2000. V. 156. P. 105–120.
- Dwyer G., Elkinton J.S., Buonaccorsi J.P. Host heterogeneity in susceptibility and disease dynamics: tests of a mathematical model // *Am. Nat.* 1997. V. 150. P. 685–707.
- Elam P., Vail P.V., Schreiber F. Infectivity of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus extracted with digestive fluids of *Heliothis zea*, *Estigmene acrea*, and carbonate solutions // *J. Invertebr. Pathol.* 1990. V. 55. P. 278–283.
- Elkinton J.S. Gypsy Moth. In *Encyclopedia of Insects*; Resh V.H., Cardé R.T. Eds.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 2009. P. 435–439.
- Engelhard E.K., Volkman L.E. Developmental resistance in fourth instar *Trichoplusia ni* orally inoculated with *Autographa californica* M nuclear polyhedrosis virus // *Virology*. 1995. V. 209. P. 384–389.
- Getz W., Pickering J. Epidemic models: thresholds and population regulation // *Am. Nat.* 1983. V. 121. P. 893–898.
- Goldberg A.V., Romanowski V., Federici B.A., Sciocco de Cap A. Effect of the eap granulovirus on its host, *Epinotia aporema* (Lepidoptera: Tortricida) // *J. Invertebr. Pathol.* 2002. V. 80. P. 148–159.
- Han Y., van Houte S., Drees G.F., van Oers M.M., Ros V.I.D. Parasitic manipulation of host behaviour: baculovirus SeMNPV EGT facilitates tree-top disease in *Spodoptera exigua* larvae by extending the time to death // *Insects*. 2015. V. 6. P. 716–731.
- Harrison R.L., Keena M.A., Rowley D.L. Classification, genetic variation and pathogenicity of *Lymantria dispar* nucleopolyhedrovirus isolates from Asia, Europe, and North America // *J. Invertebr. Pathol.* 2013. V. 116. P. 27–35.
- Hochberg M. Nonlinear transmission rates and the dynamics of infectious diseases // *J. Theor. Biol.* 1991. V. 153. P. 301–321.
- Ilyinykh A., Kurenschikov D., Ilyinykh Ph., Imranova E., Polenogova O., Baburin A. Sensitivity of gypsy moth *Lymantria dispar* larvae from geographically removed populations to nucleopolyhedrovirus // *SHILAP Rev. ta. lepid.* 2013. V. 41. P. 349–356.
- Kalbfleisch J., Prentice R. The Statistical Analysis of Failure Time Data. N.Y.: J. Wiley, 2002. 462 p.
- Kleinbaum D.G., Klein M. Survival analysis: a self-learning text. Springer-Verlag N.Y. Inc., 2012. 700 p.
- Marrone P.G. Barriers to adoption of biological control agents and biological pesticides // *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*. 2007. V. 2. № 051. 12 p.
- Martemyanov V.V., Dubovskiy I.M., Rantala M.J., Salmi-nen J.-P., Belousova I.A., Pavlushin S.V., Bakhvalov S.A., Glupov V.V. The Effects of Defoliation-Induced Delayed Changes in Silver Birch Foliar Chemistry on Gypsy Moth Fitness, Immune Response, and Resistance to Baculovirus Infection // *J. Chem. Ecol.* 2012. V. 38. P. 295–305.
- Matthews H.J., Smith I., Edwards J.P. Lethal and sublethal effects of a granulovirus on the tomato moth *Lacanobia oleracea* // *J. Invertebr. Pathol.* 2001. V. 80. P. 73–80.
- Milks M.L., Myers J.M., Leptich M.K. Costs and stability of cabbage looper resistance to a nucleopolyhedrovirus // *Evol. Ecol.* 2002. V. 16. P. 369–385.
- Moscardi F. Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera // *Ann. Rev. Entomol.* 1999. V. 44. P. 257–289.
- Myers J.H. Population fluctuations of the western tent caterpillar in southwestern British Columbia. // *Popul. Ecol.* 2000. V. 42. P. 231–241.
- Myers J., Malakar H.R., Cory J.S. Syblethal nucleopolyhedrovirus infection effects on female pupal weight, egg mass size, and vertical transmission in gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) // *Environ. Entomol.* 2000. V. 29. P. 1268–1272.

- Podgwaite J.D. Gypchek: Biological Insecticide for the Gypsy Moth // J. For. 1999. V. 97. P. 16–19.
- Regniere J. Vertical transmission of diseases and population dynamics of insects with discrete generations: a model // J. Theor. Biol. 1984. V. 107. P. 287–301.
- Rohrmann G.R. Baculovirus molecular biology. 3rd ed. Bethesda (MD): Nat. Center Biotechnol. Inform. (US), 2013. 347 p.
- Saxena A., Byram P.K., Singh S.K., Chakraborty J., Murhammer D., Giri L.J. A structured review of baculovirus infection process: integration of mathematical models and bio-molecular information on cell-virus interaction // General Virology. 2018. V. 99. P. 1151–1171.
- Shrestha S., Elder B.D., Dukic V. Bayesian-based survival analysis: inferring time to death in host-pathogen interactions // Environmental and Ecological Statistics. 2019. V. 26. P. 17–45.
- Szewczyk B., Hoyos-Carvajal L., Paluszczek M., Skrzecz I., Lobo de Souza M. Baculoviruses re-emerging biopesticides // Biotechnol. Adv. 2006. V. 24. P. 143–160.
- Thakore Y. The biopesticide market for global agricultural use // Ind. Biotechnol. 2006. V. 2(3). P. 194–208.
- Ulrich Y., Schmid-Hempel P. Host modulation of parasite competition in multiple infections // Proc. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci. 2012. V. 279. P. 2982–2989.
- Vezina A., Peterman R. Tests of the role of nuclear polyhedrosis virus in the population dynamics of its host, Douglas-fir tussock moth, *Orgyia pseudotsugata* (Lepidoptera: Lymantriidae) // Oecologia. 1985. V. 67. P. 260–266.
- White A., Bowers R., Begon M. Host-pathogen cycles in self-regulated forest insect systems: resolving conflicting predictions // Am. Nat. 1996. V. 148. P. 220–225.
- Woods S.A., Elkinton J.S. Bimodal patterns of mortality from nuclear polyhedrosis virus in gypsy moth *Lymantria dispar* populations // J. Invertebr. Pathol. 1987. V. 50. P. 151–157.

Insect Mortality Caused by Baculovirus: a Model of Second-Order Phase Transitions

V. G. Soukhovolsky^{1, #}, D. K. Kurenschikov², Yu. D. Ivanova³, and A. V. Kovalev⁴

¹V.N. Sukachev Institute of Forest SB RAS, Russian Academy of Science, Siberian Branch, Akademgorodok, 50/28, Krasnoyarsk, 660036 Russia

²Institute of Water and Ecology Problems KFRC RAS, Far-Eastern Branch, Dikopoltsev St., 56, Khabarovsk, 680000 Russia

³Institute of Biophysics, Russian Academy of Science, Siberian Branch, Akademgorodok, 50/50, Krasnoyarsk, 660036 Russia

⁴Federal Research Center Krasnoyarsk Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Akademgorodok, 50, Krasnoyarsk, 660036 Russia

[#]e-mail: soukhovolsky@yandex.ru

Baculoviruses, especially prevalent in Lepidoptera, have attracted the most attention as biological insect control agents. Infection with baculoviruses is usually fatal and therefore can affect host population density, especially if virus transmission increases with host density. Lepidoptera larvae show a strong dose-dependent response to pathogens such as baculoviruses, so their response to various pathogen exposures was studied in the present work. Models of virus exposure to insect hosts are usually judged by whether or not they generate cyclical population dynamics of multiple host generations. However, the existing theoretical models based on systems of differential equations are of little use for practical application due to the large number of variables and free parameters. In this regard, the possibility of using a mathematical model for describing the epizootic *Malacosoma neustria* L. and *Lymantria dispar* L. under the influence of nuclear polyhedrosis virus is considered. To assess the sensitivity of insects to the effects of baculoviruses, laboratory experiments were carried out on the mortality of caterpillars under various infectious loads. In this paper, we consider the possibility of constructing a model for the lifetime of insects after exposure to baculoviruses as an analogue of a second-order phase transition in physical systems and give estimates of the model parameters for two insect species at different titers of baculoviruses and at different ages of caterpillars. The dependence of the parameters of the proposed model on nuclear polyhedrosis virus strains is shown. The importance of the applied parameters for the organization of forest protection measures is substantiated.

Keywords: Second-order phase transitions, population dynamics, lackey moth, *Malacosoma neustria*, gypsy moth, *Lymantria dispar*, nuclear polyhedrosis virus

УДК 591.9:591.5(1-924.14/.16)

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ КОРИДОРЫ ВОСТОЧНОЙ ФЕННОСКАНДИИ И ИХ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ СОВРЕМЕННОЙ ТЕРИОФАУНЫ РЕГИОНА

© 2023 г. П. И. Данилов*, @, Д. В. Панченко*, Ф. В. Федоров*

*Институт биологии — обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук” (ИБ КарНЦ РАН), ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910 Россия

@E-mail: pjoir.danilov@mail.ru

Поступила в редакцию 15.06.2022 г.

После доработки 26.01.2023 г.

Принята к публикации 27.01.2023 г.

В статье рассматривается функционирование эко-коридоров как проходов, обеспечивающих проникновение в центральные районы Восточной Фенноскандии млекопитающих, для которых характерна пульсация численности, высокая миграционная активность и связанные с этими явлениями расселение животных за пределы их исторических ареалов (кабан, косуля). Обсуждается также инвазия новых видов, появившихся в Восточной Фенноскандии в результате их интродукции и естественного расселения (ондатра, американская норка, канадский бобр, енотовидная собака, белохвостый и пятнистый олени).

Ключевые слова: экологические коридоры, териофауна, новые виды, Восточная Фенноскандия, инвазивные виды, интродукция, ареал

DOI: 10.31857/S102634702260056X, **EDN:** TOSEED

Восточная Фенноскандия — географический регион в границах Балтийского щита, включающий в себя Финляндию и некоторые субъекты Российской Федерации: Мурманскую область, частично территории Ленинградской, Архангельской областей и Республику Карелию (рис. 1). Именно через Восточную Фенноскандию происходит биогеографическая связь Скандинавии с Русской равниной и с Сибирью.

Сухопутное соединение Восточной Фенноскандии ограничено на западе Баренцевым морем и Ботническим заливом Балтийского моря и включает северную Карелию, Кольский полуостров и Финскую Лапландию. Оно занято преимущественно ассоциациями северной тайги и тундры.

На востоке территориальные связи Фенноскандии с Русской равниной имеют вид трех небольших сухопутных пространств, сформировавшихся в процессе отступления последнего ледника. Они расположены между крупными водоемами Европейского Севера России или их частями. Эти пространства, названы Х. Линденом с соавторами (Linden *et al.*, 2000) “лесными коридорами”. По этим коридорам происходил и происходит обмен растениями и животными между Фенноскандией и Русской равниной, что показано в ряде работ (Kopatz *et al.*, 2012; Kangas *et al.*, 2015; Артемьев и др., 2019 и др.). Развитие концепции коридоров, с

акцентом на их эколого-биогеографические функции, продолжили А.Н. Громцев с соавторами (Громцев и др., 2007) и Ю. П. Курхинен с соавторами (Курхинен и др., 2009). В результате за этими пространствами закрепилось название — “экологические таежные коридоры”, которое мы здесь и используем (рис. 1).

Первый эко-коридор (южный) — это довольно узкое пространство между Финским заливом Балтийского моря и Ладожским озером, ограниченное на юге р. Невой. Оно известно под географическим названием “Карельский перешеек”. Растительность здесь представлена преимущественно южно-таежными ассоциациями, сильно трансформированными деятельностью человека. Прежде, эта трансформация выражалась, главным образом в виде дренирования земель и сельскохозяйственном их освоении. В настоящее время деятельность человека проявляется в виде последствий строительства и функционирования многочисленных дачных поселений, последствий, выражающихся в изменении естественного растительного покрова, гидрографии и других структурных элементов ландшафтов. Но главные изменения природы этой территории происходят с начала основания и в процессе развития города Санкт-Петербурга, ставшего серьезным барьером на пути перемещений наземных позвоночных животных.



Рис. 1. Схема Восточной Фенноскандии и размещения таежных экологических коридоров: I — южный коридор; II — центральный; III — северный коридор.

Второй коридор (центральный) располагается севернее. Это межозерное пространство, разделяющее Ладожское и Онежское озера. Оно покрыто среднетаежными лесами, расстроенными интенсивными рубками, строительством г. Петрозаводска, сопутствующих населенных пунктов, т.е. территория, со значительными изменениями среды обитания животных и довольно высокой плотностью людского населения.

Третий (северный) — широкое пространство между Белым морем и Онежским озером. Оно покрыто преимущественно северотаежными лесами, умеренно вырубленными и сохранившимися в естественном состоянии на значительной части благодаря организации на этой территории крупных национальных парков и ландшафтных заказников (рис. 1).

Здесь мы рассматриваем функционирование этих коридоров в наше и ближайшее от нас историческое время как проходов, обеспечивающих проникновение в центральные районы Восточ-

ной Фенноскандии млекопитающих, для которых характерна пульсация численности, высокая миграционная активность и связанные с этими явлениями расселение (выселение) животных за пределы их исторических ареалов. Рассматривается также инвазия новых видов, появившихся в Восточной Фенноскандии в результате их интродукции и естественного расселения.

Функционирование эко-коридоров как путей расселения (естественной экспансии) мы начинаем с анализа этого процесса, происходящего с кабаном — зверем крупным, активным, с ярким проявлением жизнедеятельности.

В последнее столетие наибольшее сокращение численности и ареала кабана (*Sus scrofa* L.) в районах его исторического благополучия на ближайших к Фенноскандии территориях — в Эстонии и на юго-западе Псковской обл. наблюдалось в 1930-е годы. В 1940-е годы началось возрождение населения вида. Наиболее интенсивно оно проходило во второй половине этого десятилетия (Ling, 1955;

Иванов, 1962; Русаков, 1969, 1972, 1979; Тимофеева, 1970, 1975; Новиков, Тимофеева, 1975; Русаков, Тимофеева, 1984).

Обсуждая причины этого явления, многие исследователи (Новиков, Тимофеева, 1975; Русаков, Тимофеева, 1984; Данилов, Панченко, 2012; Данилов, 2017) признают очевидность положительного влияния ряда факторов антропогенного и естественного происхождения, определивших возрождение кабана, таких как:

- формирование высокой плотности населения вида на соседних территориях, выпуски животных в охотничьих хозяйствах, их подкормка;

- климатические изменения – потепление в середине 20 столетия, особенно серия теплых и малоснежных зим на северо-западе СССР в 1960-е – начале 1970-х годов.

Однако, несмотря на очевидность благоприятного сочетания экологических факторов, способствовавших восстановлению кабана в названных регионах в 1940–1950-е годы, наиболее вероятным объяснением начавшегося затем “взрывного” роста численности и расселения животных, следует признать предположение, высказанное Г.А. Новиковым и Е.К. Тимофеевой (1975). В последующем его поддержали О.С. Русаков (Русаков, 1979; Русаков, Тимофеева, 1984) и П.И. Данилов (Данилов, 2003; Данилов, Панченко, 2012). Это предположение объясняет наблюдавшееся явление известной гипотезой о “волнах жизни”, т.е. многолетних (вековых) и вероятно периодических колебаниях численности вида. Подобное явление прослежено для лося на протяжении пяти столетий и наблюдалось, например, на всем пространстве его ареала в 1950–1960-е годы (Данилов 1986, 2005; Nygren *et al.*, 2008).

Первые кабаны появились вблизи границ южного эко-коридора возле: Новой Ладоги, Ломоносова, Петродворца в 1950–1955 гг. (рис. 2). Серьезной преградой, приостановившей продвижение кабана на север, в пределы коридора, стала река Нева. Этот барьер сдерживал кабанов почти десять лет и только в 1965 г. их встречают за р. Невой – севернее Всеволожска. В 1967–1968 гг. звери появились еще севернее – за р. Вуоксой. Почти одновременно они регистрировались в разных местах Карельского перешейка: возле оз. Балахоновского, пос. Мельниково, г. Каменногорска, в районе пос. Дымово, на территории охотничьего заказника того же названия (Русаков, Тимофеева, 1984) (рис. 2). Местность последнего находится в непосредственной близости от государственной границы с Финляндией и административной границы с Карелией, где вскоре и появились кабаны. Первые животные здесь были замечены в 1969 г. возле станции Хиитола, т.е. всего в 15 км от пос. Дымово. Это была довольно крупная группа из 15–17 зверей (Русаков, 1979; Данилов, 1979). Кабаны стали

быстро осваивать и Карельское Приладожье. Они добрались до оз. Янисъярви, где по всему побережью сохранялись и возделывались сельскохозяйственные угодья. Здесь в районе Соанлахти – Райканкоски сформировался крупный очаг обитания кабана, из которого регулярно расселялись животные, в том числе и в сторону Финляндии.

Немногим позже, в начале 2000-х годов недалеко от этих мест, на западном берегу оз. Янисъярви, в местечке Кирколаhti было создано крупное охотничье хозяйство “Черные камни”, где кабан стал объектом разведения. И в наши дни эта территория сохраняется как источник расселения кабана в северном Приладожье. Активное проведение биотехнических мероприятий в охотхозяйствах Лахденпохского района обусловило формирование устойчивой группировки кабана, которая вероятно, также служит своего рода источником, подпитывающим соседние территории (рис. 2).

В результате Карельский перешеек или южный эко-коридор и ближние к нему карельские территории стали источниками расселения кабана в соседнюю Финляндию, т.е. в центральную часть Восточной Фенноскандии. К аналогичному заключению пришли и финские зоологи, изучавшие вторичное заселение кабаном южной Финляндии (Ukkonen *et al.*, 2015). Известен также случай проникновения кабана в Финляндию из Эстонии через Финский залив (Erkinaro *et al.*, 1982), но исключительность случившегося не позволяет признать возможность возвращение кабана в Финляндию этим путем.

Во время довольно долгого “стояния” у р. Невы кабаны постепенно осваивали северо-восточные территории Ленинградской области, продвигаясь к восточным окраинам центрального эко-коридора. В начале 1960-х годов животных и следы их жизнедеятельности встречали возле населенных пунктов: Чаплино, Новая Ладога, Загубье, Лодейное Поле, Подпорожье (Русаков, 1979). В конце 1960-х животные перешли южную “границу” центрального коридора и были зарегистрированы уже в Карелии (Пай, Шелтозеро, Вехручей) (Данилов, 1974) (рис. 2). Дальнейшая экспансия кабана в пределы Восточной Фенноскандии продолжалась преимущественно по естественным экологическим руслам – долинам рек и побережью крупных озер – Ладожского и Онежского. В результате уже к середине 1970-х годов сформировались устойчивые очаги обитания кабана в Карелии в окрестностях населенных пунктов: Мегрега, Салми, Видлица, Эссойла, Крошнозеро, Святозеро, Петрозаводск, Суоярви, Вяртсиля, на Заонежском п-ове (Данилов, Панченко, 2012). Этот “взрыв” расселения и благополучного существования животных “совпали” с очередной попыткой государственных органов “возродить” сельское хозяйство в Каре-



Рис. 2. Расселение кабана на Европейском Севере России: 1 — северная граница распространения кабана в прошлые годы (по: Русаков, Тимофеева, 1984); 2 — современная граница распространения (Данилов, Панченко, 2012); 3 — места и годы встреч кабана в прошлом; 4 — охотничье хозяйство “Черные камни”; 5 — места встреч и добычи кабанов за пределами области их регулярных зимовок и размножения.

лии и ряде северных районов Ленинградской обл. Были воссозданы ранее существовавшие и созданы вновь на неиспользуемых землях, так называемые подсобные хозяйства сельскохозяйственного назначения, закрепленные за крупными промышленными предприятиями. Многие старые поля засевались овсом или овсяно-гороховой смесью, были расширены площади под картофелем и другими пропашными культурами, строились животноводческие фермы. Это отчасти обеспечило кабанов кормом и позволило им переживать суровые северные зимы.

Названные населенные пункты, возле которых сформировались очаги обитания кабана, располагаются в пределах центрального эко-коридора эти очаги и стали источниками расселения

кабана в разных направлениях, в том числе и на запад к центру изучаемого региона.

За северную границу современного ареала кабана (северной границей распространения мы называем условную линию, очерчивающую территорию, где животные регулярно размножаются и зимуют), проводимую нами (Данилов 2009; Данилов, Панченко, 2012; Данилов и др., 2018) и финскими коллегами (Ermala, 1996; Ukkonen *et al.*, 2015; Ruha, Kunnasranta, 2021; 2022) через населенные пункты: Оулу — Кайяни — Нурмис (Финляндия) — Поросозеро — Медвежьегорск — Челмужи — Куганаволок (Карелия) — Кенозеро — Шалакуша — Ровдино — Красноборск (Архангельская обл.), расселение кабана сейчас не происходит, хо-

тя отдельные заходы зверей и даже их зимовки севернее этой границы случаются в разные годы.

Распределение кабана в Восточной Фенноскандии носит выраженный очаговый характер. В Финляндии самый многочисленный и стабильный очаг находится на юго-западе страны, примерно там же, где кабаны обитали более 7000 лет назад (Ukkonen *et al.*, 2015). В Ленинградской обл. и Карелии — это: Карельский перешеек, Приладожье и Прионежье, что также совпадает с находками костей кабана на стоянках неолитического человека (Иностранцев, 1882; Верещагин, 1979).

Очевидно, можно заключить, что кабан “вернулся” в пределы своего исторического (максимального) ареала на Европейском Севере через семь тысячелетий.

Численность кабана на изучаемой территории подвержена резким колебаниям. Сокращение численности следует за экстремальными зимами — с ранним и глубоким промерзанием почвы и высоким снежным покровом. В Финляндии существенное значение в регулировании населения вида имеет также интенсивность охоты. В целом среднесуточная численность оценивается здесь примерно в 1000 особей (Ukkonen *et al.*, 2015). На Карельском перешейке обитает около 500 зверей (материалы Ленинградского областного охотуправления), в Карелии в разные годы насчитывается от 900 до 1300 кабанов (Данилов и др., 2018).

Функционирование эко-коридоров как путей, способствующих проникновению млекопитающих южного и западноевропейского происхождения из Фенноскандии на восток, мы наблюдаем на примере косули (*Capreolus capreolus* L.), которая, так же, как и кабан, демонстрирует необыкновенный взрыв численности в пределах северо-европейской части своего ареала в 1970–2000 годы, т.е. почти одновременно с кабаном.

Самыми северными находками костей косули среди кухонных остатков на стоянках неолитического человека, в пределах изучаемой территории и датированных 5–6 тыс. лет назад были: оз. Воже (Вологодская обл.) (Верещагин, 1979), Новая Ладога (Иностранцев, 1882), северное побережье Финского залива (Сиивонен, 1979). В прибалтийских губерниях Финляндии косуля была обычна, хотя и немногочисленна до 16 века, пока не наступил так называемый “малый ледниковый период”. Это продолжительное похолодание привело к полному исчезновению косули на территории Финляндии. Она стала возвращаться только в начале 1900-х годов. Первую косулю встретили в 1912 г. возле д. Руоколахти (Siivonen, 1972).

В 1930-е годы значительно возросло число встреч животных в Финляндии на балтийском побережье и на Карельском перешейке, входившем тогда в состав Финляндии.

Одновременно и немногим позже — в 1940-е годы стали появляться — одиночные и небольшие группы косуль и на южном побережье Финского залива в Ломоносовском, Гатчинском, Тосненском районах Ленинградской обл., примыкающим к условной границе первого эко-коридора. Зверей встречали даже в Киришском и Тихвинском районах (Русаков, 1979). Однако исследователи, изучавшие это явление, не предполагают источником их происхождения Карельский перешеек, несмотря на то, что косули обитали там во многих местах. По мнению авторов публикаций, освещавших этот процесс, расселение животных в северо-восточном направлении шло преимущественно из Эстонии, соединяющейся с Ленинградской областью также своеобразным сухопутным коридором, расположенным между Финским заливом и Чудским озером (Соколов, 1959; Русаков, 1969, 1979; Тимофеева, 1970; 1985). Очевидно, основным препятствием проникновения косуль в Лодейнопольский и Подпорожский районы Ленинградской обл. со стороны Карельского перешейка в эту волну подъема численности вида была река Нева. По той же причине и в Карелию первые косули стали заходить из юго-восточных районов Финляндии. Происходило это в пространстве между Пюхьярви и Толвоярви, а самое частое их появление регистрировалось в районе Вяртсиля (рис. 3). Окрестности населенного пункта с таким же названием на финляндской стороне представляют собой весьма благоприятные условия существования для этих животных. Здесь происходила своеобразная временная их концентрация и последующее выселение на российскую сторону.

Почти одновременно косули стали появляться на территории Карелии с юга через “границы” центрального эко-коридора. Далее продвигаясь вдоль побережья Ладожского и Онежского озер, они, вероятно, встретились с представителями своего вида, расселявшимися из района Вяртсиля. Однако на большем пространстве центрального экологического коридора косуля встречается крайне редко и неравномерно. Можно говорить о регулярной регистрации этих зверей только в Приладожье, западном и южном Прионежье. Через эти территории центральный эко-коридор и выполняет функции одного из “зоогеографических мостов” Восточной Фенноскандии, обеспечивая регулярное проникновение косуль в северные районы Ленинградской обл. Однако происходит это главным образом за счет эмиграции животных из Финляндии.

Объяснение мы видим в следующем. Еще в 1950–1960-е годы вследствие бурного роста населения косули в Норвегии и Швеции животные в большом количестве выселялись из Швеции, и одним из путей этого выселения было движение животных на юг вдоль восточного берега Ботнического залива. Этот поток не ослабевал и в по-

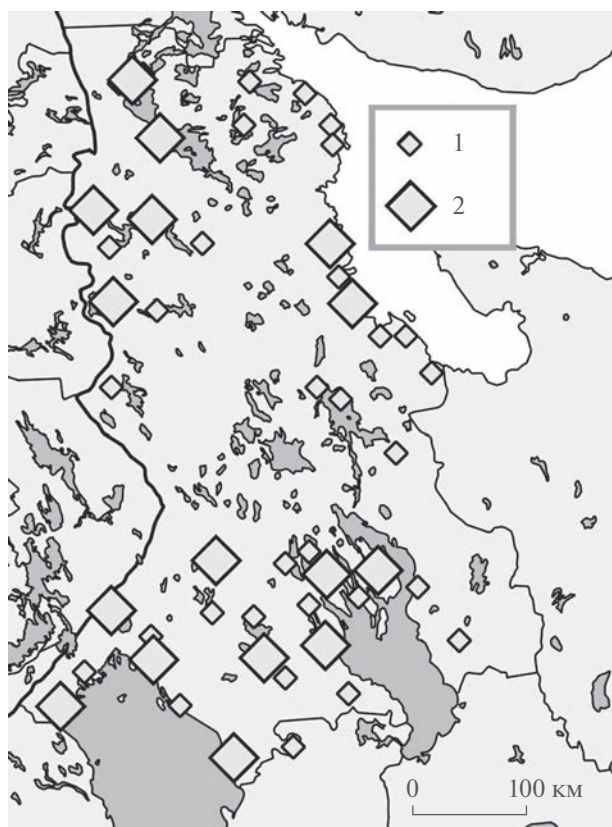


Рис. 3. Места встреч косули в Карелии и Мурманской области (по: Макарова, 2011; Данилов, 2009; Данилов и др., 2018 с дополнениями): 1 — единичные встречи; 2 — три и более встреч.

следующем, поскольку в ряде провинций Швеции в 1990-е годы численность косули достигала 360 экз. на 1000 га (Kjellander *et al.*, 2004). В результате такой эмиграции сформировалась высокая численность животных и в южных провинциях Финляндии. Дополнением к этому процессу стали также выпуски косуль в Финляндии в 1985–1993 гг., когда там в трех провинциях было выпущено 168 зверей. Успешно адаптировавшись к местным условиям и достигнув высокой численности, животные стали довольно быстро расселяться на север и восток. Все это повлекло за собой и рост ежегодной добычи косули — за двадцать лет она увеличилась с 1 тыс. до 22 тыс. особей (Luke, 2022).

В результате косуля встречается теперь на большей части территории Финляндии, местами достигая высокой плотности населения. Это и обеспечивает регулярные заходы животных на соседние территории Карелии и далее на восток по центральному эко-коридору в Ленинградскую и Вологодскую области (рис. 3).

Восточная Фенноскандия — регион, в котором многократно с разными целями выпускали новые виды млекопитающих. Рассмотрим примеры успешной интродукции иноземных зверей,

полностью встроившихся в структуру биоценозов Европейского Севера. К ним относятся (список составлен в соответствии с хронологией интродукции видов): ондатра (*Ondatra zibethicus* L.) (на финляндской стороне впускалась также т.н. черная морфа вида — *O. zibethica macrodon Merriam*), евразийский (европейский) (*Castor fiber* L.) и североамериканский (канадский) (*Castor canadensis* Kuhl) бобры, американская норка (*Neovison vison* Schreber), енотовидная собака (*Nyctereutes procyonoides* Gray), пятнистый (*Cervus nippon* Temminck) и белохвостый (*Odocoileus virginianus* Zimmermann) олени.

Результаты расселения ряда видов, а также пути их перемещения подробно обсуждались нами ранее (Данилов, 1969, 1972а, 1972б, 1975, 1979, 2003, 2005, 2009, 2017; Данилов, Туманов, 1976; Данилов и др., 1979 и др.). Здесь акцент сделан на использовании интродуцентами экологических коридоров, как путей экспансии.

Ондатра и американская норка самые ранние вселенцы на территории Восточной Фенноскандии. Проследить хронологию и маршруты их расселения можно только ориентируясь на места и даты выпусков. Однако эти материалы в большинстве утрачены, более того, регистрация мест последовательного появления животных осложняется не только невероятно большим количеством водоемов разного типа на изучаемой территории, но и естественными связями этих водоемов, формирующих значительные по протяженности озерно-речные системы.

Появлению и расселению американской норки в изучаемом регионе мы обязаны главным образом многолетнему разведению ее в многочисленных звероводческих хозяйствах по всей Восточной Фенноскандии. В процессе разведения происходили побеги животных в природу, освоение ими естественной среды и повсеместное распространение (Данилов, 1969, 1972б, 1979, 2009; Данилов, Туманов, 1976; Tenovuo, 1963; Westman, 1968; Danilov, 1992).

Речные бобры. Европейского или евразийского бобра, очевидно, нельзя назвать новым видом для региона. Весте с тем, за более чем двухсотлетнее его отсутствие, здесь сформировались устойчивые саморегулирующиеся околотоводные биоценозы. С появлением бобра все их составляющие стали радикально изменяться под влиянием жизнедеятельности этого зверя.

“Лесорубная” и строительная активность этих грызунов часто доставляет много помех человеку в сфере его деятельности. Учитывая значимость бобра в природе и жизни человека, мы включили описание хода расселения обоих его видов в изучаемом регионе.

Восстановление евразийского бобра на Европейском Севере России началось с интродукции

Первые канадские бобры появились в России (в российской части Восточной Фенноскандии) в начале 1950-х годов почти одновременно — на Карельском перешейке Ленинградской обл., в южных и западных районах Карелии (Заикин, 1959; Сегаль, Орлова, 1961, Данилов, 1962, 1972а, 1975; Иванов, 1975). Произошло это в результате их расселения из Финляндии, где этих животных выпускали еще в середине 1930-х годов (Linnamies, 1956; Lahti, Helminen, 1974) (рис. 4). Расселение бобров шло на восток быстро и широким фронтом по всем трем коридорам: в Ленинградской обл. по Карельскому перешейку, в Карелии по северному Приладожью, а в северо-западной ее части по водоемам озерно-речных систем Лиекса—Лендерка, Пенинга—Волома.

В те годы было принято решение сформировать на территории Карелии резерват канадского бобра, с последующим использованием для расселения животных на Дальнем Востоке. С этой целью в южных районах Карелии было выпущено несколько небольших партий канадских бобров (Данилов и др., 2007).

После этих успешных выпусков и расселения животных по окрестным водоемам отдельные очаги обитания канадских бобров слились воедино, а затем сомкнулись с областью, населенной этими животными в результате их естественного расселения из Финляндии. Все эти процессы происходили в пределах центрального эко-коридора.

Почти в то же время европейские бобры, расселяясь вдоль Ладожского и Онежского озер, а также по внутренним водоемам центрального экологического коридора, очень быстро достигли мест обитания канадских бобров (Данилов и др., 2007).

В те годы исходной гипотезой взаимоотношений этих видов было предположение о вытеснении канадским бобром бобра европейского. Такое предположение возникло после знакомства с результатами оценки численности и динамики популяций бобров обоих видов в Финляндии (Данилов, 1975; Lahti, Helminen, 1980; Ermala *et al.*, 1989; Ermala, 1995; Lahti, 1995). По данным этих исследователей расселение и рост численности канадского бобра стали причиной сокращения и локализации очага обитания европейских бобров на юго-западе этой страны.

Однако в начале 2000-х годов, после проведения специальных исследований (Данилов и др., 2007) оказалось, что на юге Карелии происходит обратное, а именно замещение канадского бобра бобром европейским. В настоящее время в южной Карелии на значительной территории произошло замещение североамериканского вида евразийским и этот процесс, по-видимому, продолжается. Южная граница канадского бобра в некоторых местах за 20 лет отступила на 50 км к северу (рис. 4).

Не менее драматичные события происходят на севере Карелии, в северном экологическом коридоре, где в 1980-е годы в Сегежском и Беломорском районах были выпущены две партии канадских бобров. Первоначально расселение животных происходило диффузно и довольно быстро. В 1990-е годы скорость освоения животными новых мест сохранялась, но стали проявляться два вектора продвижения зверей на юго-восток: первый — северный, где их расселение шло по рекам бассейна Белого моря. В результате уже в конце 1990-х годов поселения канадских бобров были обнаружены на левых притоках р. Нюхча, у самой границы Архангельской обл., а в начале 2000-х они проникли в глубь области, где сейчас встречаются уже в 70 км восточнее административной границы Карелии (Данилов, 2009; Danilov, Fyodorov, 2016).

Второй — южный вектор — объединяет пути продвижения животных по водоемам бассейна оз. Выгозера. Расселяясь в этом направлении, канадские бобры в конце тех же 1990-х годов почти достигли Архангельской обл., а в 2005 г. их поселения обнаружены в глубине ее территории, в 25—30 км восточнее карельской границы. После того как животные миновали северный коридор в их продвижении на восток постепенно исчезает выраженность потоков расселения, и этот процесс вновь приобретает диффузный характер (Данилов и др., 2007, 2018) (рис. 4).

Самостоятельного обсуждения заслуживает ситуация с бобрами на Карельском перешейке Ленинградской обл. Здесь, через десять лет после появления канадских бобров из Финляндии, в двух районах — Всеволожском и Выборгском в 1964 г. были выпущены три партии европейских бобров. Затем в 1968 и с 1970 по 1976 гг. во всех районах Ленинградской обл., находящихся в пределах Карельского перешейка, было выпущено 135 канадских бобров. Их отлавливали здесь же на перешейке и выпускали малыми партиями по 2—12 экз.

После открытия охоты на бобров, зверей, принадлежащих к североамериканскому виду, добывали преимущественно в северо-западной части перешейка. В настоящее время ситуация с распространением видов на перешейке неизвестна, однако недавно финские биологи выявили ДНК европейского бобра на материале, собранном с кормовых площадок бобров недалеко от Раутъярви на р. Хийтоланйоки (округ Этели-Карьяла, Финляндия) (Iso-Tougu *et al.*, 2021). В конце 1950-х годов на российской части р. Хийтоланйоки (в России — р. Кокколанйоки) был добыт первый канадский бобр (Данилов, 2005). Поселения этих зверей позже регистрировались на упомянутой реке и ее притоках. Недавняя находка европейского бобра в Финляндии в непосредственной

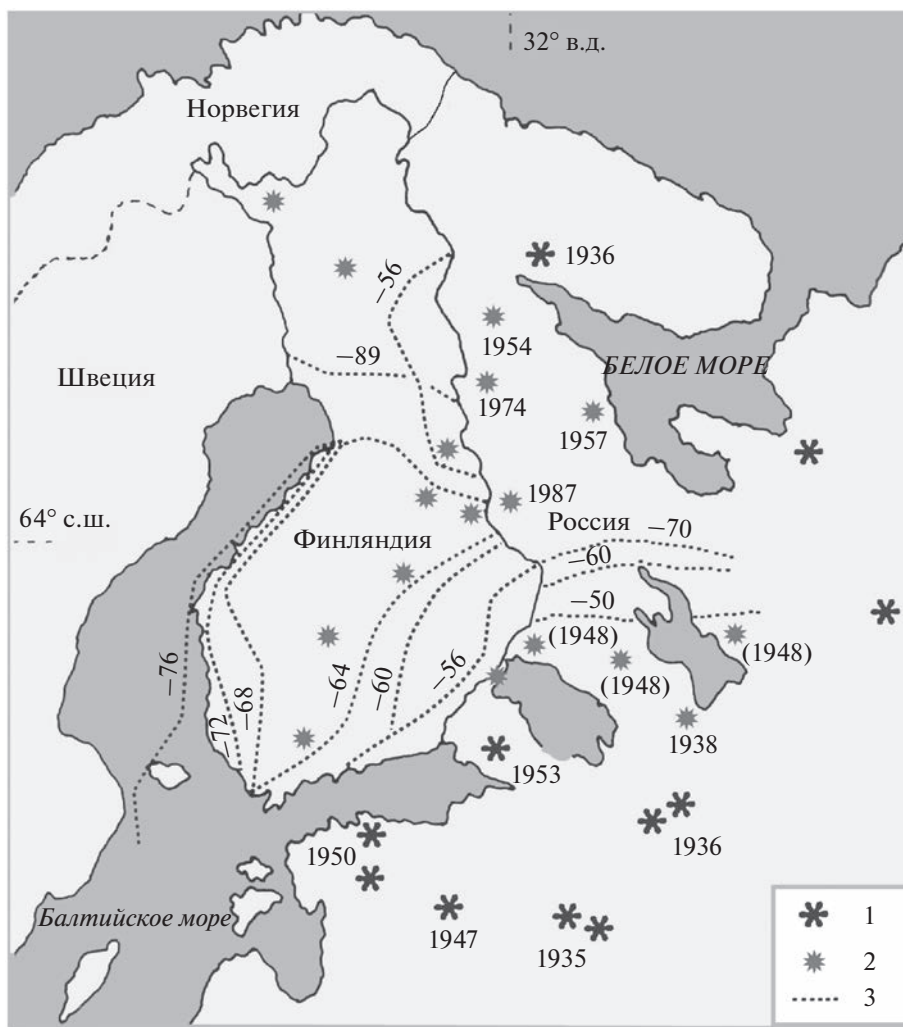


Рис. 5. Расселение енотовидной собаки в Восточной Фенноскандии: 1 — выпуски животных, 2 — встречи и добыча зверей, в скобках — год, 3 — границы распространения в разные годы (по: Лавров, 1971; Helle, Kauhala, 1987; Данилов, 2009).

близости от российской границы, заставляет предположить, что появился он с территории Карельского перешейка, что, возможно, означает “возвращение европейского бобра” в места его исконного обитания и замещение североамериканского вида.

О появлении и существовании канадских бобров за пределами южных границ Карельского перешейка можно рассуждать лишь предположительно. Река Нева не была для них препятствием при расселении на юг, об этом свидетельствуют случаи регистрации бобров в Санкт-Петербурге и в центре города, и в устье Невы, у Финского залива. Однако видовая принадлежность этих животных не установлена. Более того, в Ленинградской обл. южнее первого эко-коридора в Тосненском и в Гатчинском районах в 1969 и в 1971 гг. были выпущены 6 и 3 канадских бобров, что допускает появление животных этого вида и вблизи Санкт-Петербурга.

Таким образом, в пределах Карельского перешейка, и на прилегающих к южному эко-коридору районах, видовая принадлежность бобров не определена и требует ревизии.

Енотовидная собака. Расселение этого хищника в Восточной Фенноскандии прослежено по данным ряда публикаций (Морозов, 1953, 1970; Лавров, 1971; Данилов, 1979; Данилов и др., 1979; Helle, Kauhala, 1987; Kauhala, 1992) и многолетним наблюдениям в Карелии.

Первых 50 зверей выпустили в природу в 1936 г. в 35 км севернее ж/д станции Ефимовская (ныне Бокситогорский р-н Ленинградской обл.) (Морозов, 1970). Место выпуска находится в 160 км от административной границы Карелии, которую можно назвать южной окраиной центрального эко-коридора. Через два года после выпуска, в 1938 г. на самом юге Карелии в окрестностях д. Горное Шелтозеро был добыт первый зверек (Марвин, 1959) (рис. 5).



Рис. 6. Встречи белохвостого оленя на Карельском перешейке в 2016–2020 гг. (ведомственные материалы Комитета по охране, контролю и регулированию использования объектов животного мира Ленинградской области).

В 1953 г. крупную партию зверьков — 82 экз. выпустили на Карельском перешейке Ленинградской обл., в 30 км юго-западнее г. Приозерска. Однако еще раньше в 1948 г. енотовидных собак добывали значительно севернее в Приладожье, в районе оз. Янисъярви и недалеко от Петрозаводска, в окрестностях д. Шуя. В том же году еще один зверек был пойман на противоположном от Петрозаводска берегу Онежского озера, в районе пос. Пяльма (Данилов, 2009) (рис. 5). Не вызывает сомнения, что это были потомки животных из первой выпущенной партии, а расселение их шло по территории центрального эко-коридора.

Добравшись до северо-западного Приладожья, енотовидная собака проникла и в Финляндию. Произошло это, вероятно, в самом начале 1950-х годов, поскольку в середине этого десятилетия границу распространения нового вида в Финляндии проводили уже в 50–70 км вдоль государственной границы с Россией (Helle, Kauhala, 1987; 1989) (рис. 5). В дальнейшем расселение шло диффузно и довольно быстро. В результате уже в 1960-е годы енотовидная собака заселила юго-восточные губернии Финляндии, а в конце 1970-х—в 1980-е годы и всю территорию этой страны, за исключением Лапландии (Helle, Kauhala, 1987) (рис. 5).

Численность хищника в Финляндии, особенно в южных губерниях, достигла такой, что хищник стал серьезным врагом наземногнездящихся птиц. В результате енотовидных собак в Финляндии разрешили добывать круглогодично — в среднем их добывают от 115 тыс. до 180 тыс. особей в год (Luke, 2022).

Белохвостый олень. Возможность расселения и существования белохвостого оленя в Карелии обсуждалась нами ранее (Данилов, Блюдник, 1980; Данилов, 2009). Наше прежнее заключение подтверждается приводимыми здесь данными.

Белохвостый олень был завезен в Финляндию в 1934 г. Стратегия управления ресурсами диких животных в этой стране, способствовала тому, что всего через 50 лет численность белохвостых оленей превысила 60000 особей, а область распространения охватила 11 провинций страны, в том числе и юго-восточные территории, примыкающие к России. В настоящее время численность белохвостых оленей в Финляндии позволяет добывать более 70000 зверей ежегодно (Luke, 2022). В результате уже в начале 2000-х годов белохвостые олени стали появляться на Карельском перешейке, а в последние годы в Лахденпохском районе Карелии (рис. 6).

Следует ожидать постепенного распространения этих оленей по территории южного эко-коридора, расселения в пределы восточных окраин Фенноскандии, и возможно вхождения нового вида в состав териофауны Европейского Севера России.

Пятнистый олень. В пределах южного эко-коридора — на Карельском перешейке Ленинградской обл. в 1958 г. на берегу Ладожского озера, в Сосновском лесохозяйственном хозяйстве, выпустили пятнистых оленей. Благодаря регулярной подкормке и внимательной охране животные существовали здесь до 1990-х годов. Их население в годы наибольшей численности достигало 400 особей. За все годы наблюдений пятнистые олени существовали на перешейке на очень ограниченной территории. К 1996 г. их оставалось всего 40 особей (Павлов, 1999). Дальнейшая судьба неизвестна.

Таким образом, за весьма короткий период (менее 100 лет) фауна млекопитающих Восточной Фенноскандии в результате естественного расселения, а также акклиматизации зверей пополнилась 8 новыми видами. Это: ондатра, североамериканский бобр, енотовидная собака, американская норка, кабан, косуля, пятнистый и белохвостый олени. Все эти животные использовали экологические коридоры их сухопутные и водные пути и пространства для расселения по территории Восточной Фенноскандии и за ее пределы.

Работа выполнена в рамках государственного задания КарНЦ РАН № FMEN-2022-0003.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Артемов А.В., Лапишин Н.В., Матанцева М.В., Симонов С.А. Изучение роли таежных коридоров восточной Фенноскандии в формировании и поддержании местной орнитофауны // Проблемы региональной экологии и географии (г. Ижевск, 7–10 октября 2019 г.). Матер. междунаrodn. научно-практической конф. (отв. ред.: И.И. Рысин). Ижевск: Издательский центр “Удмуртский университет”, 2019. С. 172–176.
- Верецагин Н.К. Глава — Копытные звери Северо-Запада России в четвертичном периоде // Копытные Северо-Запада СССР. Л.: Наука, Ленинградское отделение, 1979. С. 5–62.
- Громцев А.Н., Линдхольм Т., Литинский П.Ю., Курхинен Ю.П. Последние массивы первобытной тайги на Северо-Западе России: современное состояние и значение для сохранения охотничьих животных // Динамика популяции охотничьих животных северной Европы. Материалы IV международного симпозиума. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2007. 212 с.
- Данилов П.И. Охотничьи звери Карелии: экология, ресурсы, управление, охрана. М.: Наука, 2005. 340 с.
- Данилов П.И. Акклиматизация и некоторые черты экологии американской норки в Карелии // Вопросы экологии и биоэкологии. 1969. Вып. 9. С. 148–158.
- Данилов П.И. Акклиматизация и некоторые черты экологии канадского бобра в Карелии // Экология. 1972а. № 5. С. 102–104.
- Данилов П.И. Звероводческие хозяйства как источники акклиматизации американской норки в Карелии // Уч. зап. ПГУ. 1972б. Т. 19. Вып. 5. Петрозаводск. С. 129–138.
- Данилов П.И. К истории распространения бобра в Карелии // Экология птиц и млекопитающих Северо-запада СССР. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, 1976. С. 113–118.
- Данилов П.И. Глава VI. Популяционная динамика // Биология и использование лоса. М.: Наука, 1986. С. 87–104.
- Данилов П.И. Исторический обзор фауны охотничьих зверей и их исследований в Карелии // Наземные и водные экосистемы Северной Европы: управление и охрана. Материалы международной конференции. Петрозаводск. 2003. С. 38–45.
- Данилов П.И. Итоги обследования бобровых поселений Средней и Южной Карелии // Научн. конф. по итогам работ Ин-та биолог. Карельск. фил. АН СССР за 1961 г. Петрозаводск, 1962. С. 133–134.
- Данилов П.И. Новоселы карельских лесов. Петрозаводск: Карелия, 1979. 88 с.
- Данилов П.И. Новые виды млекопитающих на Европейском Севере России. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2009. 305 с.
- Данилов П.И. Охотничьи звери Карелии (экология, ресурсы, управление, охрана). Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2017. 385 с.
- Данилов П.И. Появление кабана и косули в Карелии // Вопросы экологии животных. Петрозаводск. 1974. С. 158–160.
- Данилов П.И. Состояние и динамика популяций ресурсных видов охотничьих зверей Карелии // Материалы III Межд. Симп. “Динамика популяций охотничьих животных Северной Европы”, 16–20 июня 2002 г., Сортавала, Республика Карелия, Россия. Петрозаводск, 2003. С. 49–57.
- Данилов П.И. Состояние резервата канадских бобров в Карельской АССР и его перспективы // Труды Воронежского государств. заповедника. Воронеж, 1975. Т. 1. Вып. 21. С. 105–113.
- Данилов П.И., Блюдник Л.В. О возможности акклиматизации белохвостого оленя на Северо-западе СССР // Хозяйственная деятельность и охотничья фауна. Киров. 1980. Т. 2. С. 155.
- Данилов П.И., Каньшиев В.Я., Федоров Ф.В. Речные бобры Европейского Севера России. М.: “Наука”, 2007. 200 с.
- Данилов П.И., Панченко Д.В. Расселение и некоторые особенности экологии кабана за северным пределом его исторического ареала в европейской части России // Экология, 2012. № 1. С. 48–54.
- Данилов П.И., Панченко Д.В., Тирронен К.Ф., Федоров Ф.В., Белкин В.В. Изменение фауны млекопитающих Северной Палеарктики и динамика ареалов составляющих ее видов // Известия РАН. Серия Биологическая, 2018. № 3. С. 301–314. <https://doi.org/10.7868/S0002332918030074>

- Данилов П.И., Русаков О.С., Туманов И.Л. Хищные звери Северо-Запада СССР. Л.: Наука, 1979. 164 с.
- Данилов П.И., Туманов И.Л. Куньи Северо-запада СССР. Л.: Наука, 1976. 256 с.
- Заикин А.Г. Бобры в Ленинградской области // Охота и охотничье хозяйство. 1959. № 6. С. 23.
- Иванов П.Д. Кабаны под Ленинградом // Наша охота. — Вып. 2. Л.: Лениздат, 1962. С. 445–447.
- Иванов П.Д. Канадский бобр на Карельском перешейке Ленинградской области // Тр. Воронеж. гос. зап. поведника. Воронеж, 1975. Т. 1. Вып. 21. С. 114–120.
- Иностранцев А.А. Доисторический человек каменного века побережья Ладожского озера. СПб, 1882. 241 с.
- Курхин Ю.П., Громцев А.Н., Данилов П.И., Крышень А.М., Линден Х., Линдхольм Т. Особенности и значение таежных коридоров в Восточной Фенноскандии // Труды Карельского научного центра Российской академии наук “Зеленый пояс Фенноскандии”. Петрозаводск. 2009. № 2. С. 16–23.
- Лавров Н.П. Итоги интродукции енотовидной собаки (*Nyctereutes procyonoides* Gray) в отдельные области СССР // Учен. записки Моск. гос. заоч. пед. ин-та. 1971. Вып. 29. С. 101–160.
- Макарова О.А. Размещение копытных зверей в Мурманской области в начале XXI в. // Поведение, экология и эволюция животных: монографии, статьи, сообщения / под общ. ред. В.М. Константинова. Рязань: НП “Голос губернии”, 2011. Т. 2. С. 185–195.
- Марвин М.Я. Млекопитающие Карелии. Петрозаводск: Государственное изд-во Карельской АССР, 1959. 238 с.
- Морозов В.Ф. Акклиматизация уссурийского енота (*Nyctereutes procyonoides*) как пример успешного преобразования фауны пушных зверей европейской территории СССР // Зоол. журн. 1953. Т. 32. Вып. 3. С. 524–533.
- Морозов В.Ф. Енотовидная собака // Охотничьи звери и их промыслы. М., 1970. С. 78–84.
- Новиков Г.А., Тимофеева Е.К. Копытные фауны СССР. М.: Наука, 1975. С. 14–15.
- Павлов М.П. Акклиматизация охотничье-промысловых зверей и птиц в СССР. Ч. III. Копытные. Киров: Волго-Вятское книжн. изд-во, 1999. 667 с.
- Русаков О.С. Динамика численности и ареал кабана в северо-западных областях европейской части СССР // Материалы конф. Всесоюз. научн.-исслед. ин-та охотн. звероводства. Вопросы экологии. Киров, 1972. Ч. II. С. 123–126.
- Русаков О.С. Распространение, ресурсы и хозяйственное использование копытных в северо-западных областях европейской части СССР // Вопросы повышения продуктивности охотничьих угодий. М. 1969. С. 149–169.
- Русаков О.С. Современное состояние природных ресурсов, экология и вопросы хозяйственного использования копытных Северо-Запада СССР // Копытные Северо-Запада СССР. Л.: Наука, 1979. С. 63–293.
- Русаков О.С., Тимофеева Е.К. Кабан. Л.: Изд-во ЛГУ, 1984. 207 с.
- Сегаль А.Н., Орлова С.А. Появление бобров в Карелии // Зоол. журн. 1961. Т. 40. № 10. С. 1580–1583.
- Семенов–Тянь-Шанский О.И. Опыт реакклиматизации речного бобра в Лапландском заповеднике // Тр. Лапландского гос. заповедника. М., 1938. Вып. 1. С. 177–216.
- Сиивонен Л. Млекопитающие Северной Европы. М.: Лесная промышленность, 1979. 231 с.
- Соколов И.И. Копытные звери. Фауна СССР. Млекопитающие. Т. I. Вып. 3. Издательство АН СССР: Л., 1959, 640 с.
- Тимофеева Е.К. Косуля. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1985. 224 с.
- Тимофеева Е.К. Очерки экологии млекопитающих. Отряд парнокопытные // Звери Ленинградской области. Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1970. С. 270–322.
- Тимофеева Е.К. К экологии кабана в лесостепных дубравах Белгородской области // Бюллетень МОИП, отд. биол. 1975. Т. 80. Вып. 5. С. 23–34.
- Danilov P.I. Introduction of North American semiaquatic mammals in Karelia and consequentance of it for aboriginal species // Semiaquatische Säugetiere (1992). Wiss. Beitr. Univ. Halle. 1992. P. 267–276.
- Danilov P.I., Fyodorov F.V. The history and legacy of reintroduction of beaver in the European North of Russia // Russian J. Theriology. 2016. V. 15. № 1. P. 43–48. <https://doi.org/10.15298/rusjtheriol.15.1.07>
- Erkinaro E., Heikura K., Lindgren E., Pulliainen E., Sulkava S. Occurrence and spread of the wild boar (*Sus scrofa*) in eastern Fennoscandia // Memoranda Societatis pro Fauna et Flora Fennica. 1982. V. 58. P. 39–47.
- Ermala A. Reglering och Vård av Bäverstammen i Finland // The Third Nordic Beaver Symposium 15.–17.9. 1992. Helsinki. 1995. P. 17–20.
- Ermala A., Helminen M., Lahti. S. Some aspects of the occurrence, abundance and future of the Finnish beaver population // Suomen Riista. 1989. № 35. P. 108–118.
- Ermala A. Villisika (*Sus scrofa*) // Riistan jäljille / Eds. H. Linden, M. Hario, M. Wikman. Helsinki: Oy Edita ab, 1996. P. 94–96.
- Helle E., Kauhala K. Supikoiran elinikä ja lisääntymisteho Suomessa (Summary: Age structure and reproductivity of the racoon dog population in Finland) // Suomen Riista. Helsinki, 1989. № 35. S. 119–128.
- Helle E., Kauhala K. Supikoiran leviämishistoria ja kantojen nykytila Suomessa (Summary: Distribution history and present status of the racoon dog in Finland) // Suomen Riista. 1987. № 34. P. 7–21.
- Iso-Touru T., Tabell J., Virta A., Kauhala K. A non-invasive, DNA-based method for beaver species identification in Finland // Wildlife Biology. 2021. № 3. P. 1–5. <https://doi.org/10.2981/wlb.00808>
- Kangas V.-M., Kvist L., Kholodova M., Nygren T., Danilov P., Panchenko D., Fraimout A., Aspi J. Evidence of post-glacial secondary contact and subsequent anthropogenic influence on the genetic composition of Fennoscandian moose (*Alces alces*) // J. Biogeography. 2015. V. 42. Issue 11. P. 2197–2208. <http://wileyonlineli->

- brary.com/journal/jbi 1.
<https://doi.org/10.1111/jbi.12582>
- Kauhala K., Helle E. Supikoirakannan runsauteen vaikuttavista tekijöistä Suomessa (Summary: Factors affecting the size of raccoon dog populations in Finland) // Suomen Riista. Helsinki, 1992. V. 39. S. 102–110.
- Kjellander P., Hewison A.J.M., Liberg O., Angibault J.M., Bideau E., Cargnelutti B. Experimental evidence for density-dependence of home-range size in roe deer (*Capreolus capreolus* L.): a comparison of two long-term studies // Oecologia, 2004. № 139. P. 478–485.
<https://doi.org/10.1007/s00442-004-1529-z>
- Kopatz A., Eiken H.G., Hagen S.B., Ruokonen M., Rodrigo E.-S., Schregel Ju., Kojola I., Smith M.E., Warttinen I., Aspholm P.E., Wikan S., Rykov A.M., Makarova O., Polikarpova N., Tirronen K.F., Danilov P.I., Aspi J. Connectivity and population subdivision at the fringe of a large brown bear (*Ursus arctos*) population in North Western Europe // Conservation Genetics. 2012. V. 13. Number 3. P. 681–692.
<https://doi.org/10.1007/s10592-012-0317-2>
- Lahti S. Bäckerns Utbrednings i Finland från 1980-talet fram till idag // The 3rd Nordic Beaver Symposium (15.–17.09.1992). Helsinki. 1995. P. 41–43.
- Lahti S., Helminen M. Suomen majavien istutushistoriasta ja kannan levinneisyys 1960-luvulla (History of reintroductions and present population status of the beaver in Finland) // Suomen Riista. 1969. № 21. P. 67–75.
- Lahti S., Helminen M. The beaver *Castor fiber* (L.) and *Castor canadensis* (Kuhl) in Finland // Acta theriol. 1974. V. 19. № 1–13. P. 177–189.
- Lahti S., Helminen M. Suomen majavien levinneisyyden muutokset vuosina 1965–1975 // Suomen Riista. 1980. № 27. P. 70–77.
- Linden H., Danilov P., Gromtsev A., Helle P., Ivanter E., Kurhinen J. Large-scale corridors to connect the taiga fauna to Fennoscandia // Wildlife Biology. 2000. № 6. P. 179–188.
<https://doi.org/10.2981/wlb.2000.007>
- Ling H. Metsäse (Sus scrofa) areaalipiiri muutused Nõukoguole Baltimaadel viimastel sajanditel [Changes in the distribution of wild boar (*Sus scrofa*) in the Soviet Baltic region during the last century]. Loodusuurijate Lelsti Aastaraamat. 1955. № 48. P. 176–200.
- Linnamies O. Majavien esiintymisestä ja niiden aiheuttamista vahingoista maassamme // Suomen Riista. 1956. V. 10. P. 63–86.
- Luke, 2022. Wildlife statistics – <https://www.luke.fi/en/statistics>.
- Nygren K., Danilov P., Nygren T. The dynamics and management of North European Moose // Труды VI Межд. симп. по лосю “Лось в девственной и измененной человеком среде”. Якутск, 2008. С. 93–99.
- Ruha L., Kunnasranta M. Suomen villisikakanta tammi-kuussa 2021. Luonnonvara-jabiotalous tutkimus 21/2021. Helsinki: Luonnonvarakeskus, 2021. 16 s.
- Ruha L., Kunnasranta M. Suomen villisikakanta tammi-kuussa 2022. Luonnonvara-jabiotalous tutkimus 15/2022. Helsinki: Luonnonvarakeskus, 2022. 19 s.
- Siivonen L. Peuran suvun levinneisyys ja rodut // Suomen Luonto. 1972. № 31. P. 218–3–233.
- Tenovu R. Minkki saaristoalueilla // Suomen riista. Helsinki, 1963. N 16.
- Ukkonen P., Mannermaa K., Nummi P. New evidence of the presence of wild boar (*Sus scrofa*) in Finland during early Holocene: Dispersal restricted by snow and hunting? // The Holocene. 2015. V. 25(2). P. 391–397.
<https://doi.org/10.1177/0959683614557575>
- Westman K. Minkkin ja vesikon ecologiasta // Suomen riista. 1968. № 20. S. 50–61.

East Fennoscandian Ecological Corridors and Their Role in the Formation of the Modern Mammal Fauna of the Region

P. I. Danilov^{1, #}, D. V. Panchenko¹, and F. V. Fyodorov¹

¹ Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences (IB KarRC RAS),
 Pushkinskaya, 11, Petrozavodsk, 185910 Russia

[#]e-mail: pjotr.danilov@mail.ru

The article deals with the functioning of ecological corridors as passages to central regions of Eastern Fennoscandia for mammals characterized by population oscillations, high migratory activity, and the consequential dispersal beyond the historical distribution ranges (wild boar, roe deer). We also discuss the invasions of new species in Eastern Fennoscandia as a result of introductions and natural dispersal (muskrat, American mink, Canadian beaver, racoon dog, white-tailed and sika deer).

Keywords: ecological corridors, mammal fauna, new species, Eastern Fennoscandia, invasive species, introductions, distribution range

УДК [639.111.75:575.17]:639.1(1-924.14/.16)

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВОЛКА (*Canis lupus* L.) ВОСТОЧНОЙ ФЕННОСКАНДИИ В УСЛОВИЯХ ИНТЕНСИВНОГО ПРЕССА ОХОТЫ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА мтДНК

© 2023 г. К. Ф. Тирронен^{*, @}, А. С. Кузнецова^{*}, Д. В. Панченко^{*}

^{*}Институт биологии — обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра “Карельский научный центр Российской академии наук”, ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910 Россия

[@]E-mail: konstantin.tirronen@gmail.com

Поступила в редакцию 17.11.2022 г.

После доработки 08.04.2023 г.

Принята к публикации 10.04.2023 г.

Одной из важных составляющих антропогенного фактора, воздействующего на популяции диких животных, является охота. В представленной работе выполнен генетический анализ контрольного региона I мтДНК волка Республики Карелия и экспериментальной территории (Кондопожский район) на временном срезе в 10 лет. На основе анализа данных популяционной динамики хищника и его жертв, материалов по добыче, изменений пространственно-временной структуры и генетических характеристик, показана степень воздействия человека на население волка Восточной Фенноскандии. Современное гаплотипическое разнообразие волка региона, на фоне общего характерного для вида, бедное. Всего здесь выявлено два распространенных в Евразии гаплотипа, что, очевидно, объясняется историей вида — этапами сильного сокращения численности.

Ключевые слова: волк (*Canis lupus* L.), мтДНК, генетическое разнообразие, Восточная Фенноскандия, охота, популяционная динамика

DOI: 10.31857/S1026347022600960, **EDN:** WJCOGX

На протяжении веков волков активно истребляли, и в результате они исчезли с большей части Европейских стран. В последние десятилетия во многом в результате изменения европейского природоохранного законодательства и в целом общего восприятия хищников обществом, популяции этих зверей начали стремительно восстанавливаться (Voitani *et al.*, 2015). Напротив, на обширных пространствах России этому виду ничего не угрожало, хотя в отдельных регионах история была разной.

В данной статье речь пойдет о популяции волков, населяющих Восточную Фенноскандию, которая в своей истории имела периоды сильного сокращения, прохождения через “бутылочное горлышко” и частичного уничтожения (Aspi *et al.*, 2009). Под этим мы подразумеваем, что население волков Финляндии было близко к полному исчезновению и восстановилось лишь в 1990-е гг., а на Северо-Западе СССР в середине XX века волки также были значительно истреблены (Бибииков и др., 1985; Kojola *et al.*, 2014). Территориальные группировки волков, населяющих Финляндию и Республику Карелия (РК), принято рассматривать как единую популяцию (Voitani, 2003). А соб-

ственно карельская популяция волков, под которой мы подразумеваем население вида рассматриваемого региона, по сути, является связующим звеном между волками, обитающими в Финляндии и на Северо-Западе России (Kojola *et al.*, 2009; Jansson *et al.*, 2012). Следовательно, для краевой популяции финских волков связь с населением карельских имеет ключевое значение. При этом Янссон (Jansson, 2013) на основании ряда генетических исследований утверждает, что финские и карельские волки в настоящее время уже не образуют единую панмиктическую популяцию и генетически дифференцированы. В дополнение следует отметить, что и почти изолированная популяция волков Скандинавии ведет свое происхождение от некогда единой популяции Фенноскандии и имеет генетически подтвержденные случаи двунаправленного обмена особями с финской популяцией (Seddon *et al.*, 2006; Smeds *et al.*, 2021). Изучены волки Карелии и Финляндии несимметрично, для них характерны различные паттерны популяционной динамики, а их управление основывается на совершенно разных подходах. По данным МСОП статус волков на территории Финляндии — “находящийся под угрозой” с 2019 г. Однако, ис-

ходя из национального правового статуса, который является противоречивым, вид определяется как — “находящийся под защитой” и “охотничий вид” (Boitani *et al.*, 2022). В Карелии волк — это охотничий вид, более того за его добычу охотнику полагается вознаграждение.

Трофейную охоту рассматривают как селективный фактор, избирательный в отношении фенотипа или пола животных, и по этой причине она становится объектом научных исследований (Harris *et al.*, 2002; Allendorf, Hard, 2009; и др.). Однако в отношении волка вряд ли можно говорить о какой-либо избирательности. При этом среди последствий охоты определены: изменение структуры популяции, потеря генетического разнообразия и эволюция в результате отбора, например — существенное изменение частот аллелей в популяции связанных с тем или иным признаком по которому идет интенсивный отбор в ходе охоты (Harris *et al.*, 2002; Allendorf *et al.*, 2008). В отношении финской популяции браконьерство и легальная охота определены основными факторами, регулирующими современную популяционную динамику (Kaartinen *et al.*, 2015; Suutarinen, Kojola, 2017). В Карелии охота на волка в последние годы интенсифицировалась в несколько раз (Данилов и др., 2020a).

Среди факторов, определяющих популяционную динамику хищника, особенно в естественных сообществах, ведущее значение принадлежит разнообразию, состоянию популяций и уровню численности его жертв. На большей части ареала волка копытные животные представляют собой основной источник пищи этого зверя (Данилов и др., 1979; Филонов, 1989; Mech, Boitani, 2003). Основная добыча волка на Северо-Западе России и в Финляндии — лось (Gade-Jørgensen, Stagegaard, 2000; Данилов и др., 2020a).

Целью настоящей статьи является анализ структуры популяции волков Карелии, находящейся во взаимосвязи с дочерней финской, а также в системе трофических связей и под действием антропогенного фактора (охота). В обсуждении мы будем опираться главным образом на материалы, собранные на экспериментальной территории — Кондопожский район РК. На основе объединения ГИС подходов, данных мониторинга животного мира — Зимнего маршрутного учета (ЗМУ), охотничьей добычи животных и результатов секвенирования мтДНК оценена степень воздействия охоты и показаны возможные последствия для популяции в результате ее интенсификации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Данные по динамике численности волка и лося представлены архивными материалами ЗМУ

лаборатории зоологии ИБ КарНЦ РАН по Республике Карелия за период с 1965 по 2021 гг. и отдельно по Кондопожскому району РК за 2001—2021 гг. Сведения по добыче волков с 1965 по 2010 гг. из того же архива, а для периода 2011—2021 гг. предоставлены Министерством природных ресурсов и экологии Республики Карелия (МПРиЭ РК).

В рамках выполненного исследования рассматривались аспекты пространственной организации вида на экспериментальной территории. Поскольку изучение собственно пространственной экологии волка не входило в задачи исследования, то мы ограничились составлением генерализованного представления о территориальной структуре населения волка Кондопожского района РК. Эта работа выполнена для анализа изменений популяционной структуры вида изучаемой территориальной группировки под влиянием охоты. Для фиксации границ семейных участков мы использовали ряд независимых источников, данных: опросные сведения районного государственного инспектора, охотоведов и охотников, первичные материалы ЗМУ и акты добычи животных. Общая картина складывалась из многолетних наблюдений стай и одиночных волков и их следов в разные сезоны года, встреч выводков, мест групповой вокализации, расположения логовищ, традиционных маршрутов волков и мест их добычи. Подчеркиваем, для нас не стояло задачи охарактеризовать пространственную организацию семейных групп волков, но при этом было важно понять в целом границы занимаемых ими участков.

За период исследований было собрано 111 проб биоматериала (мышечные ткани, шкуры) от легально добытых волков в Кондопожском районе РК с 2012 по 2022 гг. с указанием: пола, возраста животного, числа особей в группе, способа добычи, даты, географических координат и ряда других дополнительных параметров. Полученные образцы по координатам системы GPS соотносились с территориями стай. Для последующего генетического анализа из указанной выше выборки были использованы 60 образцов. Дополнительно мы использовали 30 образцов волков со всей территории Карелии. Таким образом, общий объем биоматериала использованного для анализа контрольного региона I мтДНК составил — 90 проб.

ДНК из биоматериала выделяли с помощью набора Qiagen DNeasy Tissue kit (Qiagen), следуя инструкции производителя.

Изучение генетического разнообразия, динамики пространственно-временной структуры населения вида в районе исследований, филогеографической характеристики выполнены с использованием фрагмента контрольного региона I мтДНК длиной 350 п.н. (Saccone *et al.*, 1987). Использованы универсальные праймеры Thr-L

15926 5'-CAATTCCCCGGTCTTGTAACCC-3' и DL-H 16340 5'-CCTGAAGTAGGAACCAGATG-3' (Vilà *et al.*, 1999).

Амплификацию фрагмента контрольного региона I мтДНК проводили в объеме 25 μ л, содержащим 16.5 μ л H_2O , 5 μ л Screen Mix (Евроген), 1 μ л каждого праймера (10 μ М, Синтол) и 1.5 μ л матричной ДНК. Протокол ПЦР: первоначальная денатурация при 95°C в течение 3 минут, 35 циклов – 20 с при 95°C, 20 с при 52°C и 20 с при 72°C, финальная элонгация в течение 5 мин при 72°C. Определение нуклеотидных последовательностей амплифицированного участка мтДНК было проведено по методу Сэнгера в двух направлениях с применением наборов для секвенирования ДНК BigDye Terminator 3.1. (Applied Biosystems, США) и генетического анализатора Seqstudio (Applied Biosystems). Полученные последовательности были отредактированы вручную и выравнены в программе MEGA11 (Tamura *et al.*, 2021) при помощи алгоритма ClustalW. Гаплотипическое (Hd) и нуклеотидное (Pi) разнообразие рассчитывались в программе DnaSP 5.0 (Librado, Rozas, 2009).

Филогенетическая реконструкция проведена в MEGA11 методом ближайшего соседа (Saitou, Nei, 1987) в 1000 бутстреп репликациях. Эволюционные расстояния подсчитаны по методу Тамура-Ней (Tamura, Nei, 1993).

Все материалы ЗМУ, данные по добытым животным и полученные последовательности гаплотипов внесены в специально подготовленные формы в программе Excel. Геоинформационная система экспериментальной территории в комплексе с анализируемыми данными создана на базе программ: SASPlanet.190707 и QGIS Desktop 3.4.14.

Динамику численности волка описывает линейная модель, расчеты для нее выполнены в программе RStudio 2021.09.1+372 “Ghost Orchid” с использованием пакета “basicTrendline” (Mei, Yu, 2020).

Для анализа связей в системе “хищник-жирова-охота” были рассчитаны ранговые коэффициенты корреляции Спирмена в программе STATGRAPHICS Plus Version 5.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеризуя динамические показатели населения волка с начала нового тысячелетия, отмечается тенденция к сокращению его численности, как на экспериментальной территории в Кондопожском районе, так и в целом в подзоне средней тайги Карелии (рис. 1). Линейные модели, построенные в программе RStudio для описания этих процессов, показывают достоверное снижение численности вида на обеих территориях (рис. 2).

Анализируя взаимоотношения в системе “хищник-жирова” с учетом тайм лага на экспериментальной территории с 2000-х гг., взаимосвязь динамик численности видов не прослеживается ($r = -0.220$; $p = 0.337$). Значимых достоверных корреляционных связей между изменениями численности хищника и жертвы ($r = 0.006$; $p = 0.985$), добычей волка и динамикой волка ($r = 0.194$; $p = 0.559$) и лося ($r = 0.456$; $p = 0.171$) на изучаемой территории не выявлено. Точно также отсутствуют достоверные корреляционные связи между динамикой численности волка и лося в подзоне средней тайги ($r = -0.373$; $p = 0.104$). Рассматривая изменение этих параметров в большей разрядности на территории всего региона – Республика Карелия и за более продолжительный период времени, выявлено (рис. 3):

1) согласованность хода численности волка и лося с 1965 по 2000 гг. ($r = 0.707$; $p = 0.0001$);

2) связи между добычей волка и ходом его численности в этот период ($r = 0.245$; $p = 0.1727$), а также лося ($r = -0.038$; $p = 0.8302$) выявлено не было;

3) отсутствие зависимости изменений динамики численности хищника от таковых жертвы за 2001–2021 гг. ($r = -0.286$; $p = 0.200$);

4) в этот же время увеличение добычи волка положительно сказывается на популяционной динамике лося ($r = 0.733$; $p = 0.001$) и, что очевидно, отрицательно – на ходе численности самого хищника ($r = -0.566$; $p = 0.011$).

В указанную выше матрицу расчета корреляционных связей мы включили и данные по динамике зайца-беляка в Карелии. Оказалось, что для периода 1965–2000 г. существует значимая связь в паре волк-заяц ($r = 0.607$; $p = 0.001$), но в отличие от пары волк-лось, в случае с зайцем она сохраняется и в новом тысячелетии ($r = 0.474$; $p = 0.034$).

Общая биогеографическая характеристика населения волка Финноскандии представлена на рис. 4а. Прослеживается изолированность шведско-норвежской популяции, выраженная мозаичность финской и равномерное население волка на юге и в центральной Карелии, тогда как север, включая Мурманскую область, напротив заселен хищником неравномерно, присутствие волка не постоянно, а численность его там низка.

Данные по добыче волков, их семейным участкам и гаплотипам мтДНК, принадлежащим разным стадам, отмечены на карте Кондопожского района (рис. 4б). На территории района нами установлены участки обитания пяти стай (рис. 4б), что не исключает наличия территорий других семей.

Результаты оценки генетического разнообразия представлены в табл. 1. Полученная выборка разделена на два кластера: 1 – Кондопожский р-н РК ($n = 60$); 2 – Республика Карелия ($n = 32$, включая два образца с территории Кондопожско-

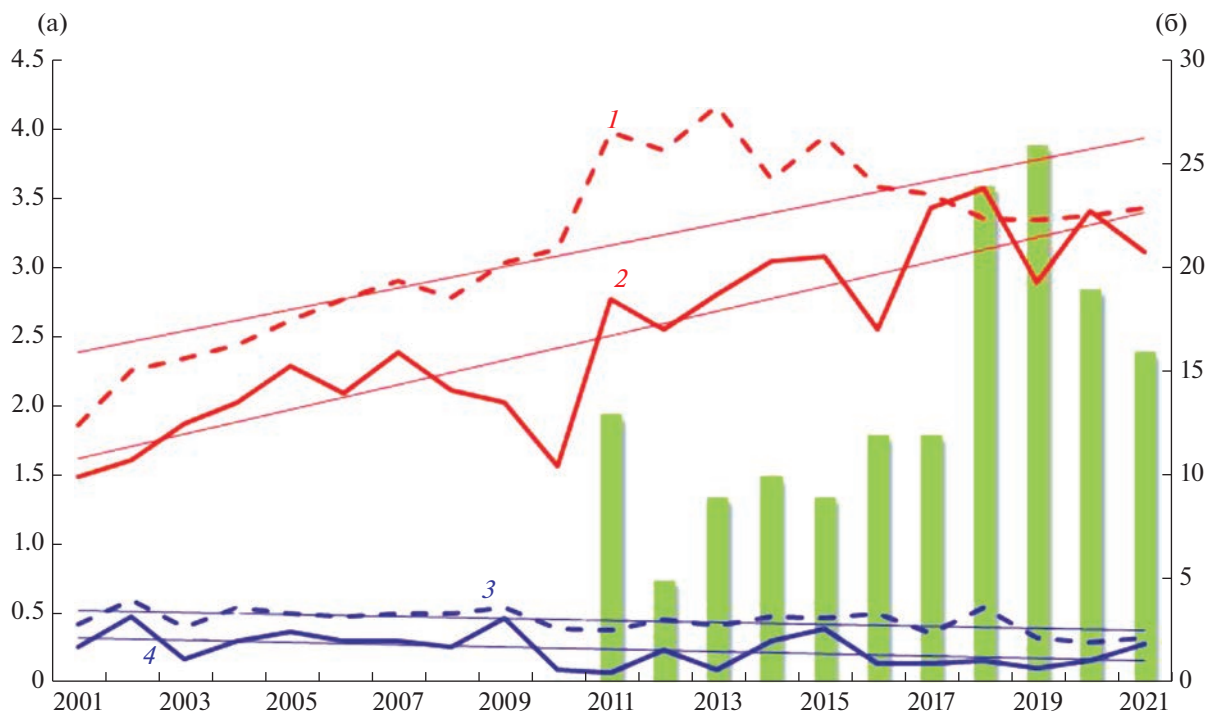


Рис. 1. Динамика численности лося в подзоне средней тайги в Карелии (1), в Кондопожском районе РК (2) и волка для тех же территорий, соответственно (3) и (4), а также добыча волка в Кондопожском р-не РК (зеленые столбики). По оси абсцисс – годы. По оси ординат: а – число следов лося и волка на 10 км маршрута; б – количество волков добытых в Кондопожском р-не РК, экз.

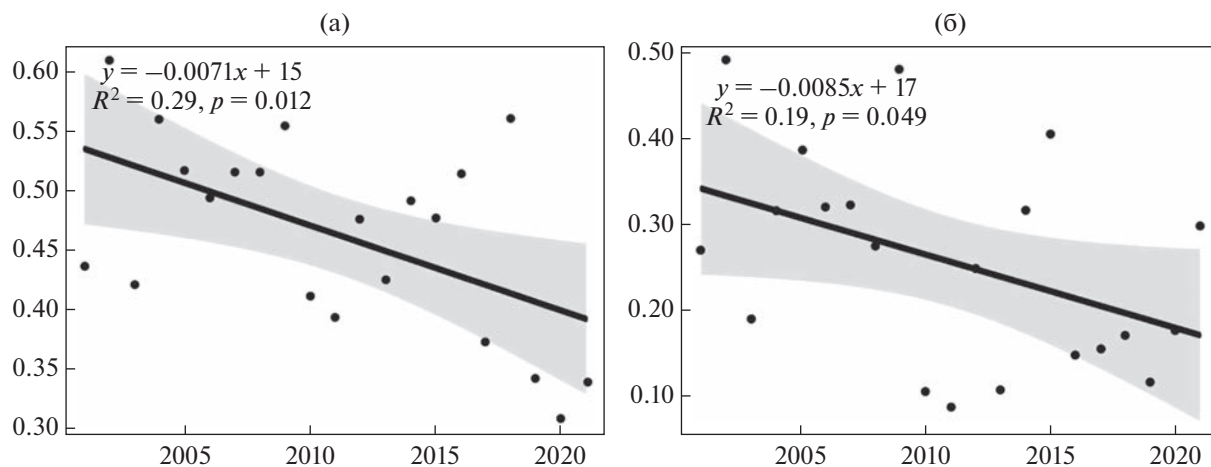


Рис. 2. Модель, описывающая динамику численности волка в подзоне средней тайги (а) и в Кондопожском районе (б) Карелии. По оси абсцисс – годы. По оси ординат – число следов волка на 10 км маршрута.

го р-на). Всего было получено три гаплотипа: два принадлежали волкам и один собаке. Полученные нуклеотидные последовательности волков были депонированы в международной базе данных GenBank с номерами доступа: OP503597 и OP503598. При сравнении с данными из GenBank установлено: Гаплотип № 1 (OP503597) ранее был отмечен у волков из России, в частности из райо-

на Уральских гор, а так же в Латвии, Финляндии и Швеции. Гаплотип № 2 (OP503598) полностью совпал с гомологичными нуклеотидными последовательностями фрагмента контрольного региона I мтДНК волка из России, Латвии, Эстонии, Польши, Беларуси, Украины, Швеции, Норвегии и Финляндии (Ellegren *et al.*, 1996; Vilà *et al.*, 1999; Randi *et al.*, 2000; Valière *et al.*, 2003; Flagstad *et al.*,

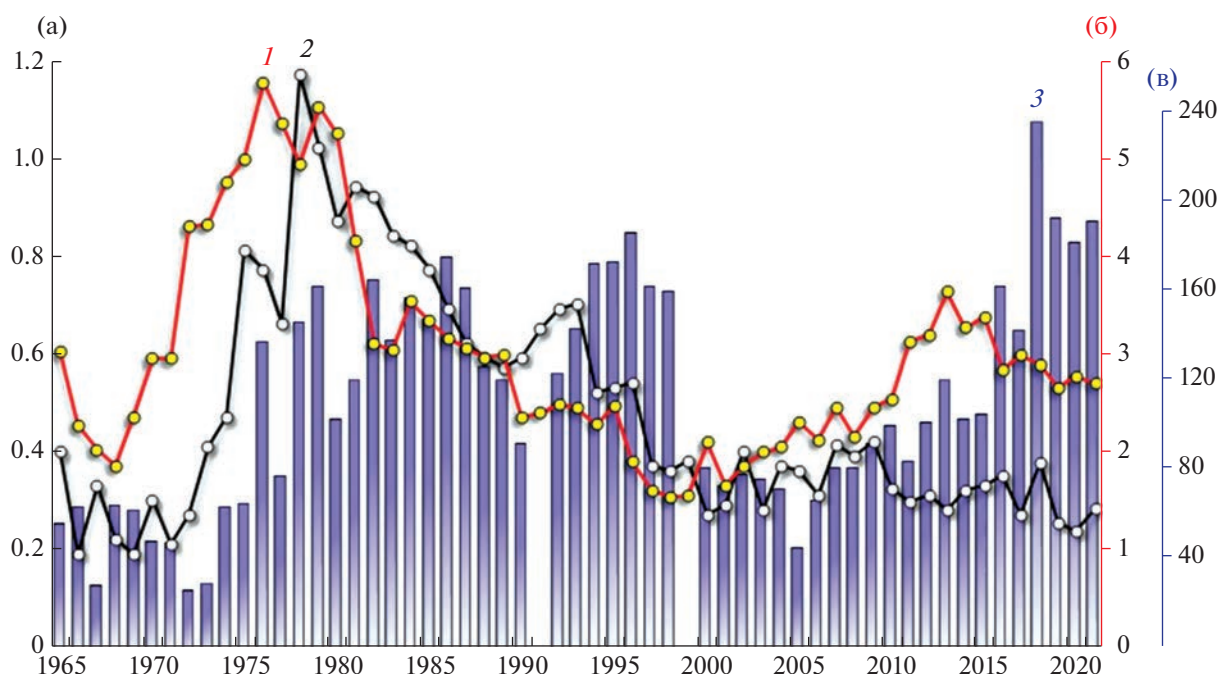


Рис. 3. Динамика численности лося (1) и волка (2), а также добыча волка в Карелии (3). По оси абсцисс — годы. По оси ординат: число следов волка (а) и лося (б) на 10 км маршрута; В — количество волков, добытых Карелии, экз.

2003; Leonard *et al.*, 2005; Bjornerfeldt *et al.*, 2006; Weckworth *et al.*, 2010; Pilot *et al.*, 2010; Hindrikson *et al.*, 2012). Доля гаплотипа №1 в исследованной выборке составила 67%.

В филогенетический анализ включена 31 последовательность контрольного региона мтДНК длиной 308 п.н., из них два гаплотипа, полученных в нашей работе, 28 из GenBank и в качестве “внешней группы” одна нуклеотидная последовательность шакала — OL323053 (Rykov *et al.*, 2022) (рис. 5, табл. 2).

Отмеченные нами гаплотипы распределены по территории Карелии довольно равномерно, однако гаплотип №1 распространен более широко и дальше на север (рис. 6).

В ходе анализа материалов по добыче волка и гаплотипического разнообразия контрольного региона I мтДНК в районе исследований отмечены особенности организации пространственно-временной структуры популяции. На рис. 4 пока-

зана территория стаи WP5, здесь в течение одного месяца 2013 г. вокруг пос. Кяппесельга были добыты шесть волков, пять из которых имели гаплотип №2, а один №1. Вероятно, они принадлежали одной стае, однако достоверно степень родства этих животных нам не известна. Из-за постоянного пресса охоты стая здесь сформировалась только к 2018 г. и была изъята. Эта семья состояла из шести особей (три самца и три самки), имевших особенности окраса — ярко выраженный рыжеватый оттенок. Животные вели полусинантропный образ жизни — питаясь отходами форелевого хозяйства, что возможно объясняет и особенности окраса зверей. Пять членов этой стаи имели гаплотип №1, от одной особи биоматериал не был получен. Позднее и по настоящий момент на этой территории добывают одиночных особей с вариациями двух упомянутых гаплотипов, но с преобладанием №1. Семья волков на территории WP2 была изъята в 2019 г., все особи имели гаплотип №1, в последующем

Таблица 1. Параметры генетического разнообразия фрагмента контрольного региона мтДНК изученных выборок волков

Локалитет, период	<i>n</i>	<i>H</i>	Hd	P	S
Карелия, 2011–2022 гг.	32	3*	0.546 ± 0.036	0.00719 ± 0.00053	8
Кондопожский р-н РК, 2011–2022 гг.	60	2	0.440 ± 0.045	0.00564 ± 0.00058	5

n — размер выборки; *H* — число гаплотипов; Hd — гаплотипическое разнообразие; P — нуклеотидное разнообразие; S — число полиморфных сайтов.

* — пояснения см. рис. 6.

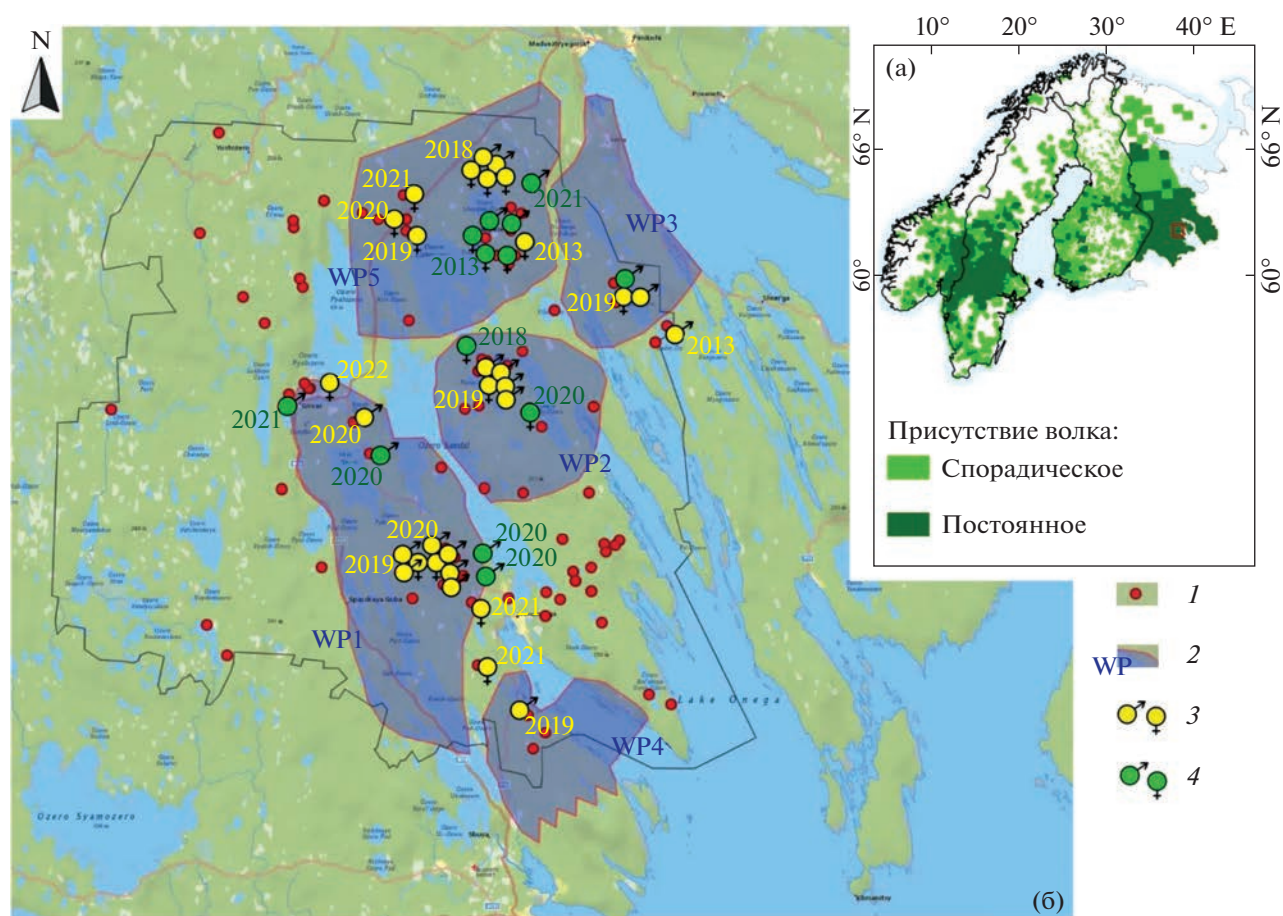


Рис. 4. Местоположение района исследований — красный прямоугольник и здесь же распространение волка в Фенноскандии по: Kaczensky *et al.*, 2021, дополненное нашими данными для Кольско-Карельского региона (а). Места добычи волков (1)*, полигоны соответствующие территориям занимаемым разными стаями (2), особи с указанием пола, даты добычи и цветовым обозначением соответствующего гаплотипа мтДНК OP503597 (3)** и OP503598 (4), на территории Кондопожского муниципального района (б). * — точка на карте, в нескольких случаях, совпадает для животных, добытых в одной и той же локации, ** — стайные особи сгруппированы вместе.

здесь добывали особей с гаплотипом № 2. Осенью 2019 г. на территории WP1 обитала стая из восьми волков, из них в декабре этого же года добыли двух самцов (2+ и 3+). Оставшиеся 6 зверей ушли в заповедник “Кивач”, расположенный полностью внутри территории WP1. Однако в феврале 2020 г. эти волки покинули ООПТ “Кивач” и были отстреляны, включая матерых самца и самку пяти лет. Все восемь членов этой стаи имели гаплотип № 1. Уже осенью 2020 г. по периферии территории WP1 стали добывать отдельных зверей с гаплотипами № 1 и № 2. Единственная смешанная группа волков, отмеченная в сопроводительных документах к добыче, как стая, состоявшая из трех особей с гаплотипами № 1 (две особи) и № 2 (одна особь), была добыта на территории WP3 в 2019 г. Участок стаи WP4 (рис. 4) с юго-восточной стороны изображен с зубчатым краем, поскольку нам неизвестно где оканчивается территория данной семьи. На обсуждении этой стаи

мы не будем останавливаться, поскольку здесь в разные годы были добыты всего три одиночных волка.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

История волков Фенноскандии мало чем отличалась от всего, что происходило с крупными хищниками в западной Европе. В Скандинавии (Швеции и Норвегии) волки перестали существовать в середине XX в. (Wabakken *et al.*, 2001), а еще раньше примерно к 1920-м гг., эти хищники практически исчезли с территории Финляндии (Pulliainen, 1980). В первой половине XX века в Карелии, особенно в северной ее части, волк был крайне редок, а последующий рост его населения совпал с интенсивным лесопромышленным освоением республики и увеличением численности лося (Данилов и др., 2020а). Возникнув вновь в начале 1980-х гг., скандинавская популяция волков

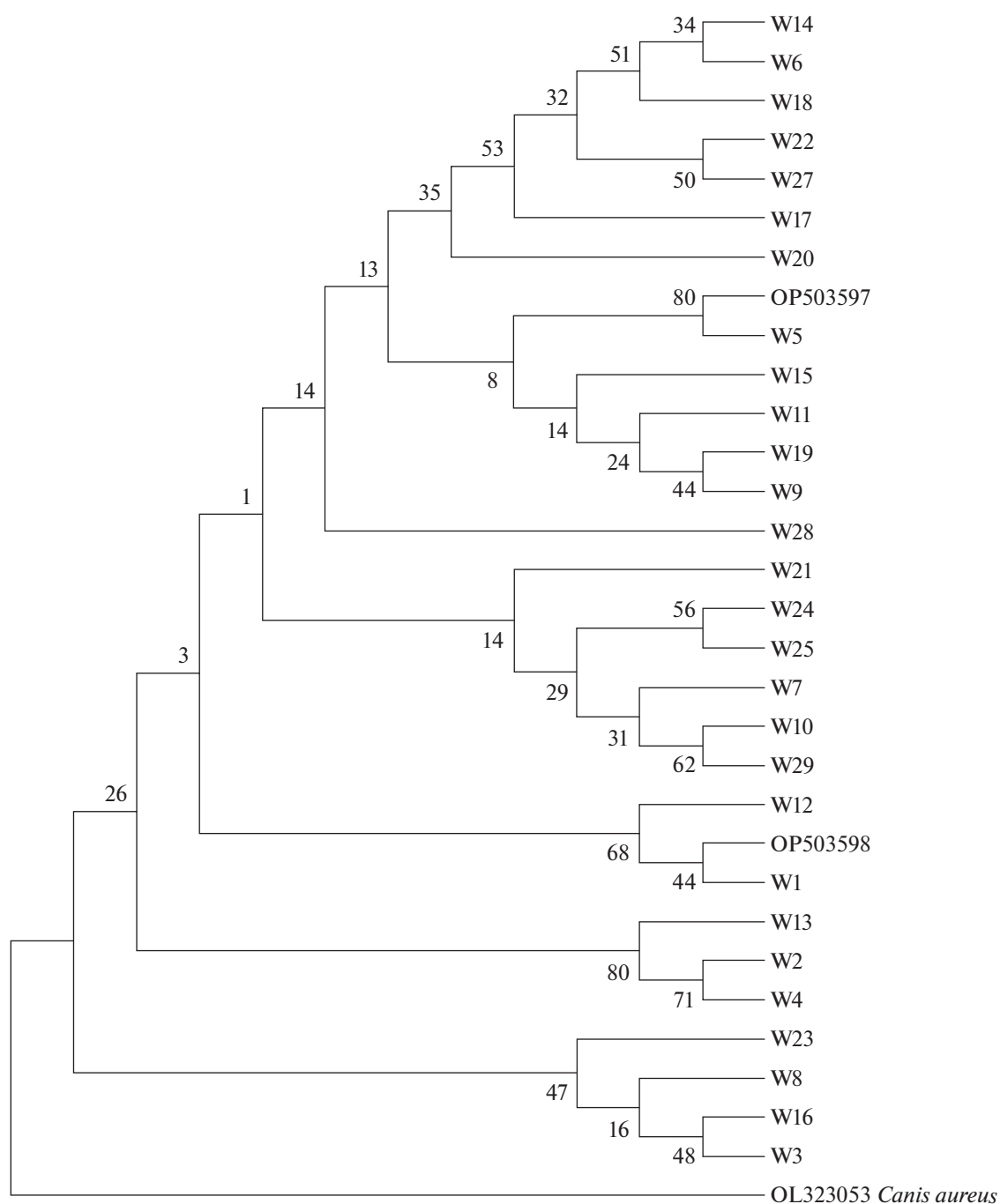


Рис. 5. Филогенетическое дерево контрольного региона мтДНК волка, построенное методом ближайшего соседа.

и по сей день остается практически изолированной (Smeds *et al.*, 2021). В отношении финской популяции считается, что она на всех этапах своего развития до начала нового тысячелетия отражала колебания численности карельской (российской) (Aspi *et al.*, 2006).

Современная численность волка в Карелии примерно вдвое ниже, чем в 1970–1980-е гг., при этом, добыча вида достигла и даже превышает по-

казатели того периода. С 2005 г. отмечается более чем пятикратный рост ежегодной добычи волков с 40 до 236 в 2018 г. (по материалам государственной экологической экспертизы лимитов добычи охотничьих животных МПРиЭ РК). Нелегальной добычи волков в регионе нет. Разрешения на охоту доступны и за добытого волка выплачивается премия. Кроме того, с 2018 г. у охотников появилась возможность получить дополнительную ли-

Таблица 2. Гаплотипы фрагмента контрольного региона мтДНК волка (*Canis lupus* L.), использованные для построения филогенетического дерева (рис. 5)

Гаплотип	Номер доступа в GenBank		Локализация гаплотипа
	Pilot <i>et al.</i> , 2010	Randi <i>et al.</i> , 2000	
W1	FJ978005	AF115692, AF115693	Польша, Латвия, Эстония, Беларусь, Украина, Россия, Швеция, Норвегия, Финляндия
W2	FJ978007		Польша, Литва, Латвия, Беларусь, Украина, Россия
W3	FJ978009		Польша, Латвия, Беларусь, Украина, Россия, Болгария, Саудовская Аравия
W4	FJ978010	AF115690	Беларусь, Украина, Россия, Швеция, Румыния, Болгария, Греция
W5	FJ978011	AF115698	Латвия, Россия, Финляндия, Швеция
W6	FJ978013	AF115701	Польша, Беларусь, Украина, Россия, Болгария, Греция
W7	FJ978015		Беларусь, Украина, Россия, Саудовская Аравия, Китай
W8	FJ978017		Россия, Швеция, Норвегия, Финляндия
W9	FJ978018		Латвия, Россия, Швеция
W10	FJ978019	AF115694, AF115695	Польша, Россия, Хорватия, Болгария, Греция, Турция, Испания, Португалия
W11	FJ978021		Беларусь, Украина, Словакия, Болгария
W12	FJ978022		Беларусь, Россия
W13	FJ978023	AF115691	Болгария, Греция, Югославия
W14	FJ978025		Польша, Словакия, Румыния, Болгария, Греция
W15	FJ978026		Украина
W16	FJ978027	AF115687, AF115688	Болгария
W17	FJ978029		Болгария, Греция
W18	FJ978030		Украина
W19	FJ978031		Польша, Болгария, Турция
W20	FJ978033		Турция
W21	FJ978034		Россия
W22	FJ978035	AF115699	Италия, Швейцария, Франция
W23		AF115689	Хорватия
W24		AF115703	Испания, Португалия
W25		AF115702	Испания
W27		AF115700	Болгария
W28		AF115697	Израиль
W29		AF115696	Израиль

цензию на добычу лося за истребление волков, что стало очередным триггером интенсификации этого процесса (рис. 3). Активизация охоты не замедлила сказаться на численности волка. Все это происходит на фоне длительной депрессии численности зайца-беяка, начавшейся в конце 1980-х гг. По мнению некоторых исследователей (Данилов и др., 1979; Руковский, 1985 и др.), уровень численности зайца может иметь критическое значение для выживания волчьих выводков. В пользу высказанного предположения говорит и отмеченная нами сильная корреляционная связь между изменениями численности этой пары. По-

степенно к XXI в. естественные факторы, в частности популяционная динамика основной жертвы — лося, перестают быть ведущими, и на первый план выходит деятельность человека в виде охоты. Прямым следствием добычи волка является сокращение численности его населения. Впоследствии, вероятно срабатывает некий каскадный эффект, отражающийся на многих аспектах популяционной структуры. Частое истребление стай или регулярная потеря их членов приводит к разрушению социальной структуры, ротации размножающихся особей, изменению физиологического статуса животных, снижению успешности

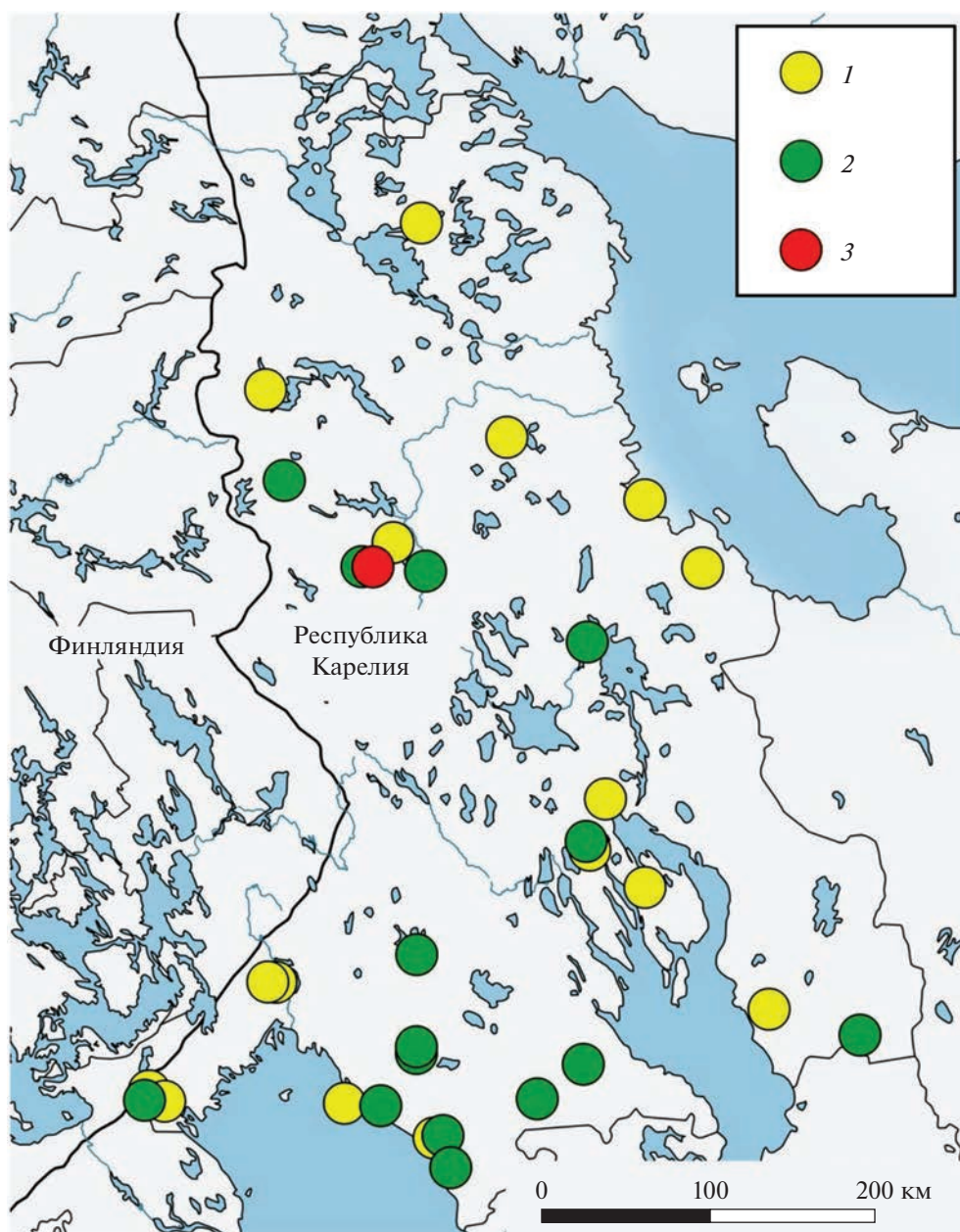


Рис. 6. Распределение гаплотипов контрольного региона мтДНК волка по территории Карелии: 1 – гаплотип №1 ОР503597; 2 – гаплотип № 2 ОР503598; 3 – “гибрид”, гаплотип собаки *Canis familiaris* L.

размножения и выживаемости молодняка, инбридингу и гибридизации (Рябов, 1973; Jędrzejewska *et al.*, 1996; Grewal *et al.*, 2004; Brainerd *et al.*, 2008; Bryan *et al.*, 2015 и др.). Однако как частный случай активная охота может способствовать увеличению генетического разнообразия, но при условии интенсивного притока особей с других территорий (Jędrzejewski *et al.*, 2005). Тем не менее, итогом чрезмерного изъятия животных является потеря уникальных генов и общее обеднение генофонда, как это было показано на примере ча-

стично изолированной скандинавской популяции волка (Kardos *et al.*, 2018; Smeds *et al.*, 2021).

Не располагая демографическими показателями на текущий момент, судить о доле изымаемых особей, их “удельном весе” в популяции в ходе охоты трудно, мы можем попытаться сделать это только приблизительно. В случае с самым “оптимистичным” прогнозом для рассматриваемой популяции, опираясь на данные приводимые П.И. Даниловым (2005) для Карелии, даже если соотношение полов близко к 1 : 1, а в размножении участвуют до 70% всех самок, охотничье изъятие будет соответ-

ствовать показателям воспроизводства популяции после естественной смертности сеголетков к началу зимнего периода. Таким образом, пополнение возможно только за счет притока особей извне, а этого, судя по трендам численности, не происходит в достаточной степени (рис. 2 и 3).

В представленной работе мы использовали анализ мтДНК, являющийся инструментом разнообразных филогенетических построений и филогеографических исследований, редко используемый для изучения современных событий. Однако в своих рассуждениях мы шли от общей картины гаплотипического разнообразия региона к пониманию механизмов его формирования через анализ современных локальных популяционных преобразований. За период наблюдений на изучаемой территории нам удалось определить несколько семейных участков волков и проследить за судьбой обитавших там стай. Выполненный нами генетический анализ показал, что в целом пул гаплотипов мтДНК волков Карелии (рис. 6) и района исследований (рис. 46) не уникален и представлен всего двумя распространенными в Евразии вариантами (рис. 5). Исходя из этих предпосылок, предполагалось, что характер динамики гаплотипического разнообразия в результате охоты состоял в “перетасовке” имеющихся двух вариантов. По трем стайным участкам WP1, WP2 и WP5 информация была наиболее подробной. Три стаи, обитавшие на этих территориях, полностью состояли из особей “носителей” гаплотипа №1 (рис. 46). Это говорит в пользу родства их членов в результате материнского типа наследования мтДНК, но и самцы-основатели этих стай так же не отличались гаплотипами. Известно, что в естественных условиях ядро популяции формирует семья-стая, в которой обычно в размножении участвует только α -пара. В случае с нарушенной популяционной структурой в размножение могут вступать особи разного возраста, социального статуса и даже близкого родства (Данилов и др., 1985; Ballard *et al.*, 1987; Mech, 1999; Fuller *et al.*, 2003; Юдин, 2013). Однако и эта вынужденная реакция имеет свои биологически обусловленные пределы, ярким примером служат наблюдения за волками на острове Айл-Рояль, когда небольшая и в определенный момент своего существования изолированная популяция, оказывалась не в состоянии преодолеть комплекс внутривидовых ограничений и последствий, вызванных инбридинговой депрессией (Hedrick *et al.*, 2019). Рассматривая наш пример, возможно, что наблюдаемая структура есть результат построения семей близкородственными особями (у всех один гаплотип, притом, что в регионе распространены два) в условиях постоянного преследования, а, следовательно, и стресса животных. В этом смысле интересна история волков с семейного участка WP5 (рис. 46). В самом начале наших наблюдений

в 2013 г., здесь поодиночке добыли шесть зверей, пять из которых были с гаплотипом № 2, а один с № 1, возможно, что они были из одной стаи. История этой группы была прервана, и впоследствии здесь обосновалась стая с гаплотипом № 1, но и она закончила свое существование в 2018 г. Таким образом, полностью стираются все генетические линии, присущие конкретным семьям, и если это происходит до дисперсии молодых, то эти преобразования уже необратимы. Масштабность вмешательства в естественные генетические процессы волка Карелии становится очевидной на фоне общего регистрируемого в настоящий момент уровня добычи этого вида (рис. 3).

Следующий механизм, включающийся в условиях жесткой нехватки особей своего вида — межвидовая гибридизация. В относительно небольшой выборке с территории Карелии ($n = 32$), по крайней мере, один из исследованных нами образцов принадлежал волко-собачьему гибриду (рис. 6). Материнский тип наследования мтДНК предполагает, что (про)матерью гибрида была собака. Для гибридизации между волками и собаками характерна половая асимметрия и описанный вариант межвидового скрещивания встречается редко, чаще волчица, оставшись одна, подбирает себе в пару кобеля собаки (Hindrikson *et al.*, 2012). Данная проба получена из северной Карелии, где плотность популяции ниже, а распределение волчих стай носит мозаичный характер (Данилов, 2005). Сочетания условий сильно разреженного населения вида и интенсивной охоты на него, по всей видимости, оказалось достаточно для появления редкого по характеру происхождения гибрида. В результате неизбирательная охота ведет к “засорению” генома дикого вида, что ставит вопросы правового характера о статусе популяции и перспективах ее дальнейшего “легального” существования. Эти вопросы являются предметом широкого обсуждения в Европе, а на практике в Скандинавии действует правило незамедлительной выбраковки гибрида из природы, что обеспечивает генетическую “чистоту” популяции, несмотря на высокую инбредность (Liberg *et al.*, 2012; Smeds *et al.*, 2021).

В биогеографическом смысле фауна млекопитающих Карелии относится к Восточной Фенноскандии и функционально связывает Фенноскандию с европейским севером России и далее на восток, причем реализуется она ограниченно посредством работы трех экологических коридоров (Linden *et al.*, 2000; Курхинен и др., 2006). Ряд видов диких животных в Финляндии восстановились и существуют за счет “донорства” популяций с территории Карелии. Данное утверждение справедливо в отношении таких зверей как лесной северный олень (Данилов и др., 2020б), россомаха (Данилов, Тирронен, 2010) или волк (Pulliainen, 1980). В свою очередь, население волка Скандинавии ха-

рактируется общностью происхождения с финско-российской популяцией, которая по результатам полногеномного секвенирования объединена в один кластер (Smeds *et al.*, 2021). При этом в отношении двух территориальных субъединиц географически и генетически единой популяции финско-карельских волков реализуются совершенно разные стратегии управления. Охота на волка в Финляндии и Скандинавии — сложный процесс согласования и поиска компромисса многих заинтересованных сторон с европейскими директивами в отношении крупных хищников. В целом добыча невелика, а управление в большей степени сводится к охране, хотя отмечается и браконьерство в форме социального протеста (Suutarinen, Kojola, 2018; Liberg *et al.*, 2020). Кардинальные различия в подходах популяционного менеджмента волков двух стран сказываются на трендах численности вида. В новом тысячелетии они находятся в противофазе (Aspi *et al.*, 2009; Suutarinen, Kojola, 2017). Более того, в генетической структуре населения волков двух стран также проявляются различия. Так Янссон с соавторами (Jansson *et al.*, 2012) указывают на снижение потока генов из России в Финляндию по мере роста численности вида в последней. Это может объясняться “насыщением” и стабилизацией популяционной семейной структуры волков этой территории. Э. Ранди отмечает, что для демографически стабильных популяций, по-видимому, характерен очень ограниченный поток генов (Randi, 2011). Очевидно, в такой системе происходят процессы характерные для естественной популяции за пределами периода экспансии. Более того, оценка направлений потоков недавней миграции, показала, что в большей степени он идет из Финляндии в Россию, чем наоборот (Aspi *et al.*, 2009). В отсутствии других источников для обмена генетическим материалом, финская и скандинавская популяции уязвимы и крайне нуждаются в связи с “материнской” — российской и интенсивном обмене мигрантами для поддержания жизнеспособности и нивелирования эффектов изоляции (Jansson, 2013; Laikre *et al.*, 2016). Однако на современном этапе ситуация обратная — теперь финская популяция волков выступает в роли донорской.

Гаплотипическое разнообразие контрольного региона мтДНК волков Финляндии, представлено в статье Э. Ранди с соавторами (Randi *et al.*, 2000), а обнаруженные ими последовательности загружены в GenBank (AF115692, AF115693, AF115698). После выравнивания фрагментов по длине они полностью совпали с двумя гаплотипами, полученными в нашей работе (OP503597, OP503598). Ретроспективный анализ динамики гаплотипического полиморфизма мтДНК волков за минувшее столетие в Финляндии показал, что всего существовало восемь гаплотипов, пять из которых к насто-

ящему времени уже утрачены в современной популяции (Jansson, 2013). На сегодняшний день, для волка Евразии отмечено 57 гаплотипов, из которых 41 уникальны для территории России (Нечаева и др., 2022). Авторы этого исследования полагают, что волки лесной и лесостепной зон России формируют ядро генофонда вида в Палеарктике. Таким образом, на фоне выраженного разнообразия (заметим, что исследованиями охвачен далеко не весь ареал), генетическая структура мтДНК волка изучаемого региона выглядит обедненной. Наиболее очевидно, это объясняется историей вида, этапами сильного сокращения численности и эффектом “бутылочного горлышка”.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-00218.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы статьи выражают глубокую благодарность старшему государственному инспектору охотнадзора МПРиЭ РК по Кондопожскому району В.К. Яковлеву за неоценимую помощь при сборе материала. Мы также признательны сотрудникам лаборатории зоологии ИБ КарНЦ РАН С.А. Симонову и А.Е. Якимовой за помощь в аналитической части работы. Отдельную благодарность выражаем рецензентам, внесшим неоценимый вклад в улучшение рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бибиков Д.И., Приклонский С.Г., Филимонов А.Н. СССР. Численность и особенности образа жизни по регионам // Волк. Происхождение, систематика, морфология, экология. М.: Наука, 1985. С. 452–466.
- Данилов П.И., Русаков О.С., Туманов И.Л. Хищные звери Северо-Запада СССР. Л.: Наука, 1979. 164 с.
- Данилов П.И., Гурский И.Г., Кудактин А.Н. Размножение // Волк. Происхождение, систематика, морфология, экология. М.: Наука, 1985. С. 378–388.
- Данилов П.И. Охотничьи звери Карелии: экология, ресурсы, управление, охрана. М.: Наука, 2005. 340 с.
- Данилов П.И., Тирронен К.Ф. Виды индикаторы // Мониторинг и сохранение биоразнообразия таежных экосистем Европейского Севера России. Петрозаводск, 2010. С. 158–169.
- Данилов П.И., Тирронен К.Ф., Панченко Д.В. Лось *Alces alces* L. и волк *Canis lupus* L.: мониторинг популяций и взаимоотношений на Европейском Севере России // Бюллетень МОИП. 2020а. Т. 125. Вып. 2. С. 12–24.
- Данилов П.И., Панченко Д.В., Тирронен К.Ф. Северный олень Восточной Фенноскандии. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 2020б. 187 с.
- Курхин Ю.П., Данилов П.И., Ивантер Э.В. Млекопитающие Восточной Фенноскандии в условиях ан-

- тропогенной трансформации таежных экосистем. М.: Наука, 2006. 208 с.
- Нечаева А.В., Белоконь М.М., Белоконь Ю.С., Казимиров П.А., Бондарев А.Я., Давыдов А.В., Политов Д.В. Генетическое разнообразие *Canis lupus L.* в Восточной Европе на основе митохондриальных данных // Мат. конф. "Генетические процессы в популяциях. Москва. 11–14 октября 2022 г. М.: Ваш Формат. С. 44.
- Руковский Н.Н. Питание. Питание и биоценоотические отношения // Волк. Происхождение, систематика, морфология, экология. М.: Наука, 1985. С. 325–335.
- Рябов Л.С. Волко-собачьи гибриды в Воронежской области // Бюлл. МОИП. Отд. Биол., 1973. Т. 78. Вып. 6. С. 25–39.
- Филонов К.П. Копытные животные и крупные хищники на заповедных территориях. М.: Наука, 1989. 253 с.
- Юдин В.Г. Волк Дальнего Востока России. 2-е изд., перераб. и доп. Владивосток: Дальнаука, 2013. 411 с.
- Allendorf F.W., England P.R., Luikart G., Ritchie P.A., Ryman N. Genetic effects of harvest on wild animal populations // Trends Ecol. Evol. 2008. V. 23. P. 327–337. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.02.008>
- Allendorf F.W., Hard J.J. Human-induced evolution caused by unnatural selection through harvest of wild animals // PNAS. 2009. V. 106(1). P. 9987–9994. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901069106>
- Aspi J., Roininen E., Kiiskilä J., Ruokonen M., Kojola I., Bliudnik L., Danilov P., Heikkinen S., Pulliainen E. Genetic structure of the northwestern Russian wolf populations and gene flow between Russia and Finland // Conserv. Gen. 2009. V. 10(4). P. 815–826. <https://doi.org/10.1007/s10592-008-9642-x>
- Aspi J., Roininen E., Ruokonen M., Kojola I., Vilà C. Genetic diversity, population structure, effective population size, and demographic history of the Finnish wolf population // Molecular Ecology. 2006. V. 15. P. 1561–1576. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02877.x>
- Ballard W.B., Whitman J.S., Gardner C.L. Ecology of an exploited wolf population in south-central Alaska // Wildl. Monogr. 1987. V. 98. 54 p.
- Björnerfeldt S., Webster M.T., Vila C. Relaxation of selective constraint on dog mitochondrial DNA following domestication // Genome Res. 2006. V. 16(8). P. 990–994. <https://doi.org/10.1101/gr.5117706>
- Brainerd S.M., Andren H., Bangs E.E., Bradley E.H., Fontaine J.A., Hall W., Iliopoulos Y., Jimenez M.D., Jozwiak E.A., Liberg O., Mack C.M., Meier T.J., Niemeyer C.C., Pedersen H.C., Sand H., Schultz R.N., Smith D.W., Wabakken P., Wydeven A.P. The effects of breeder loss on wolves // J. Wildl. Manag. 2008. V. 72. P. 89–98. <https://doi.org/10.2193/2006-305>
- Bryan H.M., Jeg S., Koren L., Paquet P.C., Wynne-Edwards K.E., Musiani M. Heavily hunted wolves have higher stress and reproductive steroids than wolves with lower hunting pressure // Funct. Ecol. 2015. V. 29. P. 347–356. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12354>
- Boitani L. Wolf conservation and recovery. In: Wolves. Behavior, Ecology and Conservation (eds Mech LD, Boitani L), University of Chicago Press, Chicago, Illinois. 2003. 317–340 p.
- Boitani L., Alvarez F., Anders O., Andren H., Avanzinelli E., Bailey V., Blanco J.C., Breitenmoser U., Chapron G., Ciucci P., Dutsov A., Groff C., Huber D., Ionescu O., Knauber F., Kojola I., Kubala J., Kutal M., Linnell J., Majic A., Mannil P., Manz R., Marucco F., Melovski D., Molinari A., Norberg H., Nowak S., Ozolins J., Palazon S., Potocnik H., Quenette P.-Y., Reinhardt I., Rigg R., Selva N., Sergiel A., Shkvyria M., Swenson J., Trajce A., von Arx M., Wolf M., Wotschikowsky U., Zlatanova D. Key actions for Large Carnivore populations in Europe. Institute of Applied Ecology (Rome, Italy) // Report to DG Environment, European Commission, Bruxelles. 2015. Contract no. 07.0307/2013/654446/SER/B3.
- Boitani L., Kaczensky P., Alvares F., Andrén H., Balys V., Blanco J.C., Chapron G., Chiriack S., Cirovic D., Drouet-Houguet N., Groff C., Huber D., Iliopoulos Y., Ionescu O., Kojola I., Krofel M., Kutal M., Linnell J., Majic A., Mannil P., Marucco F., Melovski D., Mengülluoglu D., Mergeay J., Nowak S., Ozolins J., Perovic A., Rauer G., Reinhardt I., Rigg R., Salvatori V., Sanaja B., Schley L., Shkvyria M., Sunde P., Tirronen K., Trajce A., Trbojevic I., Trouwborst A., von Arx M., Wolf M., Zlatanova D., Patkó L. Assessment of the conservation status of the Wolf (*Canis lupus*) in Europe // Report to Bern Convention – Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats. 2022. 25 p.
- Ellegren H., Savolainen P., Rosen B. The genetical history of an isolated population of the endangered grey wolf *Canis lupus*: A study of nuclear and mitochondrial polymorphisms // Phil. Trans. Roy. Soc. 1996. V. 351. P. 1661–1669. <https://doi.org/10.1098/rstb.1996.0148>
- Flagstad Ø., Walker C., Vilà C., Sundqvist A.-K., Fernholm B., Hufthammer A.K., Wiig Ø., Kojola I., Ellegren H. Two centuries of the Scandinavian wolf population: patterns of genetic variability and migration during an era of dramatic decline // Mol. Ecol. 2003. V. 12. P. 869–880. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01784.x>
- Fuller T.K., Mech L.D., Cochrane J.F. Wolf population dynamics In: Wolves. Behavior, Ecology and Conservation (eds Mech LD, Boitani L), University of Chicago Press, Chicago, Illinois. 2003. 161–191 p.
- Gade-Jorgensen I., Stagegaard R. Diet composition of wolves *Canis lupus* in east-central Finland // Acta Theriol. 2000. V. 45. P. 537–547.
- Grewal S.K., Wilson P.J., Kung T.K., Shami K., Theberge M.T., Theberge J.B., White B.N. A genetic assessment of the eastern wolf (*Canis lycaon*) in Algonquin Provincial Park // J. Mammalogy. 2004. V. 85. P. 625–632. [https://doi.org/10.1644/1545-1542\(2004\)085%3C0625:AGAOTE%3E2.0.CO;2](https://doi.org/10.1644/1545-1542(2004)085%3C0625:AGAOTE%3E2.0.CO;2)
- Harris R.B., Wall W.A., Allendorf F.W. Genetic consequences of hunting: What do we know and what should we do? // Wildl. Soc. Bull. 2002. V. 30. P. 634–643. <https://doi.org/10.2307/3784528>
- Hedrick P.W., Robinson J.A., Peterson R.O., Vucetich J.A. Genetics and extinction and the example of Isle Royale wolves // Animal Conserv. 2019. V. 22. P. 302–309. <https://doi.org/10.1111/acv.12479>
- Hindrikson M., Mannil P., Ozolins J., Krzywinski A., Saarma U. Bucking the Trend in Wolf-Dog Hybridization: First

- Evidence from Europe of Hybridization between Female Dogs and Male Wolves // PLoS ONE. 2012. V. 7(10). e46465.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046465
- Jansson E., Ruokonen M., Kojola I., Aspi J. Rise and fall of a wolf population: genetic diversity and structure during recovery, rapid expansion and drastic decline // Mol. Ecol. 2012.
https://doi.org/10.1111/mec.12010
- Jansson E. Past and present genetic diversity and structure of the Finnish wolf population. PhD Thesis. Oulu 2013.
- Jędrzejewska B., Jędrzejewski W., Bunevich A.N., Miłkowski L., Okarma H. Population dynamics of wolves *Canis lupus* in Białowieża a primeval forest (Poland and Belarus) in relation to hunting by humans, 1847–1993 // Mammal Review. 1996. V. 26. P. 103–126.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.1996.tb00149.x
- Jędrzejewski W., Branicki W., Veit C., Međugorac I., Pilot M., Bunevich A.N., Jędrzejewska B., Schmidt K., Theuerkauf J., Okarma H., Gula R., Szymura L., Förster M. Genetic diversity and relatedness within packs in an intensely hunted population of wolves *Canis lupus* // Acta Theriol. 2005. V. 50. P. 3–22.
https://doi.org/10.1007/BF03192614
- Kaartinen S., Antikainen H., Kojola I. Habitat model for a recolonizing wolf (*Canis lupus*) population in Finland // Ann. Zool. Fenn. 2015. V. 52. P. 77–89.
https://doi.org/10.5735/086.052.0207
- Kaczensky P., Linnell J.D.C., Huber D., von Arx M., Andren H., Breitenmoser U., Boitani L. Distribution of large carnivores in Europe 2012–2016: Distribution maps for Brown bear, Eurasian lynx, Grey wolf, and Wolverine, Dryad, Dataset, 2021.
https://doi.org/10.5061/dryad.pc866t1p3
- Kardos M., Åkesson M., Fountain T., Flagstad Ø., Liberg O., Olason P., Sand H., Wabakken P., Wikenros C., Ellegren H. Genomic consequences of intensive inbreeding in an isolated wolf population // Nature Ecol. and Evol. 2018. V. 2(1). P. 124–131.
https://doi.org/10.1038/s41559-017-0375-4
- Kojola I., Kaartinen S., Hakala A., Heikkinen S., Voipio H-M. Dispersal behavior and the connectivity between wolf populations in Northern Europe // J. Wildl. Manag. 2009. V. 73. P. 309–313.
https://doi.org/10.2193/2007-539
- Kojola I., Helle P., Heikkinen S., Linden H., Paasivaara A., Wikman M. Tracks in snow and population size estimation: wolf in Finland // Wildl. Biol. 2014. V. 20. P. 279–284.
https://doi.org/10.2981/wlb.00042
- Laikre L., Olsson F., Jansson E., Hossjer O., Ryman N. Metapopulation effective size and conservation genetic goals for the Fennoscandian wolf (*Canis lupus*) population // Heredity. 2016. V. 117. P. 279–289.
https://doi.org/10.1038/hdy.2016.44
- Leonard J., Vilà C., Wayne R. Legacy lost: genetic variability and population size of extirpated US grey wolves (*Canis lupus*) // Mol. Ecol. 2005. V. 14. P. 9–17.
https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02389.x
- Liberg O., Aronson Å., Sand H., Wabakken P., Maartmann E., Svensson L., Åkesson M. Monitoring of wolves in Scandinavia // Hystrix. 2012. V. 23(1). P. 29–34.
https://doi.org/10.4404/hystrix-23.1-4670
- Liberg O., Suutarinen J., Åkesson M., Andrén H., Wabakken P., Wikenros C., Sand H. Poaching-related disappearance rate of wolves in Sweden was positively related to population size and negatively to legal culling // Biol. Conserv. 2020. V. 243.
https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108456
- Librado P., Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // Bioinformatics. 2009. V. 25(11). P. 1451–1452.
- Linden H., Danilov P.I., Gromtsev A.N., Helle P., Ivanter E.V., Kurhinen Ju. Large-scale forest corridors to connect the taiga fauna to Fennoscandia // Wildl. Biol. 2000. V. 6(3). P. 179–188.
https://doi.org/10.2981/wlb.2000.007
- Mech L.D. Alpha status, dominance, and division of labor in wolf packs // Can. J. Zool. 1999. V. 77. P. 1196–1203.
- Mech D., Boitani L. Wolves: behaviour, ecology and conservation. London. The University of Chicago Press. 2003.
- Mei W., Yu G. BasicTrendline: Add Trendline and Confidence Interval of Basic Regression Models to Plot. R package version 2.0.5. 2020. https://CRAN.R-project.org/package=BasicTrendline.
- Pilot M., Branicki W., Jędrzejewski W., Goszczyński J., Jędrzejewska B., Dykyy I., Shkvyrya M., Tsingarska E. Phylogeographic history of grey wolves in Europe // BMC Evol. Biol. 2010. V. 21. P. 10–104.
https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-104
- Pulliaainen E. The status, structure and behaviour of the wolf (*Canis lupus* L.) along the Fenno-Soviet border // Annales Zool. Fennici. 1980. V. 17. P. 107–112.
- Randi E. Genetics and conservation of wolves *Canis lupus* in Europe // Mammal Review. 2011. V. 41. P. 99–111.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2010.00176.x
- Randi E., Lucchini V., Christensen M.F., Mucci N., Funk S.M., Dolf G., Loeschcke V. Mitochondrial DNA variability in Italian and East European wolves: Detecting the consequences of small population size and hybridization // Conserv. Biol. 2000. V. 14. P. 464–473.
https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2000.98280.x
- Rykov A.M., Kuznetsova A.S., Tirronen K.F. The first record of the golden jackal (*Canis aureus* Linnaeus, 1758) in the Russian Subarctic // Polar Biol. 2022. V. 45. P. 965–970.
https://doi.org/10.1007/s00300-022-03037-0
- Saccone C., Attimonelli M., Sbisá E. Structural elements highly preserved during the evolution of the D-loop-containing region in vertebrate mitochondrial DNA // J. Mol. Evol. 1987. V. 26. P. 205–211.
- Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees // Mol. Biol. Evol. 1987. V. 4. P. 406–425.
https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454
- Seddon J.M., Sundqvist A-K., Björnerfeldt S., Ellegren H. Genetic identification of immigrants to the Scandinavian wolf population // Conserv. Genet. 2006. V. 7. P. 225–230.
https://doi.org/10.1007/s10592-005-9001-0
- Smeds L., Aspi J., Berglund J., Kojola I., Tirronen K., Ellegren H. Whole-genome analyses provide no evidence

- for dog introgression in Fennoscandian wolf populations // *Evol. Appl.* 2021. V. 14. P. 721–734.
<https://doi.org/10.1111/eva.13151>
- Suutarinen J., Kojola I. Poaching regulates the legally hunted wolf population in Finland // *Biol. Conserv.* 2017. V. 215. P. 11–18.
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.08.031>
- Suutarinen J., Kojola I. One way or another: predictors of wolf poaching in a legally harvested wolf population // *Anim. Conser.* 2018.
<https://doi.org/10.1111/acv.12409>
- Tamura K., Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees // *Mol. Biol. Evol.* 1993. V. 10. P. 512–526.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023>
- Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11 // *Mol. Biol. Evol.* 2021. V. 38(7). P. 3022–3027.
- Valière N., Fumagalli L., Gielly L., Miquel C., Benoit L., Poulle M.-L., Weber J.-M., Arlettaz R., Taberlet P. Long-distance wolf recolonization of France and Switzerland inferred from non-invasive genetic sampling over a period of 10 years // *Anim Conserv.* 2003. V. 6. P. 83–92.
<https://doi.org/10.1017/s1367943003003111>
- Vilà C., Amorim I.R., Leonard J.A., Posada D., Castroviejo J., Petrucci-Fonseca F., Crandall K.A., Ellegren H., Wayne R.K. Mitochondrial DNA phylogeography and population history of the Gray Wolf *Canis lupus* // *Mol. Ecol.* 1999. V. 8. P. 2089–2103.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00825.x>
- Wabakken P., Sand H., Liberg O., Bjarvall A. The recovery, distribution, and population dynamics of wolves on the Scandinavian peninsula, 1978–1998 // *Can. J. Zool.* 2001. V. 79. P. 710–725.
<https://doi.org/10.1139/z01-029>
- Weckworth B.V., Talbot S., Cook J. Phylogeography of Wolves (*Canis lupus*) in the Pacific Northwest // *J. Mammal.* 2010. V. 91(2). P. 363–375.
<https://doi.org/10.1644/09-MAMM-A-036.1>

Eastern Fennoscandian Wolf (*Canis lupus* L.) under the Heavy Hunting Pressure: mtDNA Analysis as a Tool to Assess Hunting Impact on the Population-Genetic Structure

K. F. Tirronen^{1, #}, A. S. Kuznetsova¹, and D. V. Panchenko¹

¹*Institute of Biology of Karelian Research Centre of RAS, Petrozavodsk, 185910 Russia*

[#]*e-mail: konstantin.tirronen@gmail.com*

One of the most ancient aspects of human impact on the wild animals is hunting. The degree of human impact on one of the Eastern Fennoscandian wolf (*Canis lupus* L.) population based on the analysis of data on the population dynamics of the predator and its preys, “hunting bag” data, changes in the spatial-temporal structure and genetic characteristics, is shown. In the presented work, a genetic analysis of the control region mtDNA of the wolf of the Republic of Karelia (Russia) and the experimental territory (Kondopozhsky district of Karelia) was performed on a time slice of 10 years. The modern mtDNA haplotypic diversity of Russian Karelian and Finnish wolf population, in comparison with the general diversity characteristic for the species, is poor. In total, only two haplotypes common in Eurasia have been identified here, which is obviously explained by the history of the species — the stages of severe population decline.

Keywords: wolf (*Canis lupus* L.), mtDNA, genetic diversity, Eastern Fennoscandia, hunting, population dynamics