

Включен в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней по научным специальностям:

1.5.9. Ботаника, 1.5.11. Микробиология, 1.5.12. Зоология, 1.5.7. Генетика, 1.5.18. Микология, 3.2.7. Аллергология и иммунология (биологические и медицинские науки), 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

Учредитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет»

Редакционный совет

В. С. Артамонова, д.б.н., Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, г. Новосибирск, Россия
О. Ю. Баранов, д.б.н., Институт леса НАН Беларуси, г. Гомель, Беларусь
О. Г. Баранова, д.б.н., Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, г. С.-Петербург, Россия
В. Д. Богданов, д.б.н., чл.-корр. РАН, Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия
М. В. Винарский, д.б.н., Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия
О. В. Долгих, д.м.н., Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Роспотребнадзора, г. Пермь, Россия
С. А. Заморина, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Е. В. Зиновьев, д.м.н., Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия
Р. А. Календарь, к.б.н., "National Laboratory Astana", Назарбаев Университет, г. Нур-Султан, Республика Казахстан
Э. А. Коркотян, к.б.н., Научно-исследовательский институт им. Вейцмана, г. Реховот, Израиль
Н. Кристофи, PhD, Эдинбургский Нэйпир университет, г. Эдинбург, Великобритания
А. И. Литвиненко, д.б.н., Государственный аграрный университет Северного Зауралья, г. Тюмень, Россия
П. Б. Михеев, PhD, доцент, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Е. Г. Плотникова, д.б.н., Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия
Д. В. Политов, д.б.н., Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, г. Москва, Россия
А. В. Пузанов, д.б.н., Институт водных и экологических проблем СО РАН, г. Барнаул, Россия
М. Б. Раев, д.б.н., Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия
Е. В. Рахимова, д.б.н., Институт ботаники и фитоинтродукции Комитета лесного хозяйства и животного мира, г. Алматы, Республика Казахстан
В. А. Черешнев, д.м.н., академик РАН, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия
А. Г. Ширяев, д.б.н., Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

Редакционная коллегия

С. В. Боронникова, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
С. В. Гейн, д.м.н., Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия
А. А. Елькин, к.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
О. З. Еремченко, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
С. Л. Есюнин, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Е. Г. Ефимик (секретарь редколлегии), к.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Н. В. Зайцева, д.м.н., академик РАН, Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Роспотребнадзора, г. Пермь, Россия
И. Б. Ившина, д.б.н., академик РАН, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия
А. Р. Ишбирдин, д.б.н., профессор, Башкирский государственный университет, г. Уфа, Россия
М. С. Куюкина (гл. редактор), д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
С. А. Овеснов, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
Л. Г. Переведенцева, д.б.н., Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия
О. Ю. Устинова, д.м.н., Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Роспотребнадзора, г. Пермь, Россия

Ответственный редактор выпуска *С. А. Овеснов*

© Редакционная коллегия, 2024

Адрес учредителя и издателя:
614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15;
Тел.: 8 (342)2396435; E-mail: info@psu.ru
Подписка на журнал осуществляется онлайн на сайте агентства «Урал-Пресс»
<https://www.ural-press.ru/catalog/97266/8940022/>. Подписной индекс 41000
Адрес редакции: 614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15;
Тел.: 8 (342)2396233
E-mail: vestnik_psu_bio@mail.ru
Сайт: press.psu.ru/index.php/bio

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свид. о регистрации средства масс. информации ПИ № ФС 77-66484 от 14 июля 2016 г.

Editorial Board

- V. S. Artamonova*, Dr. Biol. Sc., Institute of Soil Science and Agrochemistry of the SB RAS, Novosibirsk, Russia
O. Yu. Baranov, Dr. Biol. Sc., Institute of Forest of the NAS of Belarus, Gomel, Belarus
O. G. Baranova, Dr. Biol. Sc., Botanical Institute of the RAS, St. Petersburg, Russia
V. D. Bogdanov, Dr. Biol. Sc., Corresponding Member of the RAS, Institute of Plant and Animal Ecology of UB RAS, Ekaterinburg, Russia
M. V. Vinarski, Dr. Biol. Sc., St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia
O. V. Dolgikh, Dr. Med. Sc., Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia
S. A. Zamorina, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
E. V. Zinoviev, Dr. Med. Sc., Institute of Plant and Animal Ecology of UB RAS, Ekaterinburg, Russia
R. A. Kalendar, Cand. Biol. Sc. "National Laboratory Astana", Nazarbaev University, Nur-Sultan, Kazakhstan
E. A. Korkotyan, Cand. Biol. Sc. Weizmann Institute of Science, Rehovot, Izrael
N. Christofí, PhD, Edinburgh Napier University, Edinburgh, Great Britain
A. I. Litvinenko, Dr. Biol. Sc., State agrarian University of Northern TRANS-Urals, Tyumen, Russia
P. B. Mikheev, PhD, Perm State University, Perm, Russia
E. G. Plotnikova, Dr. Biol. Sc., Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia
D. V. Polítov, Dr. Biol. Sc., Vavilov Institute of General Genetics of the RAS, Moscow, Russia
A. V. Puzanov, Dr. Biol. Sc., Institute for Water and Environmental Problems of the SB RAS, Barnaul, Russia
M. B. Raev, Dr. Biol. Sc., Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia
E. V. Rachimova, Dr. Biol. Sc., Institute of Botany and Phytointroduction of the Committee for Forestry and Wildlife, Almaty, Kazakhstan
V. A. Chereshevnev, Dr. Med. Sc., Full Member of the RAS, Institute of Immunology and Physiology of UB RAS, Ekaterinburg, Russia
A. G. Shiryaev, Dr. Biol. Sc., Institute of Plant and Animal Ecology of the UB RAS, Ekaterinburg, Russia

Editors

- S. V. Boronnikova*, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
S. V. Gein, Dr. Med. Sc., Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia
A. A. Elkin, Cand. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
O. Z. Eremchenko, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
S. L. Esysunin, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
E. G. Efimik (secretary of the editorial board), Cand. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
N. V. Zaitseva, Dr. Med. Sc., Full Member of the RAS, Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia
I. B. Ivshina, Dr. Biol. Sc., Full Member of the RAS, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS, Perm, Russia
A. R. Ishbirdin, Dr. Biol. Sc., Bashkir State University, Ufa, Russia
M. S. Kuyukina (editor in chief), Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
S. A. Ovesnov, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
L. G. Perevedenceva, Dr. Biol. Sc., Perm State University, Perm, Russia
O. Yu. Ustinova, Dr. Med. Sc., Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia

Contributed editor of the issue *S. A. Ovesnov*

© Editorial Board, 2024

Founder and Publisher Address:
614068, Perm, Bukireva, 15;
Tel: 8 (342) 2396435; E-mail: info@psu.ru
For subscription, visit the catalog of Ural-Press: <https://www.ural-press.ru/catalog/97266/8940022/>. Index 41000

The journal is registered with the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media. Certificate of registration of mass media PI No. FS 77-66484 dated July 14, 2016.

Editorial office address: 614068, Perm, Bukireva, 15;
Tel.: 8 (342) 2396233
E-mail: vestnik_psu_bio@mail.ru
Website: press.psu.ru/index.php/bio

Содержание

Ботаника

<i>Андреев Б. Г., Шереметова С. А., Калабина К. А.</i> Экологическая структура флоры города Кемерово	5
<i>Борисова С. З.</i> Фенология степных растений Центральной Якутии	16
<i>Кузьмина Т. Н.</i> Сравнительная характеристика кариометрических параметров микроспороцитов и клеток тапетума сформированных пыльников длинно- и короткостолбчатых растений <i>Jasminum fruticans</i> L. (Oleaceae)	22
<i>Прокотьев А. С., Катаева Т. Н.</i> Эколого-биологические особенности <i>Adonis arvensis</i> L. (Ranunculaceae) на юге Томской области	32

Зоология

<i>Есюнин С. Л., Золотарев М. П., Нестерков А. В., Плакхина Е. В., Устинова А. Л.</i> Новые данные о фауне пауков (Arachnida: Araneae) Урала	42
--	----

Микробиология

<i>Ахова А. В., Федоненко П. М., Шумков М. С., Ткаченко А. Г.</i> Применение бактерий со сверхэкспрессией гена <i>cadA</i> для биоконверсии лизина в кадаверин	54
<i>Якушева О. А., Алексеева Л. П., Евдокимова В. В., Мелоян М. Г., Зюзина В. П., Симакова Д. И.</i> Везикулы токсигенных штаммов холерных вибрионов O1 Эль Тор, их выделение и характеристика	61

Генетика

<i>Печенкина В. А., Наговицына В. О., Васильева Ю. С., Фомин Д. С., Фомин Дм. С., Боронникова С. В.</i> Зараженность вирусами желтой карликовости ячменя и полосатой мозаики пшеницы сортов озимой ржи (<i>Secale cereale</i> L.), выращиваемых на Среднем Урале	74
<i>Сорокина А. В., Корякова А. С., Левина Д. Р.</i> Влияние генов <i>ADRB2</i> и <i>PPARGC1A</i> на развитие физического качества «выносливость» у единоборцев города Перми	83

Почвоведение

<i>Артамонова В. С., Бортникова С. Б., Андроханов В. А.</i> Об экосистемных функциях гумусогенного слоя технозёмов в отдалённый период землевания отвалов угледобычи в Сибири	92
---	----

Иммунология

<i>Некрасова И. В., Глебездина Н. С., Масленникова И. Л., Данченко И. Ю., Ширишев С. В.</i> НК-клетки, преобработанные эстриолом и клетками комменсальной флоры, регулируют созревание Treg и Th17 из CD4 ⁺ лимфоцитов у больных рассеянным склерозом и здоровых доноров	107
---	-----

Contents

Botany

- Andreyev B. G., Sheremetova S. A., Kalabina K. A.* Ecological structure of the city of Kemerovo flora 5
- Borisova S. Z.* Phenology of steppe plants in Central Yakutia 16
- Kuzmina T. N.* Comparative characteristics of karyometric parameters of microsporocytes and tapetum cells of the formed anthers of long-styled and short-styled plants *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae) 22
- Prokopyev A. S., Kataeva T. N.* Ecological and biological features of *Adonis apennina* L. (Ranunculaceae) in the south of the Tomsk region 32

Zoology

- Esyunin S. L., Zolotarev M. P., Nesterkov F. V., Plakkhina E. V., Ustinova A. L.* New data on the spider fauna of Urals (Arachnida: Araneae) 42

Microbiology

- Akhova A. V., Fedonenko P. M., Shumkov M. S., Tkachenko A. G.* The use of bacteria with overexpression of the *cadA* gene for the bioconversion of lysine into cadaverine 54
- Yakusheva O. A., Alekseeva L. P., Evdokimova V. V., Meloyan M. G., Zyuzina V. P., Simakova D. I.* Vesicles of toxigenic strains of *Vibrio cholera* O1 El Tor, their isolation and characterization 61

Genetics

- Pechenkina V. A., Nagovicina V. O., Vasilyeva Y. S., Fomin D. S., Fomin Dm. S., Boronnikova S. V.* Infection with Barley yellow dwarf virus and Wheat streak mosaic varieties of winter rye (*Secale cereale* L.) grown in the Middle Urals 74
- Sorokina A. V., Koryakova A. S., Levina D. R.* The influence of *ADRB2* and *PPARGC1A* genes on the development of the “endurance” physical quality among martial artists in the city of Perm 83

Soil science

- Artamonova V. S., Bortnikova S. B., Androhanov V. A.* On ecosystem functions of the technozem humusogenic layer in the remote period of soiling of coal mining waste dumps in Siberia 92

Immunology

- Nekrasova I. V., Glebezdina N. S., Maslennikova I. L., Danchenko I. Yu., Shirshov S. V.* NK cells pretreated with estriol and commensal flora cells regulate the maturation of Treg and Th17 from CD4⁺ lymphocytes in multiple sclerosis patients and healthy donors 107

БОТАНИКА

Научная статья

УДК 581.93

doi: 10.17072/1994-9952-2024-1-5-15.

Экологическая структура флоры города Кемерово

**Борис Германович Андреев^{1, 5✉}, Светлана Анатольевна Шереметова^{1, 2},
Катерина Александровна Калабина^{3, 4}**

¹ Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН, Кемерово, Россия

² Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия, Кемерово, Россия,
ssheremetova@rambler.ru

³ Национальный исследовательский томский государственный университет, Томск, Россия,
pinkoctopoda@gmail.com

⁴ Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН, Томск, Россия

^{5✉} b.g.andreev@mail.ru

Аннотация. Приведены результаты экологического анализа флоры сосудистых растений г. Кемерово. Исследования проводились методом модельных выделов в 2021–2023 гг. Растения флоры г. Кемерово распределялись по соответствующим группам согласно шкалам оптимумов для видов Западной и Южной Сибири [Королук, 2006; Ильминских 2021]. Анализ флоры проводился в соответствии с методическими рекомендациями В.М. Шмидта [1984], Б.М. Миркина и Л.Г. Наумовой [2017] с использованием пакетов программ Microsoft Office и IBIS [Зверев, 2007]. Для анализа экотопологической структуры города выделено 14 функциональных зон. По отношению к основным экологическим факторам все сосудистые растения флоры г. Кемерово распределены в группы по факторам: увлажнение, богатство и засоление почв, освещённость-затенение. По отношению к основным абиотическим факторам изученная флора характеризуется как гигромезофитно-мезогигрофитная, мезотрофная и гелиофитно-гелиосциофитная. Отмечено, что флора г. Кемерово отличается более ксерическими и гелиофитными чертами, по сравнению с флорой прилегающих природных территорий. Установлено, что городская среда способствует значительному увеличению числа видов, произрастающих на небогатых и слабокислых почвах. Сравнение соотношения экологических групп чужеродного и аборигенного компонентов флоры демонстрирует привнесение ксерических черт во флору города адвентивной фракцией.

Ключевые слова: экологическая структура, метод модельных выделов, флора города, сосудистые растения, город Кемерово

Для цитирования: Андреев Б. Г., Шереметова С. А., Калабина К. А. Экологическая структура флоры города Кемерово // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 1. С. 5–15. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-5-15>.

Благодарности: работа выполнена в рамках госзадания: АААА-А21-121011590010-5 «Разработка научных основ оценки состояния и восстановления флористического разнообразия in situ и ex situ в регионах с высокой степенью деградации экосистем в результате антропогенного и техногенного воздействий» с использованием коллекционного фонда УНУ Гербарий Кузбасского ботанического сада (КУЗ) № USU 508667.

BOTANY

Original article

Ecological structure of the city of Kemerovo flora

Boris G. Andreyev^{1, 5✉}, Svetlana A. Sheremetova^{1, 2}, Katerina A. Kalabina^{3, 4}

¹ Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry SB RAS, Kemerovo, Russia

² Kemerovo State Agricultural Institute, Kemerovo, Russia, ssheremetova@rambler.ru

³ National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia, pinkoctopoda@gmail.com

⁴ Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems, Tomsk, Russia

^{5✉} b.g.andreev@mail.ru

Abstract. The article presents the results of the ecological analysis of the flora of higher plants of Kemerovo are presented. The research was carried out by the method of model areas in 2021–2023. Vascular plants of the

Kemerovo flora were distributed into appropriate groups according to the scales of optima for species of Western and Southern Siberia [Ilminskikh, 2021; Korolyuk, 2006]. The flora analysis was carried out in accordance with the methodological recommendations of M.V. Schmidt [1984] and B.M. Mirkin and L.G. Naumova [2017] using Microsoft Office and IBIS software packages [Zverev, 2007]. 14 functional zones were identified to analyze the ecotopological structure of the city. According to the main environmental factors, all vascular plants of the Kemerovo flora are divided into groups according to factors: humidity, salinity and richness, illuminance and shading of soils. According to the main abiotic factors, the flora of Kemerovo is characterized as hygromesophytic-mesohygrophytic, mesotrophic and heliophytic-helioscophytic. It is noted that the flora of the city of Kemerovo differs in more xeric and heliophytic features, compared with the flora of adjacent natural territories. It is established that the urban environment contributes to a significant increase in the number of species growing on poor and slightly acidic soils. A comparison of the ratio of the ecological groups of the alien and indigenous components of the flora demonstrates the introduction of xeric features into the flora of the city by the non-native faction.

Keywords: ecological structure, method of model areas, flora of the city, vascular plants, Kemerovo city

For citation: Andreyev B. G., Sheremetova S. A., Kalabina K. A. [Ecological structure of the city of Kemerovo flora]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 1 (2024): pp. 5-15. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-5-15>.

Acknowledgments: the work carried out within the framework of the state task: AAAAA-A21-121011590010-5 "Development of scientific foundations for assessing the state and restoration of floral diversity in situ and ex situ in regions with a high degree of ecosystem degradation as a result of anthropogenic and man-made impacts", using the collection fund of the UNU Herbarium of the Kuzbass Botanical Garden (KUZ) No. 508667.

Введение

Одним из перспективных направлений урбанофлористики XXI в. является изучение экотопологической структуры флоры городов, в том числе и их экологических особенностей [Урбанофлористика ..., 2021]. Поскольку городская среда является результатом целенаправленной трансформации человеком природных ландшафтов, постольку растения испытывают на себе совокупное воздействие антропогенного и абиотического факторов. Факторы увлажнения, богатства, засоления почв, освещённости и затенения каждой функциональной зоны города определяют возможность появления и закрепления или последующего исчезновения вида с исследуемой территории.

В настоящее время для территории Сибири имеются данные по исследованию флоры целого ряда городов [Мерзлякова, 1997; Суткин, 2002; Буданова, 2003; Копытина, 2003; Хозяинова, 2004; Рябовол, 2007; Шорина, 2010; Черных, 2012; Кулешова, 2013; Шанмак, 2019; Чеботарёва, 2023], которые различаются не только географическим положением и, соответственно, климатическими условиями, но и площадью, населением, датами основания, особенностями застройки частей города. Эти особенности затрудняют проведение сравнительного анализа флоры различных городских территорий. В основном, в работах, касающихся экологической структуры флоры городов, приводятся данные по отношению видов к фактору увлажнения почв и отмечается, что в целом экологический спектр соответствует природной зоне, в которой находится город. В отношении адвентивной фракции флоры городов существует тенденция к ксерофитизации. Исходя из того, что имеющиеся работы в основном рассматривают только фактор увлажнения, видится необходимость изучения экологической структуры флоры города по отношению и к другим экологическим факторам. В частности, человеческая деятельность влияет на такие факторы, как освещённость-затенение, богатство-засоление, т.к. человек возводит высокие сооружения, создавая условия затенения, меняющиеся в течении дня, а также изменяет почвенные условия, уничтожая или трансформируя почвенный покров, внося различные химические вещества как осознанно, так и неосознанно [Герасимова и др., 2003].

Первые сведения о флоре г. Кемерово стали появляться в выпускных квалификационных работах студентов Кемеровского госуниверситета К.С. Лазарева и Е.А. Фоминой, защищённых в 1997 и 2005 гг. соответственно. К сожалению, составленные ими списки флоры не были опубликованы, но в гербарии Кемеровского государственного университета (КЕМ) осталась значительная часть их сборов. Специальных исследований, затрагивающих экологическую структуру флоры, до настоящего времени не проводилось. В данной работе впервые приводятся особенности экологической структуры флоры в целом и отдельных функциональных зон г. Кемерово.

Кемерово – крупный промышленный региональный центр в Юго-Западной Сибири площадью 294.8 км² [Регионы России, 1999–2023], расположенный в равной степени на правом и левом берегах р. Томи, с населением 549 362 чел. История города начинается с 1925 г., когда из двух соседствующих деревень – Кемерово и Щеглово – был образован г. Щегловск, который в 1932 г. переименовали в Кемерово. Кемерово — крупный промышленный центр. Угольная горнодобывающая промышленность является основной отраслью города, второй по значимости является металлургия. Хорошо развита химическая про-

мышленность, представленная деятельностью коксохимического завода, предприятиями по производству азотных удобрений, пороховым заводом.

Согласно схеме ботанико-географического районирования [Куминова, 1950], территория г. Кемерово относится к Инско-Томскому лесостепному району, а по системе флористического районирования – к Кузнецкой котловине [Флора Кемеровской области, 2023]. Характерной особенностью Кузнецкой котловины является высокая плотность населения и самая большая степень антропогенной трансформации. Сохранившиеся участки естественной растительности в пределах города представлены берёзовыми, березово-осиновыми лесами, сосновыми борами (в правобережной части по склонам коренного берега р. Томи), различными вариантами степных (также склоны правого коренного берега р. Томи) и луговых сообществ. Почвенный покров левобережной части представлен преимущественно лесовидными карбонатными суглинистыми и легкоглинистыми аллохтонными отложениями лесостепи Кузнецкой котловины, правобережной части – суглинистыми и глинистыми бескарбонатными делювиальными, реже пролювиально-делювиальными наносами пояса нижней тайги, на которых располагаются оподзоленные и выщелоченные чернозёмы, серые лесные и лугово-чернозёмные почвы. Среднегодовая сумма осадков составляет 400–500 мм, район исследования характеризуется как умеренно увлажнённый и умеренно тёплый [Трофимов, 1975].

Материалы и методы исследования

Основой работы послужили материалы экспедиционных исследований, проведенных в г. Кемерово в течение полевых сезонов 2021–2023 гг., в ходе которых было собрано около 1 200 гербарных образцов, составлено 176 флористических списков и 360 геоботанических описаний. При составлении общего списка видов учтены данные гербариев Кузбасского ботанического сада (КУЗ) [Свидетельство о государственной ..., 2021] и Кемеровского государственного университета (КЕМ), а также литературные данные.

При проведении полевых исследований был использован метод модельных выделов [Ильминских, 2014]. В зависимости от степени нарушенности почвенного покрова флора города была подразделена на собственно урбанофлору, где почвенный покров был значительно трансформирован, и субурбанофлору, где условия обитания растений меняются опосредованно. Внутри урбанофлоры выделялись участки с разным хозяйственным назначением, где в зависимости от целей трансформации создавались специфические условия, в которых происходит регулярное или нерегулярное воздействие на растения, в т.ч. внесение новых и(или) уничтожение старых видов. С учетом всех особенностей городских местообитаний в пределах административной границы г. Кемерово было выделено 14 функциональных зон: многоэтажная жилая (МН), одноэтажная жилая (ОДН), приусадебная (СНТ), промышленная (ПРОМ), железнодорожная (ЖД), придорожная – трассы и трамвайные пути (ТР), свалочная (СВ), кладбищенская (КЛ), декоративная (ДЕК), лесная (ЛЕС), суходольных лугов (СЛ), заливных лугов (ЗЛ), каменистых обнажений и степей (СТ), рек и озёр (ВОДН). Для каждой из функциональных зон было заложено от 4 до 9 модельных выделов – квадратов площадью 250 × 250 м [Андреев, 2022].

Таксоны приведены по последней региональной сводке «Флора Кемеровской области» [2023], с учетом «Конспекта флоры Азиатской России» [2012] и «Флоры Сибири» [1987–2003], названия таксонов выверялись по IPNI [International ..., 2004].

Условно однородные экологические группы выделялись в соответствии с «Методическими указаниями...» [1974] и методологическими разработками Л.Г. Раменского, И.А. Цаценкина, О.Н. Чижикова, Н.А. Антипина [Экологическая оценка ..., 1956] и Д.Н. Цыганова [1983]. Формализованные параметры видов сопоставлялись с реальными условиями произрастания видов в городе. Анализ флоры проводился в соответствии с методическими рекомендациями В.М. Шмидта [1984] и Б.М. Миркина и Л.Г. Наумовой [2017] при помощи пакетов программ Microsoft Office и IBIS [Зверев, 2007].

При анализе экологической структуры флоры г. Кемерово в первую очередь учитывалась совокупность видов без разделения на адвентивную и аборигенную фракцию. Так как чужеродные виды в городских агломерациях зачастую характеризуются высокой частотой встречаемости и активностью, приведены данные отдельно для адвентиков по отношению к конкретным экологическим факторам.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что в настоящее время флора г. Кемерово представлена 827 видами, из них 222 вида являются чужеродными (156 инвазивных и 66 культивированных), 407 родами и 101 семейством.

По отношению к основным экологическим факторам все сосудистые растения флоры г. Кемерово распределены в группы по факторам увлажнения, богатства и засоления почв, освещённости-затенения.

По условиям увлажнения для флоры города выделено 7 групп (табл. 1) согласно экологическим оптимумам, рассчитанным А.Ю. Королюком [2006] и Н.Г. Ильминских [2021].

Группа ксеромезофитов (КСМ) (среднестепные виды) включает растения с оптимальными значениями 40–46. В административных границах города подобные виды чаще встречаются на суходольных лугах, остепнённых склонах, в сухих сосновых лесах, вдоль дорог и трамвайных путей. Она насчитывает 63 вида: *Adonis vernalis* L., *Agropyron cristatum* (L.) Gaertn., *Artemisia frigida* Willd., *Astragalus testiculatus* Pall., *Carex duriuscula* C.A. Mey., *Eremogone saxatilis* (L.) Ikonn., *Galatella angustissima* (Tausch) Novopokr., *Goniolimon speciosum* (L.) Boiss., *Lepidium densiflorum* Schrad., *Potentilla acaulis* L., *Scorzonera austriaca* Willd., *Senecio dubitabilis* C. Jeffrey et Y.L. Chen, *Seseli ledebourii* G. Don, *Sisymbrium polymorphum* (Murray) Roth., *Spiraea hypericifolia* L., *Stipa capillata* L. и др. Группа мезоксерофитов (сухостепных видов) с экологическим оптимумом 31–39, которая представлена одним видом – *Androsace maxima* L., объединена с группой ксеромезофитов.

Мезофиты (М) – влажностепные и лугово-степные виды с экологическим оптимумом 47–52. На территории города отмечены следующие представители данной экологической группы: *Amaranthus blitoides* S. Wats., *Androsace lactiflora* Fisch. ex Duby, *Arenaria serpyllifolia* L., *Artemisia absinthium* L., *A. dracunculus* L., *A. gmelinii* Web. ex Stechm., *Astragalus danicus* Retz., *Campanula sibirica* L., *Pulsatilla multifida* (Pritz.) Juz., *Phlomidoides tuberosa* (L.) Moench, *Setaria viridis* (L.) P. Beauv., *Sisymbrium officinale* (L.) Scop., *Tragopogon orientalis* L. и др.; всего 131 вид.

Гигромезофиты (ГигМ) имеют оптимальные условия увлажнения на ступенях 53–63 балла. В природе преимущественно обитают на сухих и свежих лугах, в лесах. В условиях города многие относятся к адвентивным и культивируемым видам, способным надолго задерживаться в местах культивирования. Данная экологическая группа является самой многочисленной и насчитывает 288 видов. Часто в пределах функциональных зон можно встретить следующих представителей: *Acer negundo* L., *Amoria hybrida* C. Presl, *Arabis sagittata* (Bertol.) DC., *Adenophora lilifolia* (L.) A. DC., *Angelica decurrens* (Ledeb.) B. Fedtsch., *Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub, *Chenopodium hybridum* L., *Lathyrus humilis* (Ser.) Spreng., *Lilium pilosiusculum* (Frey) Miscz., *Lupinaster pentaphyllus* Moench, *Matricaria recutita* L., *Myosotis imitata* Serg., *Oxytropis campanulata* Vass, *Potentilla chrysantha* Trev., *Sedum aizoon* L., *Veronica krylovii* Schischk. и др.

Мезогигрофиты (МГиг) – растения, предпочитающие условия с более высоким уровнем увлажнения, чем гигромезофиты. Экологический оптимум в пределах 64–76. Это представители местообитаний влажных лесов и лугов: *Abies sibirica* Ledeb., *Agrostis gigantea* Roth., *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm., *Cirsium helenioides* (L.) Hill., *Cruciata krylovii* (Иjin) Pobed., *Equisetum pratense* Ehrh., *Festuca gigantea* (L.) Vill., *Inula helenium* L., *Myosotis palustris* (L.) Nathh., *Padus avium* Mill., *Poa trivialis* L., *Primula pallasii* Lehm., *Salix rorida* Laksch., *Solanum kitagawae* Schonb.-Tem., *Thysselium palustre* (L.) Hoffm.

Гигрофиты (Гиг) – сыролуговые виды с оптимальными значениями в диапазоне 77–88. Наибольшее видовое разнообразие отмечено в лесах и на лугах в условиях избыточно увлажнённых местообитаний с высокой влажностью воздуха и почвы. Это *Bidens tripartita* L., *Calamagrostis neglecta* (Ehrh.) Gaertn., B. Mey. & Schreb., *Carex vesicaria* L., *Epilobium hirsutum* L., *Lycopus europaeus* L., *Oxalis acetosella* L., *Rorip-pa palustris* (L.) Besser, *Salix cinerea* L.

В группу гелофитов (Гел) (болотные виды) включаем и гигрогелофиты (виды болотно-луговой группы) с оптимальными условиями увлажнения 89–103. Они встречаются на заболоченных участках лугов и лесов. В г. Кемерово представлены в понижениях рельефа в большинстве модельных выделов: дренажных канавах, траншеях вдоль дорог, в том числе трамвайных и железнодорожных путей. Представители: *Bidens radiata* Thuill., *Caltha palustris* L., *Carex acuta* L., *C. rostrata* Stokes, *Cicuta virosa* L., *Equisetum fluviatile* L., *Ptarmica salicifolia* (Bess.) Serg., *Carex disticha* Huds., *C. vulpina* L., *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.

Гидрофиты (Гид) – водные растения и гелофиты-гидрофиты (прибрежно-водные) (оптимум 104–120). Представители этой группы находят подходящие условия в р. Томь и по ее берегам, в городской черте встречаются в искусственных водоёмах парков, в озёрах. Основные представители: *Alisma plantago-aquatica* L., *Butomus umbellatus* L., *Ceratophyllum demersum* L., *Hydrilla verticillata* (L. f.) Royle, *Hydrocharis morsus-ranae* L., *Myriophyllum verticillatum* L., *Naumburgia thyrsiflora* (L.) Reichenb., *Potamogeton pectinatus* L. *Sagittaria natans* Pall.

Функциональные зоны в табл. 1 ранжированы от засухолюбивых к влаголюбивым в зависимости от представленности каждой из экологических групп в конкретной группе местообитаний.

В составе флоры преобладают группы гигромезофитов (288 видов (34,8%)) и мезогигрофитов (233 вида (28,2%)). Соответственно, для г. Кемерово характерны условия умеренного увлажнения, что соответствует природной зоне, в которой расположен город. Больше половины видов флоры имеют оптимальные условия произрастания на лугах и в лесах с умеренным увлажнением, к тому же многие виды городской флоры обладают относительно высокой экологической пластичностью.

Для чужеродной фракции отмечено преобладание мезогигрофитов (73 вида) и гигромезофитов (64), третье место занимают мезофиты (51), ксеромезофиты и мезоксерофиты объединяют 19 видов, гидрофиты – 13. Самое большое количество чужеродных растений отмечается для группы мезофитов (38,9%), в остальных экологических группах их вклад значительно ниже (ксеромезофиты – 14 видов, гидрофиты –

13, мезоксерофиты – 5). Сравнение соотношения экологических групп чужеродного и аборигенного компонентов флоры демонстрирует привнесение ксерических черт во флору города адвентивной фракцией. Группы ксеромезофитов и мезофитов во флоре города в целом составляют 23%, а в адвентивной фракции – около 30%.

Таблица 1

Соотношение экологических групп по фактору увлажнения во флоре г. Кемерово
[Correlation of ecological groups by the moisture factor in the flora of the city of Kemerovo]

ФЗ*	Экологические группы							Всего видов
	КСМ	М	ГигМ	МГиг	Гиг	Гел	Гид	
СТ	34	57	71	16	3	-	-	181
ТР	24	57	108	50	3	2	-	244
СЛ	37	82	203	107	23	10	-	462
ПРОМ	8	32	73	32	7	2	-	154
МН	18	58	143	89	15	3	-	326
СВ	9	39	104	63	6	4	-	225
ЖД	7	28	79	44	6	7	-	171
СНГ	11	40	103	71	8	2	1	236
ОДН	16	50	142	97	15	6	-	326
КЛ	7	34	118	79	11	3	-	252
ДЕК	12	34	101	78	12	5	2	244
ЛЕС	14	43	192	144	28	11	-	432
ЗЛ	12	43	142	117	36	14	-	364
ВОДН	1	-	9	17	23	26	15	91
Город	63	131	288	233	60	36	16	827

Примечание. ФЗ – функциональные зоны; расшифровка функциональных зон и экологических групп см. в тексте.

По отношению к фактору богатства и засоления почв во флоре г. Кемерово выделено 6 экологических групп (табл. 2).

Олиготрофы (ступени 4–6, почвы бедные азотом, реакция субстрата кислая) во флоре города не отмечены.

Олигомезотрофы (ОМ) – растения небогатых, слабокислых почв, оптимум видов находится в диапазоне 7–9. Представители группы: *Acer ginnala* Maxim ex Rupg., *Amelanchier spicata* (Lam.) K. Koch., *Athyrium filix-femina* (L.) Roth., *Campanula rapunculoides* L., *Erigeron politus* Fr.

Мезотрофы (М) – растения умеренно богатых азотом почв, ступени – 10–13, среда от слабокислой до нейтральной, являются наиболее многочисленной группой видов по отношению к фактору богатства-засоления во всех функциональных зонах. Это такие виды, как *Achillea asiatica* Serg., *Aconitum septentrionale* Koelle, *Galium boreale* L., *Lathyrus pisiformis* L., *Pimpinella saxifraga* L.

Мезоэутрофы (МЭУ) – растения довольно богатых почв с нейтральной реакцией. Ступени – 14–16. Группа занимает второе место по вкладу в общее видовое разнообразие всех групп местообитаний, кроме лесной: *Achillea millefolium* L., *Alopecurus pratensis* L., *Chenopodium suecicum* Murr., *Convolvulus arvensis* L., *Euphorbia virgata* Waldst. & Kit.

Эутрофы (ЭУ) – растения богатых азотом почв (17–19): *Atriplex patula* L., *Chorispora tenella* (Pall.) DC., *Kochia scoparia* (L.) Schrad., *Lepidium densiflorum*, *Sonchus arvensis* L.

Галофитные эутрофы (ГФЭУ) – виды слабо засоленных, слабощелочных почв. Представители единично встречаются на территории парков, заливных лугов, скальных выходов, многоэтажной и одноэтажной застройки, суходольных лугов, свалок, а также вдоль транспортных путей. Для города Кемерово отмечено всего 2 вида данной группы – *Atriplex patens* Pjin и *Tripolium pannonicum* (Jacq.) Dobroc.

Паразиты (П) – растения, использующие в качестве субстрата другие растения. Часто представители данной группы встречаются на экотонных участках между лесными сообществами и остепненными склонами. Например, *Orobanchae coerulea* Stephan паразитирует на видах рода *Artemisia* L., или *Cuscuta lupuliformis* Krocke, паразитирующая на деревьях и кустарниках.

Для флоры города Кемерово отмечено преобладание растений умеренно богатых почв – мезотрофов (454 вида – 54.9%) и мезоэутрофов (171 вид – 20.7%), в совокупности они включают 75.5% видов флоры. В естественной флоре территорий (бассейнов р. Стрелина и Промышленная – притоков р. Томи), прилегающих к городу, мезотрофы и мезоэутрофы в совокупности также представляют лидирующие группы, но включают более 93% видов, а олигомезотрофы составляют лишь 3% [Шереметова, Шереметов, 2020]. Таким образом, городская среда способствует значительному увеличению числа видов, произрастающих на небогатых и слабокислых почвах, т.к. во флоре г. Кемерово олигомезотрофы составляют более 19%.

Для города наиболее бедные почвы отмечены в лесной и декоративной зонах, а наиболее богатые азотом – в промышленной, на свалках и вдоль дорог (табл. 2).

Таблица 2

Соотношение экологических групп по фактору богатства-засоления во флоре г. Кемерово
[Correlation of ecological groups by the richness/salinity factor in the flora of the city of Kemerovo]

ФЗ	Экологические группы						Всего видов
	ОМ	М	МЭУ	ЭУ	ГфЭУ	П	
ЛЕС	104	247	67	10	-	4	432
ДЕК	57	127	48	11	1	-	244
ВОДН	20	42	23	6	-	-	91
ЗЛ	67	203	71	20	1	2	364
СНГ	38	130	58	9	-	1	236
КЛ	46	143	54	9	-	-	252
СТ	21	101	49	5	1	4	181
МН	57	168	83	17	1	-	326
ОДН	55	178	74	17	1	1	326
СЛ	74	266	96	24	1	1	462
ЖД	29	91	41	10	-	-	171
СВ	30	115	63	15	1	1	225
ПРОМ	20	85	38	11	-	-	154
ТР	36	115	71	20	1	1	244
Город	161	454	171	34	2	5	827

По отношению к световому довольствию (согласно шкале Д.Н. Цыганова [1983]) виды растений г. Кемерово поделены на 3 группы (табл. 3).

Таблица 3

Соотношение экологических групп по фактору освещённости-затенения во флоре г. Кемерово
[Correlation of ecological groups by the illuminance/shading factor in the flora of the city of Kemerovo]

ФЗ	Экологические группы			Всего видов
	Г	ГСЦ	СЦГ	
СТ	114	66	1	181
ТР	155	87	2	244
СВ	115	107	3	225
СЛ	234	222	6	462
СНГ	118	115	3	236
ПРОМ	75	79	-	154
МН	157	164	5	326
ОДН	149	174	3	326
ЖД	78	90	3	171
ВОДН	36	55	-	91
ЗЛ	146	209	9	364
КЛ	101	144	7	252
ДЕК	90	146	8	244
ЛЕС	134	270	28	432
Город	393	405	29	827

Гелиофиты (Г) – совокупность растений открытых местообитаний, представленных внелесной (1) и полевой (2) экологическими свитами. Эта экологическая группа занимает второе место во флоре города. Светолюбивые растения преобладают на остепнённых склонах, вдоль дорог, на свалках, суходольных лугах и в приусадебной зоне: *Anthemis tinctoria* L., *Armoracia rusticana* G. Gaertn, B. Mey. & Scherb, *Beckmannia syzigachne* (Steud.) Fernald, *Carduus crispus* L., *Cichorium intybus* L.

Гелиосциофиты (ГСЦ) – растения полуоткрытых местообитаний (кустарниковая (3) и разреженно-лесная (4) экологические свиты) и светлых лесов (5), испытывающие незначительное затенение, но имеющие доступ к прямому солнечному свету. Данная группа является доминирующей во флоре по причине неоднородности городского ландшафта: человек целенаправленной деятельностью, воздвигая здания, создал экологические ниши, где растения в течение дня находятся в затенении на протяжении нескольких часов, хотя и произрастают на открытых пространствах. Гелиосциофиты преобладают в промы-

ленной зоне, многоэтажной и одноэтажной жилой застройке, на железнодорожных станциях, в водоёмах, на заливных лугах, кладбищах, в парках и лесу: *Aegopodium podagraria* L., *Anemonoides caerulea* (DC.) Holub, *Arctium lappa* L., *Asparagus officinalis* L., *Corydalis bracteata* Pers.

Сциогелиофиты (СЦГ) – растения, входящие в густосветло-лесную (6) и тенисто-лесную экологические свиты (7), испытывающие значительное затенение. Группа является малочисленной по причине антропогенной трансформации значительных территорий города под нужды человека. Наиболее показательные представители: *Adoxa moschatellina* L., *Chimaphila umbellata* (L.) W.C.P. Barton, *Circaea lutetiana* L., *Dryopteris carthusiana* (Vill.) H.P. Fuchs, *Ranunculus monophyllus* Ovcz.

В г. Кемерово соотношение групп гелиофитов и гелиосциофитов примерно составляет 1:1. В условиях естественных флор Кемеровской области [Шереметова, Шереметов, 2020] данные группы находятся в соотношении 1.4 : 1, что отражает влияние городской среды на состав экологических групп по отношению к свету – в городе увеличивается количество теневыносливых растений. В условиях городской среды к местообитаниям с наибольшей долей светолюбивых растений относятся остепнённые склоны и скальные обнажения, с наибольшей долей тенелюбивых – слаботрансформированные леса (табл. 3).

Соотношение видов флоры г. Кемерово по двум экологическим факторам – увлажнения и богатства-засоления – показывает, что основное число видов распределено между мезотрофными гигромезофитами (21.8%) и мезотрофными мезогигрофитами (14.2%), что соответствует ведущим группам, выделенным при однофакторном анализе. Меньший, но значительный вклад в видовое разнообразие городской флоры вносят мезотрофные мезофиты (9.31%), олигомезотрофные гигромезофиты (5.3%), олиготрофные мезогигрофиты (7.5%) и мезоэутрофные гигромезофиты (6.2%) (табл. 4). Среди гигромезофитов и мезогигрофитов олигомезотрофы (149 видов, 18.1%) и мезоэутрофы (171 вид, 20.7%) занимают вторые позиции в экологическом спектре по отношению видов к богатству почв азотом, а мезофиты (131 вид, 15.8%) являются третьими по отношению к оптимальному увлажнению среди мезотрофов.

Таблица 4

Распределение видов флоры г. Кемерово по экологическим группам, факторы увлажнения и богатства-засоления

[Flora species distribution in the city of Kemerovo by ecological groups, factors of moisture and richness\salinity]

Богатство-засоление	Увлажнение						
	КСМ	М	ГигМ	МГиг	Гиг	Гел	Гид
ОМ	2	12	50	67	21	6	3
М	28	77	180	117	25	17	10
МЭУ	23	33	51	39	11	11	3
ЭУ	10	5	7	7	3	2	-
ГфЭУ	-	1	-	1	-	-	-
П	-	3	-	2	-	-	-

При анализе соотношения видов по факторам увлажнения и освещённости-затенения отметим, что лидирующие по числу видов группы во флоре г. Кемерово представляют гелиофитные мезофиты (12.2%), гелиофитные гигромезофиты (15.5%), гелиосциофитные гигромезофиты (18.9%) и гелиосциофитных мезогигрофиты (18.1%). Среди светолюбивых растений большую долю составляют растения более засушливых местообитаний, среди теневыносливых – более влаголюбивые виды (табл. 5).

Таблица 5

Распределение видов флоры г. Кемерово по экологическим группам, факторы увлажнения и освещённости-затенения

[Flora species distribution in the city of Kemerovo by ecological groups, factors of moisture and illuminance/shading]

Освещённость-затенение	Увлажнение						
	КСМ	М	ГигМ	МГиг	Гиг	Гел	Гид
Г	54	101	128	65	21	16	8
ГСЦ	9	30	156	149	33	20	8
СЦГ	-	-	4	19	6	-	-

Распределение видов на группы по отношению к факторам освещённости-затенения и богатства-засоления показало преобладание мезотрофов в составе групп гелиофитов и гелиосциофитов, в то время как в группе сциогелиофитов максимально представлены олигомезотрофы. В группе гелиофитов второе место занимают виды, предпочитающие более богатые почвы (мезоэутрофы – 13.1%), а в группе гелиосциофитов – растения небогатых, слабокислых почв (олигомезотрофы – 12.2%) (табл. 6).

Распределение видов флоры г. Кемерово по экологическим группам, факторы освещённости-затенения и богатства-засоления
[Flora species distribution in the city of Kemerovo by ecological groups, factors of richness\salinity and illuminance/shading]

Богатство-засоление	Освещённость-затенение		
	Г	ГСЦ	СЦГ
ОМ	36	107	18
М	213	231	10
МЭУ	108	63	-
ЭУ	31	3	-
ГфЭУ	2	-	-
П	3	1	1

Заключение

В ходе проведенного исследования экологической структуры флоры установлено, что в условиях г. Кемерово преобладающими экологическими группами по отношению к фактору увлажнения являются гигромезофиты (288 видов, 34.8%), мезогигрофиты (233 вида, 28.1%) и мезофиты (131 вид, 15.8%). Таким образом, для большинства видов города оптимальные условия увлажнения – умеренные. Сравнение экологических групп по отношению к режиму увлажнения для чужеродного и аборигенного компонентов флоры демонстрирует привнесение ксерических черт во флору города адвентивной фракцией. Группы ксеромезофитов и мезофитов во флоре города в целом составляют 23%, а в адвентивной фракции – 30%.

Установлено, что по отношению к фактору богатства-засоления почв подавляющее большинство видов флоры города представлено мезотрофами (454 вида, 54.9%), мезоэутрофами (171 вид, 20.7%) и олигомезотрофами (149 видов, 18.1%). Оптимальными для видов г. Кемерово являются почвы умеренно богатые азотом. Следовательно, городская среда способствует значительному увеличению числа видов, произрастающих на небогатых и слабокислых почвах, т.к. в изученной флоре олигомезотрофы составляют более 19%, тогда как на прилегающих природных территориях их доля не превышает 3%. Для г. Кемерово наиболее бедные почвы отмечены в лесной и декоративной зонах, а наиболее богатые азотом – в промышленной, на свалках и вдоль дорог. Требования растений к почвам по содержанию азота практически не отличались в различных функциональных зонах.

По отношению к освещённости-затенению основу флоры г. Кемерово составляют теневыносливые (405 видов, 48.9%) и светолюбивые (393 вида, 47.5%) виды, в отличие от природных флор, где на первом месте находятся гелиофиты. По отношению к условиям освещённости-затенения функциональные зоны разделились на три группы: первая – с преобладанием светолюбивых растений, куда вошли скальные выходы и острепённые склоны, дорожная сеть, вторая – с соотношением светолюбивых и теневыносливых растений 1:1, куда вошли свалки, суходольные луга, СНТ, промышленная зона, многоэтажная и одноэтажная жилые зоны и железнодорожные станции, третья – с преобладанием теневыносливых: водоёмы, заливные луга, кладбища, парковые зоны и леса.

Двухфакторный анализ видов позволяет сделать вывод, что экологическая структура флоры г. Кемерово – мезогигрофитно-гигромезофитная, мезотрофно-гелиофитно-гелиосциофитная.

В целом природные условия г. Кемерово, структура и разнообразие функциональных зон обеспечивают относительно высокое видовое богатство флоры города и определяют специфику флористического состава: природные условия – условия увлажнения и богатство-засоление почв, а целенаправленная деятельность человека – условия освещённости-затенения.

Список источников

1. Андреев Б.Г. Экопопология структура флоры города Кемерово // Развитие – 2022: сб. тр. ежегод. конф. молодых ученых ФИЦ УУХ СО РАН. Кемерово, 2022. С. 253–261.
2. Буданова М.Г. Флора сосудистых растений города Омска: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2003. 20 с.
3. Герасимова М.И. и др. Антропогенные почвы (генезис, география, рекультивация). Смоленск: Ойкумена, 2003. 268 с.
4. Зверев А.А. Информационные технологии в исследованиях растительного покрова. Томск, 2007. 301 с.
5. Ильминских Н.Г. Флорогенез в условиях урбанизированной среды. Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 2014. 470 с.

6. Ильминских Н.Г. Экофлора Урала и Западной Сибири (формализованные параметры видов). Ижевск: Удмуртский университет, 2021. 480 с.
7. Конспект флоры Азиатской России: сосудистые растения / под ред. К.С. Байкова. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. 640 с.
8. Копытина Т.М. Флора города Рубцовска и его окрестностей: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Барнаул, 2003. 17 с.
9. Корольюк А.Ю. Экологические оптимумы растений юга Сибири // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. 2006. № 12. С. 3–28.
10. Кулешова Ю.В. Флора г. Сосновоборска: юг Средней Сибири, Красноярский край: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Улан-Удэ, 2013. 19 с.
11. Куминова А.В. Растительность Кемеровской области. Новосибирск: ОГИЗ. 1950. 167 с.
12. Мерзлякова И.Е. Флора сосудистых растений города Томска: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 1997. 23 с.
13. Методические указания по экологической оценке кормовых угодий лесостепной и степной зон Сибири по растительному покрову / отв. ред. И.А. Савченко. М., 1974. 247 с.
14. Миркин Б.М., Наумова Л.Г. Введение в современную науку о растительности. М.: ГЕОС, 2017. 280 с.
15. Регионы России. Основные социально-экономические показатели городов. 1999–2023. URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/210/document/13206> (дата обращения 15.09.2023).
16. Рябовол С.В. Флора г. Красноярска: сосудистые растения: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Красноярск, 2007. 20 с.
17. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021621654 Российская Федерация. Гербарий Кузбасского ботанического сада (КУЗ). Кемеровская область: № 2021621531: заявл. 27.07.2021: опубл. 03.08.2021 / Б.Г. Андреев, А.Н. Куприянов, И.А. Хрусталева [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук». – EDN WPAHRS.
18. Суткин А.В. Флора сосудистых растений г. Улан-Удэ: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Улан-Удэ, 2002. 18 с.
19. Трофимов С.С. Экология почв и почвенные ресурсы Кемеровской области. Новосибирск: Наука, 1975. 300 с.
20. Урбанофлористика в России: современное состояние и перспективы / А.С. Третьякова, О.Г. Баранова, С.А. Сенатор и др. // Turczaninowia. 2021. Т. 24, № 1. С. 125–144.
21. Флора Кемеровской области / отв. ред. С.А. Шереметова. Новосибирск, 2023. 520 с.
22. Флора Сибири: в 14 т. Новосибирск, 1987–2003. Т. 1–14.
23. Хозяинова Е.Ю. Флора травянистых растений в условиях урбанизированной среды: на примере города Тюмени: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Тюмень, 2004. 21 с.
24. Цыганов Д.Н. Фитоиндикация экологических режимов в подзоне хвойно-широколиственных лесов. М.: Наука, 1983. 198 с.
25. Чеботарева О.П. Флора г. Абакана: республика Хакасия: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2023. 27 с.
26. Черных О.А. Флора города Бийска и его окрестностей: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Барнаул, 2012. 18 с.
27. Шанмак Р.Б. Флора города Кызыла: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 2019. 17 с.
28. Шереметова С.А., Шереметов Р.Т. Бассейн реки Томь: флористические и физико-географические особенности. Новосибирск: Гео, 2020. 323 с.
29. Шмидт В.М. Математические методы в ботанике. Л.: Изд-во ЛГУ, 1984. 285 с.
30. Шорина А.А. Флора города Заринска и его окрестностей: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Барнаул, 2010. 15 с.
31. Экологическая оценка кормовых угодий по растительному покрову / Л.Г. Раменский, И.А. Цаценкин, О.Н. Чижиков, Н.А. Антипин. М.: Сельхозгиз, 1956. 472 с.
32. International Plant Name Index (IPNI). 2004. URL: <https://www.ipni.org/> (дата обращения 10.09.2022).

References

1. Andreyev B.G. [Ecotopological structure of Kemerovo city flora]. *Razvitie – 2022. Sbornik. trudov.* [Development – 2022: proceedings of the annual conference of Young scientists of the FITZ UUH SB RAS]. Kemerovo, 2022, pp. 253–261. (In Russ.).
2. Budanova M.G. *Flora sosudistych rastenij goroda Omska. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Flora of vascular plants of the city of Omsk. Abstract Cand. Diss.]. Tomsk, 2003. 20 p. (In Russ.).
3. Gerasimova M.I., Stroganova M.N., Mozharova N.V., Prokofyeva T.V. *Antropogennye počvy (genezis, geografija, rekultivacija)* [Anthropogenic soils (genesis, geography, land reclamation)]. Smolensk, Ojkumena Publ., 2003. 268 p. (In Russ.).

4. Zverev A.A. *Informacionnye tehnologii v issledovanijach rastitel'nogo pokrova* [Information technologies in vegetation cover research]. Tomsk, 2007. 301 p. (In Russ.).
5. Ilminskikh N.G. *Florogenez v uslovijach urbanizirovannoi sredy* [Florogenesis in an urbanized environment]. Ekaterinburg, UrO RAN Publ., 2014. 470 p. (In Russ.).
6. Ilminskikh N.G. *Écoflora Urala i Zapadnoj Sibiri (formalizovannye parametry vidov)* [Ecoflora of the Ural and Western Siberia (formalized parameters of species)]. Izhevsk, Udm. universitet Publ., 2021. 480 p. (In Russ.).
7. Baikov K.S., ed. *Konspekt flory Aziatskoj Rossii: sosudistye rastenija* [Summary of the flora of Asian Russia: vascular plants]. Novosibirsk, Izd-vo SO RAN Publ., 2012. 640 p. (In Russ.).
8. Kopitina T.M. *Flora goroda Rubtsovskaja i ego okrestnostej. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Flora of the city of Rubtsovsk and its surroundings. Abstract Cand. Diss.]. Barnaul, 2003. 17 p. (In Russ.).
9. Koroljuk A.Ju. [Ecological optima of plants in the south of Siberia] *Botaničeskije issledovanija Sibiri i Kazachstana*. No. 12 (2006): pp. 3–28. (In Russ.).
10. Kuleshova Ju.V. *Flora g. Sosnovoborskaja: jug Srednej Sibiri. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Flora of Sosnovoborsk. Abstract Cand. Diss.]. Ulan-Ude, 2013. 19 p. (In Russ.).
11. Kuminova A.V. *Rastitel'nost' Kemerovskoj oblasti* [Vegetation of the Kemerovo region]. Novosibirsk, OGIZ Publ., 1950. 167 p. (In Russ.).
12. Merzlyakova I.Je. *Flora sosudistych rastenij goroda Tomskaja. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Flora of vascular plants of the city of Tomsk. Abstract Cand. Diss.]. Tomsk, 1997. 23 p. (In Russ.).
13. Savchenko. I.A., ed. *Metodičeskije ukazanija po ékologičeskoj ocenke kormovyh ugodii lesostepnoi i stepnoi zon Sibiri po rastitel'nomu pokrovu* [Methodological guidelines for the ecological assessment of forage lands of the forest-steppe and steppe zones of Siberia by vegetation cover]. Moscow, 1974. 247 p. (In Russ.).
14. Mirkin B.M., Naumova L.G. *Vvedenie v sovremennuju nauku o rastitel'nosti* [Introduction to modern vegetation science]. Moscow, GEOS Publ., 2017. 280 p. (In Russ.).
15. *Regiony Rossii* [Regions of Russia. The main socio-economic indicators of cities]. 1999–2023. Available at: <https://rosstat.gov.ru/folder/210/document/13206> (accessed 09.15.2023). (In Russ.).
16. Rjabovol S.V. *Flora goroda Krasnojarskaja: sosudistije rastenija. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Flora of Krasnojarsk: vascular plants. Abstract Cand. Diss.]. Krasnojarsk, 2007. 20 p. (In Russ.).
17. Certificate of state registration of the database No. 2021621654 Russian Federation. Herbarium of the Kuzbass Botanical Garden (KUZ). Kemerovo Region: No. 2021621531 : application. 07/27/2021 : publ. 08/03/2021 / B.G. Andreyev, A.N. Kupriyanov, I.A. Khrustaleva [et al.] ; applicant Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Center for Coal and Coal Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences".(In Russ.).
18. Sutkin A.V. *Flora sosudistych rastenij g. Ulan-Ude. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Flora of vascular plants of Ulan-Ude. Abstract Cand. Diss.]. Ulan-Ude, 2002. 18 p. (In Russ.).
19. Trofimov S.S. *Ékologija počv i počvennye resursy Kemerovskoj oblasti* [Soil ecology and soil resources of the Kemerovo region]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1975. 300 p. (In Russ.).
20. Tretjakova A.S., Baranova O.G., Senator S.A. et al. [Urban Floristics in Russia: current state and prospects]. *Turczaninovia*, V. 24, No. 1 (2021): pp. 125-144. (In Russ.).
21. Sheremetova S.A., ed. *Flora Kemerovskoi oblasti* [Flora of the Kemerovo region]. Novosibirsk, 2023. 520 p. (In Russ.).
22. *Flora Sibiri* [Flora of Siberia: in 14 volumes]. Novosibirsk, 1987–2003. V. 1-14. (In Russ.).
23. Khozjainova Je.Ju. *Flora travjanistych rastenij v uslovijach urbanizirovannoj sredy: na primere goroda Tjumeni. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Flora of herbaceous plants in an urbanized environment : An example of the city of Tyumen. Abstract Cand. Diss.]. Tjumen, 2004. 21 p. (In Russ.).
24. Tsiganov D.N. *Fitoindikacija ékologičeskich režimov v podzone chvojno-širokolistvennyh lesov* [Phytoindication of ecological regimes in the subzone of coniferous-deciduous forests]. Moscow, Nauka Publ., 1983. 198 p. (In Russ.).
25. Chebotareva O.P. *Flora g. Abakana: respublika Chakasija. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Flora of the city of Abakan. Abstract Cand. Diss.]. Tomsk, 2023. 27 p. (In Russ.).
26. Chernikh O.A. *Flora goroda Bijskaja i ego okrestnostej. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Flora of the city of Biysk and its surroundings. Abstract Cand. Diss.]. Barnaul, 2012. 18 p. (In Russ.).
27. Shanmak R.B. *Flora goroda Kizila. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [The flora of the city of Kyzyl. Abstract Cand. Diss.]. Novosibirsk, 2019. 17 p. (In Russ.).
28. Sheremetova S.A., Sheremetov R.T. *Bassejn reki Tom': florističeskije i fiziko-geografičeskije osobennosti* [The Tom River basin: floristic and physico-geographical features]. Novosibirsk, Geo Publ., 2020. 323 p. (In Russ.).
29. Shmidt V.M. *Matematičeskije metody v botanike* [Mathematical methods in botany]. L., Izd-vo LGU Publ., 1984. 285 p. (In Russ.).
30. Shorina A.A. *Flora goroda Zarinskaja i ego okrestnostej. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Flora of the city of Zarinsk and its surroundings. Abstract Cand. Diss.]. Barnaul, 2010. 15 p. (In Russ.).

31. Ramenskij L.G., Tsatsenkin I.A., Chizhikov O.N., Antipin N.A. *Ėcologiĉeskaja ocenka kormovyĉ ugodij po rastitel'nomu pokrovu* [Ecological assessment of forage lands by vegetation cover]. Moscow, Sel'choziz Publ., 1956. 472 p. (In Russ.).

32. International Plant Name Index (IPNI). 2004. Available at: <https://www.ipni.org/> (accessed 10.09.2022).

Статья поступила в редакцию 10.12.2023; одобрена после рецензирования 12.01.2024; принята к публикации 05.03.2024.

The article was submitted 10.12.2023; approved after reviewing 12.01.2024; accepted for publication 05.03.2024.

Информация об авторах

Б. Г. Андреев – аспирант, инженер лаборатории гербарий;

С. А. Шереметова – д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории гербарий, профессор;

К. А. Калабина – студент, лаборант лаборатории мониторинга углеродного баланса наземных экосистем.

Information about the authors

B. G. Andreyev – postgraduate student, engineer of the herbarium laboratory;

S. A. Sheremetova – doctor of biology, leading researcher of the herbarium laboratory, professor;

K. A. Kalabina – student of NR TSU, laboratory assistant of IMCES laboratory.

Вклад авторов:

Андреев Б. Г. – планирование эксперимента, сбор и обработка материалов, написание исходного текста, итоговые выводы.

Шереметова С. А. – доработка текста.

Калабина К. А. – дополнение фактор-множеств по условиям богатства-засоления.

Contribution of the authors:

Andreyev B. G. – experiment planning, collection of materials and data processing, writing the draft, final conclusions.

Sheremetova S. A. – followon revision of the text.

Kalabina K. A. – addition of factor sets according to the conditions of richness of soil.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

БОТАНИКА

Научная статья

УДК 581.543 (571.56)

doi: 10.17072/1994-9952-2024-1-16-21

Фенология степных растений Центральной Якутии

Саргылана Захаровна Борисова

Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия, borisova_sz@mail.ru

Аннотация. Приведены результаты многолетних фенологических наблюдений за 139 видами многолетних растений природной флоры Центральной Якутии. Исследования проводились в Ботаническом саду СВФУ, расположенного в окрестностях г. Якутска. В коллекции представлены ведущие по числу видов семейства степной флоры Центральной Якутии, их интродукционная изученность высока: Asteraceae – 58%, Poaceae – 52%, Fabaceae – 67%, Rosaceae – 59%, Caryophyllaceae – 46%, Brassicaceae – 55%, Lamiaceae – 73% всех степных видов семейств. По срокам цветения все интродуценты разделены на весенние (20% видов), раннелетние (48%), летние (27%) и позднелетние (5%) фенологические группы растений. Число цветущих видов в коллекции увеличивается по мере повышения дневной температуры до +25°C. Период от отрастания до начала цветения (интенсивность развития) у весенних растений длится от 27 до 41 дня, раннелетних – 28–61, летних – 54–73, позднелетних – 87–104. Наибольшие сдвиги сроков начала цветения характерны для летних и позднелетних растений. Степные растения хорошо отзываются на условия культуры, 92% интродуцентов проходят полный цикл развития побега, ежегодно плодоносят, 86% увеличивают численность своих популяций путем семенного или вегетативного самовозобновления. Менее устойчивы поздно цветущие виды.

Ключевые слова: степные растения, фенология, начало вегетации, начало цветения, интенсивность развития, интродукция, ботанический сад, Центральная Якутия

Для цитирования: Борисова С. З. Фенология степных растений Центральной Якутии // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 1. С. 16–21. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-16-21>.

Благодарности: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-24-20099).

BOTANY

Original article

Phenology of steppe plants in Central Yakutia

Sargylana Z. Borisova

Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russia, borisova_sz@mail.ru

Abstract. The article presents the results of long-term phenological observations of 139 species of perennial plants typical for natural flora in Central Yakutia. The research was carried out in the Botanical garden of the North-Eastern Federal University, located in the vicinity of Yakutsk. The collection of the garden presents leading families of the Central Yakutia steppe flora in terms of the number of species; their introduction knowledge is high: Asteraceae make 58, Poaceae - 52, Fabaceae - 67, Rosaceae - 59, Caryophyllaceae - 46, Brassicaceae - 55, Lamiaceae - 73% of all steppe species of the family. Four groups were identified according to the start of vegetation period. According to flowering dates, all introducers are divided into spring (20% of species), early summer (48%), summer (27%) and late summer (5%) phenological groups of plants. The number of flowering species in the collection increases as the daily temperature rises up to +25°C. The period from regrowth to the beginning of flowering (intensity of development) lasts from 27 to 41 days for spring plants, 28-61 days for early summer plants, 54-73 days for summer plants, and 87-104 days for late summer plants. The greatest shifts in the starting dates of flowering are characteristic of summer and late summer plants. Steppe plants respond well to cultural conditions, 92% of introducers undergo a full cycle of shoot development, fructify annually, 86% increase their populations by seed or vegetative restocking. Late flowering species are less resistant.

Keywords: steppe plants, phenology, beginning of growing season\ start of vegetation, beginning of flowering, intensity of development, introduction, botanical garden, Central Yakutia

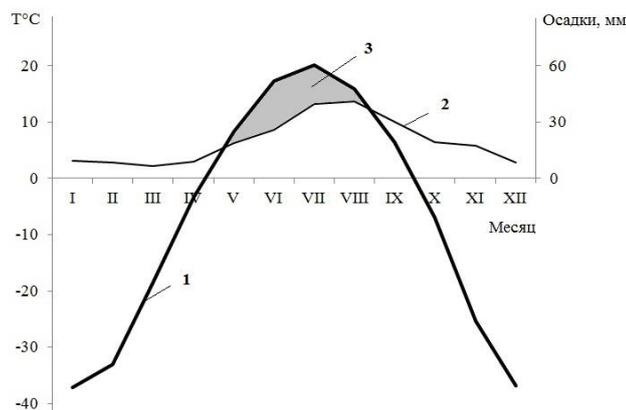
For citation: Borisova S. Z. [Phenology of steppe plants in Central Yakutia]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 1 (2024): pp. 16-21. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-16-21>.

Acknowledgments this work has been supported by the grants the Russian Science, RSF 22-24-20099.

Введение

Степи Якутии относятся к экстразональному типу растительности. Степные сообщества широко распространены в Центральной Якутии, на долю степных растений здесь приходится четверть всей флоры этой территории [Определитель ..., 2020]. Большая часть степных видов (60%) относится к представителям семейств Asteraceae, Poaceae, Fabaceae, Rosaceae, Caryophyllaceae, Brassicaceae, Lamiaceae. Флористический состав, удаленность и изолированность от основных степных районов Сибири свидетельствуют о реликтовости якутских степей [Караваев, 1955, 1958, 1968; Иванова, 1975, 1979 и др.].

По многим климатическим параметрам рассматриваемый регион соответствует лесостепным и степным районам континента в первую очередь очень высокими для таежной зоны летними температурами и низкой степенью увлажнения (рисунок).



Климатодиаграмма усредненных показателей среднемесячной температуры и сумм осадков за 1997–2021 гг., станция Якутск, высота 80 м над ур. м.:

1 – температура, °C; 2 – осадки, мм; 3 – засушливый период

[Climate diagram of average monthly temperatures and precipitation amounts for 1997-2021, Yakutsk station, height 80 m above sea level:

1 – temperature, °C; 2 – precipitations, mm; 3 – drought period]

Особенность климата региона обусловило широкое распространение степных и лесостепных участков на высоких элементах долины р. Лены. Своеобразием степных сообществ является активное участие в составе флоры представителей опустыненных степей – *Krascheninnikovia ceratoides* (L.) Gueldenst., сухих степей – *Agropyron cristatum* (L.) Beauv., *Koeleria cristata* (L.) Pers., *Psathyrostachys caespitosa* (Sukacz.) Peschkova, *Artemisia frigida* Willd. и др., реликтов палеогеновой пустынно-степной флоры – *Ephedra monosperma* C.A. Mey., *Stipa capillata* L., *Thesium refractum* C.A. Mey., *Goniolimon speciosum* (L.) Boiss., *Artemisia commutata* Besser и др. [Сосина, Захарова, 2009].

Растительный покров Центральной Якутии испытывает значительный антропогенный пресс: здесь проживает более половины населения республики, сконцентрированы основные производства, приходится около 90% всей площади сенокосов и пастбищ. Особенно в критическом положении находятся реликтовые степные сообщества, которые играют роль рефугиумов для редких растений [Красная книга ..., 2017]. В сложившейся ситуации действенной формой охраны растений является интродукция растений. На основе размноженных в культуре интродукционных популяций возможно восстановление популяций и численности растений на территории их природных ареалов.

Объекты и методы исследования

Объекты исследования – 139 видов из 59 родов и 36 семейств. В культуру привлечены от 36 до 73% видов ведущих по числу видов семейств (Asteraceae, Poaceae, Fabaceae, Rosaceae, Caryophyllaceae, Brassicaceae, Lamiaceae) степной флоры Центральной Якутии. Интродукционные исследования ведутся с 1997 г. в Ботаническом саду СВФУ, расположенного в окрестностях г. Якутска (Центральная Якутия). Фенологические наблюдения проводились по методике И.Н. Бейдеман [1960], отмечались даты наступления весеннего отрастания и начала цветения, у голосеменных условно под цветением понимается

начало пыления микростробилов. Для каждой фенологической фазы вычислялась его средняя многолетняя дата путем перевода дат в последовательный ряд чисел арифметического ряда [Зайцев, 1984] и подсчета среднего арифметического значения с последующим переводом его в среднюю дату. По срокам цветения интродуценты разделены на феногруппы [Данилова, 1993]. Для полной характеристики типа цветения у интродуцируемых растений, помимо многолетнего феноспектра, использован показатель, объективно оценивающий стабильность наступления начала цветения [Головкин, 1973]. Таким показателем является среднее квадратическое отклонение от средних сроков начала цветения. При обработке данных фенологических наблюдений использованы методы статистического анализа с применением пакетов программ MS Excel и Statistica 8.0.

Результаты и их обсуждение

Степные сообщества занимают высокие элементы рельефа, обитают на южных склонах коренного берега реки Лены и первыми освобождаются от снега весной. Степным растениям характерна длительная вегетация надземных органов, среди них многочисленны виды, листья и побеги которых остаются зелеными в течение более чем одного вегетационного периода. Весеннее отрастание этих видов начинается с освобождения почвы от снега.

По срокам начала весеннего возобновления вегетации интродуценты разделены на четыре группы:

1 группа – возобновление вегетации растений приходится на период с 20 по 30 апреля, когда среднесуточная температура воздуха не превышает 0°C. В основном это длительно вегетирующие растения, отличительной чертой которых является зимнезеленость листьев (*Alyssum lenense* Adams, *A. obovatum* (С.А. Mey.) Turcz., *Saxifraga bronchialis* L., *Eritrichium sericeum* (Lehm.) A. DC., *Thymus bituminosus* Клоков и др.). Всего эту группу составляют 31% интродуцентов.

2 группа – растения отрастают в период с 1 по 12 мая (*Allium prostratum* Trev., *A. senescens* L., *Anemone sylvestris* L., *Euphorbia esula* L., *Schizonepeta multifida* (L.) Briq. и др.) с установлением среднесуточной температуры воздуха выше 0°C. Эта большая группа составляет половину коллекции степных растений.

3 группа – отрастание во второй половине мая в период с 13 по 27 мая (*Allium ramosum* L., *Astragalus syriacus* L., *Achillea millefolium* L., *Artemisia mongolica* (Fisch. ex Besser) Nakai и др.), когда среднесуточная температура воздуха выше +5°C. Интродуценты, весеннее отрастание которых отмечается в этот период, составляют 18%.

4 группа – возобновление вегетации отмечается с 28 мая, когда среднесуточная температура превышает +10°C. Такое позднее отрастание не типично для Центральной Якутии, в коллекции наблюдается у *Thermopsis lanceolata* ssp. *jacutica* (Czeffr.) Schreter и *Scutellaria scordiifolia* Fisch. ex Schrank.

В ходе многолетних фенологических наблюдений по срокам цветения все интродуценты разделены на 4 основные феногруппы – весенние, раннелетние, летние и позднелетние (таблица).

В группу весенних растений вошли виды, цветущие в первой половине июня с переходом среднесуточной температуры воздуха через +10°C. Плодоношение отмечается в июле. В ней выделяется подгруппа ранневесенних видов (*Pulsatilla*, *Gagea*), цветение которых начинается в конце апреля – начале мая, а семена созревают в июне. Весенние растения составляют пятую часть коллекции. Весной цветут 27 видов из 18 родов и 13 семейств. К этой группе относятся 62.5% всех видов семейства Ranunculaceae, 66.7% – Brassicaceae, 33.3% – Fabaceae.

Группа раннелетних растений объединяет виды, цветущие с середины июня до первой декады июля после перехода среднесуточной температуры через +15°C. Семена созревают в конце июля – начале августа. Эта группа растений составляет половину коллекции. Представители многовидовых семейств составляют 77% всех раннелетнецветущих интродуцентов. Подавляющее большинство семейств Rosaceae (94%) и Rosaceae (80%) цветут рано летом. Растения этой группы цветения в основном длительно вегетирующие.

Растения группы летних растений цветут во второй и третьей декадах июля, семена созревают в августе – сентябре. К этой группе относится более четверти всей коллекции, состоящей из 32 родов и 19 семейств, многочисленны среди летних виды сем. Asteraceae, составляющие 30% этой группы.

Группа позднелетних растений цветет в августе, семена созревают в сентябре – октябре. К ним относятся *Artemisia*, *Orostachys*.

Сравнение сроков начала цветения растений со среднесуточными температурами показывает, что по мере повышения дневной температуры до +25°C увеличивается число зацветающих видов. Дальнейшее повышение ведет к снижению количества цветущих видов. С течением времени, к концу июля – началу августа, когда дневная температура падает за отметку +25°C и ниже, кривые цветения и температуры идут снова синхронно. В течение вегетационного периода наблюдается два пика в цветении: первый – наибольший пик – приходится на I декаду июня, второй – на I и II декады июля. В природных местообитаниях в отдельные годы максимум цветущих видов может иметь от 1 до 3 пиков [Бурцева, 1996].

Продолжительность цветения у весенних растений составляет в среднем 18 дней, раннелетних – 22, летних – 27, позднелетних – более 30 дней.

Фенологические группы интродуцентов по срокам цветения
[Phenological groups of introduced species by flowering time]

Семейство	Число		Группы интродуцентов по срокам цветения:			
	родов	видов	весенние	раннелетние	летние	позднелетние
Ephedraceae*	1	1	-	1	-	-
Poaceae	13	16	-	14	2	-
Cyperaceae	2	2	-	2	-	-
Melanthiaceae	1	1	-	1	-	-
Liliaceae	2	3	3	-	-	-
Alliaceae	1	5	-	2	3	-
Santalaceae	1	1	-	1	-	-
Polygonaceae	1	2	-	1	1	-
Chenopodiaceae	1	1	-	-	1	-
Caryophyllaceae	6	6	1	3	2	-
Ranunculaceae	6	8	2	5	1	-
Papaveraceae	1	1	-	1	-	-
Brassicaceae	5	6	4	2	-	-
Crassulaceae	2	3	-	-	2	1
Saxifragaceae	1	1	1	-	-	-
Rosaceae	5	10	1	7	2	-
Fabaceae	7	12	4	6	2	-
Geraniaceae	1	1	-	-	1	-
Linaceae	1	1	-	1	-	-
Polygalaceae	1	1	-	1	-	-
Euphorbiaceae	1	1	1	-	-	-
Hypericaceae	1	1	-	1	-	-
Violaceae	1	3	3	-	-	-
Apiaceae	2	2	-	1	1	-
Primulaceae	1	1	1	-	-	-
Limoniaceae	1	1	-	1	-	-
Gentianaceae	1	1	-	-	1	-
Polemoniaceae	1	1	1	-	-	-
Boraginaceae	1	1	-	1	-	-
Lamiaceae	6	8	1	4	3	-
Scrophulariaceae	4	5	-	4	1	-
Plantaginaceae	1	3	-	-	3	-
Rubiaceae	1	2	-	2	-	-
Valerianaceae	1	1	-	-	1	-
Campanulaceae	1	1	-	1	-	-
Asteraceae	13	25	1	6	12	6
Всего	96	139	24	69	39	7

Примечание. * – пыление микростробилов *Ephedra monosperma*.

Для сравнения колеблемости начала цветения использована величина среднего квадратического отклонения для растений четырех феногрупп, различающихся по срокам весеннего возобновления вегетации. Период от отрастания до начала цветения (интенсивность развития) у весенних растений длится от 27 до 41 дня, раннелетних – 28–61, летних – 54–73, позднелетних – 87–104.

При оценивании стабильности наступления сроков начала цветения зафиксировано, что меньшее значение среднего квадратического отклонения характерно для весенних растений (*Pulsatilla*, *Gagea*), отрастающих во второй половине мая (4.0) и конце апреля (4.7), а также у раннелетних (*Galium boreale* L.), отрастающих в первой половине мая (5.0). Как правило, эти растения формируют генеративные побеги в год, предшествующий цветению, и степень сформированности генеративной сферы довольно высока. Такие растения при благоприятных условиях сразу трогаются в рост и зацветают, поэтому сроки цветения не сильно зависят от погодных условий года цветения. Большее значение среднеквадратического отклонения, показывающее больший разброс наступление начала цветения со средней величиной, наблюдается у летних (5.6–7.2) и позднелетних растений (12.7–14.1). В отличие от рано цветущих расте-

ний с готовыми к цветению зачаточными генеративными побегами, развитие цветочных почек у цветущих в летние месяцы идет в течение текущего вегетационного сезона, и поэтому закладка, формирование, цветение находится в тесной зависимости от погодных условий сезона и может значительно варьировать из года в год (*Artemisia*).

Одним из показателей успеха или неудачи интродукции растения является прохождение им малого цикла развития побега. Полное прохождение растением в условиях интродукции всего жизненного цикла вплоть до созревания семян – показатель успешной его адаптации к новым условиям. Опыт интродукции показал, что растения в условиях культуры проходят сезонный цикл роста и развития побегов в неравной степени.

Большинство испытанных видов (84% всех интродуцентов) проходят полный цикл развития побегов, ежегодно заканчивая его плодоношением. Регулярное завершение годового цикла развития побега характерно для весенних (26%), раннелетних (46%) и летних (26%) растений.

Не проходят полный цикл развития побегов 13.5% степных растений в коллекции; в основном это позднелетние виды. При ежегодном цветении плодоносят не регулярно *Artemisia gmelinii*, *A. latifolia*, *A. martjanovii* и др., для них типично обильное цветение, иногда с большим процентом заложившихся семян, но из-за позднего цветения эти семена вызревают лишь в годы с теплой и сухой осенью. Цветение, как правило, у них длительное, завязывание плодов и созревание семян полностью зависит от погодных условий года.

В составе коллекции малочисленны виды, цветущие не ежегодно. Это *Thermopsis lanceolata* ssp. *jacutica*, который в годы с обильным цветением семян практически не завязывает, и позднелетние виды *Artemisia*.

В целом степные виды Центральной Якутии хорошо отзываются на условия культуры, 92% интродуцентов проходят полный цикл развития побега, плодоносят и относятся к высокоустойчивым и устойчивым в интродукции растениям. Интродукционные популяции многих видов (86%) увеличивают свою численность семенным или вегетативным способом. Слабоустойчивы в культуре виды, не способные к самовозобновлению, численность их интродукционных популяций постепенно снижается. В основном это виды с поздним сроком цветения.

Заключение

Высокие летние температуры, небольшое количество осадков обуславливают засушливый характер климата Центральной Якутии. Анализ многолетних (1997–2023 гг.) фенологических наблюдений за степными растениями в Ботаническом саду СВФУ показывает особенности ритма сезонного развития представителей реликтовой растительности Якутии.

Весеннее возобновление вегетации степных растения отмечается с середины апреля до конца мая, по срокам начала вегетации выделены четыре группы. Во второй декаде апреля при отрицательных среднесуточных температурах воздуха свою вегетацию начинает 31% интродуцентов; с 1 мая по 12 мая с установлением среднесуточной температуры воздуха выше 0°C к весеннему возобновлению вегетации приступает 50% видов коллекции; более теплолюбивые виды (18%) отрастают во второй половине мая с 13 по 27 мая, когда среднесуточная температура воздуха выше +5°C; отрастание в более поздние сроки, в конце мая, не типично для степных растений, и отмечается у двух видов в коллекции.

Степные виды цветут с конца апреля по август. По срокам цветения выделены 4 основные группы - весенние (20% интродуцентов), раннелетние (48%), летние (27%) и позднелетние растения (5%). Пик цветущих видов приходится на весну и начало лета, с повышением температуры выше +25°C число зацветающих видов сокращается. Продолжительность цветения у весенних растений составляет в среднем 18, у раннелетних – 22, летних – 27, позднелетних – более 30 дней.

Наиболее стабильны наступления сроков начала цветения у весенних растений, отрастающих во второй половине мая (4.0) и конце апреля (4.7), и у раннелетних, отрастающих в первой половине мая (5.0). Большой разброс наступления начала цветения характерен для летних (5.6-7.2) и позднелетних (12.7-14.1) растений, закладка генеративных почек и цветение которых зависит от погодных условий сезона и может значительно варьироваться из года в год.

В целом степные виды Центральной Якутии хорошо отзываются на условия культуры, 92% интродуцентов относятся к высокоустойчивым и устойчивым растениям.

Список источников

1. Бейдеман И.Н. Изучение фенологии растений // Полевая геоботаника. М.; Л., 1960. Т. 2. С. 333–366.
2. Бурцева Е.И. Классификация и сезонная динамика степной растительности коренного берега реки Лены // Проблемы экологии Якутии. Якутск, 1996. С. 33–43.
3. Головкин Б.Н. Переселение травянистых многолетников на Полярный Север. Эколого-морфологический анализ. Л.: Наука, 1973. 266 с.

4. Данилова Н.С. Интродукция многолетних травянистых растений Якутии. Якутск, 1993. 164 с.
5. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.
6. Иванова В.П. Степи в долине средней Лены // Берегите растительные богатства Якутии. Якутск, 1975. С. 35–41.
7. Иванова В.П. Об экологии степных растений в долине средней Лены в связи с вопросами их охраны // Охрана природы Якутии. Якутск, 1979. С. 78–80.
8. Караваев М.Н. Новые данные о терескене *Eurotia lenensis* Kumin. // Ботан. материалы Гербария БИН им. В.Л. Комарова. Л., 1955. Т. 17. С. 112–121.
9. Караваев М.Н. Фрагменты реликтовых степей с *Helictotrichon krylovii* (N. Pavl.) Henrard. в Якутии // Ботанический журнал. 1958. Т. 43, № 4. С. 481–489.
10. Караваев М.Н. *Agropyron karavaevii* P. Smirn. как еще один пример американо-азиатских степных связей // Ботанический журнал. 1968. Т. 53, № 10. С. 1457–1461.
11. Красная книга Республики Саха (Якутия). Т. 1. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов. М., 2017. 412 с.
12. Определитель высших растений Якутии. М.: Товарищество научных изданий КМК; Новосибирск: Наука, 2020. 896 с.
13. Сосина Н.К., Захарова В.И. Степные сообщества коренных берегов в долине Эркээни (Центральная Якутия) // Вестник Якутского государственного университета. 2009. Т. 6, № 4. С. 18–23.

References

1. Beidemann I.N. [The study of plant phenology]. *Polevaja geobotanika* [Field geobotany]. Moscow, Leningrad, AN SSSR Publ., 1960; V. 2. pp. 333-366. (In Russ.).
2. Burtseva E.I. [Classification and seasonal dynamics of steppe vegetation on the indigenous bank of the Lena River]. *Problemy ekologii Yakutii* [Environmental problems of Yakutia]. Yakutsk, 1996. pp. 33-43. (In Russ.).
3. Golovkin B.N. *Pereselenie travjanistykh mnogoletnikov na Poljarnyj Sever* [Relocation of herbaceous perennials to the Polar North. Ecological and morphological analysis]. Leningrad, Nauka Publ., 1973. 266 p. (In Russ.).
4. Danilova N.S. *Introdukcija mnogoletnich travjanistykh rastenij Yakutii* [Introduction of perennial herbaceous plants in Yakutia]. Yakutsk, 1993. 164 p. (In Russ.).
5. Zajcev G.N. *Matematičeskaja statistika v eksperimental'noj botanike* [Mathematical statistics in experimental botany]. Moscow, Nauka Publ., 1984. 424 p. (In Russ.).
6. Ivanova V.P. [Steppes in the Middle Lena Valley]. *Beregite rastitel'nye bogatstva Yakutii* [Take care of the plant riches of Yakutia]. Yakutsk, 1975. pp. 35-41. (In Russ.).
7. Ivanova V.P. [On the ecology of steppe plants in the valley of the middle Lena in connection with issues of their protection]. *Ochрана prirody Yakutii* [Nature protection of Yakutia]. Yakutsk, 1979. pp. 78-80. (In Russ.).
8. Karavaev M.N. [New data on teresken *Eurotia lenensis* Kumin.]. *Botaničeskie materialy Gerbarija Botaničeskogo instituta im. V.L. Komarova*. V. 17 (1955): pp. 112-121. (In Russ.).
9. Karavaev M.N. [Fragments of relict steppes with *Helictotrichon krylovii* (N. Pavl.) Henrard. in Yakutia]. *Botaničeskij žurnal*. V. 43, No. 4 (1958): pp. 481-489. (In Russ.).
10. Karavaev M.N. [Agropyron karavaevii P. Smirn. as another example of American-Asian steppe connections]. *Botaničeskij žurnal*. V. 53, No. 10 (1968): pp. 1457-1461. (In Russ.).
11. *Krasnaya kniga Respubliki Sakha (Yakutia)* [Red Book Republic of the Sakha (Yakutia)]. V. 1. Rare and endangered plant and mushroom species]. Moscow, 2017. 412 p. (In Russ.).
12. *Opredelitel' vysšich rastenij Yakutii* [Key to higher plants of Yakutia]. Moscow, KMK Publ.; Novosibirsk, Nauka Publ., 2020, 896 p. (In Russ.).
13. Sosina N.K., Zakharova V.I. [Steppe communities of main river banks in Erkeeni valley (Central Yakutia)]. *Vestnik Yakutskogo gosudarstvennogo universiteta*. V. 6, No. 4 (2009): pp. 18-23. (In Russ.).

Статья поступила в редакцию 01.12.2023; одобрена после рецензирования 15.12.2023; принята к публикации 05.03.2024.

The article was submitted 01.12.2023; approved after reviewing 15.12.2023; accepted for publication 05.03.2024.

Информация об авторе

С. З. Борисова – канд. биол. наук, научный сотрудник Ботанического сада.

Information about the author

S. Z. Borisova – candidate of biological sciences, researcher of the Botanical Garden.

БОТАНИКА

Научная статья

УДК 633.811:582.931:581.182.1:611.018.13

doi: 10.17072/1994-9952-2024-1-22-31

**Сравнительная характеристика кариометрических параметров
микроспороцитов и клеток тапетума сформированных пыльников
длинно- и короткостолбчатых растений *Jasminum fruticans* L.
(Oleaceae)**

Татьяна Николаевна Кузьмина

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, Ялта, Россия, tnkuzmina@rambler.ru

Аннотация. В связи с изучением функциональной активности генеративных структур при гетеростилии проведен сравнительный кариометрический анализ клеток тапетума, а также микроспороцитов сформированных пыльников длинно- и короткостолбчатых растений *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae). На основании измерения площадей ядра, ядрышка, подсчета количества ядер и ядрышек в клетках вычисляли суммарные значения площадей ядерных структур. Поскольку с ядрышками связаны процессы транскрипции и трансформации рибосомальной РНК (р-РНК), то состояние ядрышковых структур в клетке отражает уровень ее функциональной активности, поэтому в качестве характеристики функциональной активности клеток использовали значение ядерно-ядрышкового отношения (ЯЯО). Установлено, что у обеих флоральных форм в сформированном пыльнике преобладают двуядерные тапетальные клетки. Число ядрышек, приходящихся на клетку, варьирует от 1 до 14. У короткостолбчатых растений число тапетальных клеток с 6–8 ядрышками больше по сравнению с длинностолбчатыми растениями. Однако данный факт не отражается на значении ядерно-ядрышкового отношения. По функциональной активности клетки тапетума пыльников длинно- и короткостолбчатых растений не имеют статистически значимого различия. Сравнение кариометрических параметров микроспороцитов показало, что площади ядерных структур больше у длинностолбчатых растений, при этом они характеризуются более высоким значением ЯЯО (17.61 ± 0.36) по сравнению с короткостолбчатыми растениями, у которых ЯЯО составляет 15.59 ± 0.27 . Понижение значения ЯЯО у короткостолбчатых растений является признаком усиления интенсивности белкового метаболизма их микроспороцитов, а следовательно, уровня функциональной активности их геномов. Различие функциональной активности микроспороцитов длинно- и короткостолбчатых растений может быть признаком проявления пола в зависимости от флорального морфологического типа растения.

Ключевые слова: андроцей, гетеростилия, микроспорангий, пыльник, спорогенные клетки, стенка пыльника, ядерно-ядрышковое отношение, ядро, ядрышко, *Jasminum fruticans*, Oleaceae

Для цитирования: Кузьмина Т. Н. Сравнительная характеристика кариометрических параметров микроспороцитов и клеток тапетума сформированных пыльников длинно- и короткостолбчатых растений *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae) // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 1. С. 22–31. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-22-31>.

BOTANY

Original article

**Comparative characteristics of karyometric parameters of
microsporocytes and tapetum cells of the formed anthers of long-styled
and short-styled plants *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae)**

Tatyana N. Kuzmina

Nikita Botanical Gardens – National Scientific Center RAS, Yalta, Russia, tnkuzmina@rambler.ru

Abstract. In connection with the study of the functional activity of generative structures in heterostylous plants, a comparative karyometric analysis of tapetum cells, as well as microsporocytes of the formed anthers of long-styled and short-styled plants *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae) was carried out. Based on the measurement of the nucleus areas, nucleolus, counting the number of nuclei and nucleoli in cells, the total values of the areas of nuclear structures were calculated. Since the processes of transcription and transformation of ribosomal RNA

(r-RNA) are associated with nucleoli, the state of nucleolar structures in a cell reflects the level of its functional activity, therefore, the value of the nuclear-nucleolar ratio (NNR) was used as a characteristic of the functional activity of cells. It was found that in both floral forms, binuclear tapetal cells predominate. The number of nucleoli per cell varies from 1 to 14. The number of tapetal cells with 6-8 nucleoli is greater in short-styled plants than in long-styled plants. However, the cells of tapetum of long-styled and short-styled plants do not have a statistically significant difference of the value of NNR. Comparison of karyometric parameters of microsporocytes showed that the areas of their nuclear structures are larger in long-styled plants, while they are characterized by a higher value of NNR (17.61 ± 0.36) compared with short-styled plants (15.59 ± 0.27). A decrease in the value of NNR in short-styled plants is a sign of an increase in the intensity of protein metabolism of their microsporocytes, and, consequently, the level of functional activity of their genomes. Differences in the functional activity of microsporocytes of long-styled and short-styled plants can be considered as a sign of sex manifestation of sex depending on the floral type of the plant.

Keywords: androecium, heterostylism, microsporangium, anther, sporogenous cells, anther wall, nuclear-nucleolar ratio, nucleus, nucleolus, *Jasminum fruticans*, Oleaceae

For citation: Kuzmina T. N. [Comparative characteristics of karyometric parameters of microsporocytes and tapetum cells of the formed anthers of long-styled and short-styled plants *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae)]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 1 (2024): pp. 22-31. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-22-31>.

Введение

Гетеростилия покрытосеменных растений – это генетически контролируемый полиморфизм цветков, который связан с системой несовместимости. Явление гетеростилии, или разностолбчатости цветков, отмечено у представителей 36 семейств покрытосеменных растений [Агаджанян, 2000; Ganders 1979]. В зависимости от особенностей строения андроеца и гинецея цветка в пределах вида выделяют, как правило, две флоральные, или морфологические, формы. Цветки различных морфологических форм дифференцируются по высоте столбика пестика, форме рыльца пестика, размерам тычинок, пыльников, пыльцевых зерен [Pailler, Thompson, 1997; Tompson, Dommée, 2000; Klein, Freitas, Da Cunha, 2009; Valois-Cuesta, Soriano, Ornelas, 2011; Keller, de Vos, Conti, 2012]. Ключевым вопросом в изучении гетеростилии является выявление функционального значения полиморфизма цветков. Наиболее распространенным объяснением его биологической роли является свойственная гетеростильным видам гетероморфная несовместимость, при которой эффективным оказывается переопыление цветков, относящихся к различным морфологическим типам, т.е. когда пыльца из короткостолбчатых цветков попадает на рыльца длинностолбчатых цветков или наоборот. Как правило, у гетеростильных видов более эффективным является опыление, которое происходит между морфами, а опыление цветков внутри одной морфологической формы показывает слабую завязываемость семян [Stevens, Murray, 1982; Valois-Cuesta, Soriano, Ornelas, 2011; Wu et al., 2015; Gao et al., 2021]. H.G. Baker было высказано предположение, что гетеростильные виды можно рассматривать как переходную форму от гермафродитных видов к однополым растениям [Baker, 1960; Жинкина, 2000]. В частности, у *Mussaenda pubescens* (Rubiaceae) отмечены случаи редукции пыльников у длинностолбчатых цветков, и семязачатков – у короткостолбчатых [Li et al., 2010]. Проведенные ранее исследования генезиса пыльников и семязачатков дистильного вида *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae) не выявили различий в ходе генезиса пыльников и семязачатков, а также редукции генеративных элементов коротко- и длинностолбчатых растений [Кузьмина, 2018, 2000; Шевченко, Плуатарь, 2019]. Однако флоральные формы *J. fruticans* различаются по долям морфологически нормальных пыльцевых зерен [Кузьмина, 2017]. Различия по фертильности пыльцевых зерен длинно- и короткостолбчатых растений указаны и для других гетеростильных видов (*Limonium caspium* (Willd.) Gams., *L. gmelinii* (Willd.) O. Kuntzw., *Goniolimon elatum* (Fisch. ex Spreng.) Boiss. (Plumbaginaceae) [Демьянова, 2014], что может свидетельствовать о различной функциональной активности генеративных элементов флоральных форм гетеростильных видов.

Известно, что стенка гнезда (микроспорангия) сформированного пыльника состоит из нескольких слоев клеток, представленных эпидермисом, эндотецием, средним слоем и тапетумом, окружающих клетки спорогенной ткани [Батыгина, Васильева, 2002]. Наиболее функционально важными тканями микроспорангия являются спорогенная ткань и тапетум. Развитие спорогенной ткани приводит к формированию микроспороцитов – материнских клеток пыльцевых зерен. Тапетум как внутренний слой стенки микроспорангия, клетки которого непосредственно прилегают к спорогенной ткани, рассматривается как наиболее активная и чувствительная к стрессовым воздействиям соматическая ткань пыльника, которая в этот период функционирует как проводящая, обеспечивающая поступление питательных веществ к микроспороцитам [Резникова, 1984; Gothandam, Kim, Chung, 2007; Yeung et al., 2011]. Известно, что нарушения микроспорогенеза и формирования гаметофита сопряжены с морфоструктурными изменениями клеток тапетума, в которых изменения затрагивают главным образом эндоплазматический ретикулум [Vi-

jayaraghavan, Ratnaparkhi, 1979; Gothandam, Kim, Chung, 2007; Shi et al., 2010; Du et al., 2019].

Для определения интенсивности функционирования клеточных структур служат ядерные и ядрышковые характеристики клеток, поскольку они отражают интенсивность белкового метаболизма клетки, а следовательно, дают представление о функциональной активности генома клетки [Челидзе, Зацепина, 1988; Архипчук, 1995]. Определение числа ядрышек и их размеров позволяет дать оценку активности генов рибосомной РНК (рРНК) на цитологическом уровне [Архипчук, 1995], что служит основой для биотестирования и определения цитогенетической стабильности видов при воздействии различных внешних факторов [Дуброва, 1989; Архипчук, 1995; Владимирова, Муратова, 2005; Калаев и др., 2009]. Кариометрические исследования репродуктивных структур высших растений [Резникова, Бугара, 1979; Романова, Третьякова, 2005; Трочинская, Бланковская, Тоцкий, 2010] не затрагивают вопросы гетеростилии видов.

Цель работы – сравнительная кариометрическая характеристика микроспороцитов и тапетальных клеток у сформированных пыльников длинно- и короткостолбчатых растений *J. fruticans* в связи с определением уровня их функционального состояния у растений различных флоральных (морфологических) форм.

Материалы и методы исследования

Jasminum fruticans L. (жасмин кустарниковый) – дистильный вид флоры стран Средиземноморья, Западной Европы, Малой Азии, Черноморского побережья Кавказа, а также Южного берега Крыма [Голубев, 1996]. Для исследования пыльников длинно- и короткостолбчатых растений *J. fruticans* брали терминальные бутоны длиной 1.5–2 мм. Сбор материала проводили на территории Никитского ботанического сада (г. Ялта, Республика Крым; 44°30'34"с.ш. 34°13'58" в.д.) в 2019–2021 гг. Для приготовления постоянных препаратов бутоны фиксировали в смеси Ф. А. А. (formalin : acetic acid : alcohol 70%). Материал обезвоживали с помощью изопропилового спирта, после чего делали постоянные препараты бутонов. Препараты окрашивали гематоксилином и алциановым синим, учитывая, что гематоксин обеспечивает визуализацию базофильных структур, к которым относятся ядра и РНК-содержащие структуры [Коржевский, 2007], а алциановый синий дает интенсивную окраску клеточных стенок, что позволяет четко идентифицировать границы клеток. Анализ препаратов проводили с помощью микроскопа AxioScope A.1 (Carl Zeiss, Germany) и цифровой камеры AxioCamERc5s (Carl Zeiss, Germany). Для каждой флоральной формы на поперечных срезах пыльников делали измерения клеток 30 пыльников. Кариометрические показатели получены с помощью программы AxioVision Rel. 4.8.2. (Carl Zeiss, Германия). Основными параметрами измерений были площадь клетки, площадь ядра и площадь ядрышка. В случае многоядерных и многоядрышковых структур определяли их суммарную площадь. Кроме того, подсчитывали количество ядер и ядрышек, приходящихся на клетку. Ядерно-ядрышковое отношение (ЯЯО) определяли как отношение площади ядра к площади ядрышка, в случае многоядерных и многоядрышковых клеток вычисления проводили, используя суммарные показатели.

Вычисления и статистическую обработку данных делали в программном приложении Statistica 10.0 (StatSoft, Ins., USA). Определение статистически значимых различий проводили на основании t-критерия Стьюдента и критерия Фишера (F-критерий) при уровне статистической значимости $p < 0.05$. Сравнение выборочных долей клеток по числу ядер осуществляли с помощью критерия χ^2 Пирсона [Гашев, Бетляева, Лупинос, 2018]. Кариометрические данные представлены в виде: $X \pm S_x$, где X – среднее арифметическое, S_x – стандартная ошибка среднего.

Результаты исследования

Развитие стенки микроспорангия *J. fruticans* идет в центробежном направлении, при котором деление клеток первичного париетального слоя приводит к формированию тапетума и вторичного париетального слоя. Деление последнего в свою очередь дает начало эндотецию и среднему слою. Таким образом, у *J. fruticans* тапетум является производным первичного париетального слоя, который в сформированном микроспорангии многослойный, секреторного типа (рис. 1). Установлено, что в тапетуме сформированных пыльников *J. fruticans* преобладают двуядерные клетки. Так, в тапетуме длинностолбчатых растений 73.7% клеток двуядерные, а у короткостолбчатых растений их доля составляет 69.7%, что не представляет статистически значимого различия ($\chi^2 = 3.94$; $df = 1$; $p = 0.05$).

Известно, что для многоядрышковых клеток наиболее информативным показателем оценки функциональной активности генетического аппарата считается число ядрышек в клетке [Архипчук, 1995]. Количество ядрышек в тапетальных клетках варьирует от 1 до 14, при этом преобладают двуядрышковые клетки, что объясняется наличием двух ядер в большинстве клеток данной ткани. Так, у длинностолбчатых растений количество таких клеток составляет 48.3%, а у короткостолбчатых – 46.4% (рис. 2). Однако встречаются и клетки, ядра которых содержат большее число ядрышек. Показано, что у короткостолбчатых растений доля клеток, содержащих 6–8 ядрышек, выше, чем у длинностолбчатых растений. Клетки, содержащие более 9 ядрышек, встречаются у обеих флоральных форм лишь в единичных случаях.

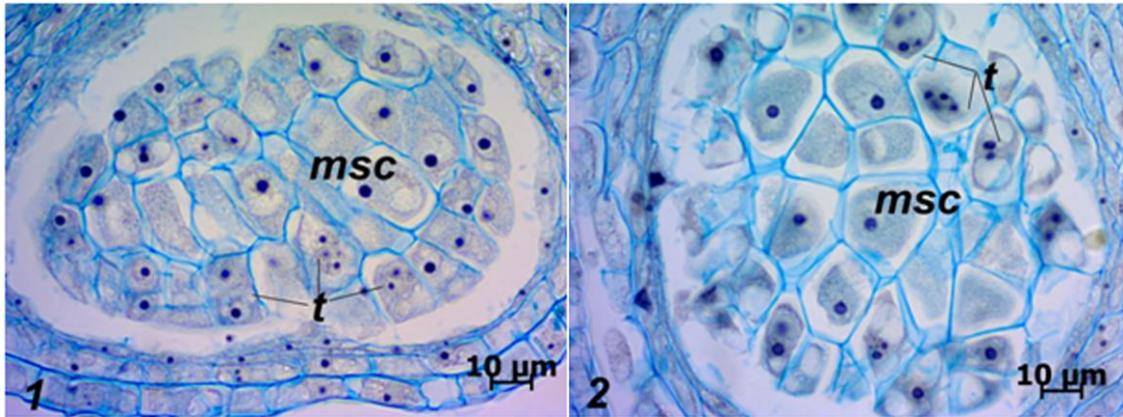


Рис. 1. Поперечные срезы микроспорангиев длинно- (1) и короткостолбчатых (2) растений *J. fruticans*:
msc – микроспорocyты; *t* – тапетум

[Cross section of microsporangium of long-styled (1) and short-styled (2) of *J. fruticans*:
msc – microsporocytes; *t* – tapetum]

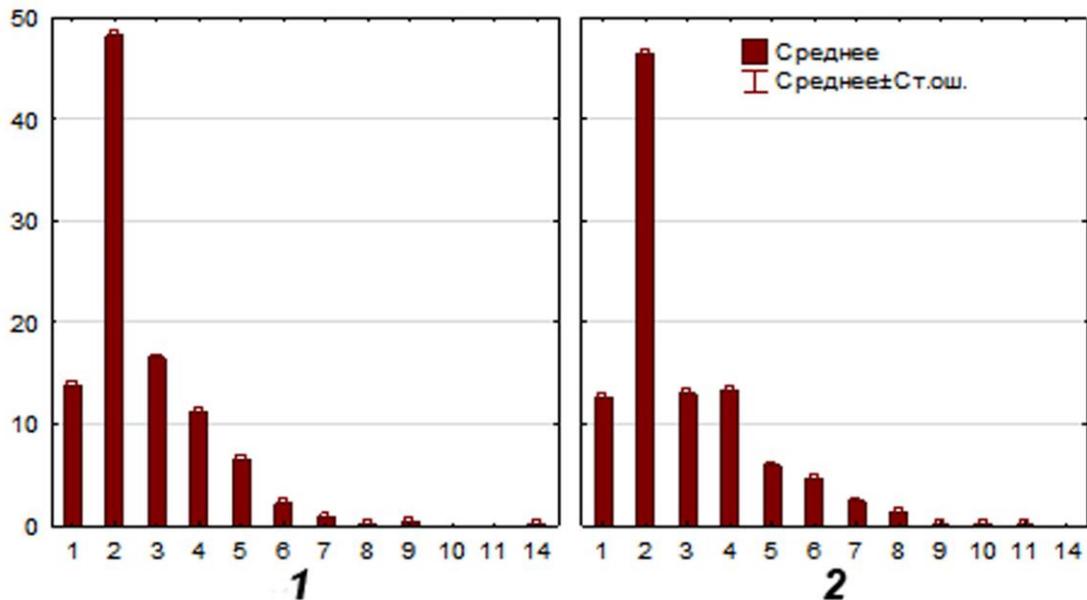


Рис. 2. Суммарное число ядрышек в клетках тапетума сформированных пыльников длинно- (1) и короткостолбчатых (2) растений *J. fruticans*.

Ось X – число ядрышек в ядре; Ось Y – процент клеток от общего числа проанализированных клеток

[The total number of nucleolus in tapetum cells of the formed anthers of long-styled (1) and short-styled (2) plants *J. fruticans*.

X axis – number of nucleoli in cell's nuclear; Y axis – percentage of cells from the total number of cells analyzed]

Данные кариометрического анализа тапетальных клеток представлены в табл. 1. Клетки тапетума короткостолбчатых растений содержат более крупные ядра, суммарная площадь их ядрышек также оказывается больше по сравнению с длинностолбчатыми растениями. При этом, несмотря на статистически значимое различие клеток тапетума флоральных форм по площадям ядер и ядрышек, значения ЯЯО у них выражено слабо. Хотя можно отметить, что в сформированных пыльниках длинностолбчатых растений клетки тапетума по ЯЯО незначительно превышают аналогичный показатель короткостолбчатых. Анализ кариометрических параметров клеток тапетума сформированных пыльников длинно- и короткостолбчатых растений *J. fruticans* показал, что у обеих флоральных форм преобладают двуядерные клетки. В каждом ядре, как правило, содержится по одному ядрышку, а суммарное количество ядрышек на клетку равно двум. Таким образом, преобладают двуядрышковые тапетальные клетки. У короткостолбчатых растений, как упоминалось выше, чаще отмечаются клетки, содержащие более 5 ядрышек, что отражается на увеличении суммарной площади ядрышек, кроме того, они имеют более крупные ядра. Однако, в целом, это не оказывает статистически значимого влияния на показатели функциональной активности тапетальных клеток сравниваемых флоральных форм.

Таблица 1

**Кариометрические параметры клеток тапетума сформированных пыльников
длинностолбчатых и короткостолбчатых растений *J. fruticans***

[Karyometric parameters of tapetum cells of formed anthers of long-styled and short-styled plants *J. fruticans*]

Параметр	Длинно- столбчатые (n=1000)	Коротко- столбчатые (n=1000)	t-критерий	p-уровень
Суммарная площадь ядер, мкм ²	83.25±1.13	90.16±1.34	-3.95	0.001**
Суммарная площадь ядрышек в клетке, мкм ²	8.36±0.14	9.01±0.12	-3.46	0.001**
Ядерно-ядрышковое отношение (ЯЯО)	10.98±0.14	10.67±0.14	1.54	0.12ns

Примечание. n – количество проанализированных клеток; ns – отсутствует статистически значимое различие при уровне статистической значимости $p < 0.05$; ** – различие статистически значимо при $p < 0.05$.

Микроспороциты у *J. fruticans* в гнезде пыльника расположены двумя–четырьмя рядами (см. рис. 1). Это крупные клетки, площадь которых варьирует в зависимости от морфотипа растения. Площадь поперечного сечения микроспороцитов в пыльниках у длинностолбчатых растений составляет 351.52 ± 4.20 мкм², а у короткостолбчатых – 330.27 ± 3.92 мкм². Микроспороциты *J. fruticans* содержат одно крупное ядро, занимающее центральное положение, в котором четко выражено одно ядрышко. Лишь в редких случаях отмечается образование двух–трех ядрышек. Для клеток с небольшим количеством ядрышек информативной характеристикой их функциональной активности является размер одиночных ядрышек [Архипчук, 1995]. Однако этот показатель относителен, поскольку размеры клеток и ядер у флоральных форм также различны (табл. 2).

Таблица 2

**Кариометрические параметры микроспороцитов длинностолбчатых и
короткостолбчатых растений *J. fruticans***

[Karyometric parameters of tapetum cells of formed anthers of long-styled and short-styled plants *J. fruticans*]

Показатель	Длинно- столбчатые (n=600)	Коротко- столбчатые (n=600)	t-критерий	p-уровень
Площадь ядра, мкм ²	134.50± 2.12	112.26± 1.53	8.52	0.001**
Площадь ядрышка в клетке, мкм ²	8.36± 0.11	7.72± 0.09	4.41	0.001**
Ядерно-ядрышковое отношение (ЯЯО)	17.61± 0.36	15.59± 0.27	4.52	0.001**

Примечание. ** – различие статистически значимо при $p < 0.05$.

Поэтому наиболее объективную картину функциональной активности клетки демонстрирует ядерно-ядрышковое отношение (ЯЯО), свидетельствующее об интенсивности белкового метаболизма клетки [Машкин, Назарова, 1976; Хроленко и др., 2011]. У микроспороцитов короткостолбчатых растений ЯЯО меньше (15.59 ± 0.27) по сравнению с длинностолбчатыми растениями (17.61 ± 0.36).

Обсуждение результатов

Известно, что с увеличением размеров ядрышка в ядре снижается значение ЯЯО, что характерно для клеток, у которых наблюдается усиление активности белоксинтезирующей системы клетки. Следовательно, можно говорить, что у флоральных форм *J. fruticans* материнские клетки микроспор являются функционально неоднородными: большую интенсивность белкового метаболизма проявляют микроспороциты пыльников короткостолбчатой формы. Как правило, увеличение активности ядрышковых организаторов хромосом, сопровождающееся снижением показателей ЯЯО, наблюдается при стрессовых повреждающих факторах (низких и высоких температурах, засухи, засоления, антропогенных воздействий и др.), что приводит к синтезу «стрессовых белков», являющихся ответной на цитологическом уровне адаптивной реакцией на стресс [Дуброва, 1989; Калаев и др., 2005; Вострикова, 2010; Калашник, 2013]. Таким образом, ядерно-ядрышковое отношение служит кариологическим признаком адаптивной устойчивости клеток. Как отмечалось выше, у дистильного вида *J. fruticans* микроспороциты короткостолбчатой формы имеют меньшее значение ЯЯО, что позволяет рассматривать их как более стабильную клеточную структуру по сравнению с аналогичными клетками длинностолбчатой формы. Характерно, что у длинностолбчатой формы дистильного вида *Mussaenda pubescens* (Rubiaceae) наблюдали процессы дегенерации пыльников [Li et al., 2010], что служит признаком функционального разделения полов в зависимости от морфологического типа растений. Процессы дегенерации генеративных элементов отмечены и у растений, отнесенных к группе потенциально обоеполюх. Как правило, у этих растений в женских цветках деструктивные процессы в микроспорангиях проявляются в мейотический и постмейотический

периоды, при этом на ранних этапах развитие и формирование клеточных слоев стенки микроспорангия, в том числе и тапетальной ткани, проходит без аномалий [Кордюм, Глушенко, 1976; Nugent et al., 2019]. В этом плане соотношение ядрышковой активности микроспороцитов и клеток тапетума пыльников длинно- и короткостолбчатых растений у *J. fruticans* может свидетельствовать о сходстве тенденции процессам развития пыльников, которые наблюдаются в пестичных и тычиночных цветках диэцичных растений с рудиментами органов другого пола. В частности, как пример переходной формы от гетеростилии к диэции, рассматривается *Morinda parvifolia* Bartl. ex DC. (Rubiaceae), у которого, несмотря на продуцирование морфологически одинаковых пыльцевых зерен растениями обеими флоральными формами, жизнеспособность пыльцы короткостолбчатых растений (S-форма) выше, чем у длинностолбчатых растений (L-форма) [Liu et al., 2012].

Заключение

В тапетуме сформированных пыльников у обеих флоральных форм *J. fruticans* преобладают двуядерные клетки, суммарное число ядрышек в которых равно двум. У короткостолбчатых растений по сравнению с длинностолбчатыми выше число клеток, в которых находится 6–8 ядрышек, что отражается на показателях суммарной площади ядрышек. Однако значение функциональной активности клеток тапетума длинно- и короткостолбчатых растений, оцениваемой как значения ядерно-ядрышкового отношения, не имеют статистически значимых различий.

Микроспороциты *J. fruticans* различаются по цитометрическим параметрам в зависимости от флоральной формы растения. Площади клеток и ядерных структур больше у длинностолбчатых растений.

Кариометрический анализ микроспороцитов показал статистически значимое снижение ядерно-ядрышкового отношения у короткостолбчатых растений по сравнению с длинностолбчатыми, что характеризует усиление функционирования их белоксинтезирующей системы. Данный факт можно рассматривать как проявление дифференциации функционирования мужской генеративной системы вида в зависимости от флорального (морфологического) типа растения

Список источников

1. Агаджанян А.М. Распространённость и распределение гетеростилии в системе покрытосеменных растений // Успехи современной биологии. 2000. Т. 120, № 4. С. 348–360.
2. Архипчук В.В. Использование ядрышковых характеристик в биотестировании // Цитология и генетика. 1995. Т. 29, № 3. С. 6–12.
3. Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. Размножение растений. СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2002. 232 с.
4. Владимирова О.С. Муратова Е.Н. Кариологические особенности ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) в условиях антропогенного загрязнения г. Красноярска // Экологическая генетика. 2005. Т. 3, № 1. С. 18–23.
5. Вострикова Т.В. Эколого-физиологическая реакция семенного потомства древесных растений на стресс // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. География. Геоэкология. 2010. № 1. С. 87–91.
6. Гашев С.Н., Бетляева Ф.Х., Лупинос М.Ю. Математические методы в биологии. Анализ биологических данных в системе Statistica. М.: Юрайт, 2018. 208 с.
7. Голубев В.Н. Биологическая флора Крыма. Ялта, 1996. 126 с.
8. Демьянова Е.И. О полиморфизме некоторых гетеростильных растений лесостепного Зауралья // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2014. Вып. 2. С. 10–17.
9. Дуброва А.Н. Ядрышковые организаторы хромосом как адаптивный элемент вида // Журнал общей биологии. 1989. Т. 50, № 2. С. 213–217.
10. Жинкина Н.А. Гетеростилия // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. СПб.: Мир и семья. 2000. Т. 3. С. 82–83.
11. Калаев В.Н. и др. Влияние низких активностей радона на ядерные структуры клеток апикальной меристемы корней *Zebrina pendula* Shcnizl (ядрышковый тест) // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. География. Геоэкология. 2005. № 1. С. 80–85.
12. Калаев В.Н. и др. Цитогенетические характеристики семенного потомства деревьев березы повислой в Хреновском бору // Лесоведение. 2009. № 3. С. 43–51.
13. Калашник Н.А. Оценка функциональной активности ядрышковых организаторов хромосом у лиственницы Сукачева в условиях техногенного загрязнения // Вестник Оренбургского университета. 2013. 10 (159). С. 195–197.
14. Кордюм Е.Л., Глушенко Г.И. Цитоэмбриологические аспекты проблемы пола покрытосеменных. Киев: Наукова думка, 1976. 200 с.
15. Коржевский Д.Э. Применение гематоксилина в гистологической практике // Морфология. 2007. Т. 132, № 6. С. 77–82.

16. Кузьмина Т.Н. Диморфизм цветков *Jasminum fruticans* L. // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2017. Вып. 3. С. 233–239.
17. Кузьмина Т.Н. Формирование мужских генеративных структур у *Jasminum fruticans* (Oleaceae) // Ботанический журнал. 2018. Т. 103, № 5. С. 654–663.
18. Кузьмина Т.Н. Формирование семязачатка и семени *Jasminum fruticans* (Oleaceae) // Ботанический журнал. 2020. Т. 105, № 9. С. 919–930.
19. Машкин С.И., Назарова М.Н. Сезонная динамика числа и размеров ядрышек, ядер и ядерно-ядрышковых отношений у представителей подсем. Сливовых при их интродукции // Цитология. 1976. Т. 18, № 12. С. 1438–1443.
20. Резникова С.А. Цитология и физиология развивающегося пыльника. М.: Наука, 1984. 272 с.
21. Резникова С.А., Бугара А.М. Функциональные изменения объема ядер в тканях развивающегося пыльника лилии // Цитология. 1979. Т. 21, № 6. С. 671–677.
22. Романова Л.И., Третьякова И.Н. Особенности микроспорогенеза у лиственницы сибирской, растущей в условиях техногенного стресса // Онтогенез. 2005. Т. 36, № 2. С. 128–133.
23. Трочинская Т.Г., Бланковская Т.Ф., Тощий В.М. Количественные признаки клеток мужских генеративных структур пшеницы, ржи и пшенично-ржаных гибридов в микроспорогенезе // Цитология и генетика. 2010. Т. 4. С. 48–54.
24. Хроленко Ю.А. и др. Количественные характеристики ядрышек в клетках *Panax ginseng* in vivo и in vitro // Turczaniowia. 2011. Т. 14, № 1. С. 104–108.
25. Челидзе П.В., Зацепина О.В. Морфофункциональная классификация ядрышек // Успехи современной биологии. 1988. Т. 105, № 2. С. 252–258.
26. Шевченко С.В., Плугатарь Ю.В. Исследования репродуктивной биологии семенных растений в Никитском ботаническом саду // Сборник научных трудов ГНБС. 2019. Т. 149. С. 177–198. URL: <https://doi.org/10.36305/0201-7997-2019-149-177-198> (дата обращения: 19.07.2023).
27. Baker H.G. Reproductive methods as factors in speciation in flowering plants // Cold Spring Harbor symp. Quant. Boil. 1960. Vol. 24. P. 177–191.
28. Du K. et al. Abnormal tapetum development and energy metabolism associated with sterility in SaNa-1A CMS of *Brassica napus* L. // Plant Cell Rep. 2019. Vol. 38. P. 545–558. URL: <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02385-2> (дата обращения: 19.07.2023).
29. Ganders F.R. The biology of heterostyly // New Zealand Journal of Botany. 1979. Vol. 17. P. 607–635. URL: <https://doi.org/10.1080/0028825X.1979.10432574> (дата обращения: 19.07.2023).
30. Gao S. et al. The nonreciprocal heterostyly and heterotypic self-incompatibility of *Ceratostigma willmottianum* // J. Plant Res. 2021. Vol. 134. P. 543–557. URL: <https://doi.org/10.1007/s10265-021-01269-5> (дата обращения: 19.07.2023).
31. Gothandam K.M., Kim E.S., Chung Y.Y. Ultrastructural study of rice tapetum under low-temperature stress // J. Plant Biol. 2007. Vol. 50(4). P. 396–402. URL: <https://doi.org/10.1007/BF03030674> (дата обращения: 19.07.2023).
32. Keller B., de Vos J.M., Conti E. Decrease of sexual organ reciprocity between heterostylous primrose species. with possible functional and evolutionary implications // Annals of Botany. 2012. Vol. 110. P. 1233–1244. URL: <https://doi.org/10.1093/aob/mcs199> (дата обращения: 19.07.2023).
33. Klein D.E., Freitas L., Da Cunha M. Self-incompatibility in a distylous species of Rubiaceae: is there a single incompatibility response of the morphs? // Sex Plant Reprod. 2009. Vol. 22. P. 121–131. DOI: 10.1007/s00497-009-0097-0. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20033433> (дата обращения: 19.07.2023).
34. Li A.-M. et al. Cryptic dioecy in *Mussaenda pubescens* (Rubiaceae): a species with stigma-height dimorphism // Annals of Botany. 2010. Vol. 106. P. 521–531. URL: <https://doi.org/10.1093/aob/mcq146> (дата обращения: 19.07.2023).
35. Liu Y. et al. Functional dioecy in *Morinda parvifolia* (Rubiaceae): a species with stigma-height dimorphism // Plant Systematics and Evolution. 2012. Vol. 298. P. 775–785. URL: <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0588-y> (дата обращения: 19.07.2023).
36. Nugent J.M. et al. Progressive programmed cell death inwards across the anther wall in male sterile flowers of the gynodioecious plant *Plantago lanceolata* // Planta. 2019. Vol. 249. P. 913–923. URL: <https://doi.org/10.1007/s00425-018-3055-y> (дата обращения: 19.07.2023).
37. Pailler Th., Thompson J.D. Distyly and variation in heteromorphic incompatibility in *Gaertnera vaginata* (Rubiaceae) endemic to La Reunion Island // American Journal of Botany. 1997. Vol. 84(3). P. 315–327. URL: <https://doi.org/10.2307/2446005> (дата обращения: 19.07.2023).
38. Shi S. et al. A comparative light and electron microscopic analysis of microspore and tapetum development in fertile and cytoplasmic male sterile radish // Protoplasma. 2010. Vol. 241. P. 37–49. DOI: 10.1007/s00709-009-0100-5. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00709-009-0100-5> (дата обращения: 19.07.2023).

39. Stevens V.A.M., Murray B.G. Studies on heteromorphic self-incompatibility systems: Physiological aspects of the incompatibility system of *Primula obconica* // Theoret. Appl. Genetics. 1982. Vol. 61. P. 245–256. DOI: 10.1007/BF00273782. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24270436/> (дата обращения: 19.07.2023).
40. Tompson J.D., Dommée B. Morph-specific patterns of variation in stigma height in natural populations of distylous *Jasminum fruticans* // New Phytologist. 2000. Vol. 148. P. 303–314. URL: <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00765.x> (дата обращения: 19.07.2023).
41. Valois-Cuesta H., Soriano P.J., Ornelas J.F. Dimorphisms and self-incompatibility in the distylous species *Palicourea demissa* (Rubiaceae): possible implications for its reproductive output // J. Plant Res. 2011. Vol. 124. P. 137–146. URL: <https://doi.org/10.1007/s10265-010-0359-9> (дата обращения: 19.07.2023).
42. Vijayaraghavan M.R., Ratnaparkhi S. Histological dynamics of anther tapetum in *Heuchera micrantha* // Proc. Indian Acad. Sci. 1979. Vol. 88. P. 309–316. URL: <https://doi.org/10.1007/BF03046195> (дата обращения: 19.07.2023).
43. Wu Xi.-Q. et al. Distyly and cryptic heteromorphic self-incompatibility in *Mussaenda macrophylla* (Rubiaceae) // Journal of Systematic and Evolution. 2015. Vol. 9999. P. 1–13. URL: <https://doi.org/10.1111/jse.12142> (дата обращения: 19.07.2023).
44. Yeung E.C. et al. Anther, pollen and tapetum development in safflower *Carthamus tinctorius* L. // Sex Plant Reprod. 2011. Vol. 24. P. 307–317. DOI: 10.1007/s00497-011-0168-x/ URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21573927/> (дата обращения: 19.07.2023).

References

1. Agadjanyan A.M. [The extent and distribution of heterostyly in system of Angiosperms]. *Uspechi sovremennoy biologii*. V. 120, No. 4 (2000): pp. 348-360. (In Russ.).
2. Arkhipchuk V.V. [Application of nucleolar characteristics in biotesting]. *Citologija i genetika*. V. 29, No. 3 (1995): pp.6-12. (In Russ.).
3. Batygina T.B., Vasilyeva V.E. *Razmnoženie rastenij* [Reproduction of plants]. St-Peterburg, St. Petersburg University Press Publ., 2002. 232 p. (In Russ.).
4. Vladimirova O.S., Muratova E.N. [Karyological Features of Siberian spruce (*Picea obovata* Ledeb.) under Anthropogenic Contamination Conditions of Krasnoyarsk]. *Ėkologičeskaja genetika*. V. 3, No. 1 (2005): pp. 18-23. (In Russ.).
5. Vostrikova T.V. [Eco-physiological response of seed progeny of woody plants to stress]. *Vestnik Voronežskogo gosudarstvennogo universiteta. Geografija. Geoekologija*. No. 1 (2010): pp. 87-91. (In Russ.).
6. Gashev S.N., Betlyayeva F.H., Lupinos M.Y. *Matematičeskie metody v biologii* [Mathematical methods in biology. Analysis of biological data in the Statistica system]. Moscow, Jurajt Publ., 2018. 208 p. (In Russ.).
7. Golubev W.N. *Biologičeskaja flora Kryma* [Biological flora of the Crimea]. Yalta, 1996. 126 p. (In Russ.).
8. Demyanova E.I. [To the polymorphism of some heterostyled plants of the forest-steppe of the Trans-Urals] *Vestnik Permskogo universiteta. Ser. Biologija*. Iss. 2 (2014): pp. 10-17. (In Russ.).
9. Dubrova A.N. [Nucleolar organizers of chromosomes as an adaptive element of a species]. *Žurnal obščej biologii*. V. 50, No. 2 (1989): pp. 213-2017. (In Russ.).
10. Zhinkina N.A. [Heterostyly]. *Ėmbryologija cvetkovykh rastenij. Terminologija i koncepcii* [Embryology of Angiosperms. Terminology and concepts]. St-Peterburg, Mir i sem'ja Publ., 2000. V. 3. pp. 82-83. (In Russ.).
11. Kalaev V.N., Butorina A.K., Marukhlenko V.N., Vakhtel V.M., Babenko A.G. [The effect of low radon activity on the nuclear structures of cells of the apical meristem of the roots of *Zebrina pendula* Shcnizl (nucleolar test)]. *Vestnik Voronežskogo gosudarstvennogo universiteta. Geografija. Geoekologija*. No. 1 (2005): pp. 80-85. (In Russ.).
12. Kalaev V.N., Karpova S.S., Artyukhov V.G., Matveev S.M., Tarankov V.I. [Cytogenetic Characteristics of *Betula pendula* Seed Progeny in the Khrenovskii Pine Forest]. *Lesovedenie*. No. 3 (2009): pp. 43-51. (In Russ.).
13. Kalashnik N.A. [Functional activity of nucleolar organization chromosomes in *Larix sukaczewii* under technogenic pollution]. *Vestnik Orenburgskogo universiteta*. V. 10, No. 159 (2013): pp. 195-197. (In Russ.).
14. Kordyum E.L., Gluschenko G.I. *Citoembriologičeskie aspekty problemy pola pokrytosemennykh* [Cytogenetic aspects of the problem of gender angiosperms]. Kiev, Naukova dumka Publ., 1976. 200 p. (In Russ.).
15. Korzhevskiy D.E. [Application of hematoxylin in histological technique]. *Morfologija*. V. 132, No. 6 (2007): pp. 77-82. (In Russ.).
16. Kuzmina T.N. [The dimorphism of flowers of *Jasminum fruticans* L. (Oleaceae)]. *Vestnik Permskogo universiteta. Ser. Biologija*. Iss. 3 (2017): pp. 233-239. (In Russ.).
17. Kuzmina T.N. [Formation of male generative structures in *Jasminum fruticans* (Oleaceae)]. *Botaničeskij žurnal*. V. 103, No. 5 (2018): pp.654-663. (In Russ.).
18. Kuzmina T.N. [Formation of the ovule and seed in *Jasminum fruticans* (Oleaceae)]. *Botaničeskij žurnal*. V. 105, No. 9 (2020): pp. 919-930. (In Russ.).
19. Mashkin S.I., Nazarova M.N. [Seasonal dynamics of the size and number of nucleoli. nuclei and nucleus-nucleolus relation in members of the subfamily Prunoideae Focke during their introduction]. *Citologija*. V. 18, No. 12 (1976): pp. 1438-1443. (In Russ.).

20. Reznikova S.A. *Citologija i fiziologija razvivajuščegosja pyl'nika* [Cytology and physiology of the developing anther]. Moscow, Nauka Publ., 1984. 272 p. (In Russ.).
21. Reznikova S.A., Bugara A.M. [Functional changes of the nuclear volume in the tissues of developing lili-um anther]. *Citologija*. V. 21, No. 6 (1979): pp. 671-677. (In Russ.).
22. Romanova L.I., Tret'yakova I.N. [Specific features of microsporogenesis in the Siberian Larch Growing the Condition of Technogenic load]. *Ontogenez*. V. 36, No. 2 (2005): pp. 128-133. (In Russ.).
23. Trochynskaya T.G., Blankovskaya T.Ph., Totskiy V.N. [Quantitative characters of malegenerative struc-tures cells of wheat, rye and wheat rye hybrids during microsporogenesis]. *Citologija i genetika*. V. 4 (2010): pp. 48-54. (In Russ.).
24. Khrolenko Yu.A., Burundukova O.L., Lauve L.S., Muzarok T.I., Zhuravlev Yu.N. Quantitative charac-teristics of nucleoli in the cells of *Panax ginseng* in vivo and in vitro. *Turczaninowia*. V. 14, No. 1 (2011): pp. 104-108. (In Russ.).
25. Chelidze P.V., Zatssepina O.V. [Morphological and functional classification of nucleoli]. *Uspechi sov-remennoj biologii*. V. 105, No. 2 (1988): pp. 252-258. (In Russ.).
26. Shevchenko S.V., Plugatar Yu.V. [Studies of reproductive biology of seed plants in the Nikita Botanical Gardens]. *Sbornik naučnykh trudov GNBS* [Works of the Shate Nikit. Botan. Gard.]. V. 149 (2019): pp.177-198. (In Russ.). Available at: <https://doi.org/10.36305/0201-7997-2019-149-177-198> (accessed 19.07.2023).
27. Baker H. G. Reproductive methods as factors in speciation in flowering plants. *Cold Spring Harbor symp. Quant. Boil.* V. 24 (1960): pp. 177-191.
28. Du K., Xiao Y., Liu Q., Wu X., Jinang J., Wu J., Fang Y., Xiang X., Wang Y. Abnormal tapetum devel-opment and energy metabolism associated with sterility in SaNa-1A CMS of *Brassica napus* L. *Plant Cell Rep.* V. 38 (2019): pp. 545-558. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02385-2> (accessed 19.07.2023).
29. Ganders F.R. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany*. V. 17 (1979): pp. 607-635. Available at: <https://doi.org/10.1080/0028825X.1979.10432574> (accessed 19.07.2023).
30. Gao S., Li W., Hong M., Lei T., Shen P., Li J., Jiang M., Duan Y., Shi L. The nonreciprocal heterostyly and heterotypic self-incompatibility of *Ceratostigma willmottianum*. *J. Plant Res.* V. 134 (2021): pp. 543-557. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10265-021-01269-5> (accessed 19.07.2023).
31. Gothandam K.M., Kim. E.S., Chung Y.Y. Ultrastructural study of rice tapetum under low-temperature stress. *J. Plant Biol.* V. 50, No. 4 (2007): pp. 396-402. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF03030674> (ac-cessed 19.07.2023).
32. Keller B., de Vos J.M., Conti E. Decrease of sexual organ reciprocity between heterostulous primrose species. with possible functional and evolutionary implications. *Annals of Botany*. V. 110 (2012): pp. 1233-1244. Available at: <https://doi.org/10.1093/aob/mcs199> (accessed 19.07.2023).
33. Klein D.E., Freitas L., Da Cunha M. Self-incompatibility in a distylous species of Rubiaceae: is there a single incompatibility response of the morphs? *Sex Plant Reprod.* V. 22 (2009): pp. 121-131. DOI: 10.1007/s00497-009-0097-0. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20033433> (accessed: 19.07.2023).
34. Li A.-M., Wu X.-Q., Zhang D.-X., Barrett S. C. H. Cryptic dioecy in *Mussaenda pubescens* (Rubiaceae): a species with stigma-height dimorphism. *Annals of Botany*. V. 106 (2010): pp. 521-531. Available at: <https://doi.org/10.1093/aob/mcq146> (accessed 19.07.2023).
35. Liu Y., Luo Z., Wu X., Bai X., Zhang D. Functional dioecy in *Morinda parvifolia* (Rubiaceae). a species with stigma-height dimorphism. *Plant Systematics and Evolution*. V. 298 (2012): pp. 775-785. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0588-y> (accessed 19.07.2023).
36. Nugent J.M., Byrne T., McCormack G., Quiwa M., Stafford E. Progressive programmed cell death in-wards across the anther wall in male sterile flowers of the gynodioecious plant *Plantago lanceolata*. *Planta*. V. 249. (2019): pp. 913-923. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00425-018-3055-y> (accessed 19.07.2023).
37. Pailler Th., Thompson J.D. Distyly and variation in heteromorphic incompatibility in *Gaertnera vaginata* (Rubiaceae) endemic to La Reunion Island. *American Journal of Botany*. V. 84, No. 3 (1997): pp. 315-327. Available at: <https://doi.org/10.2307/2446005> (accessed 19.07.2023).
38. Shi S., Din D., Mei S., Wang J. A comparative light and electron microscopic analysis of microspore and tapetum development in fertile and cytoplasmic male sterile radish. *Protoplasma*. V. 241 (2010): pp. 37-49. DOI: 10.1007/s00709-009-0100-5. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00709-009-0100-5> (accessed 19.07.2023).
39. Stevens V.A.M., Murray B.G. Studies on heteromorphic self-incompatibility systems: Physiological as-pects of the incompatibility system of *Primula obconica*. *Theoret. Appl. Genetics*. V. 61 (1982): pp. 245-256. DOI: 10.1007/BF00273782. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24270436/> (accessed 19.07.2023).
40. Tompson J.D., Dommée B. Morph-specific patterns of variation in stigma height in natural populations of distylous *Jasminum fruticans*. *New Phytologist*. V. 148 (2000): pp. 303-314. Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00765.x> (accessed 19.07.2023).

41. Valois-Cuesta H., Soriano P.J., Ornelas J.F. Dimorphisms and self-incompatibility in the distylous species *Palicourea demissa* (Rubiaceae): possible implications for its reproductive output. *J. Plant Res.* V. 124 (2011): pp. 137-146. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10265-010-0359-9> (accessed 19.07.2023).

42. Vijayaraghavan M.R., Ratnaparkhi S. Histological dynamics of anther tapetum in *Heuchera micrantha*. *Proc. Indian Acad. Sci.* V. 88 (1979): pp. 309-316. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF03046195> (accessed 19.07.2023).

43. Wu Xi.-Q., Li P.-X., Deng X.-F., Zhang D.-X. Distyly and cryptic heteromorphic self-incompatibility in *Mussaenda macrophylla* (Rubiaceae). *Journal of Systematic and Evolution.* V. 9999 (2015): pp. 1-13. Available at: <https://doi.org/10.1111/jse.12142> (accessed 19.07.2023).

44. Yeung E.C., Oinam G.S., Yeung S.S., Harry I. Anther, pollen and tapetum development in safflower *Carthamus tinctorius* L. *Sex Plant Reprod.* V. 24 (2011): pp. 307-317. DOI: 10.1007/s00497-011-0168-x. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21573927/> (accessed 19.07.2023).

Статья поступила в редакцию 11.12.2023; одобрена после рецензирования 27.12.2023; принята к публикации 05.03.2024.

The article was submitted 11.12.2023; approved after reviewing 27.12.2023; accepted for publication 05.03.2024.

Информация об авторе

Т. Н. Кузьмина – канд. биол. наук, старший научный сотрудник сектора структурной ботаники и репродуктивной биологии растений. Лаборатория биохимии, физиологии и репродуктивной биологии растений.

Information about the author

T. N. Kuzmina – candidate of biological sciences, senior research fellow of Sector of Structural Botany and Plant Reproductive Biology. Laboratory of Biochemistry, Physiology and Plant Reproductive Biology and Physiology.

БОТАНИКА

Научная статья

УДК 581.52

doi: 10.17072/1994-9952-2024-1-32-41

**Эколого-биологические особенности *Adonis apennina* L.
(Ranunculaceae) на юге Томской области**

Алексей Сергеевич Прокопьев^{1✉}, Татьяна Николаевна Катаева²

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

^{1✉} rareplants@list.ru

² gentianka@mail.ru

Аннотация. Изучены три локальные ценопопуляции *Adonis apennina* L. на юге Томской обл. (окр. с. Коларово, Томский р-н), где вид встречается среди лугово-лесного разнотравья. Плотность особей на исследованных локальных участках низкая – от 0.7 до 2.8 ос./м². Для онтогенетического состава свойственна неполноценность: отсутствуют особи прегенеративного периода или стареющей фракции. Установлен слабо реализуемый репродуктивный потенциал, семенная продуктивность отдельного побега относительно невелика. В антропогенно нарушенных сообществах продуктивность особей снижается более чем в два раза. Возобновление и поддержание численности особей в природных условиях осуществляется исключительно семенным путем. Сравнительный анализ морфологических характеристик *A. apennina* в различных эколого-ценотических условиях показал, что наиболее крупные особи развиваются в почти ненарушенных сообществах или испытывающих слабое антропогенное воздействие. Расположенные в окр. с. Коларово две особо охраняемые природные территории – ландшафтный памятник природы «Коларовские водно-болотные угодья» и ботанический памятник природы «Склон с реликтовой растительностью у с. Коларово» – занимают сравнительно небольшие площади и не способны охватить все места локализации редкого вида. На основе проведенных исследований даны рекомендации по охране адониса апеннинского на территории Томской обл.

Ключевые слова: редкий вид, *Adonis apennina*, фитоценоз, онтогенетическая структура, семенная продуктивность, морфология, Томская область

Для цитирования: Прокопьев А. С., Катаева Т. Н. Эколого-биологические особенности *Adonis apennina* L. (Ranunculaceae) на юге Томской области // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 1. С. 32–41. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-32-41>.

Благодарности: исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № FSWM-2020-0019).

BOTANY

Original article

**Ecological and biological features of *Adonis apennina* L.
(Ranunculaceae) in the south of the Tomsk region**

Alexey S. Prokopyev^{1✉}, Tatjana N. Kataeva²

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

^{1✉} rareplants@list.ru

² gentianka@mail.ru

Abstract. Three local cenopopulations of *Adonis apennina* L. were studied in the south of the Tomsk region (environment of the village of Kolarovo, Tomsk region), where the species occurs among meadow-forest herbs. The density of individuals in the studied local areas is low – from 0.7 individuals/m² to 2.8 individuals/m². The age composition is characterized by incompleteness: there are no individuals of the pregenerative period or the aging fraction. The reproductive potential has been poorly realized; the seed productivity of an individual shoot is relatively low. In anthropogenically disturbed communities, the productivity of individuals is reduced by more than half. Renewal and maintenance of the number of individuals in natural conditions is carried out exclusively by seed. A comparative analysis of the morphological characteristics of *A. apennina* in various ecological and cenotic conditions showed that the largest individuals develop in undisturbed communities or those experiencing weak anthropogenic impact. Located in the vicinity. With. Kolarovo has two specially protected natural areas – the landscape nat-

ural monument “Kolarovo wetlands” and the botanical natural monument “Slope with relict vegetation near the village. Kolarovo” occupy relatively small areas and are not able to cover all locations of rare species. Based on the research, recommendations were given for the protection of *Adonis apennina* in the Tomsk region.

Keywords: rare species, *Adonis apennina*, phytocenosis, ontogenetic structure, seed productivity, morphology, Tomsk region

For citation: Prokopyev A. S., Kataeva T. N. [Ecological and biological features of *Adonis apennina* L. (Ranunculaceae) in the south of the Tomsk region]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 1 (2024): pp. 32-41. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-32-41>.

Acknowledgments: the study was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project No. FSWM-2020-0019).

Введение

Среди основных направлений изучения и сохранения ценных и редких объектов растительного мира важное место занимает популяционный уровень. Это обусловлено тем, что в природе любой вид растения существует как самостоятельная локальная популяция. Именно процессы, происходящие в локальных популяциях, определяют их устойчивость и динамику развития [Злобин, Скляр, Клименко, 2013]. Популяционные исследования предполагают комплексный подход, который включает ежегодный учет численности и морфологических параметров особей, изучение пространственной, онтогенетической структуры и способов самоподдержания локальных популяций, а также исследование влияния антропогенного фактора на устойчивость этих видов в природных местообитаниях. Зная биологию и реакцию растения на неблагоприятные воздействия внешней среды, можно в дальнейшем рекомендовать меры по его охране.

На территории Томской обл. выявлена целая группа видов, в том числе с высокой хозяйственной ценностью, которые имеют единичные местонахождения, невысокую численность особей, характеризуются узкой экологической амплитудой или находятся на пределе своего распространения. При этом не все из них имеют природоохранный статус на территории области и поэтому нуждаются в проведении дополнительных исследований. Среди таких видов стоит отметить *Adonis apennina* L. – высокодекоративное и ценное лекарственное растение природной флоры Сибири. Несмотря на достаточно обширный ареал, его распространение на территории Томской обл. очень ограничено. Известные местонахождения этого вида уже длительное время испытывают интенсивное антропогенное воздействие, связанное с хозяйственным освоением территорий. Вблизи населенных пунктов вследствие большой популярности среди местного населения адонис продолжает массово уничтожаться (растения выкапываются или собираются на букеты). В связи с этим целью нашего исследования явилась оценка современного состояния природных ценопопуляций адониса апеннинского (*Adonis apennina* L.) на юге Томской обл. и разработка рекомендаций по его охране.

Объект и методы исследования

Adonis apennina L. (= *Adonis sibirica* (Patrin ex DC.) Ledeb.) – адонис апеннинский, горлицевид, стародубка (сем. Ranunculaceae). Многолетнее травянистое короткокорневищно-кистекарневое поликарпическое растение с удлиненным прямостоячим побегом, гемикриптофит. Стебли обычно в числе 1–6, редко встречаются многопобеговые особи (до 10 побегов и больше), в верхней части разветвленные, в начале цветения 15–20 см высотой, в период плодоношения вытягиваются до 55–77 см. Стеблевые листья сидячие, с перисто рассеченной пластинкой и узкими конечными долями. Нижние стеблевые листья в виде пленчатых чешуй. Цветки крупные, одиночные, золотисто-желтые, диаметром 3.5–5 см. Плод сборный – многоорешек (рис. 1).

A. apennina – евразийский лесостепной вид с обширным, но разорванным ареалом. Встречается в европейской части России (Архангельская обл. и Республика Коми), Сибири, Средней Азии, Монголии и северо-восточном Китае [Тимохина, 1993; Сенников, 2001]. В сибирской части ареала адонис апеннинский широко распространен от Урала до Байкала, преимущественно в лесостепной и южной части лесной зоны. По бассейну р. Лены проникает в северные широты Якутии до Северного полярного круга [Пошкурлат, 2000]. Растет в негустых лесах, на полянах, опушках мелколиственных и смешанных лесов, суходольных и остепненных лугах, лесистых склонах, в зарослях кустарников [Редкие ..., 1980].

В Томской обл. встречается преимущественно по югу: в окрестностях г. Томска, с. Коларово и Яр (Томский р-н). По берегам р. Оби проникает далее на север области. Единичные местонахождения отмечаются в Колпашевском, Кривошеинском и Молчановском р-нах области [Щеголева, 2014]. В условиях юга Томской обл. адонис апеннинский больших зарослей не образует, встречается рассеянно, преимущественно изолированными ценопопуляциями.



Рис. 1. *Adonis apennina* в окрестностях с. Коларово (Томский р-н)
[*A. apennina* in the vicinity of the Kolarovo village (Tomsk district)]

A. apennina – ценное декоративное и лекарственное растение. Широко применяется в народной медицине при сердечно-сосудистых, желудочных и неврологических заболеваниях. Лекарственные свойства вида определяются содержанием в надземной части растения гликозидов кардиотонического и седативного действия. В медицинской практике горичвет апеннинский нередко используется как заменитель фармокопейного вида – горичвета весеннего (*A. vernalis*), хотя биологическая активность препаратов из него сравнительно ниже [Полезные ..., 1989].

Наряду с лекарственными свойствами адонис уже давно завоевал популярность как высокодекоративное растение. На территории России этот вид широко введен в культуру, выращивается во многих ботанических садах и интродукционных центрах. Как красивое раноцветущее растение с крупными желтыми цветами может быть использовано в декоративном садоводстве в ландшафтных и групповых посадках [Интродукция ..., 2017].

Вследствие большой популярности среди местного населения вид становится уязвимым, его природные популяции подвергаются уничтожению. Поэтому адонис апеннинский включен во многие региональные красные книги России (Архангельская, Амурская, Вологодская, Иркутская, Кировская, Курганская, Тюменская обл., Республики Бурятия, Коми, Саха (Якутия), Удмуртия, Ханты-Мансийский автономный округ, Забайкальский край).

Полевые исследования *A. apennina* проводились в 2023 г. в окр. с. Коларово (Томский р-н). Район исследования расположен на правом берегу р. Томи, который, согласно схеме геоморфологического районирования восточной половины Томской обл. и сопредельных с ней территорий, относится к области «Предалтайской расчлененной равнины». Эта неоднородная и сложная в геоморфологическом отношении территория представляет собой переходную ступень от Алтае-Саянских гор к Западно-Сибирской равнине. Здесь происходит смыкание разнообразных геотектонических структур: северных отрогов Алтае-Саянских горных сооружений с Чулымо-Енисейским бассейном, Кольвань-Томской складчатой зоны и Западно-Сибирской плиты. Сложность геологического строения крайнего юго-востока Томской обл. сказалась на рельефе, который из сравнительно плоской и заболоченной равнины центральной части Западно-Сибирской низменности, становится более возвышенным и рассеченным [Рагозин, 1951]. Гипсометрические отметки междуречных пространств, как правило, превышают 200 м над ур. м. Рельеф приобретает холмисто-увалистый характер с густым и глубоким эрозионным расчленением. Относительные высоты увалов и возвышенностей над понижениями достигают 70–80 м. Очень много глубоких интенсивно развивающихся оврагов с крутыми, часто обрывистыми склонами. Почти повсеместно в долинах рек встречаются выходы палеозойских пород [Земцов, 1966].

По зонально-провинциальному делению растительного покрова Западно-Сибирской равнины исследуемая территория входит в геоботаническую подзону мелколиственных лесов (подтайги). Это своеобразная полоса коренных мелколиственных лесов, развитая в южной части таежной зоны. Основу расти-

тельного покрова составляют смешанные, березовые и березово-осиновые леса, которые характеризуются хорошо развитым злаково-разнотравным покровом (представлен вейником, коротконожкой, василисником, снытью, дудником) и участием представителей таежного мелкотравья. Эти леса часто чередуются с участками суходольных лугов. К ним примыкают острова темнохвойной тайги, проникающие сюда из Кузнецкого Алатау [Ильина, 1985].

Выявление фитоценотической приуроченности ценопопуляций *A. apennina* выполняли с использованием традиционных геоботанических подходов [Полевая геоботаника, 1964]. Количественное обилие видов оценивали с применением шкалы Друде [Drude, 1890]. Латинские названия видов приведены согласно Конспекту флоры Азиатской России [2012].

При изучении сезонного ритма развития вида использовали подходы, предложенные в работах И.В. Борисовой [1972] и И.Н. Бейдемман [1974].

Популяционные исследования проводили с применением подходов, принятых в современной популяционной биологии растений [Работнов, 1950; Уранов, 1975; Заугольнова и др., 1988; Злобин, Скляр, Клименко, 2013]. Онтогенетические состояния исследуемых видов выделены нами на основании комплекса качественных морфологических и биологических признаков.

Для изучения плотности и онтогенетической структуры ценопопуляций в сообществах регулярным способом закладывали трансекты, разделенные на учетные площадки. Подсчитывали общее число особей на единицу площади для выявления экологической и эффективной плотности ценопопуляций и число особей каждого онтогенетического состояния для построения онтогенетических спектров. Тип ценопопуляций устанавливали на основе классификации «дельта-омега» Л.А. Животовского [2001].

При изучении семенной продуктивности *A. apennina* придерживались методики Т.А. Работнова [1960] с рекомендациями И.В. Вайнагий [1974] и Р.Е. Левиной [1981]. В качестве основных показателей учитывались: потенциальная семенная продуктивность (ПСП), реальная семенная продуктивность (РСП), коэффициент продуктивности (Кпр). Потенциальную (ПСП) и реальную (РСП) семенную продуктивность определяли как среднее количество семязачатков и семян на генеративный побег. Коэффициент продуктивности (Кпр) рассчитывали как процентное отношение РСП к ПСП.

Морфология семян (орешков) описана с учетом работ З.Т. Артюшенко [1990] и В. Броувера, А. Штелина [2010]. Масса 1000 семян определялась на электронных весах DX-200 (A&D, Япония) с ценой деления 0.001 гр. в соответствии с ГОСТ 34221-2017¹.

Результаты и их обсуждение

Были изучены три локальные ценопопуляции (далее ЦП) в различных эколого-ценотических условиях. Первая ценопопуляция (ЦП 1) расположена в широкой долине р. Томи, рядом с границами ООПТ «Коларовские водно-болотные угодья». Особи *A. apennina* встречаются среди мезофильного лугового разнотравья, формирующего узкую полосу растительности вдоль вытянутого контура озера. С одной стороны ценоз вплотную примыкает к зарослям береговых ивняков, с другой стороны соседствует с участком обработанной пашни. Две другие ценопопуляции (ЦП 2 и ЦП 3) исследованы на пологовыпуклом склоне междуречной равнины среди разреженного березняка (рис. 2). Они размещены на территории горнолыжной базы «Эдельвейс» и находятся в зоне постоянного антропогенного воздействия. Участок с местом обитания ЦП 2 находится рядом с грунтовой дорогой, зимой расчищается от снега и используется под стоянку автомобильного транспорта. Верхний слой почвы местами нарушен и снят вместе с растительностью. ЦП 3 расположена дальше от дороги, ближе к горнолыжным спускам. Травяной покров здесь менее нарушен. Далее приводится краткое описание фитоценозов, в которых был изучен *A. apennina*.

ЦП 1 – разнотравно-злаковый высокотравный луг. Из древесных пород единично, по краю сообщества, отмечаются: *Betula pendula*, *Pinus sylvestris*, *Salix caprea*, из кустарников – *Rosa acicularis*, *Lonicera tatarica*, *Spiraea media*. Травяной покров густой, сомкнутый, с общим проективным покрытием (ОПП) от 85 до 100%. Средняя высота травостоя составляет 50 см, максимальная – до 1.7 м. Сенокосение и признаки других антропогенных нарушений в исследуемом сообществе не выявлены, но оно граничит с участком обрабатываемой пашни, на котором ранее также располагалась часть исследуемой ценопопуляции *A. apennina*. В напочвенном слое присутствует обильная ветошь. Доминируют злаки *Dactylis glomerata*, *Calamagrostis epigeios*, *Brachypodium pinnatum*, из разнотравья выделяются *Ligularia glauca*, *Hemerocallis minor*, *Dasystephana septemfida*, *Brunnera sibirica*, *Thalictrum simplex*, *T. flavum*, *Equisetum pratense*, *Fragaria viridis*, *Galium boreale*, *Inula salicina*. Участие остальных видов, в том числе *Adonis apennina*, незначительно. Всего в сообществе насчитывается 54 вида.

ЦП 2 – разнотравно-злаковый луг по краю разреженного березняка. Древесный ярус составлен *Betula*

¹ ГОСТ 34221-2017. Семена лекарственных и ароматических культур. Сортовые и посевные качества. Общие технические условия. М: Стандартинформ, 2017. 27 с.

pendula и *Populus tremula*. Подлесок не развит, но местами присутствует *Salix caprea*. Травяной ярус невысокий, в среднем от 40 до 50 см, с выраженными антропогенными нарушениями. ОПП травостоя до 70%. Доминируют *Festuca rubra*, *Thalictrum minus*, *Hieracium umbellatum*, *Vicia unijuga*, *Equisetum pratense*, *Adonis apennina*, *Cimicifuga foetida*, *Rubus saxatilis*. Всего в сообществе насчитывается 24 вида.



Рис. 2. Местообитание *A. apennina* в окрестностях с. Коларово (Томский р-н), май 2023 г.

[*A. apennina* habitat in the vicinity of the Kolarovo village (Tomsk district), may 2023]

ЦП 3 – разнотравно-орляковый разреженный березняк. Древесный ярус составлен высокорослыми зрелыми деревьями *Betula pendula*, высотой до 15 м с сомкнутостью крон 0.4. Травостой густой, высокий, в среднем до 80 см, с ОПП до 100%. Признаки антропогенного нарушения слабо выражены, несмотря на близость к трассе с горнолыжным спуском. В почвенном слое присутствует обильная ветошь. Доминируют *Pteridium pinetorum*, *Calamagrostis epigeios*, из разнотравья *Thalictrum simplex*, *Polygonatum odoratum*, *Adonis apennina*, *Rubus saxatilis*, *Pulmonaria mollis*. Всего в сообществе насчитывается 29 видов.

Многолетние наблюдения за сезонным ритмом развития *A. apennina*, проведенные нами на юге Томской обл., показали, что этот вид – длительно вегетирующее весенне-летнезеленое растение. Отрастание начинается после полного схода снежного покрова, обычно это происходит во второй половине апреля. Но в годы с ранней и теплой весной, а также на склонах южной и юго-западной ориентации первые надземные побеги адониса начинают появляться еще раньше, в начале апреля. Одновременно с разворачивающимися листьями на поверхность почвы выносятся бутоны, что объясняется тем, что будущий цветоносный побег формируется с осени предыдущего года. Поэтому период от начала вегетации до цветения очень короток и составляет в среднем 22 дня. Отдельные особи переходят к фазе цветения в первых числах мая, массовое цветение приходится на середину мая. Продолжительность цветения в среднем составляет 2 недели. В годы с холодной затяжной весной период цветения может сдвигаться на начало или середину июня. Семена созревают в первой половине июля и очень быстро осыпаются. В августе побеги начинают медленно желтеть, легают и к началу октября полностью усыхают. Иногда усыхание происходит раньше, в первой половине сентября.

Основные демографические характеристики ценопопуляций *A. apennina* в различных эколого-ценотических условиях приведены в табл. 1. Экологическая плотность особей *A. apennina* на обследованных участках изменяется в незначительных пределах – от 0.7 ос./м² (ЦП 1) до 2.8 ос./м² (ЦП 2), что соответствует 1–1.5% покрытия площади обитания вида. Наибольшее количество особей отмечено в разнотравно-злаковом сообществе с выраженными признаками антропогенного влияния – ЦП 2. Минимальные значения плотности свойственны ЦП 1, приуроченной к лугово-лесному высокотравью в долине р. Томи. При общих относительно невысоких показателях экологической плотности (*M*), эффективная плотность (*M_e*) в ценопопуляциях еще ниже и составляет от 0.6 до 1.4 ос./м². Менее всего этот показатель по отношению к обычной, физической плотности, уменьшается у ЦП 1, состоящей преимущественно из хорошо развитых взрослых особей виргинильного и генеративного состояний.

Тип онтогенетического спектра для ЦП 1 определяется как левосторонний с максимумом на молодых генеративных особях. В онтогенетическом спектре полностью отсутствуют особи начальных стадий онтогенеза (j и im) и постгенеративного периода ($ss-s$). Отсутствие в составе ценопопуляции младшей онтогенетической группы свидетельствует о слабой интенсивности семенного возобновления, связанной с характером местообитания – высоким травостоем и обилием ветоши, препятствующими закреплению проростков. Медленное возобновление ведет к накоплению в демографическом составе ЦП 1 особей генеративной фракции. В целом, несмотря на потерю части территории местообитания вида (в настоящее время занята пашней), исследуемая ценопопуляция сохраняет в своем составе значительную часть особей генеративной фракции, обеспечивающих ее самоподдержание. У ЦП 2 также онтогенетический спектр левостороннего типа с двумя пиками – на иматурных и молодых генеративных особях. В целом в ценопопуляции отмечается высокая доля особей молодой фракции ($j-g_1$) и полное отсутствие особей стареющей фракции (g_3-s). Малочисленность зрелых генеративных растений в ценопопуляции связана с неоднократно происходящими нарушениями целостности растительного покрова при строительстве и благоустройстве горнолыжной базы, что, вероятнее всего, и привело к сокращению зрелых особей в ценопопуляции. Впоследствии снижение антропогенной нагрузки (территория летом практически никак не использовалась) и наличие сохранившихся взрослых плодоносящих особей адониса стимулировало процесс семенного возобновления, на что указывает большой процент молодых растений в составе ценопопуляции. Для ЦП 3 выявлен центрированный тип спектра с равноценным максимумом на молодых и зрелых генеративных особях. Значительное участие в спектре принимают особи прегенеративного периода ($j-v$) и так же, как и в первых двух ЦП, не обнаружены особи постгенеративного периода ($ss-s$).

Таблица 1

Демографические характеристики ценопопуляций *A. apennina* в окр. с. Коларово (Томский р-н)
[Demographic characteristics of *A. apennina* coenopopulations in the vicinity of Kolarovo village (Tomsk district)]

№ ЦП	Онтогенетическое состояние, %								Демографические показатели				
	j	im	v	g_1	g_2	g_3	ss	s	M , ос./м ²	M_e , ос./м ²	Δ	ω	Тип ЦП
1	0	0	9.1	54.5	27.3	9.1	0	0	0.7	0.6	0.36	0.81	зрелая
2	21.2	27.3	9.1	27.2	15.2	0	0	0	2.8	1.3	0.18	0.47	молодая
3	7.1	14.3	7.1	28.6	28.6	14.3	0	0	2.0	1.4	0.34	0.68	зреющая

Примечание. ЦП – ценопопуляция; онтогенетическое состояние: j – ювенильное, im – иматурное, v – виргинильное, g_1 – молодое генеративное, g_2 – зрелое генеративное, g_3 – старое генеративное, ss – субсенильное, s – сенильное; M – экологическая плотность, M_e – эффективная плотность, Δ – индекс возрастности, ω – индекс эффективности; ос./м² – количество особей на 1 м².

Таким образом, ценопопуляции *A. apennina* в природных условиях юга Томской обл. (окр. с. Коларово) являются нормальными, характеризуются неполным онтогенетическим составом: ни в одной из ЦП не обнаружены особи постгенеративного периода, а у ЦП 1 также отсутствуют особи начальных стадий онтогенеза. По классификации «дельта-омега» ($\Delta-\omega$) ЦП 1 относится к зрелой, ЦП 2 – к молодой, ЦП 3 – к зреющей (табл. 1).

В природных местообитаниях для адониса апеннинского (как и для большинства представителей рода *Adonis*) характерна большая продолжительность жизни, которая занимает несколько десятков лет [Нухимовский, 1997]. Базовым онтогенетическим спектром *A. apennina* является центрированный тип спектра с максимумом на особях генеративного периода, что определяется значительной продолжительностью нахождения особей в этом периоде. Как правило, из-за затрудненного в природных условиях семенного возобновления очень слабо представлена группа начальных стадий онтогенеза. Крайне редко также можно встретить в природе особи постгенеративного периода. Исследование ценопопуляций *A. apennina* на юге Томской обл. выявило, что в ненарушенных или слабо нарушенных сообществах онтогенетическая структура ценопопуляций сохраняет характерный для вида тип спектра с максимумом на особях генеративного периода. При антропогенных воздействиях, сопровождающихся кратковременным нарушением целостности растительного покрова (частичное снятие верхнего слоя почвы, временное использование территории под стоянку автотранспорта и т. д.), в ценопопуляциях происходит накопление особей молодой фракции и, соответственно, формируется левосторонний тип спектра.

A. apennina – вегетативно неподвижный вид, поэтому в естественных условиях обитания большое значение для его самоподдержания имеет семенное размножение. Средневозрастные особи (g_2) адониса апеннинского формируют от 4 до 10 генеративных побегов (в среднем по 3–5), разветвленных до осей 3-го порядка. Количество цветков и плодов на одном побеге варьирует от 1 до 5 шт. Максимальное количество соплодий формируется в ЦП 1 (в среднем 2.7 шт. на побег), минимальные значения – в ЦП 2 (1.4 шт.). Величина плодоцветения (ППЦ) высокая, в среднем превышает 96%. В одном соплодии развивается от 47.6 до 74.7 семязачатков и от 14.4 до 41.0 семян (орешков). Только половина или меньше полови-

ны семязачатков превращаются в полноценные семена, т. е. коэффициент продуктивности (Кпр) побега составляет от 28.4 до 54.9%. Таким образом, для данного вида характерен слабо реализуемый репродуктивный потенциал, семенная продуктивность отдельного побега относительно невелика. В антропогенно нарушенных сообществах продуктивность особей снижается более чем в два раза (табл. 2).

Таблица 2

Репродуктивные показатели генеративных побегов *A. arvensis* в окр. с. Коларово (Томский р-н)
[Reproductive indicators of *A. arvensis* in the vicinity of Kolarovo village (Tomsk district)]

№ ЦП	Число цветков на побег, шт.	Число соплодий на побег, шт.	ППЦ	Число семязачатков в цветке, шт.	Число орешков в соплодии, шт.	ПСП побега	РСП побега	Кпр, %
1	2.7±0.4	2.7±0.4	100	74.7±4.0	41.0±5.1	201.7±32.3	110.7±19.1	54.9±5.0
2	1.5±0.2	1.4±0.3	96.7±3.3	47.6±3.4	14.5±4.3	71.5±10.3	20.2±5.7	28.3±7.0
3	1.7±0.3	1.7±0.3	100	60.2±4.8	27.0±2.5	102.3±20.5	45.9±9.8	44.9±4.6

Примечание. ЦП – ценопопуляция, ППЦ – процент плодоцветения, РСП – реальная семенная продуктивность, ПСП – потенциальная семенная продуктивность, Кпр – коэффициент продуктивности; среднее значение ± ошибка среднего значения.

Плоды (орешки) односемянные, 4.0–4.4 мм длиной, 2.7–3.0 мм шириной и 2.1–2.3 мм толщиной; масса 1000 шт. – 7.54–9.59 г. По форме – обратнойцевидные, шаровидно уплощенные, в верхней части с боковым крючкообразно изогнутым коротким носиком – стилодием, который является остатком пестика. Поверхность орешков морщинистая, покрыта редкими светлыми волосками, при созревании желтовато-зеленая. Статистический анализ размеров орешков адониса не выявил существенных различий между образцами разного происхождения, в то время как по их массе отмечается заметное снижение этого показателя у ЦП 2, находящаяся в условиях высокой антропогенной нагрузки (рис. 3, табл. 3).



Рис. 3. Орешки *A. arvensis*, собранные в окрестностях с. Коларово (Томский р-н)
 [*A. arvensis* nuculeus, collected in the vicinity of the village of Kolarovo (Tomsk region)]

На юге Томской обл. *A. arvensis* характеризуется типичным габитусом. Сравнительный анализ морфологических характеристик вида в различных эколого-ценотических условиях показал, что наиболее крупные особи развиваются в почти ненарушенных сообществах (ЦП 1) или испытывающих слабое антропогенное воздействие (ЦП 3). Они формируют наибольшее количество генеративных побегов (от 3.2 до 3.4) с максимальным числом разветвлений 1-го порядка (4.1–4.3) и большим количеством цветков на одном побеге (от 1.7 до 2.7). В то же время, в условиях значительного антропогенного прессинга (ЦП 2) большинство морфологических параметров вида заметно снижены (табл. 2, 4).

Таблица 3

Морфология орешков *A. apennina*, собранных в окр. с. Коларово (Томский р-н)**[Morphology of *A. apennina* nuculeus, collected in the vicinity of Kolarovo village (Tomsk district)]**

№ ЦП	Длина орешка, мм	Ширина орешка, мм	Толщина орешка, мм	Масса 1000 шт. орешков, г.
1	4.0±0.05	2.8±0.03	2.2±0.02	9.33±0.16
2	4.1±0.03	2.7±0.05	2.1±0.03	7.54±0.06
3	4.4±0.04	3.0±0.04	2.3±0.02	9.59±0.05

Примечание. Среднее значение ± ошибка среднего значения.

Таблица 4

Морфологические особенности *A. apennina* в окр. с. Коларово (Томский р-н)**[Morphological features of *A. apennina* in the vicinity of Kolarovo village (Tomsk district)]**

№ ЦП	Число генеративных побегов, шт.	Число вегетативных побегов, шт.	Длина побега, см	Число листьев, шт.	Длина листа, см	Ширина листа, см	Число разветвлений 1-го порядка, шт.
1	3.2±1.0	2.2±0.5	54.5±2.2	58.6±2.7	6.8±0.2	5.3±0.2	4.1±0.3
2	2.5±0.9	1.7±0.3	43.5±2.0	45.5±4.5	8.6±0.4	7.1±0.6	3.5±0.7
3	3.4±1.2	1.1±0.1	58.2±2.0	53.0±4.8	10.0±0.5	7.0±0.5	4.3±0.9

Примечание. Среднее значение ± ошибка среднего значения.

Заключение

Таким образом, на юге Томской обл. *Adonis apennina* встречается небольшими группами или отдельными особями, неравномерно рассредоточенными среди травостоя. Плотность особей *A. apennina* на исследованных локальных участках в окр. с. Коларово низкая – от 0.7 ос./м² (ЦП 1) до 2.8 ос./м² (ЦП 2). Для онтогенетической структуры свойственна неполноценность: отсутствуют особи или прегенеративного периода, или стареющей фракции. В ЦП 1 и ЦП 3 преобладают хорошо развитые генеративные особи, ежегодно цветущие и завязывающие полноценные семена. ЦП 2 представлена в основном молодыми растениями, в том числе прегенеративного периода. Семенная продуктивность особей относительно невелика. В антропогенно нарушенных сообществах продуктивность особей адониса апеннинского может снижаться более чем в два раза (ЦП 2). Возобновление и поддержание численности особей в природных условиях осуществляется семенным путем, который в значительной степени определяется факторами природного характера (высоким плотным травостоем, обилием ветоши в надземном слое почвы). Факты вегетативного размножения в природе не наблюдались.

В настоящее время значительная часть территории в окр. с. Коларово с выявленными местообитаниями редких и охраняемых видов вовлечена в хозяйственный оборот. Ведется активная жилая застройка долины р. Томи, прокладывается сеть автомобильных дорог, под застройку вырубается целые массивы пойменных лесов. Также сохраняется отрицательное влияние рекреационной нагрузки от соседства с горнолыжной базой «Эдельвейс», приводящей к вытаптыванию и деградации растительного покрова склонов с реликтовыми степными видами. Срывы при ее строительстве склоны и сейчас продолжают разрушаться оползевыми процессами. Расположенные в окр. с. Коларово две особо охраняемые природные территории – ландшафтный памятник природы «Коларовские водно-болотные угодья» и ботанический памятник природы «Склон с реликтовой растительностью у с. Коларово» – занимают сравнительно небольшие площади и не способны охватить все места локализации редких видов.

Необходимо проводить поиск новых местонахождений редкого вида, ежегодно осуществлять контроль за состоянием известных ценопопуляций и разработать предложения по расширению границ существующих на этой территории ООПТ. *A. apennina* стоит рекомендовать для включения в следующее издание Красной книги Томской обл. со статусом редкости 3 – редкий вид.

Список источников

1. Артюшенко З.Т. Атлас по описательной морфологии высших растений: Семя. Л.: Наука, 1990. 204 с.
2. Бейдеман И.Н. Методика изучения фенологии растений и растительных сообществ. Новосибирск: Наука, 1974. 156 с.
3. Борисова И.В. Сезонная динамика растительных сообществ // Полевая геоботаника. Л.: Наука, 1972. Т. 4. С. 5–94.
4. Броувер В., Штелин А. Справочник по семеноведению сельскохозяйственных, лесных и декоративных культур с ключом для определения важнейших семян. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2010. 694 с.

5. Вайнагий И.В. О методике изучения семенной продуктивности растений // Ботанический журнал. 1974. Т. 59, № 6. С. 826–831.
6. Животовский Л.А. Онтогенетическое состояние, эффективная плотность и классификация ценопопуляций // Экология. 2001. № 1. С. 3–7.
7. Заугольнова Л.Б. и др. Ценопопуляции растений (очерки популяционной биологии). М.: Наука, 1988. 184 с.
8. Земцов А.А. Географическое положение и рельеф // Природные биологические ресурсы Томской области и перспективы их использования. Томск, 1966. С. 23–34.
9. Злобин Ю.А., Скляр В.Г., Клименко А.А. Популяции редких видов растений: теоретические основы и методика изучения. Сумы: Ун-тская кн., 2013. 439 с.
10. Ильина И.С. Основные географические закономерности растительного покрова Западно-Сибирской равнины // Растительный покров Западно-Сибирской равнины. Новосибирск: Наука, 1985. С. 8–18.
11. Интродукция растений природной флоры Сибири / науч. ред. А.Н. Куприянов, Е.В. Банаев. Новосибирск: Гео, 2017. 495 с.
12. Конспект флоры Азиатской России: Сосудистые растения. / под ред. К.С. Байкова. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. 640 с.
13. Левина Р.Е. Репродуктивная биология семенных растений: обзор проблемы. М.: Наука, 1981. 96 с.
14. Нухимовский Е.Л. Основы биоморфологии семенных растений. М.: Недра, 1997. Т. 1: Теория организации биоморф. 632 с.
15. Полевая геоботаника / под ред. Е.М. Лавренко, А.А. Корчагина. М.; Л.: Наука, 1964. Т. 3. 530 с.
16. Полезные растения Хакасии. Ресурсы и интродукция / отв. ред. К.А. Соболевская. Новосибирск: Наука, 1989. 271 с.
17. Пошкурлат А.П. Род Горичвет – *Adonis* L. Систематика, распространение, биология. М.: Наука, 2000. 199 с.
18. Работнов Т.А. Жизненный цикл многолетних травянистых растений в луговых ценозах // Тр. БИН АН СССР. Сер. 3, Геоботаника. 1950. Вып. 6. С. 7–204.
19. Работнов Т.А. Методы изучения семенной продуктивности травянистых растений в сообществах. // Полевая геоботаника. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1960. Т. 2. С. 20–38.
20. Рагозин Л.А. Материалы к геоморфологическому районированию восточной половины Томской области и сопредельных территорий // Вопросы географии Сибири. Томск, 1951. Сб. 2. С. 195–218.
21. Редкие и исчезающие растения Сибири / отв. ред. Л.И. Малышев, К.А. Соболевская. Новосибирск: Наука, 1980. 224 с.
22. Сенников А.Н. Желтоцвет – *Chrysoscyathus Falconer* // Флора Восточной Европы. СПб.: Мир и семья, 2001. Т. 10. С. 178–179.
23. Тимохина С.А. *Adonis* L. – Стародубка // Флора Сибири. Новосибирск: Наука, 1993. Т. 6: *Portulacaceae* – *Ranunculaceae*. С. 206–207.
24. Уранов А.А. Возрастной спектр фитоценопопуляций как функция времени и энергетических волновых процессов. // Биологические науки. 1975. № 2. С. 7–34.
25. Щеголева Н.В. Лютиковые – *Ranunculaceae* Juss. // Определитель растений Томской области / отв. ред. А.С. Ревушкин. Томск, 2014. С. 59–71.
26. Drude O. Handbuch der Pflanzengeographie. Stuttgart: J. Engelhorn, 1890. Vol. 16. 582 p.

References

1. Artyushenko Z.T. *Atlas po opisatel'noj morfologii vysšich rastenij: Semja* [Atlas of descriptive morphology of higher plants: Seed]. Leningrad, Nauka Publ., 1990. 204 p. (In Russ.).
2. Bejdeman I.N. *Metodika izučenija fenologii rastenij i rastitel'nych soobščestv* [Methodology for studying the phenology of plants and plant communities]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1974. 156 p. (In Russ.).
3. Borisova I.V. [Seasonal dynamics of plant communities]. *Polevaja geobotanika* [Field geobotany]. Leningrad, Nauka Publ., 1972. V. 4. pp. 5-94. (In Russ.).
4. Brouwer V., Shtelin A. *Spravočnik po semenovedeniju sel'skochozjajstvennyh, lesnyh i dekorativnyh kul'tur s ključom dlja opredelenija važnejšich semjan* [Handbook on seed science of agricultural, forestry and ornamental crops with a key for identifying the most important seeds]. Moscow, KMK Publ., 2010. 694 p. (In Russ.).
5. Vainagiy I.V. [On the methodology for studying seed productivity of plants]. *Botaničeskij žurnal*. V. 59, No. 6 (1974): pp. 826-831. (In Russ.).
6. Zhivotovsky L.A. [Ontogenetic state, effective density and classification of coenopopulations]. *Ėkologija*. No 1 (2001): pp. 3-7. (In Russ.).
7. Zaugolnova L.B., Zhukova L.A., Komarov A.S., Smoironova O.V. *Cenopopuljacija rastenij* [Plant coenopopulations (essays on population biology)]. Moscow, Nauka Publ., 1988. 184 p. (In Russ.).
8. Zemtsov A.A. [Geographical position and relief]. *Prirodnye biologičeskie resursy Tomskoj oblasti i perspektivy ich ispol'zovanija* [Natural biological resources of the Tomsk region and prospects for their use]. Tomsk, Izd-vo TGU Publ., 1966, pp. 23-34. (In Russ.).
9. Zlobin Yu.A., Sklyar V.G., Klimenko A.A. *Populjacija redkich vidov rastenij: teoretičeskie osnovy i metodika izučenija* [Populations of rare plant species: theoretical foundations and study methods]. Sумы, Univ. kn. Publ., 2013. 439 p. (In Russ.).

10. Ilyina I.S. [Basic provisions of the vegetation cover rule of the West Siberian border]. *Rastitel'nyj pokrov Zapadno-Sibirskoj ravniny* [Vegetation cover of the West Siberian Plain]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1985, pp. 8-18. (In Russ.).
11. Kupriyanov A.N., Banaev E.V., eds. *Introdukcija rastenij prirodnoj flory Sibiri* [Introduction of plants of the natural flora of Siberia]. Novosibirsk, Geo Publ., 2017. 495 c. (In Russ.).
12. Baykov K.S., ed. *Konspekt flory Aziatskoj Rossii. Sosudistye rastenija* [Abstract of the flora of Asian Russia: Vascular plants]. Novosibirsk, SO RAN Publ., 2012. 640 p. (In Russ.).
13. Levina R.E. *Reproduktivnaja biologija semennyh rastenij: obzor problemy* [Reproductive biology of seed plants: a review of the problem]. Moscow, Nauka Publ., 1981. 96 p. (In Russ.).
14. Nukhimovsky E.L. *Osnovy biomorfologii semennyh rastenij. T. 1: Teorija organizacii biomorf* [Fundamentals of biomorphology of seed plants. V. 1: Biomorph organization theory]. Moscow, Nedra Publ., 1997. 632 p. (In Russ.).
15. Lavrenko E.M., Korchagina A.A., eds. *Polevaja geobotanika* [Field geobotany]. Moscow, Leningrad, Nauka Publ., 1964. V. 3. 530 p. (In Russ.).
16. Sobolevskaya K.A., ed. *Poleznye rastenija Chakasii. Resursy i introdukcija* [Useful plants of Khakassia. Resources and introduction]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1989. 271 p. (In Russ.).
17. Poschkurlat A.P. *Rod Goricyvet – Adonis L. Sistematika, rasprostranenie, biologija* [The Genus *Adonis* L. – pheasant's eye. Systematic, distribution, biology]. Moscow, Nauka Publ., 2000. 199 p. (In Russ.).
18. Rabotnov T.A. [Life cycle of perennial herbaceous plants in meadow cenoses]. *Trudy BIN AN SSSR. Ser. 3, Geobotanika*. Iss. 6 (1950): pp. 7-204. (In Russ.).
19. Rabotnov T.A. [Methods for studying seed productivity of herbaceous plants in communities]. *Polevaja geobotanika* [Field geobotany]. Moscow, Leningrad, AN SSSR Publ., 1960. V. 2. pp. 20-38. (In Russ.).
20. Ragozin L.A. [Materials for geomorphological zoning of the eastern half of the Tomsk region and adjacent territories]. *Voprosy geografii Sibiri* [Questions of geography of Siberia]. Tomsk, 1951, Iss. 2, pp. 195-218. (In Russ.).
21. Malyshev L.I., Sobolevskaya K.A., eds. *Redkie i ischezajuschie rastenija Sibiri* [Rare and endangered plants of Siberia]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1980. 224 p. (In Russ.).
22. Sennikov A.N. [Chrysocyathus Falconer.]. *Flora Vostočnoj Evropy* [Flora of Eastern Europe]. St-Peterburg, Mir i sem'ja Publ., 2001, V. 10, pp. 178-179. (In Russ.).
23. Timokhina S.A. [*Adonis* L.] *Flora Sibiri* [Flora of Siberia]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1993. V. 6: Portulacaceae – Ranunculaceae, pp. 206-207. (In Russ.).
24. Uranov A.A. [Age spectrum of phytocenopopulations as a function of time and energy wave processes]. *Biologičeskie nauki*. No. 2 (1975): pp. 7-34. (In Russ.).
25. Shchegoleva N.V. [Ranunculaceae Juss.] *Opredelitel' rastenij Tomskoj oblasti* [Identifier of plants of the Tomsk region]. Tomsk: Izd-vo Tom. un-ta Publ., 2014, pp. 59-71. (In Russ.).
26. Drude O. *Handbuch der Pflanzengeographie*. Stuttgart, J. Engelhorn, 1890. V. XVI. 582 p.

Статья поступила в редакцию 10.01.2024; одобрена после рецензирования 06.02.2024; принята к публикации 05.03.2024.

The article was submitted 10.01.2024; approved after reviewing 06.02.2024; accepted for publication 05.03.2024.

Информация об авторах

А. С. Прокопьев – канд. биол. наук, доцент, ст. науч. сотр. лаб. редких растений Сибирского ботанического сада ТГУ;
Т. Н. Катаева – инженер лаб. редких растений Сибирского ботанического сада ТГУ.

Information about the authors

A. S. Prokopyev – candidate of biology, associate professor, senior researcher of the laboratory of rare plants, Siberian Botanical Garden, Tomsk State University;
T. N. Kataeva – engineer of the laboratory of rare plants, Siberian Botanical Garden, Tomsk State University.

Вклад авторов:

Прокопьев А. С. – концепция исследования; полевые исследования; обработка материала; написание и редактирование текста; заключение.

Катаева Т. Н. – полевые исследования; обработка материала; написание текста; заключение.

Contribution of the authors:

Prokopyev A. S. – research concept; field studies; material processing; writing and editing text; conclusion.

Kataeva T. N. – field studies; material processing; writing text; conclusion.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ЗООЛОГИЯ

Научная статья

УДК 595.44(570.53/.56)

doi: 10.17072/1994-9952-2024-1-42-53

Новые данные о фауне пауков (Arachnida: Araneae) Урала

С. Л. Есюнин¹, М. П. Золотарев², А. В. Нестерков², Е. В. Плакхина¹, А. Л. Устинова¹

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

² Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Сергей Леонидович Есюнин, esyunin@psu.ru

Аннотация. По новым материалам впервые для фауны Урала указываются четыре вида пауков. Один вид, *Tegenaria lapicidinarum*, найденный в экспозиции открытого грунта ботанического сада Пермского государственного университета, рассматривается как новейший интродуцент. Три вида (*Agyneta suecica*, *Entelecara flavipes* и *Neon valentulus*) имеют в Зауралье самые восточные точки своих ареалов. Паук-бокоход *Runcinia tarabayevi* в лесостепном Зауралье имеет самую северную находку. Для трех малоизвестных видов — *Agyneta suecica*, *Entelecara flavipes* и *Neon valentulus* — проиллюстрированы диагностические признаки. Дан обзор пауков видовой группы *Philodromus rufus*, обитающих на Урале. Из трех отмеченных в литературе видов коллекционными материалами подтверждается обитание двух видов: *P. aryu* и *P. vinokurovi*. Оба вида переописаны и проиллюстрированы. Указание для фауны Урала вида *P. rufus* нуждается в подтверждении.

Ключевые слова: новые указания, Урал, обзор, интродукция, пауки, Agelenidae, Linyphiidae

Для цитирования: Новые данные о фауне пауков (Arachnida: Araneae) Урала / С. Л. Есюнин, М. П. Золотарев, А. В. Нестерков, Е. В. Плакхина, А. Л. Устинова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 1. С. 42–53. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-42-53>.

Благодарности: авторы признательны Г.Ш. Фарзалиевой (Пермский государственный университет, Пермь, Россия) и А.В. Грищенко (Зоологический музей Пермского государственного университета, Пермь, Россия) за изготовление цифровых фотографий и СЭМ-микрофотографий, соответственно. Наша сердечная благодарность К.Г. Михайлову (Москва, Россия), А.В. Пономареву (Ростов-на-Дону, Россия) и А.В. Танасевичу (Москва, Россия) за конструктивные замечания по рукописи.

ZOOLOGY

Original article

New data on the spider fauna of Urals (Arachnida: Araneae)

S. L. Esyunin¹, M. P. Zolotarev², A. V. Nesterkov², E. V. Plakkhina¹, A. L. Ustinova¹

¹ Perm State University, Perm, Russia

² Institute of Plant and Animal Ecology UB RAS, Ekaterinburg, Russia

Corresponding author: Sergei L. Esyunin, esyunin@psu.ru

Abstract. Based on new materials, four species are recorded for the fauna of the Urals for the first time. One species, *Tegenaria lapicidinarum*, found in the open ground exhibition of the botanical garden of Perm State University, is considered as the newest introduced species. Three species: *Agyneta suecica*, *Entelecara flavipes* and *Neon valentulus* have the easternmost points of their ranges in the Trans-Urals. The side-walking spider *Runcinia tarabayevi* in the forest-steppe Trans-Urals has the northernmost record. Diagnostic characters are illustrated for three little-known species, *A. suecica*, *E. flavipes* and *N. valentulus*. A review of spiders of the *Philodromus rufus* species group inhabiting in the Urals is given. Of the three species noted in the literature, collection materials confirm the occurrence of two species: *P. aryu* and *P. vinokurovi*. Both species are redescribed and illustrated. The records of species *P. rufus* for the fauna of the Urals needs confirmation.

Keywords: new records, Urals, review, spider, introduction, Agelenidae, Linyphiidae

For citation: Esyunin S. L., Zolotarev M. P., Nesterkov F. V., Plakkhina E. V., Ustinova A. L. [New data on the spider fauna of Urals (Arachnida: Araneae)]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 1 (2024): pp. 42–53. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-42-53>.

Acknowledgments: the authors are grateful to G.Sh. Farzalieva (Perm State University, Perm, Russia) and A.V. Grischenko (Zoological Museum of the Perm State University, Perm, Russia) for producing digital photo-

graphs and SEM micrographs, respectively. Our cordial thanks go to K.G. Mikhailov (Moscow, Russia), A.V. Ponomarev (Rostov-na-Don, Russia), and A.V. Tanasevitch (Moscow, Russia) for constructive comments on the manuscript.

Введение

Фауна пауков Урала и лесного Приуралья хорошо изучена [Есюнин, Ефимик, 1996]. Тем не менее в новых материалах обнаруживаются новые для региона виды пауков. В последние годы в различных регионах были обнаружены пять видов, интересных с зоогеографической точки зрения. Дело в том, что уральские точки их находок находятся на значительном удалении от известных границ распространения этих видов. Ниже мы приводим список этих видов и детально обсуждаем их распространение.

Другая проблема, освещаемая в данной публикации, касается видового состава пауков из группы *Philodromus rufus*, обитающих в Предуралье. Виды данной группы очень похожи друг на друга, что обуславливает значительные сложности при определении видовой принадлежности. Наибольшего разнообразия данная группа видов достигает в Северной Америке, где описано 23 вида [Cutler, 2003]. В Палеарктике известно пять видов данной группы: циркумголарктический *Philodromus rufus* Walckenaer, 1826, европейский *P. albidus* Kulczyński, 1911, корейский *P. pseudoexilis* Paik, 1979 и описанные из Якутии *P. aryu* Marusik, 1991 и *P. vinokurovi* Marusik, 1991. Согласно литературным данным, в приуральской фауне встречаются три вида: *P. rufus* в Башкортостане и Пермском крае [Уточкин, 1988], *P. aryu* в Оренбургской обл. и окрестностях г. Перми [Esyunin, Efimik, Mazura, 1998] и *P. vinokurovi* в окрестностях г. Перми [Esyunin, 2006a]. Корректность идентификации последних двух видов вызывала сомнения, т.к. несмотря на появление фаунистических обзоров по Западной Сибири (см., например, [Marusik, Logunov, Koronen, 2000; Azarkina, Trilikauskas, 2012, 2013; Есюнин, Стёпина, 2014]), они так и не были обнаружены между Предуральем и Восточной Сибирью. Обнаружение самки из обсуждаемой группы видов на территории ботанического сада ПГНИУ позволяет с учетом коллекционных материалов детально обсудить проблему видового состава пауков группы *Philodromus rufus* на Урале.

Таким образом, задачи данной публикации сводятся к следующему: опубликование данных о находках новых для Урала видов пауков с обзором их распространения и краткой характеристикой их диагностических признаков, и критическая ревизия литературных данных и коллекционных материалов по распространению на Урале пауков группы *Philodromus rufus*.

Материал и методы

Новые материалы получены разными авторами в различные года в различных регионах Предуралья и Зауралья. Кроме того, использованы материалы, хранящиеся в коллекции пауков кафедры зоологии беспозвоночных и водной экологии биологического факультета Пермского государственного национального исследовательского университета; номера хранения приведены в круглых скобках после аббревиатуры PSU. Новые материалы переданы в Зоологический музей РАН, г. Санкт-Петербург (куратор коллекции Д.В. Логунов).

Электронные микрофотографии сделаны с помощью электронного сканирующего микроскопа Hitachi TM3000 в Пермском государственном университете. Для фотографирования изготавливался временный препарат в глицерине отпрепарированных вручную эпигин. Для фотографирования эндогины отпрепарированная эпигина вываривалась в 10% щелочи (KOH) на водяной бане в течении 5 мин. Из мацерированных эпигин изготавливался временный препарат в глицерине. Цветные цифровые изображения копулятивных органов были получены при помощи фотокамеры Olympus OMD EM-10 с объективом M. Zuiko Digital ED 60 mm f/2.8 и микроскопа Zeiss Axio Imager.A2 в ведущей лаборатории Микробных и клеточных технологий биологического факультета ПГНИУ. Тотальные фотографии сделаны Г.Ш. Фарзалиевой вручную с помощью цифровой камеры Olympus OMD EM-10.

При описании вооружения ног пауков рода *Philodromus* Walckenaer, 1826 использовались следующие сокращения: d – дорсальные, pl – пролатеральные, rl – ретролатеральные, v – вентральные щетинки. Количество щетинок оценивалось в трех позициях, последовательно приведенных в формуле: апикальная–медиальная – базальная трети членика.

Новые указания для фауны Урала

Семейство Agelenidae

Tegenaria lapicidarum Spassky, 1934

Материал. 1 ♂, г. Пермь, ботанический сад ПГНИУ, посадки сирени вблизи Оранжерейного комплекса, 8-22.VII.2022, Плакхина Е.

Замечания. Известная область распространения данного вида располагается на юго-западе Русской

равнины: от Крыма и Кумо-Манычской впадины (Ставропольский край) на юге до Черниговской, Сумской, Харьковской и Белгородской обл. на севере; западная граница ареала проходит по территории Николаевской и Киевской обл., а восточная – по Волгоградской и Белгородской обл. [Ковблюк, 2003; Polchaninova, Prokopenko, 2017; Polchaninova et al., 2017; Пономарев, 2022]. В Крыму вид является массовым и обитает в лесах и шибляковых зарослях [Ковблюк и др., 2008]; в степной зоне отмечен в байрачных и лиственных лесах, колках, лесопосадках, парках, а также единично в степи на гранитах, прибрежной полосе и сельскохозяйственных угодьях [Polchaninova, Prokopenko, 2017; Polchaninova et al., 2017]. Севернее в лесостепи обитает внутри и по опушкам дубрав, а также на меловых склонах [Polchaninova, Prokopenko, 2017]. В восточной части ареала на юге встречается в широколиственных лесах, ивняках, остепненных и мезофитных лугах и в степи [Пономарев, Цветков, 2003; Ponomarev, Lebedeva, 2014], на севере – на меловых склонах, но предпочитает синантропные местообитания [Пономарев, 2001; Пономарев, Полчанинова, 2006]. В условиях г. Перми формирование устойчивой популяции возможно только внутри оранжерейного комплекса. С учетом данных по синантропизации вида в Белгородской обл. [Пономарев, 2001] возможно формирование устойчивой популяции *T. lapidinarum* и в г. Перми.

Семейство Linyphiidae

Agyneta suecica Holm, 1950

Рис. 1, 2А

Материал. 5 ♂, Свердловская обл., Первоуральский р-н, окр. Среднеуральского медеплавильного завода (СУМЗ), 56,837°N, 59,874°E, лес елово-пихтовый, 6-11.VI.2019, Золотарев М.; 1 ♀, Свердловская обл. Первоуральский р-н, окр. СУМЗ, 56.844°N; 59.878°E, лес елово-пихтовый, 6-11.VI.2019, Золотарев М.

Замечания. Новый для фауны Урала вид. За пределами России *A. suecica* известна из северной Европы: Швеция [Holm, 1950], Финляндия [Palmgren 1965], Норвегия [Hauge, Wiger 1980], Швейцария [Hänggi, Gloor, 2020], а также из Беловежской Пущи, Белоруссия [Жуковец, 2017]. На территории России данный вид отмечался в двух западных заповедниках: Пасвик, на границе Норвегии и Мурманской обл. [Nekhaeva, 2016] и Нижнесвирицкий заповедник, Ленинградская обл. [Олигер, 2016]. В Европе обитает во мхе и лишайниках сосновых лесов [Palmgren 1975; Олигер, 2016; Nekhaeva, 2016; Жуковец, 2017; Hänggi, Gloor, 2020], но на юге найден в субальпийских зарослях водяники [Holm, 1950]. Разрыв в ареале между Ленинградской обл. и Зауральем, по всей видимости, обусловлен плохой изученностью фауны пауков бореальной зоны Русской равнины. По нашему мнению, вид имеет североευропейско-обский бореомонтанный ареал.

Самцы *A. suecica* хорошо отличаются от всех встречающихся на Урале видов модифицированным коленом пальпы: дорсально членик вытянут вверх и в норме несет щетинку (рис. 1А). Самок *A. suecica* (рис. 2А) трудно отличить от обитающих на Урале близких видов *A. allosubtilis* Loksa, 1965, *A. decora* (O. Pickard-Cambridge, 1871) и *A. subtilis* (O. Pickard-Cambridge, 1863). Достоверное определение данного вида только по самкам на данный момент невозможно.

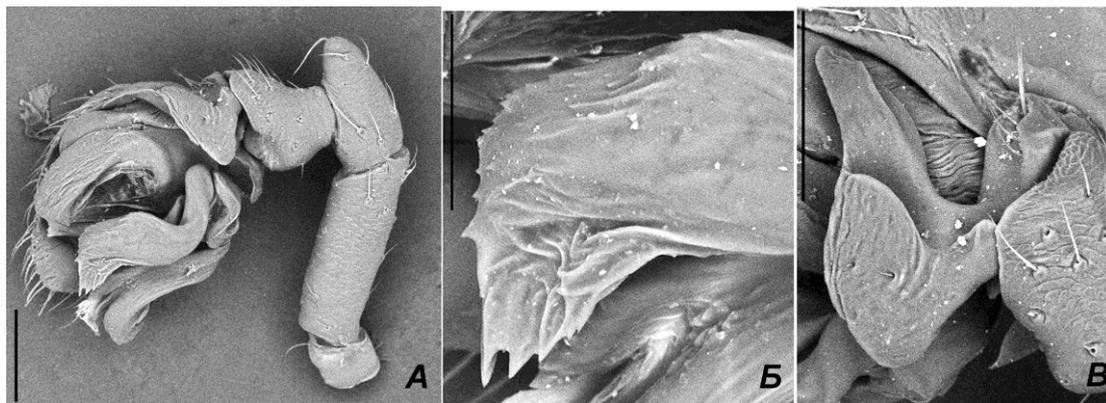


Рис. 1. Сканирующие электронные фотографии пальпы (А), вершины ламеллы (Б) и парацимбиума (В) *Agyneta suecica* Holm, 1950. Шкалы: 0.1 мм

[Scanning electron micrographs of the male palp (A), tip of lamella characteristic (B) and paracymbium (C) of *Agyneta suecica* Holm, 1950. Scale bars: 0.1 mm]

Entelecara flavipes (Blackwall, 1834)

Рис. 2Б

Материал. 1 ♀, Свердловская обл. Нижнесергинский р-н, окр. железнодорожной станции Солдатка, 56,803°N, 59,430°E, луг суходольный, 21.VII.2015, Нестерков А.В.; 1 ♀, там же, 14.VI.2017, Золотарев М.

Замечания. Новый для фауны Урала вид. Он широко распространен в центральной и северной Европе [Nentwig et al., 2023], где характеризуется как лесной вид, обитающий в травяном и кустарниковом ярусах. На востоке Русской равнины известный ареал *E. flavipes* был ограничен находкой в Мордовском заповеднике [Esyunin et al., 2023] и Татарстане [Краснобаев, 2004]. Кроме того, имеется указание данного вида для Кемеровской обл. [Романенко, 2007]. С учетом всех имеющихся на сегодняшний день данных ареал вида следует рассматривать как европейско-обский температурный.

В Приуралье встречаются еще три вида рода *Entelecara* Simon, 1884: *E. acuminata* (Wider, 1834), *E. congenera* (O. Pickard-Cambridge, 1879) и *E. erythropus* (Westring, 1851). Самцы первого вида хорошо отличаются от *E. flavipes* сильно вытянутой головной частью карапакса. От двух других видов самцов *E. flavipes* можно отличить по строению дорсальной ветви отростка голени пальпы: у *E. congenera* он несет близ середины маленький зубчик, у *E. erythropus* дорсальная ветвь с пластинчатым выростом без зубчика, тогда как у *E. flavipes* отросток дорсальной ветви короткий с широким передним краем. Эпигины всех видов весьма схожи, но *E. flavipes* хорошо отличается от других уральских видов по строению эндогины: рецептакулы у данного вида направлены вперед (рис. 2Б), тогда как у прочих видов – в стороны (латерально от пластинки эпигины). Для различения уральских видов можно рекомендовать работу В.А. Гнелицы [Gnelitsa, 2022].

Семейство Salticidae

Neon valentulus Falconer, 1912

Рис. 2В

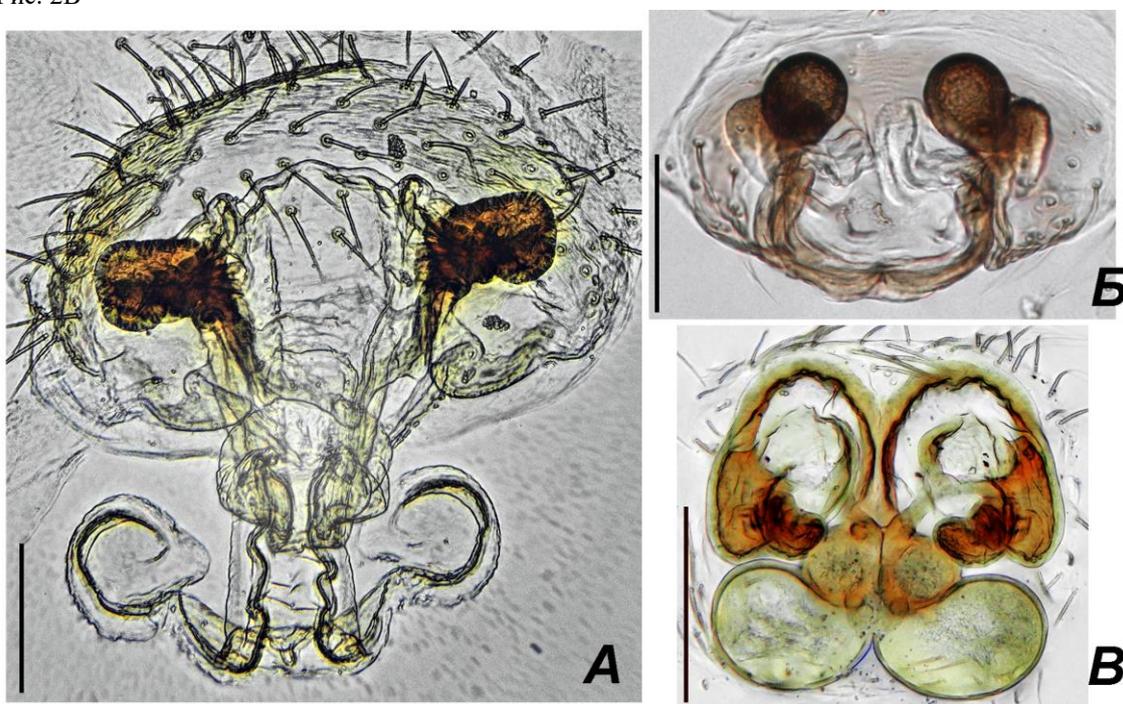


Рис. 2. Эпигины *Agyneta suecica* Holm, 1950 (А), *Entelecara flavipes* (Blackwall, 1834) (Б) и *Neon valentulus* Falconer, 1912 (В). Шкалы: 0.1 мм

[Epigynes of *Agyneta suecica* Holm, 1950 (A), *Entelecara flavipes* (Blackwall, 1834) (B) and *Neon valentulus* Falconer, 1912 (B). Scale bars: 0.1 mm]

Материал. 1 ♀, Челябинская обл., Карабашский р-н, пос. Новоандреевка, 55.343°N; 60.207°E пойменный луг р. Тьелга, 21.VI.2014, Нестерков А.В.

Замечания. Новый для фауны Урала вид. Он широко распространен в Европе [Nentwig et al., 2023], где характеризуется как лесной вид, обитающий в подстилке. Вид не известен из восточных регионов Русской равнины (самая восточная из известных нам находок данного вида на Русской равнине находится в Ростовской обл. [Пономарев, 2011]), но обнаружен в Восточно-Казахстанской обл. [Logunov, Marusik, 2000]. С учетом наших данных ареал вида следует рассматривать как европейско-обский температурный.

Самцы *N. valentulus* хорошо отличаются от широко распространенного на Урале *N. reticulatus* (Blackwall, 1853) положением и формой эмболюса: у первого вида эмболюс тонкий, дуговидно изогнут (смотреть снизу), а его основание находится кзади от середины бульбуса, тогда как у *N. reticulatus* эмбо-

люс толстый, слегка волнистый с основанием впереди середины бульбуса (см., например, [Nentwig et al., 2023]). Для различения самок необходимо исследовать эндогину (желательно с изготовлением препарата). Стабильным признаком, позволяющим различать самок этих видов, является наличие петлеобразного изгиба у переднего конца копулятивных дуктов у *N. valentulus* (рис. 2В) и отсутствие таких петель у *N. reticulatus*.

***Runcinia tarabayevi* Marusik et Logunov, 1990**

Материал. 1 ♂, Челябинская обл., Троицкий р-н, заказник Троицкий, березовый колос, укусы, 29.VI.2023, Устинова А.Л.

Замечания. Новый для фауны Урала вид. *R. tarabayevi* описан из южных (Туркестанская и Кызылординская) областей Казахстана и Киргизии [Marusik, Logunov, 1990]. Позднее он был обнаружен в Таджикистане [Marusik, Logunov, 1995], Монголии [Marusik, Logunov, 1999] и Иране [Zamani et al., 2019], а также на западе и севере Казахстана в Мангистауской, Атырауской и Актыубинской обл. [Zuuzin, Tarabaev, 1993; Пономарев, 2008], и на юге Астраханской обл. [Пономарев, 2022]. Ареал вида можно охарактеризовать как центрально-Древнесредиземноморский. С учетом распространения следует ожидать обнаружение данного вида и в Оренбургской обл.

Паук имеет весьма характерную внешность: головогрудь желтая, глаза располагаются на белых бугорках, брюшко сверху беловато-желтое, головогрудь и брюшко покрыты редкими толстыми щетинками, две передние пары ног очень длинные, их предлапка и голень двуцветные: базальная половина желтая, а апикальная – коричневая (см. Fig. 1E в [Zamani et al., 2019]).

Обзор пауков *Philodromus rufus*-группы (*Philodromidae*) фауны Урала

Как отмечалось во Введении, для Предуралья имеются указания о находках трех видов пауков из группы *Philodromus rufus*: *P. rufus* Walckenaer, 1826, *P. aryu* Marusik, 1991 и *P. vinokurovi* Marusik, 1991. Материалы по виду *P. rufus* не сохранились. Коллекционными экземплярами подтверждается нахождение в Приуралье только двух последних видов. Обитание на данной территории вида *P. rufus* нуждается в подтверждении новыми находками.

***Philodromus aryu* Marusik, 1991**

Рис. 3А-В, 4А-Г

Материал. 1 ♂ (PSU-499), Липовая Гора близ г. Пермь, 1926, Д.Е. Харитонов. 2 ♂♂ (PSU-2830), Оренбургская обл, Кувандыкский р-н, пос. Айтуар, пойменный тополевый лес, 15.V.1997, С.Л. Есюнин. 1 ♀ (PSU-5910), Оренбургская обл, Беляевский р-н, около пос. Донское, г. Верблюжка, степь, 11.V.2009, Т.К. Тунева.

Описание. Самец. Общая длина 3.24 (от 2.93 до 3.24) мм. Длина карапакса 1.43, ширина 1.46 мм. Карапакс по бокам коричневый с белыми прожилками, срединная полоса беловатая перед головным отделом с V-образным белым пятном. Клипеус грязно-белый. Глазное поле и клипеус с редкими длинными черными щетинками. Педипальпы и ноги коричневато-желтые с неясными черными пятнышками. Хелицеры, нижняя губа и максиллы желтовато-белые. Стернум желтовато-белый, густо покрыт длинными прозрачными щетинками. Брюшко снизу белое, сверху белое или грязно-белое, бока с темной (серой или коричневатой) полосой, заходящей на дорсальную поверхность перед вершиной (рис. 3А). Вооружение бедер ног (IV пара отсутствует) следующее: I d 1-1-1, pl 1-1-1, rl 0-1-1(2), II-III d 1-1-1; голеней: I-III d 1-0-1, pl 1-1-1, rl 1-1-1, v 2-2-2а. Пальпа как на рис. 4А-Г. Тегулум с ретролатеральным выступом (TP; рис. 4Г); петля семенного канала длинная, немного не доходит до переднего края тегулула (DL; рис. 4Г); ретролатеральный отросток голени пальпы крючковидно изогнут на вершине (RTA; рис. 4Б); вентральный отросток голени с небольшой выемкой на вершине (VTA; рис. 4Б).

Самка. Общая длина 3.00 мм. Длина карапакса 1.25, ширина 1.30 мм. Карапакс грязно-белый, по бокам с крупными коричневатыми точками, формирующими мозаичный рисунок. Глаза расположены на белых низких бугорках. Педипальпы, хелицеры, нижняя губа и максиллы белые. Стернум белый, густо покрыт длинными прозрачными щетинками. Ноги белые с многочисленными черными точками. Брюшко ромбовидное (максимальная его ширина по середине, 1.18 мм) белое, лишь по бокам с неясными коричневатыми пятнышками и парой коричневых латеральных пятен перед вершиной. Вооружение бедер ног следующее: I d 1-1-1, pl 1-1-1, II-IV d 1-1-1; голеней: I d 1-0-1, pl 1-1-1, rl 1-1-1, v 1-2-1(0)а, II d 1-0-1, pl 0-1-1, rl 0-1-1, v 2-2-0; III d 1-0-1, pl 0-1-1, rl 0-1-1, v 0-2-1а; IV d 1-0-1, pl 0-1-1, rl 0-1-1, v 0-2-0. Щетинки на бедрах толстые, черные. Эпигина как на рис. 3Б-В. пластинка эпигины слабо сужена посередине, рецептакулы округлые с отчетливым апикальным железистым полем (GM; рис. 3Б); копулятивные каналы сильно изогнуты (CD; рис. 3Б).

Замечания. Вид был описан из Якутии. В первоописании Ю.М. Марусик предположил, что этот вид также встречается в Монголии, где отмечался как *P. rufus*. [Марусик, 1991: 54]. Косвенно это подтверждается обнаружением данного вида на территории Внутренней Монголии, Китай [Tang, Song, Zhu, 2004]. Биотопическая приуроченность вида в Восточной Сибири и на севере Китая не известна. В степ-

ном Приуралье вид обитает, по-видимому, в пойменных лесах р. Урал [Esyunin, Efimik, Mazura, 1998]. Самка, обнаруженная на степных склонах г. Верблюжка, возможно, попала туда из пойменных лесов р. Урала, протекающей у подножья горы.

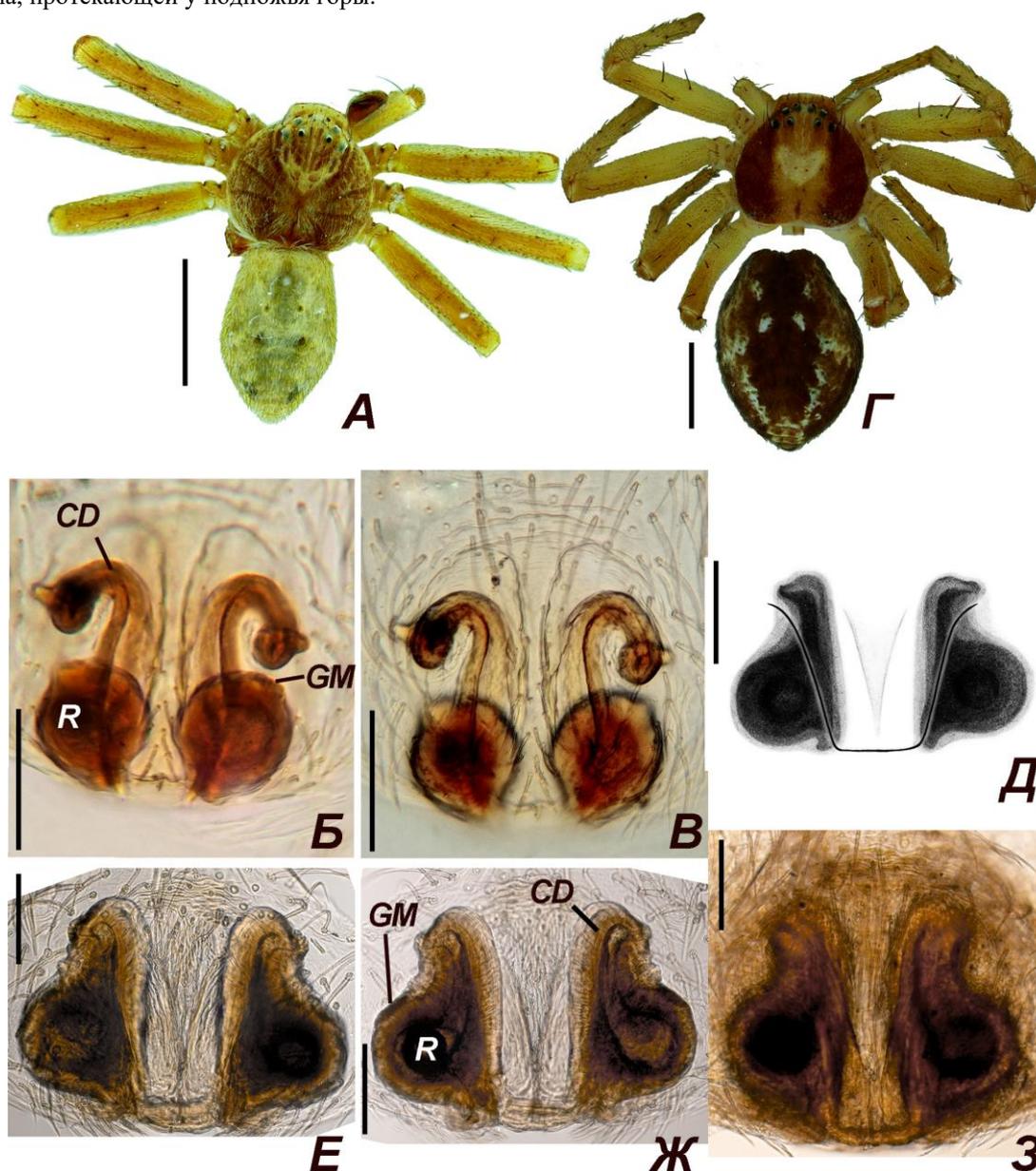


Рис. 3. Общий вид и эпигины *Philodromus aryu* Marusik, 1991 (А–В) и *P. vinokurovi* Marusik, 1991 (Г–З): А – самец сверху, Б – самка сверху, Б, Д, Е, З – эпигина снизу, В, Ж – эпигина сверху. Сокращения: CD – копулятивный канал, GM – железистое поле, R – рецептакул. Шкалы: А, Г – 1.0 мм, Б–В, Д–З – 0.1 мм [Habitus and epigynes of *Philodromus aryu* Marusik, 1991 (А–В) and *P. vinokurovi* Marusik, 1991 (Г–З): А – male, dorsal view, Б – female, dorsal view, Б, Д, Е, З – epigyne, ventral view, В, Ж – epigyne, dorsal view. Abbreviations: CD – copulatory duct, GM – glandular mound, R – receptacle. Scale bars: А, Г – 1.0 mm, Б–В, Д–З – 0.1 mm]

P. aryu очень похож на *P. pseudoexilis* Paik, 1979, известный из Кореи. От корейского вида самцы *P. aryu* отличаются формой тегулярного выступа: он более короткий и направлен вперед (у *P. pseudoexilis* тегулярный выступ длиннее и направлен несколько вбок [Paik, 1979: Fig. 89]), а также более тонкой и сильнее загнутой вниз вершиной ретролатерального отростка голени пальца (у *P. pseudoexilis* вершина отростка короткая и толстая [Paik, 1979: Fig. 87]). Самки *P. aryu* характеризуются более широкой срединной пластинкой эпигины (сравни рис. 2.7 в [Марусик, 1991] и Fig. 83 в [Paik, 1979]). Кроме того, самки *P. aryu* очень похожи на самок *P. albidus* Kulczyński, 1911, т.к. они имеют сходную окраску и строение эпигины, однако копулятивные дукты у *P. aryu* изогнуты сильнее, чем у *P. albidus* (сравни рис. 3Б–В данной статьи и, например, рис. 211 в [Ковблук и др., 2015]).

Philodromus vinokurovi Marusik, 1991

Рис. 3Г-3, 4Д-Ж

Материал. 1 ♀, г. Пермь, ботанический сад ПГНИУ, еловая аллея, 22.VII-5.VIII.2022, Плакхина Е. 1 ♂ (PSU-501), Липовая Гора близ г. Пермь, 1926, Д.Е. Харитонов.

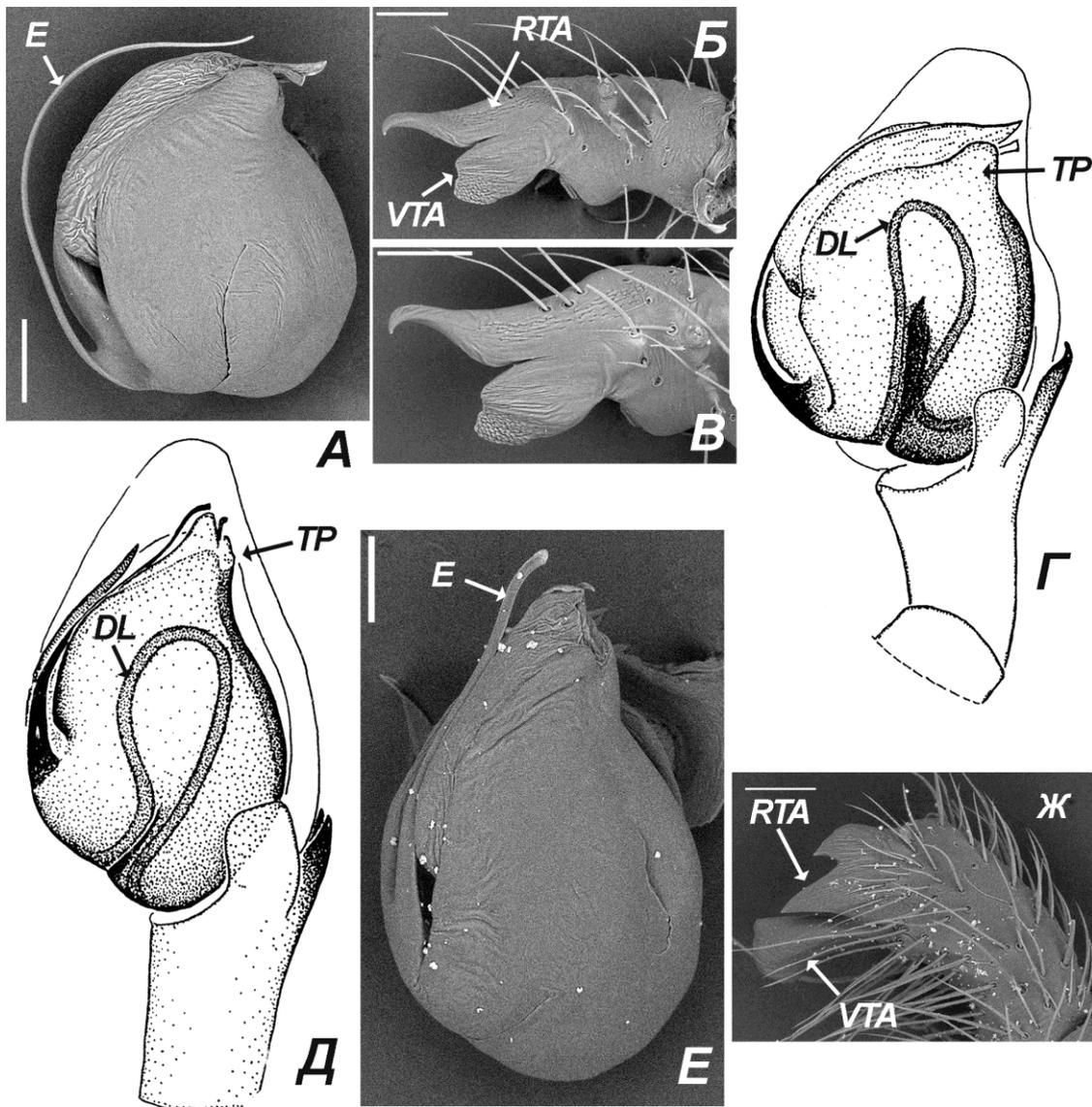


Рис. 4. Пальпы и сканирующие электронные фотографии бульбуса и голени пальпы *Philodromus aryx* Marusik, 1991 (А–Г) и *P. vinokurovi* Marusik, 1991 (Д–Ж): А, Е – бульбус пальпы, снизу, Б, В, Ж – голень пальпы сбоку, Г, Д – пальпа (по [Марусик, 1991]). Сокращения: Е – эмболус, DL – петля семенного канала, RTA – ретролатеральная тибальная апофиза, TP – ретролатеральный выступ тегула, VTA – вентральная тибальная апофиза. Шкалы: 0.1 мм

[Palpa and scanning electron micrographs of the bulb and palpal tibia of *Philodromus aryx* Marusik, 1991 (А–Г) and *P. vinokurovi* Marusik, 1991 (Д–Ж): А, Е – palpal bulb, ventral view, Б, В, Ж – palpal tibia, lateral view, Г, Д – palp (sense [Марусик, 1991]). Abbreviations: E - embolus, DL – sperm duct loop, RTA – retrolateral tibial apophysis, TP – retrolateral tegular projection, VTA – ventral tibial apophysis. Scale bars: 0.1 mm]

Описание. Самец. Общая длина 3.25 мм. Длина карапакса 1.63, ширина 1.58 мм. Карапакс коричневый, на грудном отделе с беловатой срединной полосой. Глаза оторочены белым кантом. Педипальпы, ноги, хелицеры и максиллы желто-коричневые. Нижняя губа коричневая. Стерnum желтовато-коричневый. Брюшко снизу белое, сверху с широкой срединной продольной коричневато-серой полосой, отороченной грязно-белой каймой; спереди на темном фоне четыре белых пятнышка. Вооружение бедер следующее: I-III d 1-1-1, pl 1-1-1, rl 1-1-1, IV d 1-1-1, pl 1-1-1, rl 0-1-1; голени: I-IV d 1-0-1, pl 1-1-1, rl 1-1-1, v 2-2-2a. Пальпа как на рис. 4Д-Ж. Тегулум с продолговатым ретролатеральным выступом (TP); рис.

4Д); петля семенного канала длинная (*DL*; рис. 4Д); заостренный на вершине ретролатеральный отросток голени пальпы с зубовидным отростком (*RTA*; рис. 4Ж); вентральный отросток голени пластинчатый слабо расширяется к вершине (*VTA*; рис. 4Ж).

Самка. Общая длина 3.63 мм. Длина карапакса 1.50, ширина 1.50 мм. Карапакс по бокам светло-коричневый, по середине желтоватый с крупным V-образным белым пятном (рис. 3Г). Педипальпы, ноги, хелицеры, нижняя губа и максиллы желтые. Стернум желтый. Брюшко ромбовидное (максимальная его ширина по середине, 1.73 мм) с большим срединным коричневым пятном, окантованным белой полоской. Срединное пятно спереди с четырьмя белыми пятнышками. Бока брюшка светло-коричневые; низ белый. Вооружение бедер ног следующее: I d 0-1-1, pl 0-1-1, II d 0-1-1, III-IV d 1-1-1; голени: I-IV d 0-0-1, pl 0-1-1, rl 0-1-1, v 2-2-2. Эпигина как на рис. 3Д-З. Пластинка эпигины с срединной V-образной складкой (рис. 3Д, Ж), округлые рецептакулы образуют вместе с копулятивными дуктами общую структуру (рис. 3Е-З); апикальное железистое поле рецептакул слабо выражено (*GM*; рис. 3Ж); передний изгиб копулятивных дуктов слабо выражен (*CD*; рис. 3Ж).

Замечания. Первоначально этот вид был описан из Якутии [Марусик, 1991], позднее обнаружен во Внутренней Монголии, Китае [Tang, Song, Zhu, 2004], и в республике Алтай [Fomichev, 2015]. Биотопическая приуроченность вида в Восточной Сибири и на севере Китая неизвестна; на Алтае он обнаружен на поляне в еловом лесу. В г. Перми и ее окрестностях приурочен к станциям с древесной растительностью.

Самцы *P. vinokurovi* хорошо отличаются от всех известных нам палеарктических видов по форме ретролатерального отростка пальпы. Из североамериканских видов *P. vinokurovi* наиболее близок к *P. oneida* Levi, 1951: самцы американского вида характеризуются более узким тегулулом и более острой вершиной ретролатеральной апофизы пальпы; самки – сближенными (почти соприкасающимися) копулятивными дуктами эпигины (см. Figs 36-40 и 138-140 в [Dondale, Redner, 1968]).

Обсуждение

Вид *Tegenaria lapicidinarum*, обнаруженный на территории ботанического сада ПГНИУ, по всей видимости, был завезен с коллекцией растений в мае 2022 г. Растения открытого грунта, выращенные в контейнерах, были привезены из ботанического сада Самарского университета (Шумихин, личное сообщение). По-видимому, на растениях находились коконы пауков, из которых уже в Перми вылупились и успешно развились отловленные особи. Как отмечалось выше в видовом очерке, формирование устойчивой популяции данного вида в открытом грунте крайне маловероятно. В 2023 г. данный вид в учетах не зафиксирован. Тем не менее факт завоза данного вида интересен по двум причинам. Во-первых, весьма вероятно, что данный вид интродуцирован в г. Самаре, который располагается в степной зоне и, соответственно, по климатическим условиям в большей степени соответствует экологическим требованиям данного вида. Во-вторых, наше наблюдение является первым указанием на интродукцию *T. lapicidinarum* за пределы природного ареала, где он предпочитает разнообразные, но естественные местообитания, и только на севере отмечен как синантропный вид [Пономарев, Полчанинова, 2006]. С другой стороны, М.М. Ковблук [2014] считает, что «*Tegenaria lapicidinarum* таксономически близок к крымскому эндемику *Tegenaria taurica*, и сейчас интенсивно расселяется на материковой части Украины» (с. 51), а А.В. Пономарев [2021] отмечает тенденцию к синантропизации данного вида в Белгородской обл.

Три вида (*Agyneta suecica*, *Entelecara flavipes* и *Neon valentulus*), являющиеся представителями европейской фауны, демонстрируют проникновение европейской фауны в Зауралье. Это лесные виды и, по всей видимости, они будут в дальнейшем обнаружены также и на востоке Русской равнины. Иначе обстоит дело с двумя видами филодромид: *Philodromus aryu* и *P. vinokurovi*, по-видимому, проникшими в Предуралье из азиатской части Палеарктики. В пользу такого предположения свидетельствует близкое сходство этих видов с дальневосточным (*P. aryu* – *P. pseudoexilis*) и североамериканским (*P. vinokurovi* – *P. oneida*) видами. Таким образом, они могут являться примерами проникновения сибирской фауны в Европу. Наконец, паук-бокоход *Runcinia tarabayevi*, впервые обнаруженный в хорошо изученном Троицком заказнике, является одним из редких для нашей фауны представителей центральноазиатской фауны степных и полупустынных ландшафтов.

Из трех отмеченных в литературе видов пауков из группы *Philodromus rufus* коллекционными материалами подтверждается обитание двух видов: *P. aryu* и *P. vinokurovi*. Первый вид обитает в пойменных лесах степной зоны, второй – в южно-таежных лесах Пермского края. Указание для фауны Урала вида *P. rufus* нуждается в подтверждении.

Список источников

1. Есюнин С.Л., Ефимик В.Е. Каталог пауков (Arachnida, Aranei) Урала. Москва: КМК Лтд., 1996. 228 с.
2. Есюнин С.Л., Стёпина А.С. Фауна и биотопическое распределение пауков (Aranei) подзоны южной тайги Западной Сибири // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2014. Вып. 4. С. 24–54.

3. Жуковец Е.М. Пауки (Arachnida, Aranei) Беловежской пуши. Минск, 2017. 272 с.
4. Ковблюк Н.М. Каталог пауков (Arachnida: Aranei) Крыма // Вопросы развития Крыма. Вып. 15: Проблемы экологии Крыма. Инвентаризация крымской биоты. Симферополь: Таврия-Плюс, 2003. С. 211–262.
5. Ковблюк Н.М. Пауки (Arachnida, Aranei) Крыма: фауногенез и гипотеза Понтиды // Українська ентомофауністика. 2014. Т. 5, вып. 2. С. 29–53.
6. Ковблюк Н.М. и др. Пауки (Arachnida, Aranei) заповедника Мыс Мартыян (Крым, Украина) // Кавказский энтомологический бюллетень. 2008. Т. 4, вып. 1. С. 3–40.
7. Ковблюк Н.М. и др. Пауки (Arachnida: Aranei) Карадагского природного заповедника (Крым) // Экосистемы. 2016. Вып. 3 (2015). С. 3–288.
8. Краснобаев Ю.П. Каталог пауков (Aranei) Среднего Поволжья. Самара, 2004. 213 с.
9. Марусик Ю.М. Пауки-бокоходы семейства Philodromidae (Aranei) Восточной Сибири // Зоологический журнал. 1991. Т. 70, вып. 10. С. 48–58.
10. Олигер Т.И. Аннотированный перечень пауков (Araneae) Нижне-Сви́рского заповедника (Ленинградская область, Россия). Лодейное Поле, 2016. 84 с.
11. Пономарев А.В. Пауки (Aranei) синантропных местообитаний Ростовской и Белгородской областей // Биосфера и человек: сб. материалов Междунар. науч.-практ. конф. Майкоп, 2001. С. 206–208.
12. Пономарев А.В. Добавление к фауне пауков (Aranei) юга России и Западного Казахстана: новые таксоны и находки // Кавказский энтомологический бюллетень. 2008. Т. 4, вып. 1. С. 49–61.
13. Пономарев А.В. Пауки (Aranei) территорий, примыкающих к северной и южной границам Нижнего Дона // Цимлянское водохранилище: состояние водных и прибрежных экосистем, проблемы и пути решения. Ростов-на-Дону, 2011. С. 120–154.
14. Пономарев А.В. Пауки (Aranei) Ростова-на-Дону, Россия // Наука Юга России. 2021. Т. 17, № 4. С. 72–79.
15. Пономарев А.В. Пауки (Arachnida: Aranei) юго-востока Русской равнины: каталог, особенности фауны. Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2022. 640 с.
16. Пономарев А.В., Полчанинова Н.Ю. Материалы по фауне пауков (Aranei) Белгородской области // Кавказский энтомологический бюллетень. 2006. Т. 2, вып. 2. С. 143–164.
17. Пономарев А.В., Цветков Ю.А. Пауки (Aranei) территории Раздорского музея-заповедника // Историко-культурные и природные исследования на территории Раздорского этнографического музея-заповедника. Вып.1. Ростов-на-Дону: Изд-во Ростов. ун-та, 2003. С. 167–207.
18. Романенко В.Н. Фауна пауков (Arachnida, Aranei) естественных биоценозов южной тайги Западной Сибири // Труды Русского энтомологического общества. 2007. Т. 78, вып. 1. С. 107–116.
19. Уточкин А.С. К фауне пауков. – бокоходов (Aranei, Thomisidae) Урала // Фауна и экология паукообразных. Пермь, 1988. С. 9–14.
20. Azarkina G.N., Trilikauskas L.A. Spider fauna (Aranei) of the Russian Altai, part I: families Agelenidae, Araneidae, Clubionidae, Corinnidae, Dictynidae and Eresidae // Евразийский энтомологический журнал. 2012. Т. 11, вып. 3. С. 199–208.
21. Azarkina G.N., Trilikauskas L.A. Spider fauna (Aranei) of the Russian Altai, part II: families Gnaphosidae, Hahniidae, Linyphiidae, Liocranidae and Lycosidae // Евразийский энтомологический журнал. 2013. Т. 12, вып. 1. С. 51–67.
22. Cutler B. A new subspecies of *Philodromus rufus* (Araneae, Philodromidae) // Journal of Arachnology. 2003. Vol. 31. P. 142–144.
23. Dondale Ch.D., Redner J.H. The *imbecillus* and *rufus* groups of the spider genus *Philodromus* in North America (Araneida: Thomisidae) // Memoirs of the Entomological Society of Canada. 1968. Vol. 55. P. 1–78.
24. Esyunin S.L., Efimik V.E., Mazura N.S. Remarks on the Urals spider fauna, 10. New records of spider species (Aranei) // Arthropoda Selecta. 1998. Vol. 7, № 4. P. 319–327.
25. Esyunin S. et al. Spider fauna (Arachnida, Araneae) in Mordovia State Nature Reserve and National Park “Smolny” (Russia) // Biodiversity Data Journal. 2023. Vol. 11: e105979. <https://doi.org/10.3897/BDJ.11.e105979>.
26. Fomichev A.A. On the spider fauna (Arachnida: Aranei) of the Altai Republic (Russia) // Acta Arachnologica. 2015. Vol. 64, № 2. P. 63–70.
27. Gnelitsa V.A. *Entelecara* Simon, 1884 species in Ukraine (Araneae: Linyphiidae) // Arachnology. 2022. Vol. 19, № 1. P. 46–62.
28. Hänggi A., Gloor D. Vom Wert alter Amateursammlungen – vier Spinnenarten neu für die Schweiz in der Sammlung Ketterer // Arachnologische Mitteilungen. 2020. Bn. 59, № 1. S. 88–96.
29. Hauge E., Wiger R. The spider fauna (Araneae) from 12 habitats in the Vassfaret region, south-eastern Norway // Fauna Norvegica. Ser. B. 1980. № 27. P. 60–67.
30. Holm Å. Studien über die Spinnenfauna des Torneträskgebietes // Zoologiska Bidrag från Uppsala. 1950. Vol. 29. S. 103–213.

31. Logunov D.V., Marusik Yu.M. Miscellaneous notes on Palaearctic Salticidae (Arachnida: Aranei) // *Arthropoda Selecta*. 2000. Vol. 8, № 4 (1999). P. 263–292.
32. Marusik Yu.M., Logunov D.V. The crab spiders of Middle Asia, USSR (Aranei, Thomisidae). 1. Descriptions and notes on distribution of some species // *Korean Arachnology*. 1990. Vol. 6, № 1. P. 31–62.
33. Marusik Yu.M., Logunov D.V. The crab spiders of Middle Asia (Aranei, Thomisidae), 2 // *Beiträge zur Araneologie*. 1995. Bd. 4. P. 133–175.
34. Marusik Yu.M., Logunov D.V. On the spiders (Aranei) collected in central Mongolia during a joint American-Mongolian-Russian expedition in 1997 // *Arthropoda Selecta*. 1999. Vol. 7, № 3 (1998). P. 233–254.
35. Marusik Yu.M., Logunov D.V., Koponen S. Spiders of Tuva, South Siberia. Magadan, 2000. 252 p.
36. Nekhaeva A.A. On the spider fauna (Arachnida, Araneae) of the Pasvik Nature Reserve (Kola Peninsula, Russia) // *Norwegian Journal of Entomology*. 2016. Vol. 63. P. 58–64.
37. Nentwig W. et al. Spiders of Europe. Version 12.2023. 2023. URL: <https://www.araneae.nmbe.ch>
38. Paik K.Y. Korean spiders of the genus *Philodromus* (Araneae: Thomisidae) // *Research Review of Kyungpook National University*. 1979. Vol. 28. P. 421–452.
39. Palmgren P. Die Spinnenfauna der Gegend von Kilpisjärvi in Lappland // *Acta Zoologica Fennica*. 1965. Vol. 110. P. 1–70.
40. Palmgren P. Die Spinnenfauna Finnlands und Ostfennoskandiens VI. Linyphiidae 1 // *Fauna Fennica*. 1975. Bn. 28. S. 1–102.
41. Polchaninova N.Yu., Prokopenko E.V. Catalogue of the spiders (Arachnida, Aranei) of Left-Bank Ukraine. Addendum 1. 2013-2016 // *Arthropoda Selecta*. 2017. Supplement № 4. P. 1–115.
42. Polchaninova N.Yu. et al. An annotated checklist of spiders (Arachnida: Aranei) of the National Nature Park 'Buzkyi Hard' (Mykolaiv Area, Ukraine) // *Arthropoda Selecta*. 2017. Vol. 26, № 3. P. 253–272.
43. Ponomarev A.V., Lebedeva N.V. Spiders (Aranei) and Some of Their Cenotic Links in Gully Forests of the Lower Don River // *Arid Ecosystems*. 2014. Vol. 4, № 2. P. 107–118.
44. Tang G.M., Song D.X., Zhu M.S. Two new record species and a new discovery of the male genus of *Philodromus* from China (Araneae: Philodromidae) // *Journal of Hebei University, Natural Science Edition*. 2004. Vol. 24, № 4. P. 394–398.
45. Zamani A. et al. New data on the spider fauna of Iran (Arachnida: Aranei). Part VI // *Euroasian Entomological Journal*. 2019. Vol. 18, № 4. P. 233–243.
46. Zyuzin A.A., Tarabaev Ch.K. The spiders and scorpions inhabiting Ustyurt Plateau and Mangyshlak Peninsula (South-Western Kazakhstan) // *Bullettino delle sedute della Accademia gioenia di scienze naturali in Catania*. 1993. Vol. 26, № 345. P. 395–404.

References

1. Esyunin S.L., Efimik V.E. *Katalog paukov (Arachnida, Aranei) Urala* [Spider (Arachnida, Aranei) catalog of Urals]. Moscow, KMK Publ., 1996. 228 p. (In Russ.).
2. Esyunin S.L., Stepina A.S. [The fauna and biotopic distribution of the spiders (Aranei) in the southern taiga subzone of the West Siberia]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 4 (2014): 24-54. (In Russ.).
3. Zhukovets E.M. *Pauki (Arachnida, Aranei) Belovežskoj pušči* [Spiders (Arachnida, Aranei) of Belovezhskaya Pushcha]. Minsk, 2017. 272 p. (In Russ.).
4. Kovblyuk M.M. [Spider (Arachnida: Aranei) catalog of Crimea]. *Voprosy razvitiya Kryma. Vyp.15. Problemy ekologii Kryma. Inventarizacija krymskoj bioty* [Issues of development of the Crimea. Issue 15: Environmental problems of Crimea. Inventory of the Crimean biota]. Simferopol, Tavrija-Pljus Publ., 2003, pp. 211-262. (In Russ.).
5. Kovblyuk M.M. [Spiders (Arachnida, Aranei) of Crimea: faunogenesis and hypothesis of Pontida]. *Ukraïns`ka entomofaunistika*. V. 5 (2014): pp. 29-53. (In Russ.).
6. Kovblyuk M.M., Nadolny A.A., Gnelitsa V.A., Zhukovets E.M. [Spiders (Arachnida, Aranei) of the Martyan Cape Reserve (Crimea, Ukraine)]. *Kavkazskij èntomologičeskij bjulleten`*. V. 4, Iss. 1 (2008): pp. 3-40. (In Russ.).
7. Kovblyuk M.M., Gnelitsa V.A., Nadolny A.A., Kastrygina Z.A., Kukushkin O.V. [Spiders (Arachnida: Aranei) of the Karadag Nature Reserve (Crimea)]. *Èkosistemy*. Iss. 3 (2016): pp. 3-288. (In Russ.).
8. Krasnobaev Yu.P. *Katalog paukov (Aranei) Srednego Povolž'ja* [Catalogue of spiders of the Middle Volga Region]. Samara, 2004. 213 p. (In Russ.).
9. Marusik Yu.M. [Crab spiders of the family Philodromidae (Aranei) from East Siberia]. *Zoologičeskij žurnal*. V. 70, Iss. 10 (1991): pp. 48-58. (In Russ.).
10. Oliger T.I. *Annotirovannyj perečen` paukov (Aranei) Nižne-Svirskogo zapovednika* [The spider check-list (Araneae) of Nizhne-Svirskii Nature Reserve (Leningrad Region, Russia)]. Lodeinoe Pole, 2016. 84 p. (In Russ.).
11. Ponomarev A.V. [Spiders (Aranei) of synanthropic habitats of the Rostov and Belgorod Areas]. *Biosfera i čelovek* [Biosphere and man: collection of materials of the International Scientific and Practical Conference]. Maykop, 2001, pp. 206-208. (In Russ.).

12. Ponomarev A.V. [Additions to fauna of spiders (Aranei) of the south of Russia and Western Kazakhstan: new taxa and finds]. *Kavkazskij èntomologičeskij bjulleten'*. V. 4, Iss. 1 (2008): pp. 49-61. (In Russ.).
13. Ponomarev A.V. [Spiders (Aranei) of territories adjacent to the northern and southern borders of the Lower Don]. *Cimljanskoe vodochranilišče* [Tsimlyansk reservoir: the state of aquatic and coastal ecosystems, problems and solutions]. Rostov-on-Don, 2011, pp. 120-154. (In Russ.).
14. Ponomarev A.V. [Spiders (Aranei) of Rostov-on-Don, Russia]. *Nauka Juga Rossii*. V. 17, No. 4 (2021): pp. 72-79. (In Russ.).
15. Ponomarev A.V. *Pauki (Arachnida, Aranei) jugo-vostoka Russkoj ravniny* [Spiders (Arachnida: Araneae) of the Southeast of the Russian Plain: Catalogue, the fauna specific features]. Rostov-on-Don, JuNC RAN Publ., 2022. 640 p. (In Russ.).
16. Ponomarev A.V., Polchaninova N.Yu. [The materials on the fauna of spiders (Aranei) of Belgorod Area]. *Kavkazskij èntomologičeskij bjulleten'*. V. 2, Iss. 2 (2006): pp. 143-164. (In Russ.).
17. Ponomarev A.V., Tsvetkov Yu.A. [Spiders (Aranei) of the territory of the Razdorsky Museum-Reserve]. *Istoriko-kul'turnye i prirodnye issledovanija na territorii Razdorskogo ètnografičeskogo muzeja-zapovednika. Iss. 1*. [Historical, cultural and natural research on the territory of the Razdorsky Ethnographic Museum-Reserve. Issue 1]. Rostov-on-Don, Rostov University Press, 2003, pp. 167-207. (In Russ.).
18. Romanenko V.N. [Spider fauna (Arachnida, Aranei) of the natural biocenoses of the southern taiga of Western Siberia]. *Trudy Russkogo èntomologičeskogo obščstva*. V. 78, Iss. 1 (2007): pp. 107-116. (In Russ.).
19. Utochkin A.S. [To the spider fauna. – bokokhodov (Aranei, Thomisidae) the Urals]. *Fauna i èkologija paukoobraznych* [Fauna and ecology of arachnids]. Perm, 1988, pp. 9-14. (In Russ.).
20. Azarkina G.N., Trilikauskas L.A. Spider fauna (Aranei) of the Russian Altai, part I: families Agelenidae, Araneidae, Clubionidae, Corinnidae, Dictynidae and Eresidae. *Euroasian Entomological Journal*. V. 11, Iss. 3 (2012): pp. 199-208.
21. Azarkina G.N., Trilikauskas L.A. Spider fauna (Aranei) of the Russian Altai, part II: families Gnaphosidae, Hahniidae, Linyphiidae, Liocranidae and Lycosidae. *Euroasian Entomological Journal*. V. 12, Iss. 1 (2013): pp. 51-67.
22. Cutler B. A new subspecies of *Philodromus rufus* (Araneae, Philodromidae). *Journal of Arachnology*. V. 31 (2003): pp. 142-144.
23. Dondale C.D., Redner J.H. The *imbecillus* and *rufus* groups of the spider genus *Philodromus* in North America (Araneida: Thomisidae). *Memoirs of the Entomological Society of Canada*. V. 55 (1968): pp. 1-78.
24. Esyunin S.L., Efimik V.E., Mazura N.S. Remarks on the Urals spider fauna, 10. New records of spider species (Aranei). *Arthropoda Selecta*. V. 7, No. 4 (1998): pp. 319-327.
25. Esyunin S., Agafonova O., Ruchin A., Semishin G., Esin M., Artaev O. Spider fauna (Arachnida, Araneae) in Mordovia State Nature Reserve and National Park "Smolny" (Russia). *Biodiversity Data Journal*. V. 11 (2023): e105979. <https://doi.org/10.3897/BDJ.11.e105979>.
26. Fomichev A.A. On the spider fauna (Arachnida: Aranei) of the Altai Republic (Russia). *Acta Arachnologica*. V. 64, No. 2 (2015): pp. 63-70.
27. Gnelitsa V.A. *Entelecara* Simon, 1884 species in Ukraine (Araneae: Linyphiidae). *Arachnology*. V. 19, No. 1 (2022): pp. 46-62.
28. Hänggi A., Gloor D. Vom Wert alter Amateursammlungen – vier Spinnenarten neu für die Schweiz in der Sammlung Ketterer. *Arachnologische Mitteilungen*. V. 59 (1) (2020): s. 88-96.
29. Hauge E., Wiger R. The spider fauna (Araneae) from 12 habitats in the Vassfaret region, south-eastern Norway. *Fauna Norvegica. Ser. B*. No.27 (1980): pp. 60-67.
30. Holm Å. Studien über die Spinnenfauna des Torneträskgebietes. *Zoologiska Bidrag från Uppsala*. V. 29 (1950): s. 103-213.
31. Logunov D.V., Marusik Yu.M. Miscellaneous notes on Palaearctic Salticidae (Arachnida: Aranei). *Arthropoda Selecta*. V. 8, No. 4 (2000): pp. 263-292.
32. Marusik Yu.M., Logunov D.V. The crab spiders of Middle Asia, USSR (Aranei, Thomisidae). 1. Descriptions and notes on distribution of some species. *Korean Arachnology*. V. 6, No. 1 (1990): pp. 31-62.
33. Marusik Yu.M., Logunov D.V. The crab spiders of Middle Asia (Aranei, Thomisidae), 2. *Beiträge zur Araneologie*. Bd. 4 (1995): pp. 133-175.
34. Marusik Yu.M., Logunov D.V. On the spiders (Aranei) collected in central Mongolia during a joint American-Mongolian-Russian expedition in 1997. *Arthropoda Selecta*. V. 7, No. 3 (1999): pp. 233-254.
35. Marusik Yu.M., Logunov D.V., Koponen S. Spiders of Tuva, South Siberia. Magadan, IBPN FEB RAS Publ., 2000. 252 p.
36. Nekhaeva A.A. On the spider fauna (Arachnida, Araneae) of the Pasvik Nature Reserve (Kola Peninsula, Russia). *Norwegian Journal of Entomology*. V. 63 (2016): pp. 58-64.
37. Nentwig W, Blick T, Bosmans R, Gloor D, Hänggi A, Kropf C. *Spiders of Europe*. Version 12.2023. (2023). Available at: <https://www.araneae.nmbe.ch>

38. Paik K.Y. Korean spiders of the genus *Philodromus* (Araneae: Thomisidae). *Research Review of Kyungpook National University*. V. 28 (1979): pp. 421-452.
39. Palmgren P. Die Spinnenfauna der Gegend von Kilpisjärvi in Lappland. *Acta Zoologica Fennica*. V. 110 (1965): pp. 1-70.
40. Palmgren P. Die Spinnenfauna Finnlands und Ostfennoskandiens VI. Linyphiidae 1 (Die Linyphiinae und Linyphiinae-ähnlichen Micryphantinae). *Fauna Fennica*. Bn. 28 (1975): s. 1-102.
41. Polchaninova N.Yu., Prokopenko E.V. Catalogue of the spiders (Arachnida, Aranei) of Left-Bank Ukraine. Addendum 1. 2013-2016. *Arthropoda Selecta*. Supplement No. 4 (2017): pp. 1-115.
42. Polchaninova N.Yu., Gnelitsa V.A., Evtushenko K.V., Singaevsky E.N. An annotated checklist of spiders (Arachnida: Aranei) of the National Nature Park 'Buzkyi Hard' (Mykolaiv Area, Ukraine). *Arthropoda Selecta*. V. 26, No. 3 (2017): pp. 253-272.
43. Ponomarev A.V., Lebedeva N.V. Spiders (Aranei) and Some of Their Cenotic Links in Gully Forests of the Lower Don River. *Arid Ecosystems*. V. 4, No. 2 (2014): pp. 107-118.
44. Tang G.M., Song D.X., Zhu M.S. Two new record species and a new discovery of the male genus of *Philodromus* from China (Araneae: Philodromidae). *Journal of Hebei University, Natural Science Edition*. V. 24, No. 4 (2004): pp. 394-398.
45. Zamani A., Tanasevitch A.V., Nadolny A.A., Esyunin S.L., Marusik Yu.M. New data on the spider fauna of Iran (Arachnida: Aranei). Part VI. *Euroasian Entomological Journal*. V. 18, No. 4 (2019): pp. 233-243.
46. Zyuzin A.A., Tarabaev Ch.K. The spiders and scorpions inhabiting Ustyurt Plateau and Mangyshlak Peninsula (South-Western Kazakhstan). *Bullettino delle sedute della Accademia gioenia di scienze naturali in Catania*. V. 26, No. 345 (1993): pp. 395-404.

Статья поступила в редакцию 23.11.2023; одобрена после рецензирования 11.12.2023; принята к публикации 05.03.2024.

The article was submitted 23.11.2023; approved after reviewing 11.12.2023; accepted for publication 05.03.2024.

Информация об авторах

Сергей Леонидович Есюнин – esyunin@psu.ru, д-р биол. наук, доцент, профессор кафедры зоологии беспозвоночных и водной экологии;

Максим Петрович Золотарев – zmp@ipae.uran.ru, канд. биол. наук, науч. сотр. лаборатории экотоксикологии популяций и сообществ;

Алексей Вадимович Нестерков – nesterkov@ipae.uran.ru, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории экотоксикологии популяций и сообществ;

Евгения Валерьевна Плакхина – plakkhinaevg@gmail.com, аспирант кафедры зоологии беспозвоночных и водной экологии;

Анастасия Леонидовна Устинова – anastasiya-ustinova-98@mail.ru, аспирант кафедры зоологии беспозвоночных и водной экологии.

Information about the authors

Sergei L. Esyunin – esyunin@psu.ru, Doctor of Biology, Associate Professor, Professor Department of Invertebrate Zoology and Aquatic Ecology;

Maxim P. Zolotarev – zmp@ipae.uran.ru, PhD, researcher, Laboratory for Ecotoxicology of Populations and Communities;

Aleksei V. Nesterkov – nesterkov@ipae.uran.ru, PhD, senior researcher, Laboratory for Ecotoxicology of Populations and Communities;

Evgenia V. Plakkhina – plakkhinaevg@gmail.com, post-graduate student of the Department of Invertebrate Zoology and Aquatic Ecology;

Anastasiya L. Ustinova – anastasiya-ustinova-98@mail.ru, post-graduate student of the Department of Invertebrate Zoology and Aquatic Ecology.

Вклад авторов:

Есюнин С. Л. – концепция исследования, оформление текста.

Золотарев М. П. – определение видов, обработка полевого материала, сбор полевого материала.

Нестерков А. В. – сбор полевого материала.

Плакхина Е. В. – сбор полевого материала.

Устинова А. Л. – изготовление рисунка, сбор полевого материала.

Contribution of the authors:

Esyunin S. L. – research concept, text design, identification of species.

Zolotarev M. P. – identification of species, processing of field material, collection of field material.

Nesterkov A. V. – collection of field material.

Plakkhina E. V. – collection of field material.

Ustinova A. L. – making a drawing, collection of field material.

Научная статья

УДК 579.22

doi: 10.17072/1994-9952-2024-1-54-60

Применение бактерий со сверхэкспрессией гена *cadA* для биоконверсии лизина в кадаверин

Анна Викторовна Ахова^{1✉, 2}, Полина Михайловна Федоненко^{2, 3},
Михаил Сергеевич Шумков⁴, Александр Георгиевич Ткаченко^{1, 5}

^{1✉} Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия, akhovan@mail.ru

^{2, 3} Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия

³ p.fedonenko@mail.ru

⁴ Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия, shumkovm@gmail.com

⁵ agtkachenko@iegm.ru

Аннотация. Сконструирован штамм *Escherichia coli* со сверхэкспрессией гена *cadA*, кодирующего лизиндекарбоксилазу, и проведена оценка его способности конвертировать лизин в кадаверин в зависимости от pH среды. Клетки, сверхэкспрессирующие лизиндекарбоксилазу, получены на основе штамма *E. coli* BL21DE3, трансформированного плазмидой pET19b, несущей ген *cadA* из *E. coli* MC4100. Бактерии культивировали в 5 мл бульона LB при 37°C без перемешивания, сверхэкспрессию *cadA* запускали добавкой 1 mM изопропил-β-D-тиогалактопиранозида (при ОП₆₀₀=0.6), через 2 ч. клетки отмывали и переносили в среду с pH 7.4 или 4.0 с добавкой 5 г/л L-лизина гидрохлорида. Количество синтезированного кадаверина определяли методом ТСХ с предварительной дериватизацией дансилхлоридом. Максимальная скорость биоконверсии наблюдалась при культивировании клеток, сверхэкспрессирующих *cadA* в среде с pH 4.0 (2.8±0.7 ммоль кадаверина/г АСБ в час). Скорость биоконверсии в базовых условиях (pH 7.4, базовая экспрессия) была в 6.8 раз ниже. Конечная концентрация кадаверина при культивировании в среде с pH 7.4 и/или в условиях отсутствия сверхэкспрессии гена *cadA* составила 0.8–1 mM, в условиях сверхэкспрессии гена в нейтральной среде накапливалось до 1.2 mM кадаверина, а в кислой среде – 1.8 mM.

Ключевые слова: кадаверин, лизин, декарбоксилаза, сверхэкспрессия, цельноклеточные биокатализаторы

Для цитирования: Применение бактерий со сверхэкспрессией гена *cadA* для биоконверсии лизина в кадаверин / А. В. Ахова, П. М. Федоненко, М. С. Шумков, А. Г. Ткаченко // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 1. С. 54–60. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-54-60>.

Благодарности: работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (ГР № 124020500028-4).

MICROBIOLOGY

Original article

The use of bacteria with overexpression of the *cadA* gene for the bioconversion of lysine into cadaverine

Anna V. Akhova^{1✉, 2}, Polina M. Fedonenko^{2, 3}, Mikhail S. Shumkov⁴,
Alexander G. Tkachenko^{1, 5}

^{1✉} Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm, Russia, akhovan@mail.ru

² Perm National Research Polytechnic University, Perm, Russia

³ p.fedonenko@mail.ru

⁴ Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, shumkovm@gmail.com

⁵ agtkachenko@iegm.ru

Abstract. The article is devoted to construction of an *Escherichia coli* strain with overexpression of the *cadA* gene encoding lysine decarboxylase, as well as to assessment of its ability to convert lysine to cadaverine depending on the pH of the medium. The overexpressing strain was constructed on the base of *E. coli* BL21DE3 strain transformed with the pET19b plasmid carrying the *cadA* gene from *E. coli* MC4100. Bacteria were grown

in 5 mL of LB broth at 37 °C without stirring, overexpression of *cadA* was induced by the addition of 1 mM isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside (at OD₆₀₀ = 0.6), after 2 hours the cells were washed and transferred to a medium with pH 7.4 or 4.0 with the addition 5 g/L L-lysine hydrochloride. The amount of synthesized cadaverine was quantified by TLC with preliminary derivatization with dansyl chloride. The maximum rate of bioconversion was observed when cells overexpressing *cadA* were cultivated in a medium with pH 4.0 (2.8 ± 0.7 mmol cadaverine/g dry weight per hour). The rate of bioconversion under basal conditions (pH 7.4, basal expression) was 6.8 times lower. The final concentration of cadaverine when cultivated in a medium with pH 7.4 and/or in the absence of overexpression of the *cadA* gene was 0.8-1 mM; under conditions of overexpression of the gene, up to 1.2 mM of cadaverine accumulated in a neutral medium, and 1.8 mM in an acidic medium.

Keywords: cadaverine, lysine, decarboxylase, overexpression, whole cell biocatalysts

For citation: Akhova A. V., Fedonenko P. M., Shumkov M. S., Tkachenko A. G. [The use of bacteria with overexpression of the *cadA* gene for the bioconversion of lysine into cadaverine]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 1 (2024): pp. 54-60. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-54-60>.

Acknowledgments: the work was carried out with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (GR No. 124020500028-4).

Введение

Для клонирования и экспрессии рекомбинантных генов в клетках бактерий разработаны специальные генно-инженерные системы. В общем случае, рекомбинантный ген вводится в бактериальную клетку в составе векторной молекулы, которая – с целью повышения копийности – сохраняется в цитоплазме в состоянии эписомы. Генетически модифицированные подобным образом микроорганизмы обычно используют для наработки рекомбинантных белков, но также возможно их применение в качестве целноклеточных биокатализаторов.

В частности, бактериальные клетки, способные к сверхэкспрессии лизиндекарбоксилазы за счет генетической модификации путем введения векторных молекул, пытаются использовать для биосинтеза кадаверина (1.5-диаминопентана). Особый интерес биосинтез кадаверина представляет потому, что на основе данного диамина могут быть получены пластики с улучшенными свойствами, а эффективный метод химического синтеза этого соединения не разработан [Kind et al., 2014; Huang et al., 2021]. В настоящее время существует два основных направления использования генетически модифицированных микроорганизмов для биосинтеза 1.5-диаминопентана: они либо выступают в качестве целноклеточных биокатализаторов одностадийной реакции конверсии лизина в кадаверин, либо применяются для синтеза целевого вещества из простых субстратов в процессе ферментации [Ma et al., 2017; Nærdal, 2017].

Одним из первых был получен биокатализатор для конверсии лизина в кадаверин на основе клеток *Escherichia coli*, сверхэкспрессирующей ген *cadA* [Nishi et al., 2006], кодирующий индуцибельную изоформу лизиндекарбоксилазы в клетках *E. coli*, проявляющую максимальную активность при pH 5–6. В дальнейшем на основе клеток, сверхэкспрессирующих *cadA*, были разработаны биокатализаторы с дополнительными модификациями, направленными на повышение выхода продукта [Kim et al., 2015; Ma et al., 2015]. Также реализованы разработки на основе сверхэкспрессии гена *ldcC*, кодирующего конститутивную лизиндекарбоксилазу *E. coli*, максимально активную в среде с нейтральным pH [Oh et al., 2015; Shin et al., 2018].

Основным источником генов лизиндекарбоксилаз для создания биокатализаторов служит *E. coli*, хотя спектр используемых микроорганизмов постепенно расширяется. Например, созданы генно-модифицированные штаммы *E. coli*, сверхэкспрессирующие лизиндекарбоксилазы из клеток *Klebsiella pneumonia*, *Ralstonia eutropha*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Hafnia alvei* [Oh et al., 2015; Kim et al., 2016; Kim et al., 2019].

С целью создания биокатализаторов для синтеза кадаверина из лизина, как правило, применяют генно-инженерные конструкции, обеспечивающие сверхэкспрессию лизиндекарбоксилазы в ответ на добавку индуктора, в частности, системы на основе плазмид pET и pKE [Kim et al., 2015; Oh et al., 2015]. Альтернативным подходом является помещение гена, кодирующего лизиндекарбоксилазу, под контроль сильного конститутивного промотора, что обеспечивает его постоянную сверхэкспрессию [Qian, Xia, Lee, 2011; Ting et al., 2021].

Цель работы – конструирование штамма *E. coli*, сверхэкспрессирующего ген *cadA*, и оценка его способности конвертировать L-лизин в кадаверин в зависимости от pH среды.

Материалы и методы

Объекты и условия культивирования

В качестве объекта исследования использован штамм *E. coli* BL21DE3, трансформированный сконструированной нами плазмидой pET19b_cadA.

Бактериальные клетки, сохраняемые на скошенном агаре LB, переносили в 5 мл бульона LB (pH 7.4) с добавкой 1% глюкозы и культивировали при 37°C без перемешивания в течение 16–18 ч. В среду для культивирования клеток, несущих плазмиду pET19b_cadA, добавляли 100 мкг/мл ампициллина. Полученную культуру разводили до плотности ОП₆₀₀ = 0.1–0.15 в 20 мл свежего бульона LB (pH 7.4) с добавкой (при необходимости) 100 мкг/мл ампициллина и культивировали при 37°C без перемешивания. По достижении культурой плотности ОП₆₀₀ = 0.6 для индукции сверхэкспрессии гена *cadA* добавляли 1 мМ изопротил-β-D-тиогалактопиранозид (ИПТГ), после чего продолжали культивирование в описанных выше условиях в течение 2 ч. Затем бактериальную культуру центрифугировали (16 000 g, 3 мин.), и бактериальные клетки переносили в бульон LB с pH 7.4 или pH 4.0, содержащий 5 г/л L-лизина гидрохлорида (общий объем культуры составлял 5 мл). Культивирование проводили в описанных выше условиях.

Определение оптической плотности культуры и концентрации абсолютно сухой биомассы

Оптическую плотность измеряли при 600 нм (ОП₆₀₀) в кювете с длиной оптического пути равной 1 см с использованием спектрофотометра UV-1280 (Shimadzu, Япония). Концентрацию абсолютно сухой биомассы (АСБ) в культуре рассчитывали, используя предварительно полученный калибровочный график зависимости данного показателя и оптической плотности культуры (ОП₆₀₀).

Конструирование штамма *E. coli* со сверхэкспрессией гена *cadA*

Нуклеотидную последовательность гена *cadA* амплифицировали с применением праймеров cadANdeI 5'-GTCatATGTTGGGAGGGCCTTTTTTAC-3' и cadABamH 5'-GGATCCGGCAAGCCACTTCCCTTG-3' с использованием в качестве матрицы хромосомы *E. coli* MC4100 (сайты рестрикции подчеркнуты; различия с нуклеотидной последовательностью *E. coli* W3110, GenBank AP009048.1 показаны строчными буквами). Полученный ПЦР-продукт длиной 2 226 пар нуклеотидов клонировали в вектор pGEM-T easy (Promega, США) согласно рекомендациям производителя. pGEM-T easy-вектор со вставкой секвенировали с использованием стандартных праймеров M13F/R, плазмиду с подтвержденной последовательностью гена *cadA* выделяли из клеток методом щелочного лизиса [Maniatis, Fritsch, Sambrook, 1982] и обрабатывали эндонуклеазами рестрикции NdeI и BamHI (Fermentas, Литва). Полученный ген *cadA* очищали электрофоретически, экстрагировали из агарозного геля с применением набора DNA Extraction Kit (Fermentas, Литва) и лигировали в вектор pET19b (Novagen, США), предварительно также обработанный эндонуклеазами NdeI и BamHI. Полученную конструкцию pET19b_cadA проверяли с помощью ПЦР и секвенирования с использованием стандартных праймеров T7Pro/Term, после чего трансформировали в штамм *E. coli* BL21DE3 (Invitrogen) для экспрессии рекомбинантных белков.

Количественный анализ кадаверина осуществляли методом тонкослойной хроматографии с предварительной дериватизацией дансилхлоридом [Akhova, Tkachenko, 2022].

Статистический анализ результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc, США). Числовые данные в тексте представлены в виде среднее ± стандартное отклонение, на рисунке столбцы соответствуют среднему значению, отрезки (разбросы) – стандартной ошибке среднего.

Результаты и их обсуждение

В данном исследовании проведена оценка способности бактерий *E. coli*, характеризующихся сверхэкспрессией гена *cadA*, кодирующего лизиндекарбоксилазу, осуществлять биконверсию лизина в кадаверин. Для создания продуцента структурная часть гена *cadA* была слита с T7lac-промотором в составе плазмидного вектора pET19b (рис. 1). Полученную плазмиду pET19b_cadA трансформировали в штамм BL21DE3, представляющий собой производное *E. coli* BL21, в хромосому которого введен фаг λDE3, несущий ген РНК-полимеразы T7 под контролем *lacUV* промотора. Экспрессия последнего запускается добавкой изопротил-β-D-1-тиогалактопиранозид (ИПТГ), что приводит к наработке РНК-полимеразы фага T7, обеспечивающей считывание целевого гена в составе эписомального вектора. Обязательными условиями сверхэкспрессии гена являлись присутствие плазмиды pET19b_cadA в клетках и добавка ИПТГ в среду культивирования. Источником гена *cadA* послужил штамм MC4100.

Затем было проведено сравнение способности продуцировать кадаверин клетками с базовым уровнем экспрессии лизиндекарбоксилазы, и клетками, сверхэкспрессирующими ген *cadA*, а также исследовано влияние pH среды на процесс биоконверсии (рис. 2).

Максимальной скоростью биоконверсии лизина в кадаверин характеризовались клетки, сверхэкспрессирующие ген *cadA*, при культивировании на среде с pH 4.0. На второй час скорость биоконверсии в данных условиях составила 2.8±0.7 ммоль кадаверина/г АСБ в час, после чего наблюдалось снижение скорости процесса. В базовых условиях (pH среды 7.4, штамм без плазмиды) скорость биоконверсии равнялась 0.41±0.19 ммоль/г АСБ×ч, т.е. была почти в 7 раз меньше. Сверхэкспрессия гена *cadA* обеспе-

чивала более высокую продукцию кадаверина и при культивировании в нейтральной среде, но скорость продукции была ниже по сравнению с клетками, выращиваемыми при pH 4.0.

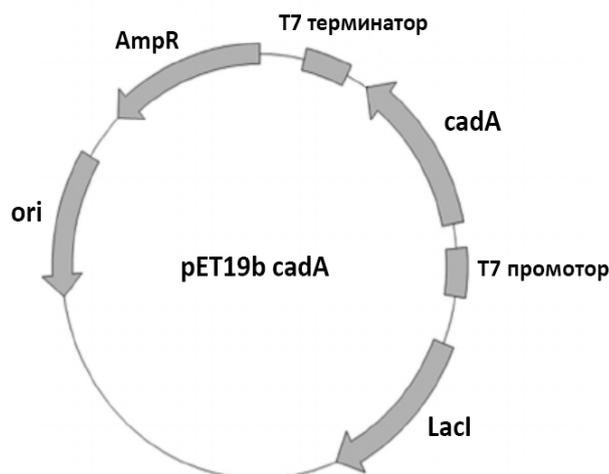


Рис. 1. Схема плазмиды pET19b_cadA.

AmpR – ген, кодирующий β-лактамазу (резистентность к ампициллину); LacI – ген, кодирующий репрессор lac-оперона; ori – район начала репликации вектора

[Diagram of the pET19b_cadA plasmid.

AmpR is a gene encoding β-lactamase (ampicillin resistance); LacI is a gene encoding a repressor of the lac operon; ori is the origin of replication]

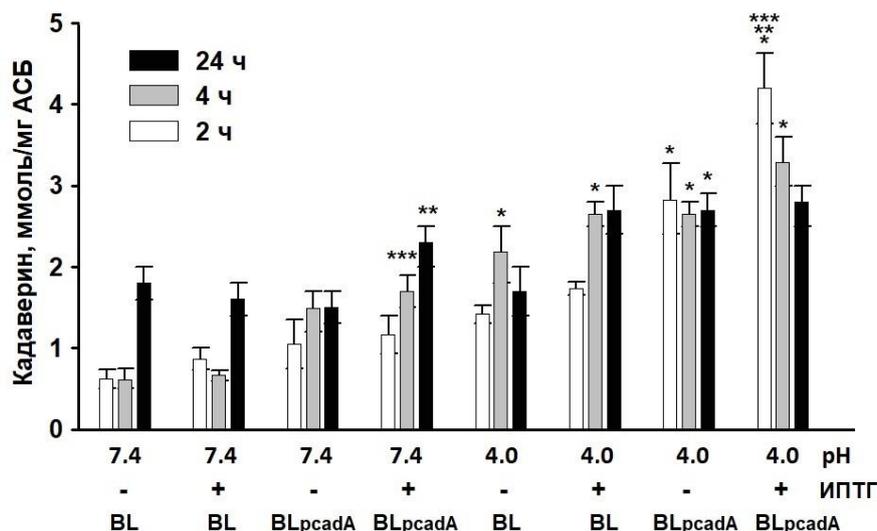


Рис. 2. Влияние pH среды и сверхэкспрессии гена *cadA* на продукцию кадаверина клетками *E. coli* BL21DE3.

«BL» – клетки, не несущие плазмиду pET19b_cadA, «BLpcadA» – клетки, несущие плазмиду pET19b_cadA.

«+» – добавка 1 мМ ИПТГ (индуктора сверхэкспрессии), «-» – без добавки ИПТГ.

* – статистически значимое отличие от соответствующей культуры, выращиваемой на среде с pH 7.4;

** – статистически значимое отличие от соответствующей культуры без добавки ИПТГ;

*** – статистически значимое отличие от культуры штамма, не несущего плазмиду, при культивировании в аналогичных условиях (t-тест, $p \leq 0.05$, $n \geq 3$)

[The effect of the pH of the medium and overexpression of the *cadA* gene on the production of cadaverine by *E. coli* BL21 DE3 cells.

“BL” – cells that do not carry the pET19b_cadA plasmid, “BLpcadA” – cells that carry the pET19b_cadA plasmid.

“+” – the addition of 1 mM of IPTG (inducer of overexpression), “-” – without the addition of IPTG.

* – statistically significant difference from the corresponding culture grown on a medium with a pH of 7.4;

** – statistically significant difference from the corresponding culture without the addition of IPTG;

*** – statistically significant difference from the culture of a strain not carrying a plasmid when cultivated under similar conditions (t-test, $p \leq 0.05$, $n \geq 3$)

Смещение pH среды в кислую сторону приводило к ускорению образования кадаверина как в условиях сверхэкспрессии, так и при базовой экспрессии гена *cadA* (в отсутствие плазмиды, без добавки ИПТГ). Увеличение лизиндекарбоксилазной активности в данном случае можно рассматривать как защитный ответ клетки на кислотный стресс, вызванный снижением pH среды [Meng, Bennett, 1992; Kanjee, Houry, 2013]. Кроме того, можно предположить, что повышение концентрации ионов водорода в среде сопровождалось смещением внутриклеточного pH в область, близкую к оптимальным значениям для лизиндекарбоксилазы CadA, что способствовало повышению скорости катализируемой ею реакции.

Можно также отметить тенденцию к увеличению продукции кадаверина клетками, несущими плазмиду сверхэкспрессии, при выращивании в среде с pH 4.0 без добавки индуктора ИПТГ, однако различия между трансформированными и не трансформированными плазмидой клетками не были статистически значимыми.

Установлено, что при всех вариантах условий культивирования конечная концентрация кадаверина в среде не превышала 2 мМ. При pH среды 7.4 и/или в условиях отсутствия сверхэкспрессии гена *cadA* итоговая концентрация кадаверина была в интервале 0.8–1 мМ. Сверхэкспрессия гена в нейтральной среде приводила к накоплению 1.2 мМ кадаверина, в кислой среде – к накоплению почти 1.8 мМ. Можно заключить, что данная концентрация является предельной для исследованного организма и лизиндекарбоксилазы CadA, выделенной из клеток *E. coli* MC4100. Прекращение процесса биоконверсии лизина в кадаверин, несмотря на достаточное количество субстрата в среде, может быть связано с ингибированием фермента по принципу обратной связи. Накопление кадаверина в среде до высоких концентраций оказывает в целом неблагоприятное воздействие на бактериальные клетки. Ранее показано, что добавка в среду культивирования 0.3–0.5 М гидрохлорида кадаверина вызывала частичный лизис клеток в культуре *E. coli* K12 [Qian, Xia, Lee, 2011]. Однако в процессе декарбоксилирования лизина с образованием кадаверина затрачивается ион водорода, а сам кадаверин, выделяющийся в среду, проявляет свойства основания. Это приводит к защелачиванию среды и смещению pH в область, неоптимальную для проявления активности фермента.

Таким образом, для повышения выхода целевого продукта, по-видимому, необходимо осуществлять культивирование штамма-продуцента в условиях поддержания оптимального значения pH и обеспечивать удаление конечного продукта реакции биоконверсии. Кроме того, решить данную проблему позволит поиск природных лизиндекарбоксилаз, толерантных к высокой концентрации конечного продукта, или получение таких ферментов методами белковой инженерии.

Заключение

Сконструирован штамм *E. coli*, сверхэкспрессирующий ген *cadA*, выделенный из *E. coli* MC4100. Скорость биоконверсии лизина в кадаверин в условиях сверхэкспрессии была в 6.8 раза выше, чем в базовых условиях. Скорость процесса биоконверсии и конечная концентрация кадаверина были выше при постановке реакции при pH 4.0 по сравнению со средой с нейтральным pH. Дальнейшая работа будет направлена на повышение продуктивности процесса биоконверсии с применением полученного продуцента, что может быть осуществлено за счет подбора оптимальных условий протекания реакции декарбоксилирования, в частности, варьирования состава среды культивирования, начальной плотности культуры продуцента, стабилизации продуцента за счет иммобилизации.

Список источников

1. Akhova A.V., Tkachenko A.G. Cadaverine biosynthesis in *Escherichia coli* adaptation to hydrogen peroxide // Applied Biochemistry and Microbiology. 2022. Vol. 58, № 5. P. 582–589. DOI: 10.1134/S0003683822050039.
2. Huang Y. et al. Green chemical and biological synthesis of cadaverine: recent development and challenges // RSC Advances. 2021. Vol. 11, № 39. P. 23922–23942. DOI: 10.1039/d1ra02764f.
3. Kanjee U., Houry W.A. Mechanisms of acid resistance in *Escherichia coli* // Annual Review of Microbiology. 2013. Vol. 67. P. 65–81. DOI: 10.1146/annurev-micro-092412-155708.
4. Kim H.J. et al. Optimization of direct lysine decarboxylase biotransformation for cadaverine production with whole-cell biocatalysts at high lysine concentration // Journal of Microbiology and Biotechnology. 2015. Vol. 25, № 7. P. 1108–1113. DOI: 10.4014/jmb.1412.12052.
5. Kim H.T. et al. High-level conversion of l-lysine into cadaverine by *Escherichia coli* whole cell biocatalyst expressing *Hafnia alvei* l-lysine decarboxylase // Polymers (Basel). 2019. Vol. 11, № 7. P. 1184. DOI: 10.4014/jmb.1602.02030.
6. Kim J.H. et al. Functional study of lysine decarboxylases from *Klebsiella pneumoniae* in *Escherichia coli* and application of whole cell bioconversion for cadaverine production // Journal of Microbiology and Biotechnology. 2016. Vol. 26, № 9. P. 1586–1592. DOI: 10.3390/polym11071184.

7. Kind S. et al. From zero to hero - production of bio-based nylon from renewable resources using engineered *Corynebacterium glutamicum* // *Metabolic Engineering*. 2014. Vol. 25. P. 113–123. DOI: 10.1016/j.ymben.2014.05.007.
8. Ma W. et al. Enhanced cadaverine production from L-lysine using recombinant *Escherichia coli* co-overexpressing CadA and CadB // *Biotechnology Letters*. 2015. Vol. 37, № 4. P. 799–806. DOI: 10.1007/s10529-014-1753-5.
9. Ma W. et al. Advances in cadaverine bacterial production and its applications // *Engineering*. 2017. Vol. 3, № 3. P. 308–317. DOI: 10.1016/J.ENG.2017.03.012.
10. Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J.K. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, 1982. 545 p.
11. Meng S.Y., Bennett G.N. Nucleotide sequence of the *Escherichia coli cad* operon: a system for neutralization of low extracellular pH // *Journal of Bacteriology*. 1992. Vol. 174, № 8. P. 2659–2669. DOI: 10.1128/jb.174.8.2659-2669.1992.
12. Nærdal I. et al. L-lysine production by *Bacillus methanolicus*: genome-based mutational analysis and l-lysine secretion engineering // *Journal of Biotechnology*. 2017. Vol. 244, P. 25–33. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2017.02.001.
13. Nishi et al., 2006. US7189543B2 patent.
14. Oh Y.H. et al. Development of engineered *Escherichia coli* whole-cell biocatalysts for high-level conversion of L-lysine into cadaverine // *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2015. Vol. 42, № 11. P. 1481–1491. DOI: 10.1007/s10295-015-1678-6.
15. Qian Z.G., Xia X.X., Lee S.Y. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for the production of cadaverine: a five carbon diamine // *Biotechnology and Bioengineering*. 2011. Vol. 108, № 1. P. 93–103. DOI: 10.1002/bit.22918.
16. Shin J. et al. Characterization of a whole-cell biotransformation using a constitutive lysine decarboxylase from *Escherichia coli* for the high-level production of cadaverine from industrial grade l-lysine // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2018. Vol. 185, № 4. P. 909–924. DOI: 10.1007/s12010-018-2696-4.
17. Ting W.W. et al. Whole-cell biocatalyst for cadaverine production using stable, constitutive and high expression of lysine decarboxylase in recombinant *Escherichia coli W3110* // *Enzyme and Microbial Technology*. 2021. Vol. 148. P. 109811. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2021.109811.

References

1. Akhova A.V., Tkachenko A.G. Cadaverine biosynthesis in *Escherichia coli* adaptation to hydrogen peroxide. *Applied Biochemistry and Microbiology*, V. 58, No. 5 (2022): pp. 582-589. DOI: 10.1134/S0003683822050039.
2. Huang Y., Ji X., Ma Z., Łężyk M., Xue Y., Zhao H. Green chemical and biological synthesis of cadaverine: recent development and challenges. *RSC Advances*. V. 11, No. 39 (2021): pp. 23922-23942. DOI: 10.1039/d1ra02764f.
3. Kanjee U., Houry W.A. Mechanisms of acid resistance in *Escherichia coli*. *Annual Review of Microbiology*. V. 67 (2013): pp. 65-81. DOI: 10.1146/annurev-micro-092412-155708.
4. Kim H.J., Kim Y.H., Shin J.H., Bhatia S.K., Sathiyarayanan G., Seo H.M., Choi K.Y., Yang Y.H., Park K. Optimization of direct lysine decarboxylase biotransformation for cadaverine production with whole-cell biocatalysts at high lysine concentration. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. V. 25, No. 7 (2015): pp. 1108-1113. DOI: 10.4014/jmb.1412.12052.
5. Kim H.T., Baritugo K.A., Oh Y.H., Kang K.H., Jung Y.J., Jang S., Song B.K., Kim I.K., Lee M.O., Hwang Y.T., Park K., Park S.J., Joo J.C. High-Level Conversion of l-lysine into cadaverine by *Escherichia coli* whole cell biocatalyst expressing *Hafnia alvei* l-lysine decarboxylase. *Polymers (Basel)*. V. 11, No. 7 (2019): p. 1184. DOI: 10.4014/jmb.1602.02030.
6. Kim J.H., Kim H.J., Kim Y.H., Jeon J.M., Song H.S., Kim J., No S.Y., Shin J.H., Choi K.Y., Park K.M., Yang Y.H. Functional study of lysine decarboxylases from *Klebsiella pneumoniae* in *Escherichia coli* and application of whole cell bioconversion for cadaverine production. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. V. 26, No. 9 (2016): pp. 1586-1592. DOI: 10.3390/polym11071184.
7. Kind S., Neubauer S., Becker J., Yamamoto M., Völkert M., Abendroth G., Zelder O., Wittmann C. From zero to hero - production of bio-based nylon from renewable resources using engineered *Corynebacterium glutamicum*. *Metabolic Engineering*. V. 25 (2014): pp. 113-123. DOI: 10.1016/j.ymben.2014.05.007.
8. Ma W., Cao W., Zhang H., Chen K., Li Y., Ouyang P. Enhanced cadaverine production from L-lysine using recombinant *Escherichia coli* co-overexpressing CadA and CadB. *Biotechnology Letters*. V. 37, No. 4 (2015): pp. 799-806. DOI: 10.1007/s10529-014-1753-5.
9. Ma W., Chen K., Li Y., Hao N., Wang X., Ouyang P. Advances in cadaverine bacterial production and its applications. *Engineering*. V. 3, No. 3 (2017): pp. 308-317. DOI: 10.1016/J.ENG.2017.03.012.

10. Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J.K. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, 1982. 545 p.
11. Meng S.Y., Bennett G.N. Nucleotide sequence of the *Escherichia coli cad* operon: a system for neutralization of low extracellular pH. *Journal of Bacteriology*. V. 174, No. 8 (1992): pp. 2659-2669. DOI: 10.1128/jb.174.8.2659-2669.1992.
12. Nærdal I., Netzer R., Irla M., Krog A., Heggeset T.M.B., Wendisch V.F., Brautaset T. L-lysine production by *Bacillus methanolicus*: genome-based mutational analysis and l-lysine secretion engineering. *Journal of Biotechnology*. V. 244 (2017): pp. 25-33. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2017.02.001.
13. Nishi et al., 2006. US7189543B2 patent.
14. Oh Y.H., Kang K.H., Kwon M.J., Choi J.W., Joo J.C., Lee S.H., Yang Y.H., Song B.K., Kim I.K., Yoon K.H., Park K., Park S.J. Development of engineered *Escherichia coli* whole-cell biocatalysts for high-level conversion of L-lysine into cadaverine. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. V. 42, No. 11 (2015): pp. 1481-1491. DOI: 10.1007/s10295-015-1678-6.
15. Qian Z.G., Xia X.X., Lee S.Y. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for the production of cadaverine: a five carbon diamine. *Biotechnology and Bioengineering*. V. 108, No.1 (2011): pp. 93-103. DOI: 10.1002/bit.22918.
16. Shin J., Joo J.C., Lee E., Hyun S.M., Kim H.J., Park S.J., Yang Y.H., Park K. Characterization of a whole-cell biotransformation using a constitutive lysine decarboxylase from *Escherichia coli* for the high-level production of cadaverine from industrial grade l-lysine. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. V. 185, No. 4 (2018): pp. 909-924. DOI: 10.1007/s12010-018-2696-4.
17. Ting W.W., Huang C.Y., Wu P.Y., Huang S.F., Lin H.Y., Li S.F., Chang J.S., Ng I.S. Whole-cell biocatalyst for cadaverine production using stable, constitutive and high expression of lysine decarboxylase in recombinant *Escherichia coli W3110*. *Enzyme and Microbial Technology*. V. 148 (2021): p. 109811. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2021.109811.

Статья поступила в редакцию 11.12.2023; одобрена после рецензирования 27.12.2023; принята к публикации 05.03.2024.

The article was submitted 11.12.2023; approved after reviewing 27.12.2023; accepted for publication 05.03.2024.

Информация об авторах

А. В. Ахова – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории адаптации микроорганизмов, доцент кафедры Химия и биотехнология;

П. М. Федоненко – студент, кафедра Химия и биотехнология;

М. С. Шумков – канд. биол. наук, старший научный сотрудник Группы редактирования геномов микроорганизмов;

А. Г. Ткаченко – д-р мед. наук, зав. лабораторией адаптации микроорганизмов.

Information about the authors

A. V. Akhova – Cand. Sci. (Biol), Researcher at the Laboratory of Microbial Adaptation, associate professor of the Department of Chemistry and Biotechnology;

P. M. Fedonenko – student, department of Chemistry and Biotechnology;

M. S. Shumkov – Cand. Sci. (Biol), senior researcher of Group of Microbial Genomes Editing;

A. G. Tkachenko – Doc. Sci. (Med), head of the Laboratory of Microbial Adaptation.

Вклад авторов:

Ахова А. В. – концепция и дизайн исследования, анализ результатов, написание текста статьи.

Федоненко П. М. – проведение экспериментов, анализ результатов, подготовка рукописи статьи.

Шумков М. С. – генно-инженерное конструирование, подготовка рукописи статьи.

Ткаченко А. Г. – научное руководство, подготовка рукописи статьи.

Contribution of the authors:

Akhova A. V. – research design, methodology development, writing of the manuscript.

Fedonenko P. M. – carrying out the experiments, manuscript editing.

Shumkov M. S. – genetic engineering, manuscript editing.

Tkachenko A. G. – scientific management, manuscript editing.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.834.1:612.017.4:579.61:577.112

doi: 10.17072/1994-9952-2024-1-61-73.

Везикулы типичных и геновариантов штаммов холерных вибрионов O1 Эль Тор, их выделение и характеристика

**О. А. Якушева¹, Л. П. Алексеева¹, В. В. Евдокимова¹, М. Г. Мелоян¹,
В. П. Зюзина¹, Д. И. Симакова¹**

¹ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия
Авторы, ответственные за переписку: Ольга Александровна Якушева, yakusheva_oa@antiplague.ru и
Вероника Вячеславовна Евдокимова, evdokimova_vv@antiplague.ru

Аннотация. Установлено, что типичный штамм и геноварианты *Vibrio cholerae* O1 при культивировании в среде АКІ на разных стадиях роста выделяют в окружающую среду везикулы наружных мембран. Методом осаждения сульфатом аммония получены препараты везикул и проведена их визуализация с помощью электронной микроскопии. С применением моноклональных антител и поликлонального антитоксического конъюгата установлено наличие липополисахарида и белков наружной мембраны OmpU и OmpT, а также холерного токсина в этих структурах. На модели культуры клеток двух линий *CHO-K1* и *HuTu 80* показано, что в присутствии везикул наблюдаются морфологические изменения клеток-мишеней, характерные для холерного токсина. Полученные результаты дают основание предположить, что содержимое везикул наружных мембран зависит от стадии роста вибрионов, и продуцируемые ими биологически активные вещества способны вызывать повреждение клеток, тем самым провоцируя воспалительную реакцию клеток в организме хозяина.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, везикулы наружных мембран, ЛПС, белки OmpU и OmpT, холерный токсин

Для цитирования: Везикулы токсигенных штаммов холерных вибрионов O1 Эль Тор, их выделение и характеристика / О. А. Якушева, Л. П. Алексеева, В. В. Евдокимова, М. Г. Мелоян, В. П. Зюзина, Д. И. Симакова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 1. С. 61–73.
<http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-61-73>.

MICROBIOLOGY

Original article

Isolation and characterization of vesicles from typical and genovariant strains of *Vibrio cholerae* O1 El Tor

**O. A. Yakusheva¹, L. P. Alekseeva¹, V. V. Evdokimova¹, M. G. Meloyan¹,
V. P. Zyuzina¹, D. I. Simakova¹**

¹ Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia
Corresponding authors: Olga A. Yakusheva, yakusheva_oa@antiplague.ru and Veronika V. Evdokimova, evdokimova_vv@antiplague.ru

Abstract. It was found that a typical strain and genovariants of *Vibrio cholerae* O1 release outer membrane vesicles into the environment at different growth stages when cultured in AKI medium. Preparations of vesicles were obtained by ammonium sulfate precipitation and visualized by electron microscopy. Using monoclonal antibodies and polyclonal antitoxic conjugate, the presence of lipopolysaccharide and outer membrane proteins OmpU and OmpT, as well as cholera toxin in these structures was determined. On the model of cell culture of two cell lines *CHO-K1* and *HuTu 80* it was shown that morphological changes of target cells characteristic for cholera toxin are observed in the presence of vesicles. The results obtained suggest that the content of outer membrane vesicles depends on the stage of vibrio growth, and the biologically active substances produced by them are capable of causing cell damage, thereby provoking an inflammatory reaction of cells in the host organism.

Keywords: *Vibrio cholerae*, LPS, outer-membrane proteins OmpU and OmpT, cholera toxin, outer-membrane vesicles

For citation: Yakusheva O. A., Alekseeva L. P., Evdokimova V. V., Meloyan M. G., Zyuzina V. P., Simakova D. I. [Vesicles of toxigenic strains of *Vibrio cholerae* O1 El Tor, their isolation and characterization]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 1 (2024): pp. 61-73. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-61-73>.

Введение

На сегодняшний день известно, что холерные вибрионы, как и другие грамотрицательные бактерии, выделяют в окружающую среду внеклеточные мембранные везикулы, которые представляют собой сферические наноструктуры диаметром 20–250 нм, образуемые в результате контролируемого выпячивания наружной мембраны с захватом части периплазматического содержимого и последующего отщепления. Они действуют как носители для транспортирования селективного груза, который может быть связан с мембранным бислоем, либо присутствовать в их просвете. Эти частицы переносят разнообразные молекулы: ДНК, РНК, белки, липиды, липополисахариды (ЛПС), холерные токсины (ХТ) и другие факторы патогенности в отдалённые клетки-хозяева [Аронова и др., 2021]. Процесс формирования везикул, как и их загрузка у *Vibrio cholerae* O1, не является случайным и регулируется малой РНК, получившей название VrgA (*Vibrio regulatory RNA of OmpA*) [Song et al., 2008], и транспортной системой VacJ/Yrb ABC (АТФ-связывающая кассета) [Zingl et al., 2020]. В качестве маркера везикул принято считать белок наружной мембраны OmpU, который является их основным компонентом [Elluri et al., 2014; Sjöström et al., 2015]. Образование везикул наружной мембраны *V. cholerae* O1 не ограничивается конкретными условиями, этот процесс происходит и во время роста бактерий в жидких и на агаровых средах, в составе биоплёнки, а также во время инфекции внутри организма хозяина. Обычно секретлируемые естественным путём везикулы получают из жидких культуральных сред после культивирования до логарифмической или стационарной фаз роста. При этом очень важно определить оптимальное время для выделения везикул в зависимости от кривой роста и метаболического состояния культуры. Культивирование до поздней стационарной фазы приводит к увеличению выхода везикул, но может также способствовать лизису бактериальных клеток в результате гибели и загрязнению препаратов разрушенными мембранами и цитоплазматическими белками. В целом фаза роста влияет на процесс везикуляции как количественно, так и качественно, что было показано для *Pseudomonas aeruginosa* и *Francisella novicida* [Klimentová, Stulík, 2015].

В истории холеры зарегистрировано семь пандемий, вызванных штаммами холерных вибрионов O1 серогруппы, к которой относится два биовара — классический и El Tor. В настоящее время продолжается седьмая пандемия холеры, вызванная типичными штаммами *V. cholerae* O1 El Tor. Несмотря на то, что классические и El Tor вибрионы относятся к одной O1 серогруппе, они имеют фенотипические и генетические различия, а также отличаются по способности выживать во внешней среде. Больше ХТ продуцируют *V. cholerae* O1 *classical*, вызывая тяжёлые формы болезни, но при попадании в открытые водоёмы быстро погибают. В то же время холера, вызванная штаммами *V. cholerae* O1 El Tor, характеризуется лёгким течением болезни, т.к. они меньше синтезируют ХТ, но способны длительное время сохраняться во внешней среде. В 90-х годах прошлого столетия в результате мутаций появились и получили широкое распространение генетически изменённые штаммы (или геноварианты) *V. cholerae* El Tor. Они отличаются от типичных El Tor вибрионов повышенной вирулентностью, что выражается в более тяжёлых проявлениях болезни и высоких показателях смертности. Данные штаммы содержат в опероне *ctxAB*, кодирующем биосинтез ХТ, ген *ctxB* классических вибрионов (*ctxB1*) в отличие от типичных El Tor вибрионов, имеющих аллель *ctxB* El Tor (*ctxB3*). Были также обнаружены другие геноварианты возбудителя, несущие новую аллель гена *ctxAB7*, который, в отличие от аллеля *ctxAB1*, несёт дополнительную замену С/А в позиции 58. Геноварианты синтезируют повышенное количество ХТ I (классического) типа, приближаясь по данному показателю к высокотоксигенным штаммам классического биовара [Заднова и др., 2019].

Несмотря на то, что первые сообщения о везикулах холерных вибрионов появились около полувека назад, основной период их изучения приходится на два последних десятилетия. За это время выделены и охарактеризованы везикулы, продуцируемые классическими холерными вибрионами, вместе с тем чёткого представления о везикулах геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor нет. В настоящее время геноварианты *V. cholerae* O1 El Tor получили широкое распространение и практически вытеснили классические и типичные *V. cholerae* O1 El Tor [Zingl et al., 2021].

Отметим, что развитие инфекционного процесса, вызываемого геновариантами *V. cholerae* O1 El Tor, недостаточно изучено, а механизмы выделения токсинов в везикулах наружных мембран и их взаимодействия с клетками организма-хозяина не описаны. Новые сведения об условиях, способствующих максимальной продукции везикул, их детальная характеристика вносят определённый вклад в решение вопросов, касающихся выяснения механизмов межклеточных взаимодействий и патогенеза при холере.

Цель работы – выделение, сравнительное изучение везикул типичных и геновариантов штаммов холерных вибрионов биовара Эль Тор, оценка их иммунохимической и биологической активности.

Материалы и методы исследований

В работе использовали токсигенные штаммы *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa: прототипный (*ctx B3*, *tcpA^{ET}*, *rtxA1*) – № 1310, и геноварианты: «предгайтанский» (*ctx B1*, *tcpA^{ET}*, *rtxA1*) – № 18367, «гайтанский» (*ctxB7*, *tcpA^{CIRS}*, *rtxA4*) – № 19188/2, «постгайтанский» (*ctxB7*, *tcpA^{CIRS}*, *rtxA4a*) – № 19667, полученные из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Штаммы *V. cholerae* O1 El Tor с различным генотипом были подобраны согласно их паспортным данным. Все исследуемые штаммы были типичными по морфологическим, культуральным, биохимическим и серологическим свойствам. Штаммы культивировали на агаре Мартена, pH 7.7. Построение кривых роста проводили следующим образом: 18-часовые агаровые культуры суспендировали в среде АК1 до оптической плотности (ОП) 0.2. Далее их разбавляли до концентрации (ОП) 0.01 средой АК1 и культивировали при 37°C, измерения показателей ОП проводили каждые два часа при длине волны 600 нм. С целью получения изолированных везикул наружных мембран суточные культуры штаммов *V. cholerae* O1 El Tor засеивали в пробирку с жидкой средой АК1 (1.5% бактопептона, 0.4% дрожжевого экстракта, 0.5% NaCl, 0.3% NaHCO₃), pH 7.6, и культивировали в течение 4 ч. при 37°C по стандартному методу [Iwanaga, Kuyukanond, 1987]. Далее культуру переносили в колбу, содержащую среду АК1, и последующее культивирование проводили при температуре 37°C с аэрацией. Все этапы работы с живыми культурами различных штаммов *V. cholerae* O1 El Tor проводили с учётом требований СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Выделение мембранных везикул проводили методом осаждения сульфатом аммония по методике [Кудрякова и др., 2017] с некоторыми модификациями. Клетки из 1 л культуры удаляли центрифугированием при 10 000 g в течение 20 мин. при 4°C. Супернатант фильтровали через фильтры типа GVWP с диаметром 0.45 мкм и 0.22 мкм для удаления дебриса, добавляли гентамицин до конечной концентрации 800 мкг/мл. Далее делали высеив на стерильность для подтверждения специфической стерильности и добавляли ингибитор протеаз, не содержащий ЭДТА, для предотвращения деградации белка. Из бесклеточного супернатанта везикулы осаждали (NH₄)₂SO₄ (65% насыщения) в течение 2 ч. при 4°C с перемешиванием. Затем центрифугировали при 20 000 g в течение 35 мин. при 4°C. Полученный осадок везикул ресуспендировали в растворе 0.1M фосфатно-солевого буфера, pH 7.2. Препарат диализовали против 10 объёмов того же буфера с последующим центрифугированием при 100 000 g в течение 1 ч. при 4°C. Осадок везикул промывали 0.1M фосфатно-солевым буфером, pH 7.2, и осаждали при той же скорости в течение 1 ч., затем ресуспендировали в 1 мл 0.1M фосфатно-солевого буфера, pH 7.2. Разливали на аликвоты и хранили при –20°C.

Общую концентрацию белка измеряли методом Лоури [Lowry et al., 1951]. Концентрацию белка рассчитывали по калибровочной кривой, построенной для БСА.

Для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) образцы наносили на поверхность формаровой плёнки-подложки с углеродным покрытием, контрастировали 0.2%-ным раствором уранилацетата в воде 1 мин. при комнатной температуре, промывали дистиллированной водой, просушивали и исследовали под электронным микроскопом ×100 000.

Электрофоретический анализ препаратов везикул проводили в ПААГ с градиентом плотности 6% и 12.5% в денатурирующих условиях с додецилсульфатом натрия и β-меркаптоэтанолом. В качестве маркеров использовали смесь белковых стандартов «Blue Plus II Protein Marker» (14–120 кДа). Для обнаружения белков использовали окраску Кумасси синий R-250 [Laemmli, 1970].

После полусухого переноса из геля на нитроцеллюлозную мембрану осуществляли постановку иммуноблоттинга, как описано в [Towbin, 1984]. Для предварительной окраски белков на мембране использовали краситель Ponceau S. Холерный токсин определяли после инкубации мембраны с поликлональным кроличьим антитоксическим пероксидазным конъюгатом [Якушева и др., 2020]. ЛПС выявляли с помощью моноклональных антител гибридомы (ГХ-F8/O1), депонированной ранее в «Специализированной коллекции перевиваемых соматических клеток позвоночных» Института цитологии (г. Санкт-Петербург) под номером РККК (П) 386Д. Для выявления мембранных белков использовали моноклональные антитела гибридом (ГХ-A5D8/OmpU и ГХ-H2F5/OmpT), депонированных в «ГКПМ-Оболensk» (№179, №180) [Евдокимова и др., 2016]. В качестве вторых антител использовали антимышиный пероксидазный конъюгат (Invitrogen). После инкубации мембрану проявляли 3.3-диаминобензидином (Aldrich).

Концентрацию ЛПС определяли в иммуноферментном анализе с использованием моноклональных антител, направленным к эпитопам ЛПС *V. cholerae* O1. Концентрацию ЛПС рассчитывали по калибровочной кривой, построенной для ЛПС штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 5879.

Постановку иммуноферментного анализа (ИФА) осуществляли следующим образом. В лунки планшета вносили препарат везикул и выдерживали в течение 2 ч. при 37°C, после окончания инкубации аккуратно удаляли жидкость из лунок. Процедуру блокирования свободной поверхности полистироловых планшетов от иммунореагентов проводили в течение 30 мин. (37°C) с применением в качестве блокирующего агента бычьего сывороточного альбумина в концентрации 1%. Инкубацию везикул с монокло-

нальными антителами к ЛПС проводили в течение часа и далее – с антимышиным пероксидазным конъюгатом в течение 45 мин. Для разведения конъюгата использовали 0.01М фосфатно-солевого буфера (ФСБ) с добавлением 0.05% Твин-20 (рН 7.4). После каждого этапа следовала процедура отмывания планшета от несвязавшихся компонентов реакции раствором 0,01М ФСБ с добавлением 0.05% Твин-20 (рН 7.4). Реакцию проявляли свежеприготовленным субстратным раствором ТМБ (3.3'.5.5'-тетраметилбензидин) в течение 25 мин., после её остановки 2М серной кислотой измеряли значения оптической плотности. Результаты ИФА регистрировали при длине волны 450 нм (референс-волна 630нм). Все исследования проводили не менее чем в трёх повторностях [Егоров и др., 1991].

Биологическую активность оценивали на перевиваемых клеточных линиях *CHO-K1* (овариальные клетки китайского хомячка) и *HuTu 80* (человек, аденокарцинома двенадцатиперстной кишки) (РКККП, Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург). Культивирование культур клеток *CHO-K1* и *HuTu 80* осуществляли согласно паспортным данным. Вне периода постановки опытов коллекционные культуры хранились в криоконсервированном состоянии в биохранилище с жидким азотом при -196°C . Все этапы с перевиваемыми линиями клеток были выполнены в соответствии с рекомендациями [Фрешни, 2018]. Для тестирования биологической активности везикул наружных мембран клетки *CHO-K1* и *HuTu 80* высевали в лунки 96-луночного планшета в дозе 5 т. кл. на лунку. Через сутки после распластывания клеток их трижды промывали раствором Хенкса (рН 7.4) и в лунки 96-луночного планшета вносили по 0.1 мл бессывороточной среды, содержащей исследуемые препараты в концентрации 100 нг/мл по общему белку, после чего инкубировали в течение ночи при 37°C в 5% CO_2 . Отрицательным контролем служила бессывороточная среда, добавленная к клеткам *CHO-K1* и *HuTu 80*. В качестве положительного контроля использовали очищенный холерный токсин [Алексеева и др., 2019] в бессывороточной среде в аналогичных концентрациях. Для контроля специфичности использовали антитоксическую сыворотку в разведении 1:1000 [Якушева, 2019]. Учёт проводили с помощью инвертированного микроскопа, изучали морфологию клеток, сравнивая с контрольными (интактными). Для фотографирования клеточный слой осторожно промывали раствором Хенкса, рН 7.4, подсушивали, фиксировали в течение 20 мин. 96° -м этанолом и окрашивали по Романовскому-Гимзе.

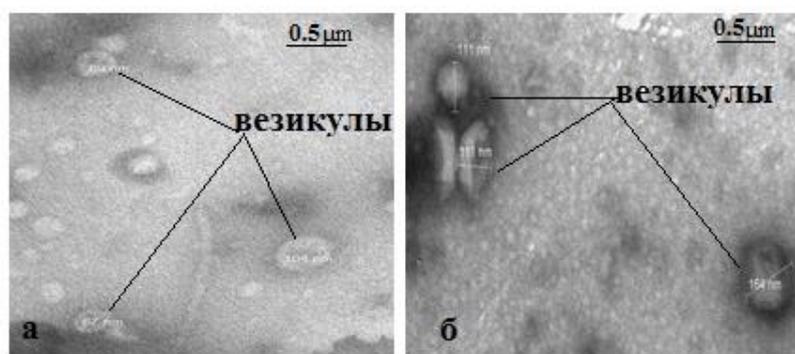
При анализе результатов были использованы статистические методы ($p < 0.05$) [Ашмарин, Воробьёв, 1962].

Результаты и их обсуждение

Согласно данным литературы, логарифмическая и стационарная фазы роста холерных вибрионов являются оптимальными для получения значительного количества везикул [Brameyer et al., 2018; Rasti et al., 2018;]. На первом этапе работы синхронизировали рост типичного, «предгаитянского», «гаитянского» и «постгаитянского» штаммов. Для каждого штамма строили кривую роста путём измерения ОП суспензионной культуры в заданных временных интервалах. Исследуемые штаммы культивировали в среде АК1, специально рекомендуемой для получения холерного токсина, продуцируемого природными штаммами *V. cholerae* El Tor, и обеспечивающей эффективную активацию регуляторного каскада ToxR, необходимого для выраженной экспрессии структурных генов *ctxAB* [Zingl et al., 2021]. В результате проведённых исследований было установлено, что геноварианты росли с одинаковой скоростью, логарифмическая фаза роста наступала через 6 ч. культивирования и длилась до 14 ч. с переходом в стационарную фазу. У типичного штамма *V. cholerae* O1 El Tor был отмечен замедленный рост – логарифмическая фаза наступала через 8 ч. культивирования, после перехода в стационарную фазу (16 ч.) наблюдалось накопление максимального количества бактериальной массы, что сопровождалось снижением количества жизнеспособных клеток. Из супернатантов суспензионных культур, выращенных в течение 6 ч. для геновариантов и 8 ч. для типичного (логарифмическая фаза роста), и 14–16 ч. (стационарная) соответственно, методом осаждения сульфатом аммония были получены везикулы наружных мембран.

Их образование подтверждено электронно-микроскопическими исследованиями. С помощью ТЭМ установлено, что все штаммы в логарифмической и в стационарной фазах роста формировали везикулы наружных мембран. При визуальной оценке препаратов везикул не были обнаружены бактериальные клетки, жгутики и пили. Везикулы наружных мембран представляли собой сферические структуры с диаметрами от 50 до 200 нм, заполненные веществом с низкой электронной плотностью. На рис. 1 представлена электронная микроскопия выделенных препаратов везикул.

Отметим, что в препаратах, полученных через 8 ч. культивирования, преобладали везикулы с размером 56–86 нм, а также обнаруживались единичные крупные везикулы. По мере роста холерных вибрионов через 16 ч. культивирования размер везикул увеличился, и преобладали везикулы крупных размеров 114–180 нм. Разница в размерах везикул может быть связана с их участием в транспорте секреторных белков во внеклеточное пространство.



а – логарифмическая фаза роста, б – стационарная фаза роста

Рис. 1. Электронная микроскопия препаратов везикул, окрашенных уранилацетатом, на примере «постгаитянского» штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 19 667, увеличение $\times 100\ 000$

[Electron microscopy of vesicle preparations stained with uranyl acetate, using the example of the “post-Haitian” strain of *V. cholerae* O1 El Tor № 19667, magnification $\times 100\ 000$:]

Для оценки количества везикул, образуемых штаммами *V. cholerae* O1 El Tor, было произведено определение концентрации общего белка и ЛПС. Согласно полученным результатам, концентрация белка в анализируемых препаратах везикул, выделенных культурами в логарифмическую фазу роста, была в пределах 4.53–16.61 мкг/мл, ЛПС 7.4–8.6 мкг/мл, а в стационарную фазу роста эти показатели равнялись 6.1–19.8 мкг/мл, ЛПС 12.8–16.1 мкг/мл (таблица). Очевидно, что концентрация белка и ЛПС в препаратах везикул, полученных из клеток стационарной фазы роста, выше по сравнению с препаратами везикул, выделенными в логарифмическую фазу роста. Сравнение уровней продукции везикул наружных мембран типичным штаммом и геновариантами штаммов *V. cholerae* El Tor, судя по общему количеству белка и ЛПС, позволило установить, что последние отличались повышенной везикуляцией. Как правило, внеклеточные везикулы грамотрицательных бактерий имеют природу наружной мембраны, при этом белки наружной мембраны, как и ЛПС, являются основными их компонентами [Chatterjee, Chaudhuri, 2013].

Общий белок и ЛПС в препаратах везикул, выделенных из штаммов *V. cholerae* O1 El Tor
[Evaluation of total protein and LPS in vesicle preparations isolated from *V. cholerae* O1 El Tor strains]

Препараты везикул, полученные из штаммов	Количество белка и ЛПС (мкг/мл)			
	Логарифмическая фаза роста		Стационарная фаза роста	
	белок	ЛПС	белок	ЛПС
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor 19667 «постгаитянский»	16.61±0.003	8.6±0.004	19.8±0.002	16.1±0.001
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor 19188/2 «гаитянский»	14.83±0.001	7.8±0.001	16.9±0.003	15.2±0.004
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor 18367 «предгаитянский»	8.51±0.002	7.6±0.001	12.1±0.004	14.4±0.004
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor 1310 «прототипный»	4.53±0.001	7.4±0.002	6.1±0.001	12.8±0.002

Примечание. Приведены средние значения \pm стандартное отклонение.

Повышенное содержание белка и ЛПС в препаратах везикул в стационарную фазу роста может быть связано с большим размером везикул, что согласуется с данными электронной микроскопии, а также с большей концентрацией этих компонентов на единицу площади везикул.

Далее сравнение белкового состава полученных везикул наружных мембран проводили с помощью электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия (рис. 2). Для выявления белковых полос гель окрашивали Кумасси синий R-250 и идентифицировали по молекулярным массам.

Сравнительный анализ белкового состава везикул «типичного», «предгаитянского», «гаитянского» и «постгаитянского» штаммов показал, что они практически не отличаются по основным мажорным белкам, что свидетельствует о сходстве их белкового состава. Обращает на себя внимание препарат везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 19667, у которого более выражены мажорные белки. Из данных литературы известно, что везикулы грамотрицательных бактерий сформированы из наружной мембраны с захватом части периплазматического пространства, поэтому белки наружной мембраны и белки периплазмы являются их обязательными компонентами. В то же время в образующихся у *V. cholerae* везикулах

может выявляться до 90 различных белков [Altindis, Fu, Mekalanos, 2014]. В составе везикул исследованных штаммов обнаружены белки, которые, судя по их молекулярным массам, соответствуют описанным в научной литературе мембранным белкам (OmpX (27 кДа), OmpA (35 кДа), OmpU (38 кДа), OmpT (40 кДа) и OmpS (45 кДа)), а также субъединицы холерного токсина. Вместе с тем белок с молекулярной массой 40 кДа выражен только в препарате везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 19667. Аналогичные результаты были получены после электрофоретического разделения препаратов везикул стационарной фазы. Белковые профили везикул были перенесены на нитроцеллюлозную мембрану, после чего она была обработана моноспецифическими иммуноглобулинами, направленными к мембранным белкам OmpT и OmpU. На рисунке 3 представлены препараты везикул, в которых наглядно выявлены мембранные белки OmpU и OmpT. Как видно, в препаратах везикул *V. cholerae* O1 El Tor № 18367, № 19188/2 и № 1310 был только белок OmpU. Везикулы *V. cholerae* O1 El Tor № 19667 содержали белки OmpT и OmpU. Наличие последнего во всех препаратах везикул изученных штаммов можно объяснить функциональными свойствами белка OmpU. В отличие от OmpT, OmpU представляет собой анион-селективный порин, который ограничивает прохождение отрицательно заряженных соединений, в том числе и желчи.

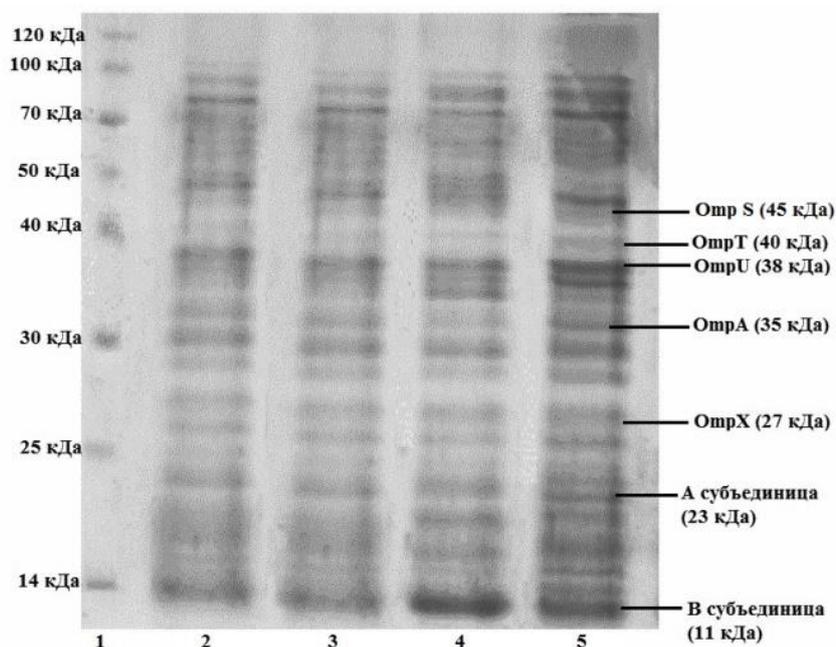


Рис. 2. Белковый состав препаратов везикул, выделенных в логарифмическую фазу роста (окраска Кумасси синий R-250)

1 – маркеры молекулярных весов; 2 – препарат везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 1310; 3 – препарат везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 18367; 4 – препарат везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 19188/2; 5 – препарат везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 19667

[Protein composition of vesicle preparations isolated in the logarithmic growth phase, stained with Coomassie blue R-250]

Для лучшей адаптации в неблагоприятных условиях, особенно при колонизации кишечника хозяина, а также в среде АКІ, холерные вибрионы с помощью регулятора вирулентности ToxR активируют экспрессию генов *ompU* и подавляют *ompT*, что в свою очередь отражается на синтезе поринов. В то же время процесс формирования везикул у холерных вибрионов не пассивный, а функционирует как контролируемый механизм секреции компонентов клетки или оболочки, и регулируется малой РНК VgrA, которая экспрессируется в среде АКІ. Действие этой регуляторной мРНК направлено на подавление производства белка OmpT [Song, Sabharwal, Wai, 2010], что является причиной отсутствия последнего в везикулах у большинства штаммов. Однако недавние исследования показали, что белок OmpT в условиях активации ToxR дополнительно к репрессии может активно удаляться с поверхности клеток холерных вибрионов с помощью везикул [Zingl et al., 2020]. Это объясняет присутствие белка наружной мембраны OmpT на поверхности везикул у штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 19667 при культивировании в среде АКІ. Согласно данным литературы [Zingl et al., 2020; Jugder, Watnick, 2020], можно предположить, что «постгаитянский» штамм на начальных этапах инфекции будет иметь преимущество в адаптации по сравнению с другими испытуемыми штаммами за счёт быстрого изменения поверхности своей наружной мембраны в результате удаления белка OmpT в везикулах для повышения устойчивости к желчи. Нако-

нец, только в одной публикации сообщается, что порины наружной мембраны, OmpU и OmpT играют важную роль в интернализации везикул эпителиальными клетками кишечника [Zingl et al., 2021].

ЛПС является эндотоксином и служит важным антигеном и лигандом на поверхности мембраны, играя решающую роль в адгезии и активации иммунного ответа, а также может оказывать влияние на скорость проникновения везикул в клетку-мишень. В настоящее время в литературе нет сведений о роли ЛПС в проникновении везикул природных геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor в клетку-мишень. С помощью моноспецифических иммуноглобулинов, направленных к эпитопам O-антигена ЛПС *V. cholerae* O1, была охарактеризована его структура в исследуемых образцах. Результаты иммуноблота представлены на рис. 3, из которого можно видеть, что в районе 30 кДа выявлена одна широкая диффузная полоса, которая, согласно данным литературы, соответствует O-антигену S-ЛПС.

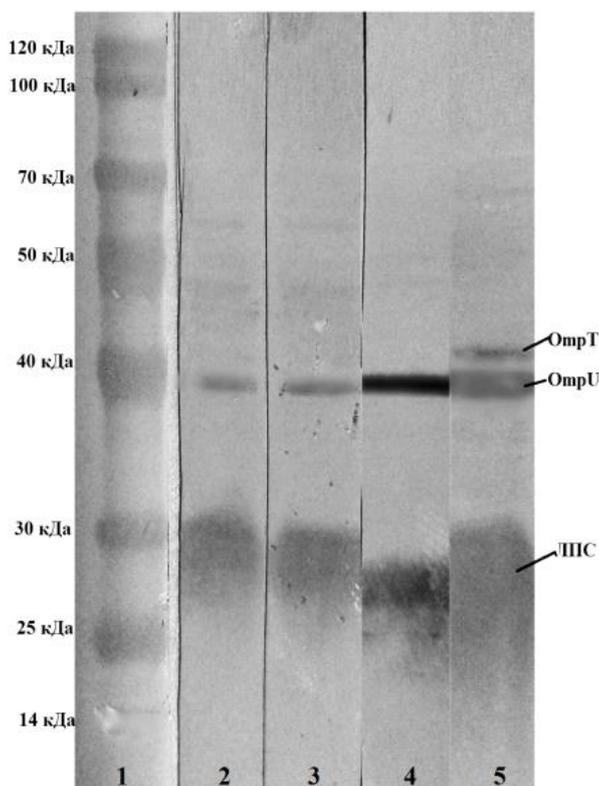


Рис. 3. Иммуноблоттинг препаратов везикул, выделенных в логарифмическую фазу роста, обработанных иммуноглобулинами гибридом GX-F8/O1, GX-A5D8/OmpU и GX-H2F5/OmpT

1 – маркеры молекулярных весов; 2 – препарат везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 1310; 3 – препарат везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 18367; 4 – препарат везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 19188/2; 5 – препарат везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 19667

[Immunoblotting of vesicle preparations isolated in the logarithmic growth phase, treated with immunoglobulins hybrid GH-F8/O1, GH-A5D8/OmpU and GH-H2F5/OmpT]

Везикулы *Escherichia coli*, содержащие O-антиген, быстрее интернализуются в клетки-мишени по сравнению с везикулами, лишенными его [O'Donoghue, 2017]. Показана также важная роль S-ЛПС в процессе поглощения везикул, продуцируемых *Haemophilus influenzae*, *Campylobacter jejuni*, *P. aeruginosa*, в клетки-мишени через богатые холестерином липидные рафты. Иными словами, везикулы с S-ЛПС используют более быстрый механизм поглощения, зависимый от липидного рафта, а везикулы, лишенные O-антигена, интернализуются в клетки в течение более длительного периода времени, в основном клатрин-зависимым эндоцитозом [Caruana, Walper, 2020].

Наличие O-антигена S-ЛПС в составе везикул типичного и природных геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor дает основание предположить, что при проникновении везикул в клетки-мишени задействован путь, зависимый от рафтов. Подтверждение этому нам предстоит найти в будущем при изучении эндочитарных путей поглощения везикул.

Известно, что холерный токсин находится в периплазме, откуда он секретируется через двухступенчатую Sec-зависимую систему секреции 2-го типа (T2SS) в свободной форме [Зюзина и др., 2023]. Кроме того, он может быть захвачен везикулами, что было описано у классического штамма *V. cholerae* O1 Inaba 569 B. При этом в статических условиях культивирования холерный токсин высвобождается в виде

целой молекулы StxAВ5, в то же время в условиях низкой осмолярности среды у этого же штамма только субъединица StxA упаковывается в везикулы [Rasti et al., 2018; Rasti, Brown, 2019].

Для определения наличия субъединиц холерного токсина и их связи с везикулами был проведен иммуноблоттинг с использованием поликлонального антитоксического конъюгата. Как видно на рис. 4, в препаратах везикул наружных мембран, полученных в логарифмическую фазу роста, конъюгат выявлял зону примерно 24–26 кДа, которая соответствует субъединице А, и вторую полосу в районе 11–12 кДа, что соответствует субъединице В холерного токсина. Это свидетельствует о том, что холерный токсин в виде целой молекулы присутствует у типичного штамма и природных геновариантов не только в виде растворимой секретируемой формы, но также связан с везикулами. При этом в везикулах, выделенных через 16 ч., холерный токсин был обнаружен в меньших количествах, о чём свидетельствовали менее выраженные полосы иммуноблота. Более низкое содержание холерного токсина в везикулах в стационарной фазе роста может быть связано с высокой плотностью микробных клеток в этот период. На этой стадии регулятор транскрипции NapR холерных вибрионов репрессирует экспрессию генов холерного токсина и токсин-корегулируемых пилей и активирует синтез двух протеаз – Nap/A, PrtV [Boardman, Meehan, Satchell, 2007].

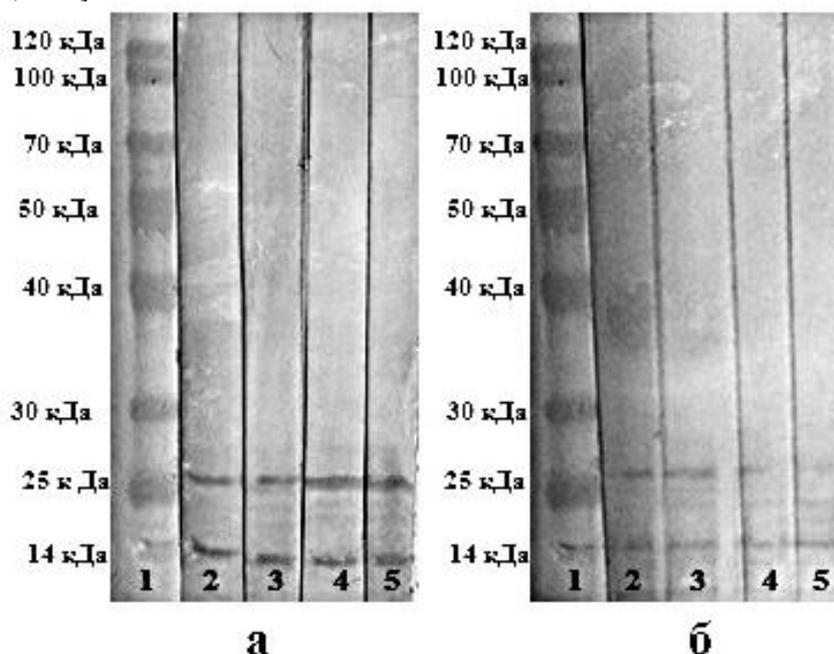


Рис. 4. Иммуноблот препаратов везикул с антитоксическим пероксидазным конъюгатом:

а – логарифмическая фаза, б – стационарная фаза; 1 – маркеры молекулярных весов; 2 – препарат везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 1310; 3 – препарат везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 18367; 4 – препарат везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 19188/2; 5 – препарат везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 19667

[Immunoblot of vesicle preparations with an antitoxic peroxidase conjugate]

Для оценки биологической активности полученных препаратов везикул использовали две линии культуры клеток (*CHO-K1* и *HuTu 80*) одновременно, поскольку первая традиционно используется для тестирования холерного токсина, а другая представляет собой эпителиальные клетки кишечника человека (рис. 5). Спустя сутки после внесения препаратов везикул, полученных в логарифмическую и стационарную фазы роста, в световом микроскопе наблюдалось изменение морфологии клеток обеих линий. Анализ наблюдаемых морфологических изменений культуры клеток при тестировании препаратов везикул, полученных в логарифмическую фазу роста, показал удлинение клеток *CHO-K1* и появление игольчатых отростков в культуре клеток *HuTu 80*, характерное для действия холерного токсина. Судя по полученным результатам, следует отметить, что в препаратах везикул холерный токсин биологически активен. Если допустить, что везикулы в процессе контакта с клеточными культурами разрушаются, и изменения их морфологии являются следствием выхода и действия ХТ. Очевидно, что в этом случае предварительная обработка везикул антитоксической сывороткой привела бы к нейтрализации действия ХТ и отсутствию типичного удлинения клеток-мишеней. В наших опытах после инкубации везикул с антитоксической сывороткой регистрировали морфологические изменения клеток, характерные для ХТ. В отношении препаратов везикул, выделенных в стационарную фазу роста, можно сказать, что при контакте с культурами клеток обеих линий они обладали большей протеолитической активностью, вызывая округление клеток *CHO-K1* и *HuTu 80*.

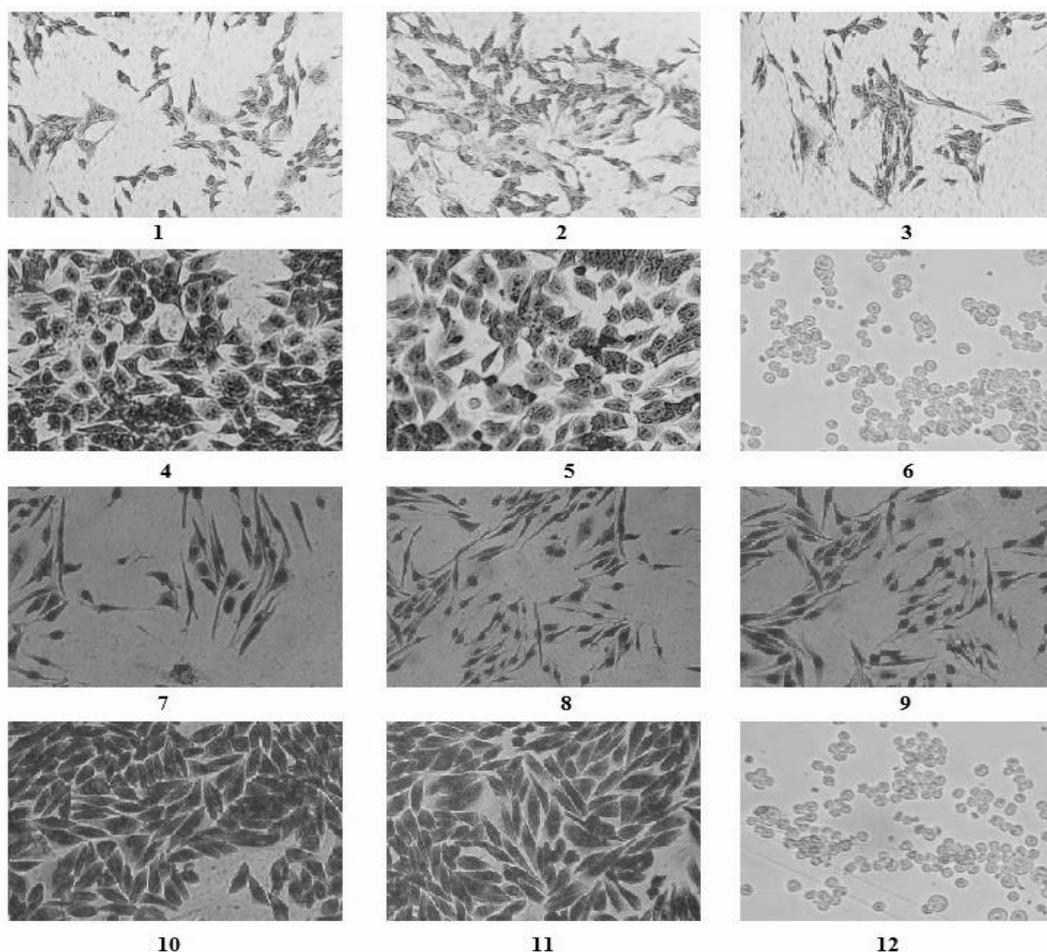


Рис. 5. Морфологическое изменение культуры клеток *CHO-K1* и *HuTu 80*, вызванное воздействием препаратов везикул под инвертированным микроскопом (окрашивание по Романовскому-Гимзе, увеличение 10×15):

1 – действие везикул логарифмической фазы на культуру клеток *HuTu 80*; 2 – действие холерного токсина на культуру клеток *HuTu 80*; 3 – действие везикул логарифмической фазы, предварительно обработанных антитоксической сывороткой на культуру клеток *HuTu 80*; 4 – действие холерного токсина, предварительно обработанного антитоксической сывороткой на культуру клеток *HuTu 80*; 5 – культура клеток *HuTu 80*; 6 – действие везикул стационарной фазы на культуру клеток *HuTu 80*; 7 – действие везикул логарифмической фазы на культуру клеток *CHO-K1*; 8 – действие холерного токсина на культуру клеток *CHO-K1*; 9 – действие везикул логарифмической фазы, предварительно обработанных антитоксической сывороткой на культуру клеток *CHO-K1*; 10 – действие холерного токсина, предварительно обработанного антитоксической сывороткой на культуру клеток *CHO-K1*; 11 – культура клеток *CHO-K1*; 12 – действие везикул стационарной фазы на культуру клеток *CHO-K1*

[Morphological changes in *CHO-K1* and *HuTu 80* cell cultures caused by exposure to vesicle preparations under an inverted microscope, Romonovsky-Giemsa staining]

Заключение

Таким образом, нами впервые получены данные об образовании везикул геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor. В результате проведённых исследований показано, что стадия роста *V. cholerae* O1 El Tor влияет на размер и состав выделяемых ими везикул наружных мембран, что указывает на селективную упаковку молекул во время роста бактерий. При этом природные геноварианты *V. cholerae* O1 El Tor в среде АК1 продуцируют везикулы наружных мембран в большем количестве по сравнению с типичными штаммами, что, возможно, является одним из механизмов их повышенной выживаемости при действии различных стрессовых факторов и, как следствие, их широкого распространения.

В настоящей работе установлено, что везикулы, полученные из типичного и геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor, практически не отличаются по основным мажорным белкам, за исключением штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 19667, что свидетельствует о сходстве их белкового состава. Некоторые отличия связаны с присутствием белка наружной мембраны OmpT на поверхности везикул «постгайтян-

ского» штамма. Этот факт косвенно указывает на преимущество в адаптации и устойчивости к желчи на начальных этапах инфекции по сравнению с другими испытуемыми штаммами за счёт быстрого изменения поверхности своей наружной мембраны в результате удаления белка OmpT в везикулах.

В данной работе также установлено, что у типичного и геновариантов штаммов *V. cholerae* O1 El Tor в среде АК1 везикулы наружной мембраны принимают участие в транспорте холерного токсина, который переносится в виде целой молекулы StxAB5. Мембранные везикулы типичного штамма и геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor, выделенные из культур в логарифмической и стационарной фазах роста, способны по-разному повреждать клетки-мишени. На основании этих результатов очевидна роль мембранных везикул как средств доставки факторов вирулентности в биологически активной форме и влияния переносимых ими веществ на клетки человека, включая цитотоксичность и протеолитическую активность.

Результаты нашей работы показали, что везикулы типичного и геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor содержат О-антиген S-ЛПС. Наличие О-антигена S-ЛПС в составе везикул типичного и природных геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor дает основание предположить, что при проникновении везикул в клетки-мишени задействован путь, зависимый от рафтов. Пока остается открытым вопрос, каким образом везикулы геновариантов холерных вибрионов проникают в клетки-мишени, и исследования в этом направлении будут продолжены.

Список источников

1. Алексеева Л.П. и др. Современные методические приёмы очистки холерного токсина // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. 2019. Т. 15, № 1. С. 5–9.
2. Аронова Н.В. и др. Роль везикул наружных мембран возбудителей особо опасных инфекций в патогенезе и иммуногенезе инфекционного процесса // Проблемы особо опасных инфекций. 2021. № 4. С. 6–15. doi: 10.21055/0370-1069-2021-4-6-15.
3. Ашмарин И.П. Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Медгиз, 1962. 180 с.
4. Евдокимова В.В. и др. Иммуноферментные методы анализа в диагностике холеры // Клиническая лабораторная диагностика. 2016. № 5. С. 303–307.
5. Егоров А.М. и др. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Высш. шк., 1991. 288 с.
6. Заднова С.П. и др. Сравнительный анализ адаптационных свойств типичных и генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae* биовара El Tor // Журнал микробиологии. 2019. № 2. С. 25–30.
7. Зюзина В.П. и др. Роль везикул в транспорте холерного токсина // Проблемы особо опасных инфекций. 2023. № 2. С. 29–34. doi: 10.21.055/0370-1069-2023-2-29-34/.
8. Кудрякова И.В. и др. Изучение факторов биогенеза везикул *Lysobacter* sp. XL1 // Биохимия. 2017. Т. 82, № 4. С. 677–686.
9. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток: практическое руководство. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2018. 691с.
10. Якушева О.А. и др. Получение антитоксических сывороток и возможность их применения в диагностике холеры // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2019. Вып. 4. С. 426–433.
11. Якушева О.А. и др. Характеристика и оценка диагностической значимости поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов к холерному токсину // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. 2020. Т. 16, № 2. С. 37–43.
12. Altindis E., Fu Y., Mekalanos J.J. Proteomic analysis of *Vibrio cholerae* outer membrane vesicles // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014. Vol. 111, № 15. P. 1548–1556. doi: 10.1073/pnas.1403683111.
13. Boardman B.K., Meehan B.M., Fullner K.J. Satchell Growth phase regulation of *Vibrio cholerae* RTX toxin export // J. Bacteriol. 2007. Vol. 189, № 5. P. 1827–1835. doi: 10.1128/JB.01766-06.
14. Brameyer S. et al. Outer Membrane Vesicles Facilitate Trafficking of the Hydrophobic Signaling Molecule CAI-1 between *Vibrio harveyi* Cells // J. Bacteriol. 2018. Vol. 200, № 15. doi: 10.1128/JB.00740-17.
15. Caruana J.C., Walper S.A. Bacterial Membrane Vesicles as Mediators of Microbe - Microbe and Microbe - Host Community Interactions // Front Microbiol. 2020. Vol. 11, № 432. doi: 10.3389/fmicb.2020.00432.
16. Chatterjee D., Chaudhuri K. *Vibrio cholerae* O395 outer membrane vesicles modulate intestinal epithelial cells in a NOD1 protein-dependent manner and induce dendritic cell-mediated Th2/Th17 cell responses // J. Biol. Chem. 2013. Vol. 288, № 6. P. 4299–42309. doi: 10.1074/jbc.M112.408302.
17. Elluri S. et al. Outer Membrane Vesicles Mediate Transport of Biologically Active *Vibrio cholerae* Cytolysin (VCC) from *V. cholerae* Strains // PLoS One. 2014. Vol. 9, № 9. e106731. doi: 10.1371/journal.pone.0106731.
18. Iwanaga M., Kuuyakanond T. Large production of cholera toxin by *Vibrio cholerae* O1 in yeast extract peptone water. // Journal of Clinical Microbiology. 1987. Vol. 25, № 1. P. 2314–2316.
19. Jugder B.E., Watnick P.I. *Vibrio cholerae* Sheds Its Coat to Make Itself Comfortable in the Gut // Cell Host & Microbe. 2020. Vol. 27, № 2. P. 225–237. doi.org/10.1016/j.chom.2020.01.017.

20. Klimentová J., Stulík J. Methods of isolation and purification of outer membrane vesicles from gram-negative bacteria // *Microbiological Research*. 2015. Vol. 170. P. 1–9. doi: 10.1016/j.micres.2014.09.006.
21. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*. 1970. Vol. 227, № 5259. P. 680–685.
22. Lowry O.H. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193, № 1. P. 265–275.
23. O'Donoghue E.J. et al. Lipopolysaccharide structure impacts the entry kinetics of bacterial outer membrane vesicles into host cells // *PLoS Pathog.* 2017. Vol. 13, № 11. e1006760. doi: 10.1371/journal.ppat.1006760.
24. Rasti E.S. et al. Association of *Vibrio cholerae* 569B outer membrane vesicles with host cells occurs in a GM1-independent manner // *Cell Microbiol.* 2018. Vol. 20, № 6. e12828. doi: 10.1111/cmi.12828.
25. Rasti E.S., Brown A.C. Cholera Toxin Encapsulated within Several *Vibrio cholerae* O1 Serotype Inaba Outer Membrane Vesicles Lacks a Functional B-Subunit // *Toxins (Basel)*. 2019. Vol. 11, № 4. P. 207. doi: 10.3390/toxins11040207.
26. Sjöström A.E., et al. Membrane vesicle-mediated release of bacterial RNA // *Sci. Rep.* 2015. Vol. 5. doi: 10.1038/srep15329.
27. Song T., Sabharwal D., Wai S.N. VrrA mediates Hfq-dependent regulation of OmpT synthesis in *Vibrio cholerae* // *J. Mol. Biol.* 2010. Vol. 400, № 4. P. 682–688. doi: 10.1016/j.jmb.2010.05.061.
28. Song T. et al. A new *Vibrio cholerae* sRNA modulates colonization and affects release of outer membrane vesicles // *Mol. Microbiol.* 2008. Vol. 70, № 1. P. 100–111. doi: 10.1111/j.1365-2958.2008.06392.x.
29. Towbin H. Immunoblotting and dot immunobinding – Current status and outlook // *J. Immunol. Methods*. 1984. Vol. 72. P. 313–340.
30. Zingl F.G. et al. Outer Membrane Vesiculation Facilitates Surface Exchange and In Vivo Adaptation of *Vibrio cholerae* // *Cell Host Microbe*. 2020. Vol. 27, № 2. P. 225–237. doi: 10.1016/j.chom.2019.12.002.
31. Zingl F.G. et al. Outer Membrane Vesicles of *Vibrio cholerae* Protect and Deliver Active Cholera Toxin to Host Cells via Porin-Dependent Uptake // *mBio*. 2021. Vol. 12, № 3. e0053421. doi: 10.1128/mBio.00534-21.

References

1. Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Zyuzina V.P., Duvanova O.V., Shipko E.S., Pisanov R.V. [Modern methodological methods of cholera toxin purification]. *Vestnik biotehnologii i fiziko-chimičeskoj biologii imeni Yu.A. Ovčinnikova*. V. 15, No. 1 (2019): pp. 5-9. (In Russ.).
2. Aronova N.V., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Golovin S.N., Anisimova A.S. [The role of vesicles of the outer membranes of pathogens of especially dangerous infections in the pathogenesis and immunogenesis of the infectious process]. *Problemy osobo opasnykh infekcij*. No. 4 (2021): pp. 6-15. doi: 10.21055/0370-1069-2021-4-6-15. (In Russ.).
3. Ashmarin I.P., Vorobiev A.A. *Statističeskie meetody v mikrobiologičeskich issledovanijach* [Statistical methods in microbiological research]. Leningrad, Medgiz Publ., 1962. 180 p. (In Russ.).
4. Evdokimova V.V., Alekseeva L.P., Kretenchuk O.F., Kruglikov V.D., Arkhangel'skaya I.V., Bursha O.S. [Enzyme immunoassay methods in the diagnosis of cholera]. *Kliničeskaja laboratornaja diagnostika*. No. 5 (2016): pp. 303-307. (In Russ.).
5. Egorov A.M., Osipov A.P., Dzantiev B.B., Gavrilova E.M. *Teorija i praktika immunofermentnogo analiza* [Theory and practice of immunoenzyme analysis]. Moscow, Vysh. shk. Publ., 1991. 288 p. (In Russ.).
6. Zadnova S.P., Kritsky A.A., Plekhanov N.A., Cheldyshova N.B., Smirnova N.I. [Comparative analysis of adaptation properties of typical and genetically modified strains of *Vibrio cholerae* biovar El Tor]. No. 2 (2019): pp. 25-30. (In Russ.).
7. Zyuzina V.P., Yakusheva O.A., Alekseeva L.P., Evdokimova V.V., Simakova D.I. [The role of vesicles in the transport of cholera toxin]. *Problemy osobo opasnykh infekcij*. No. 2 (2023): pp. 29-34. doi:10.21.055/0370-1069-2023-2-29-34. (In Russ.).
8. Kudryakova I.V., Suzina N.E., Vinokurova N.G., Shishkova N.A., Vasilyeva N.V. [Study of vesicle biogenesis factors of *Lysobacter* sp. XL1]. *Biochimija*. V. 82, No. 4 (2017): pp. 677-686. (In Russ.).
9. Freshni R.Ya. *Kul'tura životnykh kletok* [Culture of animal cells. A practical guide]. Moscow, Binom. Laboratorija znanij Publ., 2018. 691 p. (In Russ.).
10. Yakusheva O.A., Alekseeva L.P., Pisanov R.V., Zyuzina V.P., Yagovkin M.E., Duvanova O.V., Shipko E.S. [Obtaining antitoxic sera and the possibility of their use in the diagnosis of cholera]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 4 (2019): pp. 426-433. (In Russ.).
11. Yakusheva O.A., Alekseeva L.P., Zyuzina V.P., Arkhangel'skaya I.V., Yagovkin M.E. [Characterization and assessment of the diagnostic significance of poly and monoclonal peroxidase conjugates to cholera toxin]. *Vestnik biotehnologii i fiziko-chimičeskoj biologii imeni Yu.A. Ovčinnikova*. V. 16, No. 2 (2020): pp. 37-43. (In Russ.).

12. Altindis E., Fu Y., Mekalanos J.J. Proteomic analysis of *Vibrio cholerae* outer membrane vesicles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 111, No. 15 (2014): pp. 1548-1556. doi: 10.1073/pnas.1403683111.
13. Boardman B.K., Meehan B.M., Fullner Satchell K.J. Growth phase regulation of *Vibrio cholerae* RTX toxin export. *J. Bacteriol.* V. 189, No. 5 (2007): pp. 1827-1835. doi: 10.1128/JB.01766-06.
14. Brameyer S., Plener L., Müller A., Klingl A., Wanner G., Jung K. Outer Membrane Vesicles Facilitate Trafficking of the Hydrophobic Signaling Molecule CAI-1 between *Vibrio harveyi* Cells. *J. Bacteriol.* V. 200, No. 15 (2018). doi: 10.1128/JB.00740-17.
15. Caruana J.C., Walper S.A. Bacterial Membrane Vesicles as Mediators of Microbe - Microbe and Microbe - Host Community Interactions. *Front Microbiol.* V. 11, No. 432 (2020). doi: 10.3389/fmicb.2020.00432.
16. Chatterjee D., Chaudhuri K. *Vibrio cholerae* O395 outer membrane vesicles modulate intestinal epithelial cells in a NOD1 protein-dependent manner and induce dendritic cell-mediated Th2/Th17 cell responses. *J. Biol. Chem.* V. 288, No. 6 (2013): pp. 4299-42309. doi: 10.1074/jbc.M112.408302.
17. Elluri S., Enow C., Vdovikova S., Rompikuntal P.K., Dongre M., Carlsson S., Pal A., Uhlin B.E., Wai S.N. Outer Membrane Vesicles Mediate Transport of Biologically Active *Vibrio cholerae* Cytolysin (VCC) from *V. cholerae* Strains. *PLoS One*. V. 9, No. 9 (2014): e106731. doi: 10.1371/journal.pone.0106731.
18. Iwanaga M., Kuyyakanond T. Large production of cholera toxin by *Vibrio cholerae* O1 in yeast extract peptone water. *Journal of Clinical Microbiology*. V. 25, No. 1 (1987): pp. 2314-2316.
19. Jugder B.E., Watnick P.I. *Vibrio cholerae* Sheds Its Coat to Make Itself Comfortable in the Gut. *Cell Host & Microbe*. V. 27, No. 2 (2020): pp. 225-237. doi.org/10.1016/j.chom.2020.01.017.
20. Klimentová J., Stulík J. Methods of isolation and purification of outer membrane vesicles from gram-negative bacteria. *Microbiological Research*. V. 170 (2015): pp. 1-9. doi: 10.1016/j.micres.2014.09.006.
21. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. V. 227, No. 5259 (1970): pp. 680-685.
22. Lowry O.H. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* V. 193, No. 1 (1951): pp. 265-275.
23. O'Donoghue E.J., Sirisaengtaksin N., Browning D.F., Bielska E., Hadis M., Fernandez-Trillo F., Alderwick L., Jabbari S., Krachler A.M. Lipopolysaccharide structure impacts the entry kinetics of bacterial outer membrane vesicles into host cells. *PLoS Pathog.* V. 13, No. 11 (2017). doi: e1006760. 10.1371/journal.ppat.1006760.
24. Rasti E.S., Schappert M.L., Brown A.C. Association of *Vibrio cholerae* 569B outer membrane vesicles with host cells occurs in a GM1-independent manner. *Cell Microbiol.* V. 20, No. 6 (2018): e12828. doi: 10.1111/cmi.12828.
25. Rasti E.S., Brown A.C. Cholera Toxin Encapsulated within Several *Vibrio cholerae* O1 Serotype Inaba Outer Membrane Vesicles Lacks a Functional B-Subunit. *Toxins (Basel)*. V.11, No. 4 (2019): p. 207. doi: 10.3390/toxins11040207.
26. Sjöström A.E., Sandblad L., Uhlin B.E., Wai S.N. Membrane vesicle-mediated release of bacterial RNA. *Sci. Rep.* V. 5 (2015). doi: 10.1038/srep15329.
27. Song T., Sabharwal D., Wai S.N. VrrA mediates Hfq-dependent regulation of OmpT synthesis in *Vibrio cholera*. *J. Mol. Biol.* V. 400, No. 4 (2010): pp. 682-688. doi: 10.1016/j.jmb.2010.05.061.
28. Song T., Mika F., Lindmark B., Liu Z., Schild S., Bishop A., Zhu J., Camilli A., Johansson J., Vogel J., Wai S.N. A new *Vibrio cholerae* sRNA modulates colonization and affects release of outer membrane vesicles. *Mol. Microbiol.* V. 70, No. 1 (2008): pp.100-111. doi: 10.1111/j.1365-2958.2008.06392.x.
29. Towbin H. Immunoblotting and dot immunobinding – Current status and outlook. *J. Immunol. Methods*. V. 72 (1984): pp. 313-340.
30. Zingl F.G., Kohl P., Cakar F., Leitner D.R., Mitterer F., Bonnington K.E., Rechberger G.N., Kuehn M.J., Guan Z., Reidl J., Schild S. Outer Membrane Vesiculation Facilitates Surface Exchange and In Vivo Adaptation of *Vibrio cholera*. *Cell Host Microbe*. V. 27, No. 2 (2020): pp. 225-237. doi: 10.1016/j.chom.2019.12.002.
31. Zingl F.G., Thapa H.B., Scharf M., Kohl P., Müller A.M., Schild S. Outer Membrane Vesicles of *Vibrio cholerae* Protect and Deliver Active Cholera Toxin to Host Cells via Porin-Dependent Uptake. *mBio*. V. 12, No. 3 (2021): e0053421. doi: 10.1128/mBio.00534-21.

Статья поступила в редакцию 31.01.2024; одобрена после рецензирования 09.02.2024; принята к публикации 05.03.2024.

The article was submitted 31.01.2024; approved after reviewing 09.02.2024; accepted for publication 05.03.2024.

Информация об авторах

Ольга Александровна Якушева – yakusheva_oa@antiplague.ru, науч. сотрудник;

Людмила Павловна Алексеева – lpalekseeva@yandex.ru, профессор, д-р биол. наук;

Вероника Вячеславовна Евдокимова – evdokimova_vv@antiplague.ru, канд. биол. наук, науч. сотрудник;

Мисак Геворгович Мелоян – meloyan_mg@antiplague.ru, младший науч. сотрудник;

Вера Павловна Зюзина – zyuuzina_vp@antiplague.ru, канд. биол. наук, старший науч. сотрудник;
Диана Игоревна Симакова – simakova_di@antiplague.ru, канд. биол. наук, старший науч. сотрудник.

Information about the authors

Olga A. Yakusheva – yakusheva_oa@antiplague.ru, research associate;
Lyudmila P. Alekseeva – lpalekseeva@yandex.ru, professor, doctor of biological sciences;
Veronika V. Evdokimova – evdokimova_vv@antiplague.ru, candidate of biological;
Misak G. Meloyan – meloyan_mg@antiplague.ru, junior scientist employee;
Vera P. Zyuzina – zyuuzina_vp@antiplague.ru, candidate of biological, sciences senior;
Diana I. Simakova – simakova_di@antiplague.ru, candidate of biological, sciences senior.

Вклад авторов:

Якушева О. А. – анализ литературы, написание исходного текста; статистическая обработка материала.
Алексеева Л. П. – научное руководство; концепция исследования; итоговые выводы.
Евдокимова В. В. – анализ данных; доработка текста; итоговые выводы.
Мелоян М. Г. – предоставление исходных данных, анализ и интерпретация результатов работы.
Зюзина В. П. – ответственность за все аспекты работы, надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи.
Симакова Д. И. – анализ и интерпретация результатов работы, критический пересмотр содержания.

Contribution of the authors:

Yakusheva O. A. – literature analysis, writing the original text; statistical processing of the material.
Alekseeva L. P. – scientific management; conceptual studies; capture results.
Evdokimova V. V. – data analysis; text revision; survey results.
Meloyan M. G. – provision of initial data, analysis and interpretation of the results of the work.
Zyuzina V. P. – analysis of the literature, responsibility for all aspects of the work, proper study and solution of issues characterized by the availability of data and the presence of all parts of the article.
Simakova D. I. – analysis and interpretation of the results of the work, revision of the content.

ГЕНЕТИКА

Научная статья

УДК 632:633

doi: 10.17072/1994-9952-2024-1-74-82

**Зараженность вирусами желтой карликовости ячменя и
полосатой мозаики пшеницы сортов озимой ржи
(*Secale cereale* L.), выращиваемых на Среднем Урале**

**В. А. Печенкина¹, В. О. Наговицына¹, Ю. С. Васильева¹, Д. С. Фомин²,
Дм. С. Фомин², С. В. Боронникова¹**

¹ Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

² Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь, Россия

Автор, ответственный за переписку: Виктория Андреевна Печенкина, p_viktoria2@mail.ru

Аннотация. Рожь является стратегически важной культурой в России, которая менее требовательна, чем другие культуры, к плодородию почвы, условиям минерального питания и проведению мероприятий по защите растений. Мониторинг фитосанитарного состояния озимых сортов ржи является необходимой мерой для ее стабильной урожайности. У четырех сортов отечественной селекции *Secale cereale* L. ('Ника', 'Викрас', 'Паром' и 'Чусовая'), выращиваемых в условиях Среднего Урала на опытных полях Пермского и Уральского НИИСХ, проведена ПЦР-диагностика вирусных инфекций. Пробы РНК 4 сортов озимой ржи проанализированы методом ПЦР в реальном времени (Real-time) на зараженность вирусом Желтой карликовости ячменя (BYDV – *Barley yellow dwarf virus*) и вирусом Полосатой мозаики пшеницы (VSMV – *Wheat streak mosaic virus*). У 60% всех исследованных проб листьев озимой ржи был диагностирован вирус Желтой карликовости ячменя, а у 15% исследованных проб – вирус Полосатой мозаики пшеницы. На основании полученных данных можно предположить, что наиболее устойчивым к вирусу Желтой карликовости ячменя листьев оказался сорт озимой ржи 'Чусовая', т.к. инфицирован только на поле Пермского НИИСХ. Сорта 'Ника 3', 'Викрас' и 'Чусовая' наиболее устойчивы к вирусу Полосатой мозаики пшеницы. Зараженным этим вирусом оказался сорт озимой ржи 'Паром' (30%). Необходим дальнейший мониторинг фитосанитарной обстановки и проведение профилактики вирусных инфекций сортов озимой ржи на территории Среднего Урала.

Ключевые слова: вирус Полосатой мозаики пшеницы, вирус Желтой карликовости ячменя, ПЦР-РВ, сорта озимой ржи, *Secale cereale*, Средний Урал

Для цитирования: Зараженность вирусами желтой карликовости ячменя и полосатой мозаики пшеницы сортов озимой ржи (*Secale cereale* L.), выращиваемых на Среднем Урале / В. А. Печенкина, В. О. Наговицына, Ю. С. Васильева, Д. С. Фомин, Дм. С. Фомин, С. В. Боронникова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 1. С. 74–82. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-74-82>.

Благодарности: выражаем благодарность Пермскому федеральному исследовательскому центру УрО РАН и Уральскому научно-исследовательскому институту сельского хозяйства – филиалу Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр УрО РАН» за предоставленный материал для исследований, а также Людмиле Владимировне Бессоновой, Римме Ивановне Вяткиной и Марону Константину Артуровичу за консультации и помощь при сборе материала.

GENETICS

Original article

**Infection with Barley yellow dwarf virus and Wheat streak mosaic
varieties of winter rye (*Secale cereale* L.) grown in the Middle Urals**

**V. A. Pechenkina¹, V. O. Nagovicina¹, Y. S. Vasileva¹, D. S. Fomin²,
Dm. S. Fomin², S. V. Boronnikova¹**

¹ Perm State University, Perm, Russia

² Perm Federal Research Center Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

Corresponding authors: Viktoriia A. Pechenkina, p_viktoria2@mail.ru

Abstract. Rye is a strategically important crop in Russia, which is less demanding than other crops on soil fertility, mineral nutrition conditions and plant protection measures. Monitoring of the phytosanitary condition of winter rye varieties is a necessary measure for its stable yield. Four varieties of domestic selection *Secale cereale* L. (Nika, Vikras, Parom and Chusovaya), grown in the conditions of the Middle Urals in the experimental fields of the Perm and Ural Research Institute were subjected to PCR diagnostics of viral infections. RNA samples of 4 varieties of winter rye were analyzed by real-time PCR for infection with barley yellow dwarf virus (BYDV) and wheat streak mosaic virus (WSMV). Barley yellow dwarf was diagnosed in 60% of all studied samples of winter rye leaves, and wheat streak mosaic virus was diagnosed in 15% of the studied samples. The most resistant to barley yellow dwarf virus is the variety of winter rye Chusovaya, since it is infected only in the field of the Perm Research Institute. Nika 3, Vikras and Chusovaya varieties are the most resistant to wheat streak mosaic virus. A variety of winter rye was infected with this virus by Parom (30%). Further monitoring of the phytosanitary situation and profiling of viral infections of winter rye varieties in the territory of the Middle Urals is necessary.

Keywords: *Wheat streak mosaic virus, Barley yellow dwarf virus, Real-time PCR, varieties of winter rye, Secale cereale, The Middle Urals*

For citation: Pechenkina V. A., Nagovicina V. O., Vasilyeva Y. S., Fomin D. S., Fomin Dm. S., Boronnikova S. V. [Infection with Barley yellow dwarf virus and Wheat streak mosaic varieties of winter rye (*Secale cereale* L.) grown in the Middle Urals]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 1 (2024): pp. 74-82. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-74-82>.

Acknowledgments: we express our gratitude to the Perm Federal Research Center Ural Branch Russian Academy of Sciences and Ural Scientific Research Institute of Agriculture – branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences" (Ural Research Institute of Agriculture - branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution URFANITS UrO RAS) for providing research material, as well as Lyudmila Vladimirovna Bessonova, Rimma Ivanova Vyatkina and Konstantin Arturovich Maron for advice and assistance in collecting material.

Введение

Рожь посевная (*Secale cereale* L.) играет важную роль в мировом земледелии как ценная зерновая культура. Ее преимущества заключаются в высокой зимостойкости, возможности давать стабильную урожайность на низкоплодородных почвах, низкой чувствительности к кислотности почвы, т.е. в высокой способности адаптироваться к нестабильным метеорологическим условиям на территориях возделывания, что позволяет выращивать озимую рожь в регионах со сложными почвенно-климатическими условиями [Пономарева и др, 2015; Уткина, Кедрова, 2018; Щеклеина, 2020]. Рожь относится к самым распространённым и наиболее ценным сидератам. Она превосходит другие сидераты по способности эффективно подавлять сорняки и болезни растений из-за особенно быстрого развития. Рожь способна делать суглинистые почвы более лёгкими и водопроницаемым, поскольку она оказывает сильное разрыхляющее действие. Несмотря на все преимущества озимой ржи, в последние годы в России сохраняется тенденция к сокращению ее посевных площадей. В период с 2010 по 2021 гг. площади сократились практически наполовину: в 2010 г. посевные площади ржи составляли 1 757 тыс. га, а уже в 2021 – только 980 тыс. га [Бояркин, Новак, 2021]. Данному явлению способствует множество факторов, в том числе и ухудшение фитосанитарной обстановки [Молекулярно-генетические ..., 2012].

Сельскохозяйственные растения поражаются различными патогенными бактериями, грибами, а также вирусами. Заражение вирусами посевов сельскохозяйственных культур может приводить к гибели отдельных сортов. В настоящее время известно более 600 фитопатогенных вирусов, из которых 90 поражают злаковые культуры [Глинушкин и др, 2013]. Основную опасность для выращивания озимой ржи представляют вирусы, переносимые тлями, цикадками и клещами. К таким вирусам относят в том числе вирус Желтой карликовости ячменя (BYDV – *Barley yellow dwarf virus*) и вирус Полосатой мозаики пшеницы (VSMV – *Wheat streak mosaic virus*) [Можаева, 2002].

Характерный признак поражения растения вирусом Желтой карликовости ячменя проявляется в изменении окраски пораженных листьев в цвет от золотисто-желтого до оранжевого. Такая окраска листовой пластинки распространяется от верхушки вниз листа, чаще по краям пластинки. Спустя время листья становятся жесткими, при этом мозаичность и крапчатость отсутствуют. Поражение вирусом Желтой карликовости ячменя молодых растений приводит к интенсивному куцению и карликовости. При этом пораженные растения не достигают половины нормальной высоты, корневая система развита слабо. Колосья часто не образуются, или они короткие и дают незначительный урожай. Пораженные после кущения растения имеют пожелтевшие молодые листья, однако задержки роста не происходит [Дорофеева, Шкалик, 2007]. Вирус Желтой карликовости ячменя могут передавать около 25 видов тлей. В неблагоприятный период вирус сохраняется в зимующих растениях [Можаева, 2011; Какарека, Волков, Гапека,

2015]. Риск заражения сельскохозяйственных культур высок при их раннем посеве осенью из-за увеличения численности инфицированных вирусами тлей или цикадок. Также риск возрастает в случае мягкой и продолжительной осени, когда переносчики вирусов могут активно передавать их на протяжении длительного времени. Это может привести к потере урожая до 70% и более [Можаева, 2012].

Вирус Полосатой мозаики пшеницы распространен во многих районах выращивания злаковых культур, включая регион исследований. Переносчиками инфекции являются галлообразующие клещи *Eriophyes* [Богоутдинов, Кастальева, Гирсова, 2017]. Первые признаки заражения злаковых культур наблюдаются с осени. В период кушения между жилками листовых пластинок формируется желтоватая или хлоротическая пятнистость. Вскоре пятна сливаются в штрихи и полосы, резко отличающиеся структурой и цветом от здоровой ткани листа. По мере дальнейшего прогрессирования инфекции штрихи образуют крупные продольные полосы, ограниченные только жилками. Пораженные растения отличаются по сильному хлорозу, а в некоторых случаях и некрозу листовых пластинок [Маркелова, Кириллова, 2010]. Растения, зараженные на ранних стадиях развития, не способны к кушению и образованию колоса, но иногда они могут формировать слаборазвитый колос, который, как правило, не выходит из листового влагалища и продуцирует недоразвитые зерна [Глазко, Глазко, 2006]. Заболевание распространено во всех регионах мира, где выращивается пшеница. Урожай снижается на 18–65% [Богоутдинов, Кастальева, Гирсова, 2017].

Вирусные болезни злаковых растений широко распространены и обладают высокой вредоносностью. При этом у растениеводов возникают трудности диагностики вирусозов из-за схожести их вредоносного действия с факторами абиотической природы. Поскольку озимая рожь является стратегически важной культурой, необходимо сократить потери урожая от вирусных заболеваний. В связи с этим требуется проводить мониторинг зараженности злаковых культур, в том числе озимой ржи, вирусными патогенами.

Цель данного исследования – выявление вируса Желтой карликовости ячменя и вируса Полосатой мозаики пшеницы у растений 4 сортов озимой ржи на двух разных опытных полях Пермского и Уральского НИИСХ, расположенных на Среднем Урале на разных склонах Уральских гор, с использованием ПЦР в реальном времени.

Материал и методы исследования

В исследовании были использованы сорта озимой ржи (*Secale cereale* L.) отечественной селекции: 'Ника', 'Викрас', 'Паром' и 'Чусовая'. Озимая рожь относится к перекрестно опыляемым видам, поэтому важен контроль морфологических характеристик и генетического разнообразия ее сортов. Сорт 'Ника 3' длинностебельный, высота растений колеблется от 143.0 до 161.0 см. 'Викрас' и 'Чусовая' – среднестебельные с высотой растений 105–118 см, высота растений сорта 'Паром' находится в промежутке от 112 до 153 см. Все исследуемые сорта имеют высокую морозостойкость и семенную продуктивность, которая в среднем составляет 4.5 т/га. Масса 1000 зерен достаточно разнится, от 24 до 45.7 г, при этом у сорта 'Ника 3' масса зерен наибольшая – 37.0–45.7 г. Такие сорта как 'Чусовая' и 'Ника 3' имеют высокую устойчивость к полеганию. Сорт 'Викрас' отличается наличием устойчивости к снежной плесени. Сорт 'Паром' восприимчив к бурой и стеблевой ржавчине, тогда как сорт 'Чусовая' имеет к ним устойчивость [Потапова, Галимов, Зобнина, 2020; Парфенова, 2023; Государственная..., 2024; ФГБНУ..., 2024].

На зараженность вирусом Желтой карликовости ячменя и Полосатой мозаики пшеницы было исследовано 4 сорта озимой ржи, выращиваемых в условиях Среднего Урала, а именно на опытном поле, обозначенном как № 1, Пермского научно-исследовательского института сельского хозяйства «Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (Пермский НИИСХ – филиал ПФИЦ УрО РАН; Пермский край), и на опытном поле, обозначенном № 2, Уральского научно-исследовательского института сельского хозяйства – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (Уральский НИИСХ – филиал ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург), расположенных на разных макросклонах Уральских гор.

Сбор фрагментов подфлаговых листьев растений для выделения РНК производился в 2023 г. на делянках опытных полей № 1 и 2 у растений генеративного периода. Всего было собрано и проанализировано 80 образцов, т.е. по 40 образцов на каждом опытном поле. Выделение РНК производили из 20 мг гербаризованного растительного материала каждого образца. Концентрацию и качество РНК определяли на спектрофотометре NanoDrop2000 стандартным методом [Шакирова, 2019]. Методом обратной транскрипции РНК вирусов перевели в кДНК в процессе полимеразной цепной реакции в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ), которая была проведена на термоциклере CFX96 (Bio-Rad, USA) с использованием реактивов производства ООО «НПФ Синтол». Наборы реактивов состояли из: реакционной смеси; поло-

жительного контрольного образца (ПКО), содержащего фрагменты кДНК; ДНК-полимеразы и обратной транскриптазы (*synaq+RT*); отрицательного контрольного образца (ОКО). Набор реагентов позволяет выявлять специфичные фрагменты вируса Желтой карликовости ячменя и вируса Полосатой мозаики пшеницы. По каналу флуоресценции *FAM* (синий) качественно определяется наличие в пробе РНК вируса. Второй канал флуоресценции *HEX* (зеленый) необходим для внутреннего положительного контроля [Артемяева, Карпунин, 2010 **Ошибка! Источник ссылки не найден.**9]. Каждая проба была проанализирована индивидуально.

ПЦР-РВ проведена при условиях, предусмотренных в инструкции производителя ООО «НПФ Синтол». Интерпретация результатов ОТ-ПЦР-РВ была проведена в программе Bio-Rad CFX Manager по инструкции компании ООО «НПФ Синтол».

Результаты и обсуждение

Для диагностики вирусной инфекции в пробах ДНК четырех сортов озимой ржи был применен метод ОТ-ПЦР-РВ. Наличие в пробе РНК вируса Желтой карликовости было определено по росту флуоресценции по каналу флуоресценции *FAM* (линия синего цвета). Рост по каналу флуоресценции *HEX* (линия зеленого цвета) свидетельствует об успешности процесса амплификации ПЦР в реальном времени, что показало наличие РНК вируса Желтой карликовости ячменя в двух пробах озимой ржи сорта 'Викрас', собранных с опытного поля № 2 (рис. 1), поскольку был зафиксирован рост по каналу флуоресценции *FAM*. Амплификация в пробах сорта 'Викрас' прошла успешно, поскольку виден рост по каналу флуоресценции *HEX*.

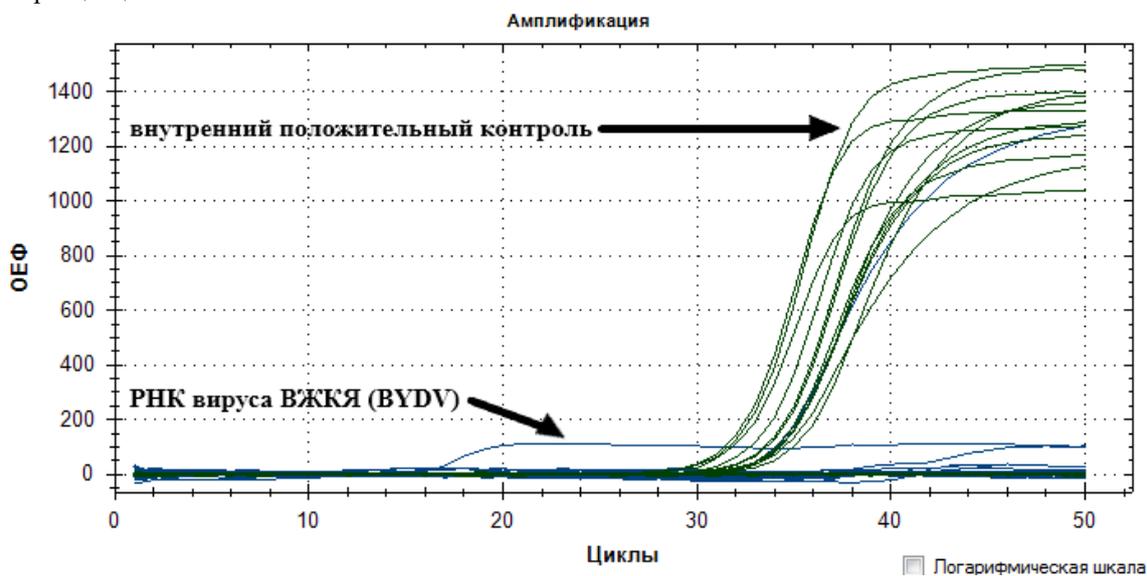


Рис. 1. Кинетические кривые флуоресценции проб РНК вируса Желтой карликовости ячменя (ВЖКЯ), выделенных из листьев сорта 'Викрас' с опытного поля Уральского НИИСХ (поле № 2). Цвета, соответствующие каналам детекции флуоресценции: *FAM* (РНК вируса Желтой карликовости ячменя (Barley yellow dwarf virus) – синий, *HEX* (внутренний положительный контроль) – зеленый; ОЕФ – относительные единицы флуоресценции, циклы – циклы амплификации

[Kinetic fluorescence curves of RNA samples of barley yellow dwarf virus (BYDV) isolated from the leaves of the 'Vikras' variety from the experimental field of the Ural NIISH (field № 2)]

На рис. 2 виден рост флуоресценции по каналу *FAM* (линии синего цвета) у 5 образцов, что свидетельствует о наличии вирусной инфекции в этих пробах. Амплификация в данных пробах прошла успешно, о чем свидетельствует рост кривых флуоресценции по каналу *HEX*. В связи с этим 5 из 10 исследуемых проб у образцов сорта 'Чусовая', собранных на опытном поле № 1, инфицированы вирусом Желтой карликовости ячменя.

Наличие РНК вируса Полосатой мозаики пшеницы в пробах РНК, проанализированных в ПЦР-РВ, иллюстрируется ростом по каналу флуоресценции *FAM* (линии синего цвета), а успешно прошедшая амплификация демонстрируется ростом по каналу флуоресценции *HEX* (линии зеленого цвета). Данный вирус был обнаружен лишь в исследованных пробах озимой ржи сорта 'Паром', собранных на опытных полях № 1 и № 2 (см. таблицу). На рис. 3 можно заметить рост сигнала флуоресценции по каналу *FAM* у 4 проб озимой ржи сорта 'Паром', собранных на опытном поле № 1, что свидетельствует о наличии в

этих пробах РНК вируса Полосатой мозаики пшеницы.

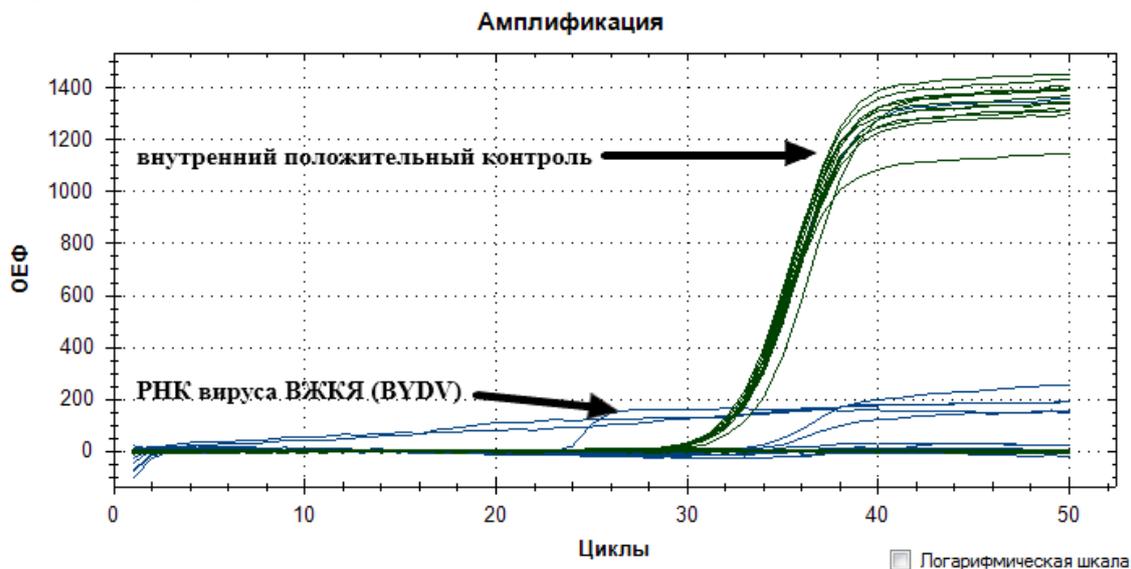


Рис. 2. Кинетические кривые флуоресценции проб РНК вируса Желтой карликовости ячменя (ВЖКЯ), выделенных из листьев сорта 'Чусовая' с опытного поля Пермского НИИСХ (поле № 1). Цвета, соответствующие каналам детекции флуоресценции: *FAM* (РНК вируса Желтой карликовости ячменя (Barley yellow dwarf virus)) – синий, *HEX* (внутренний положительный контроль) – зеленый; ОЕФ – относительные единицы флуоресценции, циклы – циклы амплификации

[Kinetic fluorescence curves of RNA samples of barley yellow dwarf virus (BYDV) isolated from the leaves of the 'Chusovaya' variety from the experimental field of the Perm NIISH (field № 1)]

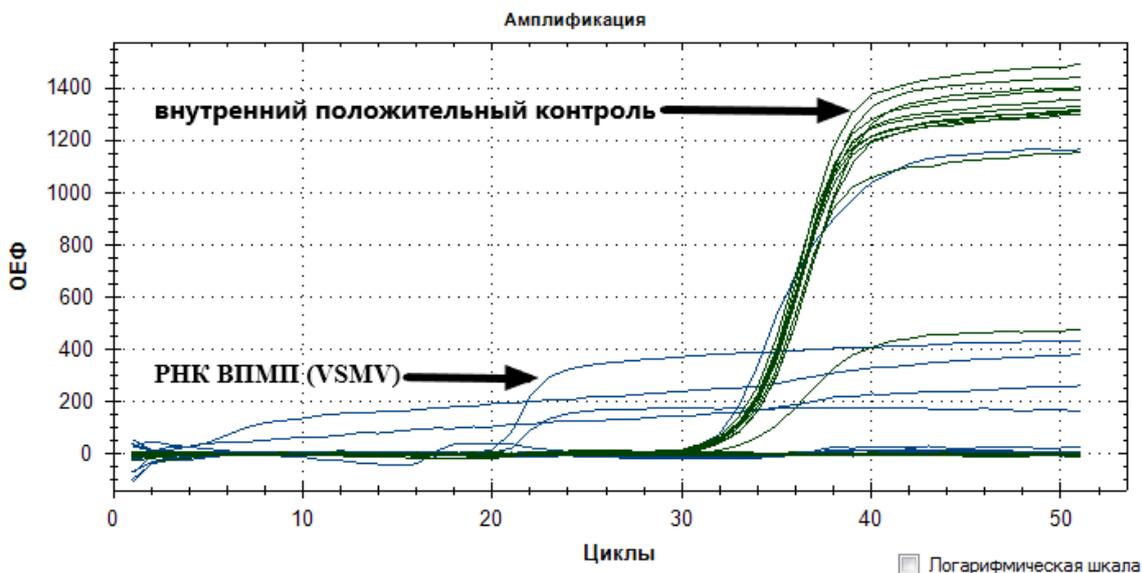


Рис. 3. Кинетические кривые флуоресценции проб РНК вируса Полосатой мозаики пшеницы (ВПМП), выделенных из листьев сорта 'Паром' с опытного поля Пермского НИИСХ (поле № 1). Цвета, соответствующие каналам детекции флуоресценции: *FAM* (РНК вируса Полосатой мозаики пшеницы (Wheat streak mosaic virus)) – синий, *HEX* (внутренний положительный контроль) – зеленый; ОЕФ – относительные единицы флуоресценции, циклы – циклы амплификации

[Kinetic fluorescence curves of RNA samples of wheat streak mosaic virus (VSMV) isolated from the leaves of the 'Parom' variety from the experimental field of the Perm NIISH (field № 1)]

В ходе лабораторных исследований образцов РНК с поля №1 было обнаружено наличие РНК вируса Желтой карликовости ячменя в 18 пробах (45% от всех исследованных проб с этого поля). Наибольшее число зараженных проб на поле № 1 выявили в сорте 'Паром' (60%), а наименьшее – у сорта 'Викрас' (20%), сорта 'Ника 3' и 'Чусовая' были наполовину поражены данной инфекцией (таблица).

На опытном поле № 2 вирусом Желтой карликовости ячменя не было обнаружено заражения только в пробах сорта ‘Чусовая’, при этом все остальные сорта оказались заражены данным вирусом в 20% исследованных проб. Исследуемые образцы с опытного поля № 1 в 3 раза больше заражены вирусом Желтой карликовости ячменя, чем образцы, полученные с опытного поля № 2. Самым восприимчивым к данному вирусу оказался сорт ‘Паром’, поскольку каждая пятая проба в общей выборке данного сорта оказалась заражена данным вирусом. Наличие РНК вируса Желтой карликовости ячменя обнаружилось в 60% исследованных проб озимой ржи с двух опытных полей, т.е. больше половины проб оказались заражены этим вирусом.

Зараженность вирусом Желтой карликовости ячменя и вирусом Полосатой мозаики пшеницы проб 4 сортов озимой ржи, выращиваемых на опытных полях Пермского НИИСХ и Уральского НИИСХ (n = 80)

[Infection with the Barley yellow dwarf virus and the Wheat streak mosaic virus samples of 4 varieties of winter rye grown in the experimental fields of the Perm NIISH and the Ural NIISH (n = 80)]

Место сбора образцов	Сорта озимой ржи				Наличие вирусной инфекции, в % (от исследованных проб)
	‘Ника 3’	‘Паром’	‘Викрас’	‘Чусовая’	
Вирус Желтой карликовости ячменя листьев (BYDV – Barley yellow dwarf virus)					
Опытное поле № 1 (n=40)	50	60	20	50	45
Опытное поле № 2 (n=40)	20	20	20	-	15
На общую выборку	35	40	20	25	60
Вирус Полосатой мозаики пшеницы (VSMV – Wheat streak mosaic virus)					
Опытное поле № 1 (n=40)	-	20	-	-	5
Опытное поле № 2 (n=40)	-	40	-	-	10
На общую выборку	-	30	-	-	15

Примечание. Опытное поле № 1 – Пермский НИИСХ, опытное поле № 2 – Уральский НИИСХ.

В результате анализа на зараженность исследуемых проб сортов озимой ржи вирусом Полосатой мозаики пшеницы установлено, что на двух опытных полях данная инфекция присутствует только в образцах сорта ‘Паром’ (таблица). При этом наибольшее заражение приходится на образцы с поля № 2, поскольку инфекция в пробах сорта ‘Паром’ с данного места сбора встречается в 2 раза чаще, чем в образцах этого сорта с опытного поля № 1. Наличие РНК вируса Полосатой мозаики пшеницы было обнаружено в 15% от исследованных проб озимой ржи с опытных полей. Одновременное присутствие двух вирусов обнаруживается только в пробах озимой ржи сорта ‘Паром’ независимо от места сбора образцов.

Исследование злаковых культур на зараженность вирусами обычно проводят двумя методами: иммуноферментного анализа (ИФА) и ПЦР. К недостаткам метода ИФА можно отнести трудоемкость и длительность анализа (занимает около двух суток) и невозможность использования этого метода с сухими семенами. Преимуществом метода ПЦР является возможность идентифицировать наличие вирусной инфекции на ранних стадиях развития вироза, а также его длительность анализа и возможность работать с сухими семенами [Кириллов, 2023]. Метод ПЦР, а именно его модификация ПЦР с обратной транскрипцией, в настоящее время является основным методом обнаружения вирусов в растительном материале [Звягинцева, 2021].

В 2013 г. вирусы Желтой карликовости ячменя и Полосатой мозаики были обнаружены на Южном Урале у озимой пшеницы при помощи визуальной и молекулярно-генетической диагностики [Глинушкин, Райов, Белашапкина, 2013]. Также в 2013 г. в условиях Оренбургского Предуралья методом ПЦР был обнаружен вирус Полосатой мозаики пшеницы у сортообразцов озимой пшеницы.

По данным проведенного исследования, наиболее устойчивым к вирусу Желтой карликовости ячменя листьев является сорт озимой ржи ‘Чусовая’, т.к. инфицирован только на поле № 1. Кроме этого, по литературным данным этот сорт устойчив и к бурой и стеблевой ржавчине [Потапова, Галимов, Зобнина, 2020; Государственная ..., 2024]. Установлено, что сорта ‘Ника 3’, ‘Викрас’ и ‘Чусовая’ не инфицированы вирусом полосатой мозаики пшеницы ни на одном из двух опытных полей, поэтому они наиболее устойчивы к этому вирусу.

В литературе имеются данные о том, что зараженный вирусами посадочный материал теряет свою продуктивность [Глинушкин и др., 2013]. В связи с этим необходимо проводить мониторинг зараженности озимой ржи вирусами и различные профилактические меры. К мерам профилактики заражения вирусами Желтой карликовости ячменя и Полосатой мозаики пшеницы можно отнести своевременную обработку инсектицидами, чтобы сократить численность переносчиков данных вирусов (тлей и цикадок).

Заключение

Проведена молекулярно-генетическая диагностика зараженности вирусами Желтой карликовости ячменя и Полосатой мозаики пшеницы 4 сортов озимой ржи отечественной селекции, произрастающих в условиях Среднего Урала на опытных полях № 1 Пермского НИИСХ и № 2 Уральского НИИСХ. С использованием метода ОТ-ПЦР-РВ были обнаружены зараженные данными вирусами образцы озимой ржи. Наибольшее число исследованных проб инфицированы вирусом Желтой карликовости ячменя (60% исследованных образцов). При этом число зараженных проб больше на опытном поле № 1 (40%), чем на поле № 2 (30%). Наиболее восприимчивым к вирусу Желтой карликовости ячменя из исследованных сортов оказался сорт озимой ржи 'Паром'. Сорт 'Паром' оказался также восприимчив к вирусу Полосатой мозаики пшеницы, поскольку оказался единственным сортом, зараженным данным вирусом из исследованных сортов. При этом зараженность проб озимой ржи вирусом Полосатой мозаики пшеницы на поле № 2 выше, чем на поле № 1. Это может быть связано с завозом сорта 'Паром' на территорию опытного поля № 1 с опытного поля № 2. По данным проведенного исследования, наиболее устойчивым к вирусу Желтой карликовости ячменя листьев является сорт озимой ржи 'Чусовая', так как инфицирован только на поле № 1. Сорта 'Ника 3', 'Викрас' и 'Чусовая' наиболее устойчивы к вирусу Полосатой мозаики пшеницы, т.к. они не инфицированы этим вирусом ни на одном из двух опытных полей. Необходимо дальнейший мониторинг зараженности данными вирусами злаковых культур на территории Среднего Урала. На исследованных территориях рекомендуется производить обработку инсектицидами во избежание дальнейшего распространения вирусов. Кроме этого, необходимо производить мониторинг переносчиков вирусов. В дальнейшем рекомендуется возделывание устойчивых к вирусам сортов зерновых культур, включая озимую рожь.

Список источников

1. Артемьева Т.А., Карпухин М.Ю. Сравнение методов ИФА и ПЦР анализа при определении вирусной патологии у растений картофеля // Молодежь и наука. 2019. № 7–8. С. 35.
2. Богоутдинов Д.З., Кастальева Т.Б., Гирсова Н.В. Вирусные заболевания зерновых культур в Самарской области // Вестник ОГУ. 2017. № 4. С. 46–52.
3. Бояркин Е.В., Новак С.О. Современное состояние производства озимой ржи // Актуальные вопросы агропромышленного комплекса России и за рубежом: материалы всерос. науч.-практ. конф. Иркутск, 2021. С. 29–37.
4. Глазко В.И., Глазко Т.Т. ДНК технологии в генетике и селекции. Краснодар, 2006. 399 с.
5. Глинушкин А.П., Райов А.А., Белошапкина О.О. Практические аспекты вирусологического обследования озимой пшеницы на Южном Урале // Аграрный вестник Урала. 2013. № 7 (113). С. 4–8.
6. Глинушкин А.П. и др. Диагностика вирусных симптомов у сортообразцов озимой пшеницы из коллекции ВНИИР // Достижения науки и техники АПК. 2013. № 2. С. 24–26.
7. Государственная комиссия Российской Федерации по испытанию и охране селекционных достижений // Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. Сорта растений. URL: <https://reestr.gossortrf.ru> (дата обращения: 28.01.2024).
8. Дорофеева Л.Л., Шкаликов В.А. Болезни зерновых культур. М.: Печатный город, 2007. 96 с.
9. Звягинцева Д.Д. Методы лабораторной диагностики почвообитающих вирусов зерновых культур // Материалы Всерос. с междунар. участием науч. конф. молодых учёных и специалистов. М., 2021. С. 384–387.
10. Какарека Н.Н., Волков Ю.Г., Гапека А.В. Желтая карликовость ячменя и ее переносчики в Приморском крае // Защита и карантин растений. 2015 №. 8. С. 49–50.
11. Кириллов В.В. Применение метода полимеразной цепной реакции для исследования растительных патогенов // Фундаментальные и прикладные исследования в науке и образовании: сб. статей. Уфа, 2023. С. 5–8.
12. Маркелова Т.С., Кириллова Т.В. Вирусные болезни пшеницы // Защита и карантин растений. 2010. № 4. С. 21–23.
13. Можаяева К.А. Итоги изучения желтой карликовости ячменя // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2011. № 1. С. 24–33.
14. Можаяева К.А. Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам // Желтая карликовость ячменя: материалы III Всерос. и Междунар. конф. СПб., 2012. С. 32–34.
15. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / под ред. Вл.В. Кузнецова, В.В. Кузнецова, Г.А. Романова. М.: Бином. Лаб. знаний, 2012. 487 с.
16. Оптимизация методики выделения ДНК некоторых хвойных видов растений Пермского края / Ю.С. Нечаева и др. // Синтез знаний в естественных науках. Родник будущего: проекты, технологии, оборудование: материалы Междунар. конф. Пермь, 2011. С. 278–282.
17. Парфенова Е.С. Источники селекционно-ценных признаков для создания сортов озимой ржи с высоким потенциалом урожайности в условиях Кировской области // Актуальные вопросы развития отраслей сельского хозяйства: теория и практика: материалы V Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых АПК. п. Рассвет, 2023. С. 147–151.

18. Пономарева М.Л. и др. Результаты селекции озимой ржи на устойчивость к болезням и продуктивность в НИИСХ Северо-Востока // Вестник КрасГАУ. 2015. № 6. С. 1–9.
19. Потапова Г.Н., Галимов К.А., Зобнина Н.Л. Продуктивность и адаптивность сортов озимой ржи на Среднем Урале // Достижения науки и техники АПК. 2020. Т. 34, № 10. С. 28–33.
20. Уткина Е.И., Кедрова Л.И. Зимостойкость озимой ржи: проблемы и решения // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2018. № 1(62). С. 11–18.
21. ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр УрО РАН». URL: <https://urfanic.ru> (дата обращения: 28.01.2024).
22. Шакирова А.Р. Подбор эффективных ISSR-праймеров для редких видов растений *Pulsatilla flavescens* (Zucc.) Juz. и *Pulsatilla patens* (L.) Mill. // Симбиоз-Россия 2019: материалы XI Всерос. конгресса молодых ученых-биологов с междунар. участием. Пермь, 2019. С. 162–164.
23. Щеклеина Л.М. Мониторинг болезней озимой ржи в Кировской области и возможные направления селекции на иммунитет // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2020. Т. 21, № 2. С. 124–132.
24. Эффективность экономики России: Федеральная служба государственной статистики. URL: <http://rosstat.gov.ru> (дата обращения: 25.01.2024).
25. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. 1985. Vol. 1, № 19. P. 69–76.

References

1. Artemyeva T.A., Karpukhin M.Yu. [Comparison of ELISA and PCR analysis methods in determining viral pathology in potato plants]. *Molodež' i nauka*. No. 7-8 (2019): pp. 35-35. (In Russ.).
2. Bogoutdinov D.Z., Kastaleva T.B., Girsova N.V. [Viral diseases of grain crops in the Samara region]. *Vestnik OGU*. No. 4 (2017): pp. 46-52. (In Russ.).
3. Boyarkin E.V., Novak S.O. [The current state of winter rye production]. *Aktual'nye voprosy agropromyšlennogo kompleksa Rossii i za rubežom* [Current issues of the agro-industrial complex in Russia and abroad]. Irkutsk, 2021, pp. 29-37. (In Russ.).
4. Glazko V.I., Glazko T.T. *DNK tehnologii v genetike i selekcii* [DNA technologies in genetics and breeding]. Krasnodar, 2006. 399 p. (In Russ.).
5. Glinushkin A.P., Rayov A.A., Beloshapkina O.O. [Practical aspects of virological examination of winter wheat in the Southern Urals]. *Agrarnyj vestnik Urala*. No. 7(113) (2013): pp. 4-8. (In Russ.).
6. Glinushkin A.P., Beloshapkina O.O., Vinogradova S.V., Nikolaev N.A. [Diagnosis of viral symptoms in winter wheat varieties from the VNIIR collection]. *Dostiženija nauki i tehniki APK*. No. 2 (2013): pp. 24-26. (In Russ.).
7. [The State Commission of the Russian Federation for testing and Protection of breeding achievements]. *Gosudarstvennyj reestr selekcionnykh dostiženij, dopuščennykh k ispol'zovaniju* [State Register of breeding achievements put into use Volume 1. Plant varieties]. Available at: <https://reestr.gosortrf.ru> (accessed 01.28.2024). (In Russ.).
8. Dorofeeva L.L., Shkalikov V.A. *Bolezni zernovykh kul'tur* [Diseases of grain crops]. Moscow, Pečatnyj gorod Publ., 2007. 96 p. (In Russ.).
9. Zvyagintseva D.D. [Methods of laboratory diagnostics of soil-dwelling viruses of grain crops]. *Materialy Vserossijskoj s meždunarodnym učastiem naučnoj konferencii* [Materials of the All-Russian scientific conference of young scientists and specialists with international participation]. Moscow, 2021, pp. 384-387. (In Russ.).
10. Kakareka N.N., Volkov Yu.G., Gapeka A.V. [Yellow dwarfism of barley and its vectors in the Primorsky Territory]. *Zaščita i karantin rastenij*. No. 8 (2015): pp. 49-50. (In Russ.).
11. Kirillov V.V. [Application of the polymerase chain reaction method for the study of plant pathogens]. *Fundamental'nye i prikladnye issledovanija v nauke i obrazovanii* [Fundamental and applied research in science and education: collection of articles]. Ufa, 2023, pp. 5-8. (In Russ.).
12. Markelova T.S., Kirillova T.V. [Viral diseases of wheat]. *Zaščita i karantin rastenij*. No. 4 (2010): pp. 21-23. (In Russ.).
13. Mozhaeva K.A. [Results of the study of yellow dwarfism of barley]. *Izvestija Timirjazevskoj sel'skochozjajstvennoj akademii*. No. 1 (2011): pp. 24-33. (In Russ.).
14. Mozhaeva K.A. [Modern problems of plant immunity to harmful organisms]. *želtaja karlikovost' jačmenja* [Yellow dwarfism of barley: materials of the III All-Russian and International Conference]. St-Peterburg, 2012, pp. 32-34. (In Russ.).
15. Kuznetsov V.I., Kuznetsov V.V., Romanov G.A., eds. *Molekuljarno-genetičeskie i biohimičeskie metody v sovremennoj biologii rastenij* [Molecular genetic and biochemical methods in modern plant biology]. Moscow, Binom. Laboratorija znaniy Publ., 2012. 487 p. (In Russ.).
16. Nechaeva Yu.S. et al. [Optimization of the technique of DNA isolation of some coniferous plant species of the Perm Region]. *Sintez znaniy v estestvennykh naukach* [Synthesis of knowledge in natural sciences. The spring of the future: projects, technologies, equipment: materials of the International Conference]. Perm, 2011, pp. 278-282. (In Russ.).
17. Parfenova E.S. [Sources of breeding valuable traits for the creation of winter rye varieties with high yield potential in the conditions of the Kirov region]. *Aktual'nye voprosy razvitija otraslej sel'skogo chozjajstva* [Current issues of the development of agricultural sectors: theory and practice. Materials of the V All-Russian Scien-

tific and Practical Conference of Young scientists]. Rassvet village, 2023, pp. 147-151. (In Russ.).

18. Ponomareva M.L., Ponomarev S.N., Mannapova G.S. et al. [The results of breeding of winter rye for disease resistance and productivity in the Research Institute of Agriculture of the North-East]. *Vestnik KrasGAU*. No. 6 (2015); pp. 1-9. (In Russ.).

19. Potapova G.N., Galimov K.A., Zobnina N.L. [Productivity and adaptability of winter rye varieties in the Middle Urals]. *Dostizhenija nauki i tehniki APK*. V. 34, No. 10 (2020): pp. 28-33. (In Russ.).

20. Utkina E.I., Kedrova L.I. [Winter hardiness of winter rye: problems and solutions]. *Agrarnaja nauka Evro-Severo-Vostoka*. No. 1(62) (2018): pp. 11-18. (In Russ.).

21. *Ural'skij federal'nyj agrarnyj naučno-issledovatel'skij centr UrO RAN* [Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the RAS]. Available at: <https://urfanic.ru> (accessed 01.28.2024). (In Russ.).

22. Shakirova A.R. [Selection of effective ISSR primers for rare plant species *Pulsatilla fl avescens* (Zucc.) Juz. and *Pulsatilla patens* (L.) Mill.] *Simbioz-Rossija 2019* [Symbiosis-Russia 2019: proceedings of the XI All-Russian Congress of Young Biologists]. Perm, 2019, pp. 162-164. (In Russ.).

23. Shchekleina L.M. [Monitoring of winter rye diseases in the Kirov region and possible directions of breeding for immunity]. *Agrarnaja nauka Evro-Severo-Vostoka*. V. 21, No. 2 (2020): pp. 124-132. (In Russ.).

24. *Èffektivnost' èkonomiki Rossii* [Efficiency of the Russian economy: Federal State Statistics Service]. Available at: <http://rosstat.gov.ru> (accessed 01.25.2024). (In Russ.).

25. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology*. V. 1, No. 19 (1985): pp. 69-76.

Статья поступила в редакцию 31.01.2024; одобрена после рецензирования 09.02.2024; принята к публикации 05.03.2024.

The article was submitted 31.01.2024; approved after reviewing 09.02.2024; accepted for publication 05.03.2024.

Информация об авторах

Виктория Андреевна Печенкина – p_viktoria2@mail.ru, аспирант, ассистент кафедры ботаники и генетики растений; Вероника Олеговна Наговицына – nagovicina2608@gmail.com, студент бакалавриата, кафедра ботаники и генетики растений;

Юлия Сергеевна Васильева – yulianechaeva@mail.ru, канд. биол. наук, доцент кафедры ботаники и генетики растений; Денис Станиславович Фомин – Akvilonag@mail.ru, канд. с/х. наук, зав. лабораторией прецизионных технологий в сельском хозяйстве;

Дмитрий Станиславович Фомин – Prm.fomin.d@gmail.com, младший научный сотрудник лаборатории прецизионных технологий в сельском хозяйстве;

Светлана Витальевна Боронникова – svboronnikova@yandex.ru, д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой ботаники и генетики растений.

Information about the authors

Viktoriia A. Pechenkina – p_viktoria2@mail.ru, Postgraduate student, assistant of the Department of Botany and Plant Genetics; Veronika O. Nagovicina – nagovicina2608@gmail.com, Bachelor's student, Department of Botany and Plant Genetics; Yulia S. Vasilieva – yulianechaeva@mail.ru, Candidate of biology; Associate Professor of the Department of Botany and Plant Genetics;

Denis S. Fomin – Akvilonag@mail.ru, Candidate of Agricultural Sciences, Head of the Laboratory of Precision Technologies in Agriculture;

Dmitrii S. Fomin – Prm.fomin.d@gmail.com, Junior researcher Laboratory of Precision Technologies in Agriculture;

Svetlana V. Boronnikova – svboronnikova@yandex.ru, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Botany and Plant Genetics.

Вклад авторов:

Печенкина В. А. – сбор материала, лабораторный анализ; написание исходного текста.

Наговицына В. О. – сбор материала, лабораторный анализ; написание исходного текста.

Васильева Ю. С. – лабораторный анализ.

Фомин Д. С. – сбор материала.

Фомин Дм. С. – сбор материала.

Боронникова С. В. – научное консультирование; обобщение результатов, итоговые выводы.

Contribution of the authors:

Pechenkina V. A. – collecting material, laboratory analysis; writing the source text.

Nagovicina V. O. – collecting material, laboratory analysis; writing the source text.

Vasilieva Y. S. – laboratory analysis.

Fomin D. S. – collecting material.

Fomin Dm. S. – collecting material.

Boronnikova S. V. – scientific consulting; generalization of results, final conclusions.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ГЕНЕТИКА

Научная статья

УДК 575.22:577.29

doi: 10.17072/1994-9952-2024-1-83-91.

Влияние генов *ADRB2* и *PPARGC1A* на развитие физического качества «выносливость» у единоборцев города Перми

Анна Владимировна Сорокина^{1, 2✉}, Анастасия Сергеевна Корякова³,
Дарья Романовна Левина⁴

^{1, 3, 4}Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

²Пермская государственная фармацевтическая академия, Пермь, Россия, vostanyuta@mail.ru

³Nasty-cosmo@ya.ru

⁴lvndrmvn@gmail.com

Аннотация. Знание генетической предрасположенности к определенным видам спортивной деятельности помогает улучшить развитие важных физических качеств, а также позволяет научно обоснованно провести отбор наиболее перспективных спортсменов и корректировку их тренировочного процесса. Цель данного исследования – выявление взаимосвязи полиморфных вариантов генов *ADRB2* (*Adrenoceptor Beta 2*) и *PPARGC1A* (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha*), ассоциированных с выносливостью, у занимающихся джиу-джитсу и вольной борьбой спортсменов и школьников, не занимающихся спортом. Выборка для исследований включала 100 человек, распределенных на Группу I, включающую единоборцев, и группу сравнения (Группа II), которую составили школьники, не занимающиеся спортом. У испытуемых в возрасте от 10 до 16 лет проведены исследования с использованием полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) и выявлены полиморфизмы G/A гена *PPARGC1A* (rs8192678) и A/G гена *ADRB2* (rs1042713). Проведен анализ взаимосвязи между аллельными вариантами генов у единоборцев и группы сравнения; установлены достоверные отличия между Группой I и Группой II для генотипа G/G ($F_{оп} 3.13 > 1.96$ при $p=0.05$) и генотипа G/A ($F_{оп} 2.76 > 1.96$ при $p=0.05$) гена *PPARGC1A*. Для спортсменов, занимающихся джиу-джитсу и вольной борьбой, впервые показано, что генотипы G/G и G/A гена *PPARGC1A* могут быть использованы в качестве маркерных для прогноза формирования физического качества «выносливость». Частота общего генетического балла (ОГБ), рассчитанного для физического качества «выносливость», на основании полиморфизма генов *ADRB2* и *PPARGC1A* у 100 испытуемых варьировала от 0 до 100. Данные генетического анализа необходимы в процессе подготовки единоборцев в спортивных школах, т.к. на их основе можно составлять индивидуальные программы тренировок с учетом генотипа и особенностей физической подготовки конкретного спортсмена.

Ключевые слова: полиморфизм генов *ADRB2*, *PPARGC1A*, общий генетический балл, джиу-джитсу, вольные борцы

Для цитирования: Сорокина А. В., Корякова А. С., Левина Д. Р. Влияние генов *ADRB2* и *PPARGC1A* на развитие физического качества «выносливость» у единоборцев города Перми // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 1. С. 83–91. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-83-91>.

Благодарности: авторы выражают благодарность тренеру Андрею Викторовичу Вычегжанину из Международной школы джиу-джитсу «Mata Leao» г. Перми, тренеру Алексею Алексеевичу Попову из спортивно-оздоровительного клуба «Планета» на базе МАУ ДО ЦДТ «Шанс» г. Перми и учащимся МАОУ СОШ № 37 и МАОУ СОШ № 32 г. Перми, принявших участие в исследовании.

GENETICS

Original article

The influence of *ADRB2* and *PPARGC1A* genes on the development of the “endurance” physical quality among martial artists of the city of Perm

Anna V. Sorokina^{1, 2✉}, Anastasia S. Koryakova³, Daria R. Levina⁴

^{1, 3, 4}Perm State University, Perm, Russia

²Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia, vostanyuta@mail.ru

³Nasty-cosmo@ya.ru

⁴lvndrmvn@gmail.com

Abstract. Knowledge of genetic predisposition to certain types of sport activities will help improve the development of important physical qualities, and will also allow of scientifically based selection of the most promising athletes and adjustment of their training process. The purpose of this study is to identify the relationship between polymorphic variants of the *ADRB2* (*Adrenoceptor Beta 2*) and *PPARGC1A* (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha*) genes associated with endurance in athletes involved in jiu-jitsu and freestyle wrestling and schoolchildren not involved in sports. The sample for the investigation included 100 people, divided into Group I, which included martial artists, and a comparison group (Group II), which consisted of schoolchildren who did not participate sports. Studies were conducted using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) in subjects aged 10 to 16 years, and polymorphisms G/A of the *PPARGC1A* gene (rs8192678) and A/G of the *ADRB2* gene (rs1042713) were identified. An analysis of the relationship between allelic variants of genes in martial artists and the comparison group was carried out. Significant differences were established between Group I and Group II for genotype G/G ($F_{op} 3.13 > 1.96$ at $p=0.05$) and genotype G/A ($F_{op} 2.76 > 1.96$ at $p=0.05$) of the *PPARGC1A* gene. For athletes involved in jiu-jitsu and freestyle wrestling, it has been shown that genotypes G/G and G/A of the *PPARGC1A* gene can be used as markers to predict the formation of the physical quality endurance. The frequency of the total genetic score (TGS) calculated for the physical quality endurance based on the polymorphism of the *ADRB2* and *PPARGC1A* genes in 100 subjects, varied from 0 to 100. Genetic analysis data is necessary in the process of training martial artists in sports schools: based on this data, it is possible to create individual training programs taking into account the genotype and physical fitness characteristics of a particular athlete.

Keywords: gene polymorphism *ADRB2*, *PPARGC1A*, total genetic score, jiu-jitsu, freestyle wrestlers

For citation: Sorokina A. V., Koryakova A. S., Levina D. R. [The influence of *ADRB2* and *PPARGC1A* genes on the development of the “endurance” physical quality among martial artists in the city of Perm]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 1 (2024): pp. 83-91. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-4-83-91>.

Acknowledgments: the authors express their gratitude to coach Andrey Viktorovich Vychegzhanin from the International Jiu-Jitsu School “Mata Leao” in the city of Perm, coach Alexey Alekseevich Popov from the sports and health club “Planet” in the city of Perm and students of MAEI “Secondary School No. 37” and MAEI “Secondary School No. 32” of the city Perm.

Введение

Для эффективной корректировки тренировочного процесса необходимо подробное изучение полиморфизмов генов. Генотипирование позволяет делать прогнозы успешности спортсменов и составлять индивидуальные программы тренировок с учетом генетических особенностей [Рогозкин, Назаров, Казаков, 2000; Глотов, 2006; Аксенов, 2019]. Исследования генетической обусловленности ациклических движений начались сравнительно недавно [Вострикова, Боронникова, Закиров, 2020]. Такой тип движений представляет собой работу переменной интенсивности [Гурович, Иванова, 1977]. Неотъемлемыми элементами вольной борьбы являются захваты, перевороты, подсечки и активное использование ног [Сихымбаев, Утебеков, Мусаев, 2022]. Основой такого спортивного единоборства, как джиу-джитсу, являются удары руками и ногами, броски, борьба в партере, а также болевые и удушающие приемы [Коваль, 2009]. Таким образом, ведущими физическими качествами для единоборцев являются скоростно-силовые качества и выносливость.

Установлено, что более 220 генетических маркеров ассоциированы со спортивной деятельностью [Ahmetov, Hall, Semenova, 2022]. Подробное изучение полиморфизмов генов позволит существенно повысить эффективность раннего выявления предрасположенности к различным видам спорта. Аллельные варианты некоторых генов ассоциированы с проявлением физического качества «выносливость», которое имеет важное значение как в вольной борьбе, так и в джиу-джитсу. К генам, ассоциированным с физическим качеством «выносливость», относятся аллельные варианты генов *PPARGC1A*, *ADRB2* и другие [Зайцева, Аксенов, 2021; Выборная, Сорокина, Пескова, 2021].

Ген *ADRB2* (*Adrenoceptor Beta 2*) кодирует адренорецептор β_2 , обеспечивающий повышение или понижение активности иннервируемой ткани или органа, который связывается с катехоламинами и обеспечивает релаксацию гладкой мускулатуры, обладает липолитическим действием, а также увеличивает частоту и силу сердечных сокращений [Kachkovska et al., 2021]. Полиморфный локус rs1042713 гена *ADRB2* (аллель A) ассоциируется с проявлением выносливости у спортсменов [Sarpeshkar, Bentley, 2010; Сорокина, Денисова, Кешабянц, 2021]. Носительство аллели Gly (аллель G) является неблагоприятным фактором для спортивных результатов и коррелирует со значительным увеличением индекса массы тела, по сравнению с аллелью Arg [Иманбекова и др., 2013].

Ген *PPARGC1A* (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha* или *PGC1A*) кодирует белок – коактиватор 1-альфа-рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом, гамма. Он участвует в дифференцировке клеток, в метаболизме мышечных тканей и в обмене жиров и углево-

дов. У гена *PPARGC1A* отмечен полиморфный локус Gly482Ser (rs8192678). Аллельные варианты полиморфизма Gly482Ser у единоборцев ассоциированы с проявлением выносливости и скоростно-силовых качеств, при этом аллель силы/скорости – Ser (A), а аллель Gly (G) ассоциирован с выносливостью [Ахметов, 2009].

Ранее нами было проведено исследование взаимосвязи полиморфизмов генов *ADRB2*, *NOS3* и *PPARGC1A*, ассоциированных с выносливостью, у единоборцев с разной спортивной квалификацией [Сорокина, Боронникова, 2023]. Сравнение спортсменов с людьми того же возраста, не занимающимися спортом, может дать более показательные результаты и значимые различия.

Цель работы – выявление взаимосвязи полиморфных вариантов генов *ADRB2* и *PPARGC1A*, ассоциированных с выносливостью, у занимающихся джиу-джитсу, вольной борьбой спортсменов и школьников, не занимающихся спортом.

Материал и методы исследования

Выборка для исследований включала 100 испытуемых, из них 22 спортсмена, занимающихся джиу-джитсу в Международной школе джиу-джитсу «Mata Leao» города Перми, 28 спортсменов, занимающихся вольной борьбой в спортивно-оздоровительном клубе «Планета» на базе МАУ ДО ЦДТ «Шанс» города Перми и 50 школьников из МАОУ СОШ № 37 и МАОУ СОШ № 32 г. Перми. Возраст испытуемых варьировал от 10 до 16 лет. Были сформированы две группы: Группа I включала 50 единоборцев со 2 юношеским разрядом; среди которых 45 единоборцев мужского пола и 5 женского пола. Группа II являлась группой сравнения и включала 10 учеников МАОУ СОШ № 32 и 40 учеников МАОУ СОШ № 37, из которых 40 человек мужского пола и 10 женского пола, которые не занимаются спортом. Единоборства являются преимущественно мужскими видами спорта, а потому в выборках преобладают лица мужского пола.

Забор биологического материала (буккального эпителия) для генетического анализа проводили с помощью соскоба эпителиальных клеток ротовой полости. От каждого испытуемого было получено добровольное согласие на забор биологического материала.

ДНК выделяли методом тотального осаждения и лизиса SDS (Sodium Dodecyl Sulfate, додецил сульфат натрия) с помощью коммерческого набора реагентов «EX-511 ДНК-Экстрап-2» (Синтол, Россия) в соответствии с инструкцией. Концентрацию проб ДНК определяли с помощью спектрофотометра SpectrofotometrTM NanoDrop 2000 «Thermo scientific» (USA). В ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) при использовании подхода распознавания аллелей (Allelic Discrimination) выявлялись аллели генов *PPARGC1A* и *ADRB2*, а также аллельные варианты генов или генотипы, ассоциированные с выносливостью. Реактивы для выявления полиморфных локусов Gly482Ser гена *PPARGC1A* (rs8192678) и Arg16Gly гена *ADRB2* (rs1042713) синтезированы в ООО «Синтол» (г. Москва, Россия). Реактивы для амплификации ДНК смешивали в нужном объеме непосредственно перед проведением исследований. К реакционной смеси добавляли 5 мкл пробы ДНК индивидуально каждого единоборца. В качестве контроля использовали: а) отрицательный контроль (ОКО); б) положительный контрольный образец (ПКО) для гена *PPARGC1A* – ПКО 1 G/G, ПКО 2 G/A, ПКО 3 A/A; для гена *ADRB2* – ПКО 1 A/A, ПКО 2 A/G, ПКО 3 G/G. Определение аллелей и генотипов проводилось при помощи программы Bio-Rad (USA) на амплификаторе CFX96 (CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System, USA). ПЦР-РВ для амплификации полиморфных локусов проводили по программе, описанной в инструкции к наборам реагентов. По каналу флуоресценции FAM (синий, длина волны возбуждения/детекции 470/515 нм) качественно определялось наличие в пробе аллеля G гена *PPARGC1A* и аллеля A гена *ADRB2*. По каналу флуоресценции HEX (зеленый, длина волны возбуждения/детекции 530/560 нм) можно обнаружить аллель A гена *PPARGC1A* и аллель G гена *ADRB2*. Каждая проба была проанализирована индивидуально. Эксперимент повторялся дважды. ПЦР-РВ проведена при условиях, предусмотренных в инструкции производителя набора реагентов ООО «Синтол». Интерпретация результатов ПЦР-РВ была проведена в программе Bio-Rad CFX Manager по инструкции компании ООО «Синтол».

Анализ полученных данных проводился с использованием программы STATISTICA 6.0 с определением нормальности распределения. Оценка генетической предрасположенности по качеству «выносливость» на основании полученного генного профиля единоборцев проводилась с помощью метода расчета «общего генетического балла» или ОГБ [Williams, Folland, 2008]. Общий генетический балл генного профиля, связанного с физическим качеством «выносливость», рассчитывали по формуле: $ОГБ \text{ выносливость} = (100/4) * (ГБ \text{ ADRB2} + ГБ \text{ PPARGC1A})$. Использовали индивидуальные профили следующих полиморфизмов с присвоением их вариантов баллов (0, 1, 2): а) *ADRB2* Arg16Gly полиморфизм: A/A = 2, A/G = 1, G/G = 0; б) *PPARGC1A* Gly482Ser полиморфизм: G/G = 2, G/A = 1, A/A = 0.

Для хранения и обработки результатов исследований была создана матрица данных в виде электронных таблиц MS Excel 2010. Сравнение несвязанных выборок (ОГБ испытуемых между группой I – еди-

ноборцев – и Группой II – группой сравнения) осуществлялось при помощи критерия Фишера, F-критерий Фишера стандартный, равен 1.96 (при $p = 0.05$).

Результаты и их обсуждение

В ПЦР в реальном времени при использовании подхода распознавания аллелей (Allelic Discrimination) рост по каналу FAM указывает на присутствие аллеля G гена *PPARGC1A* и аллеля A гена *ADRB2* в пробе ДНК испытуемого (рис. 1). Рост по каналу HEX обозначает наличие аллеля A гена *PPARGC1A* и аллеля G гена *ADRB2* в пробе ДНК. Соответственно, присутствие обоих аллелей в пробе свидетельствует о наличии генотипа G/A гена *PPARGC1A* и генотипа A/G гена *ADRB2*. Результаты подлежат учету только в случае, когда положительный контрольный образец имеет положительные результаты по каналам FAM и HEX, а отрицательный контрольный образец имеет отрицательные результаты по каналам FAM и HEX. Положительный контрольный образец необходим для определения специфичности набора реагентов к аллелям A и G гена *ADRB2* и аллелям G и A гена *PPARGC1A*. Отрицательный контрольный образец необходим для подтверждения отсутствия в реакционной смеси контаминации и ингибирования.

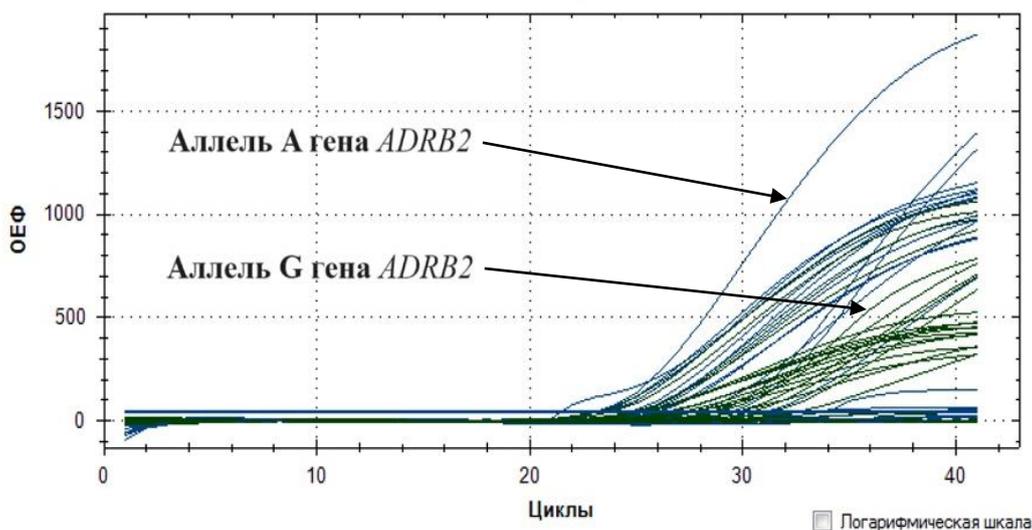


Рис. 1. Кинетические кривые флуоресценции, полученные для проб ДНК из буккального эпителия единоборцев при анализе гена *ADRB2*.

Цвета, соответствующие каналам детекции флуоресценции: FAM (аллель A гена *ADRB2*) – синий, HEX (аллель G гена *ADRB2*) – зеленый; ОЕФ – относительные единицы флуоресценции, циклы – циклы амплификации

[Fluorescence kinetic curves obtained for DNA samples from the buccal epithelium of martial artists when analyzing the *ADRB2* gene.

Colors corresponding to fluorescence detection channels: FAM (A allele of the *ADRB2* gene) – blue, HEX (G allele of the *ADRB2* gene) – green; RFU – relative fluorescence units, cycles – amplification cycles]

По результатам ПЦР в реальном времени было выявлено, что частота встречаемости аллелей A и G гена *ADRB2* составила 0.40 и 0.60 соответственно (табл. 1). По данным распределения частот полиморфных позиций Arg16Gly гена *ADRB2* выявлено, что генотип A/A, являющийся наиболее благоприятным для развития физического качества «выносливость», обнаружен у 15 из 100 испытуемых, что составляет частоту 0.15. Самый неблагоприятный генотип для развития физического качества «выносливость» G/G, ассоциируемый с увеличением индекса массы тела, был обнаружен у 34 человек, что соответствует частоте 0.34. Генотип A/G встречается у половины испытуемых с частотой 0.51 и также является предиктором повышенного риска гипертензии у лиц с ожирением [Баранов, 2009].

Анализ распределения генотипов в группе спортсменов (Группа I) и группе сравнения (Группа II) показал следующие результаты. При определении полиморфизма Arg16Gly гена *ADRB2* у испытуемых установлено, что частота аллелей в Группе I составила 0.37 (аллель A) и 0.63 (аллель G), а в Группе II – 0.44 и 0.56 соответственно. Анализ частот аллелей в обеих группах показал незначимые различия по частоте аллелей A и G ($F_{оп} 0.69 < 1.96$ при $p = 0.05$). Генотип A/A в исследуемой выборке у спортсменов в Группе I определен с частотой 0.14, а у испытуемых из Группы II – с частотой 0.16. Сравнение показало недостоверные различия между группами испытуемых по генотипу A/A ($F_{оп} 0.27 < 1.96$ при $p = 0.05$). Анализ частот гетерозиготного генотипа A/G с частотой 0.46 в Группе I и с частотой 0.56 в Группе II также не выявил значимых отличий между группами ($F_{оп} 0.96 < 1.96$ при $p = 0.05$). Самый неблагоприятный гено-

тип G/G, связанный с увеличением индекса массы тела, в Группе I был выявлен с частотой 0.40, а в Группе II – с частотой 0.28, данные не имеют достоверных отличий по критерию Фишера ($F_{оп} 1.22 < 1.96$ при $p=0.05$).

Таблица 1

Частоты аллелей и генотипов генов *ADRB2* и *PPARGC1A* у единоборцев школы «Mata Leao» г. Перми и спортивно-оздоровительного клуба «Планета» г. Перми и школьников MAOY «СОШ № 37» и MAOY «СОШ № 32» г. Перми (n = 100)

[Frequencies of alleles and genotypes of the *ADRB2* and *PPARGC1A* genes in martial artists of the «Mata Leao» school in Perm and the «Planet» club in Perm and schoolchildren of "Secondary School No. 37" and "Secondary School No. 32" (n=100)]

Аллели / Генотипы	Частоты аллелей / генотипов в группах (число испытуемых)		Частоты аллелей / генотипов на общую выборку в 100 человек	$F_{оп} > F_{ст}$
	Группа I	Группа II		
Ген <i>ADRB2</i>				
A (Arg)	0.37	0.44	0.40	0.69 < 1.96
G (Gly)	0.63	0.56	0.60	0.69 < 1.96
A/A	0.14 (7)	0.16 (8)	0.15 (15)	0.27 < 1.96
A/G	0.46 (23)	0.56 (28)	0.51 (51)	0.96 < 1.96
G/G	0.40 (20)	0.28 (14)	0.34 (34)	1.22 < 1.96
Ген <i>PPARGC1A</i>				
A (Ser)	0.18	0.36	0.72	1.97 > 1.96
G (Gly)	0.82	0.64	0.28	1.97 > 1.96
G/G	0.68 (34)	0.36 (18)	0.52 (52)	3.13 > 1.96
G/A	0.28 (14)	0.56 (28)	0.42 (42)	2.76 > 1.96
A/A	0.04 (2)	0.08 (4)	0.06 (6)	0.82 < 1.96

Примечание. Ген *ADRB2* (*Adrenoceptor Beta 2*) полиморфизм A/G; ген *PPARGC1A* (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1-Alpha*) полиморфизм G/A; Группа I – спортсмены-единоборцы; Группа II – группа сравнения – школьники; $F_{оп}$ – F-критерий Фишера, $F_{ст}$ – критерий Фишера стандартный равен 1.96 (при $p=0.05$); число испытуемых указано только у генотипов; полужирным шрифтом выделены значимые отличия.

Среди 100 испытуемых аллели G и A гена *PPARGC1A* встречались с частотами 0.72 и 0.28 соответственно. Генотип G/G выявлен у большинства человек (52), это соответствует частоте 0.52. При данном генотипе в организме спортсмена наблюдается увеличенное число митохондрий в клетках и усиление окисления жирных кислот. Генотип G/A был выявлен у 42 испытуемых с частотой 0.42, для данного генотипа характерно среднее число митохондрий в клетках и средняя степень окисления жирных кислот. При наличии генотипа A/A отмечается пониженное число митохондрий в клетках и низкая степень окисления жирных кислот. Такой генотип был определен у 6 человек с минимальной частотой 0.06. Кроме того, наличие аллеля A связано с риском развития гипертензии и повышения систолического и диастолического давления в возрасте до 50 лет [Brito et al., 2009].

При определении полиморфизма Gly482Ser гена *PPARGC1A* у испытуемых двух групп установлено, что у спортсменов в Группе I частота аллелей составила 0.82 (аллель G) и 0.18 (аллель A), а у группы сравнения – Группы II – 0.64 и 0.36 соответственно. Частота благоприятного для формирования выносливости генотипа G/G в Группе I составила 0.68, гетерозиготы G/A – 0.14, а менее благоприятного генотипа A/A – 0.04. В Группе II частота благоприятного генотипа уменьшилась до значения 0.36 в сравнении с Группой I. Значение частоты гетерозиготы G/A, наоборот, увеличилось и составляет 0.56. Частота неблагоприятного генотипа A/A увеличилась незначительно – 0.08. Анализ частот генотипов гена *PPARGC1A* у спортсменов из Группы I и у группы сравнения – Группы II – свидетельствует о достоверных различиях по генотипу G/G ($F_{оп} 3.13 > 1.96$ при $p=0.05$). Генотип G/A достоверно реже встречается у испытуемых в Группе I ($F_{оп} 2.76 > 1.96$ при $p=0.05$). Частота генотипа A/A показала незначительные различия между группами ($F_{оп} 0.82 < 1.96$ при $p=0.05$).

В результате исследования было установлено, что у 100 испытуемых частота встречаемости ОГБ, рассчитанного для физического качества «выносливость», на основании полиморфизма двух генов варьировала от 0 (низкий балл) до 100 (высокий балл) (табл. 2). Спортсмены с ОГБ, равным 100, обладают самой высокой предрасположенностью к развитию выносливости. У единоборцев с ОГБ, равным 0, отсутствует такая генетическая предрасположенность. Как отмечают тренеры из изученных спортивных школ, единоборцы с таким ОГБ не обладают необходимым для занятий джиу-джитсу, вольной борьбой, самбо, карате или дзюдо уровнем выносливости и добровольно завершают свою спортивную карьеру.

Самый высокий показатель ОГБ (100 баллов) среди обследованных участников исследований встречался с частотой 0.07 у 7 человек, четверо из которых были спортсмены (0.08), а трое – из группы сравнения (0.06). Высокий показатель ОГБ, равный 75, был отмечен у 33 испытуемых с частотой 0.33. Средний ОГБ (50 баллов) был выявлен с частотой 0.40 у 40 участников исследований, а ОГБ, равный 25, – у

17 человек с частотой 0.17. Частота самого низкого ОГБ по физическому качеству «выносливость» (0 баллов) имеет значение 0.03 и отмечается у 3 участников исследования.

Таблица 2

Общий генетический балл испытуемых на основании полиморфизма генов *ADRB2* и *PPARGC1A* (n=100)

[Overall genetic score of the subjects based on the polymorphism of the *ADRB2* and *PPARGC1A* genes (n=100)]

ОГБ выносливость	Группа I (50 человек)	Группа II (50 человек)	Всего (100 человек)	F _{оп}
0	0.02 (1)	0.04 (2)	0.03 (3)	0.57<1.96
25	0.10 (5)	0.24 (12)	0.17 (17)	1.82<1.96
50	0.44 (22)	0.36 (18)	0.40 (40)	0.78<1.96
75	0.36 (18)	0.30 (15)	0.33 (33)	0.61<1.96
100	0.08 (4)	0.06 (3)	0.07 (7)	0.38<1.96

Примечание. Сравнение несвязанных выборок (ОГБ испытуемых между Группой I – единоборцами и Группой II – группой сравнения) осуществлялось критерием Фишера, F-критерий Фишера стандартный равен 1.96 (при p=0.05).

Анализ полиморфных позиций генов *ADRB2* и *PPARGC1A*, контролирующих проявление физического качества «выносливость», у единоборцев на основании ОГБ выявил, что у 4 спортсменов Группы I наивысший ОГБ (100 баллов) отмечен с частотой 0.08. Высокий результат (75 баллов) выявлен у 18 спортсменов с частотой 0.36. Средний показатель предрасположенности к развитию выносливости на основании двух генов (50 баллов) определен у 22 спортсменов из Группы I с частотой 0.44. Низкий показатель ОГБ (25 баллов) среди единоборцев Группы I был выявлен у пяти спортсменов, частота составила 0.10.

В группе сравнения (Группе II) выявлено 12 участников исследования с низким показателем ОГБ (25 баллов) с частотой 0.24, а также определена большая доля участников со средним показателем ОГБ (50 баллов), которая составляет 0.36 у 18 школьников. Высокий ОГБ, равный 75, при данной выборке выявлен с частотой 0.30 у 15 школьников, что меньше по сравнению с Группой I. Наивысший показатель ОГБ (100 баллов), свидетельствующий о предрасположенности к развитию выносливости, у участников исследования из Группы II обнаружен у троих испытуемых с частотой 0.06.

Распределение показателя ОГБ, рассчитанное для качества «выносливость», на основании полиморфизма генов *ADRB2* и *PPARGC1A* представлено на рис. 2.

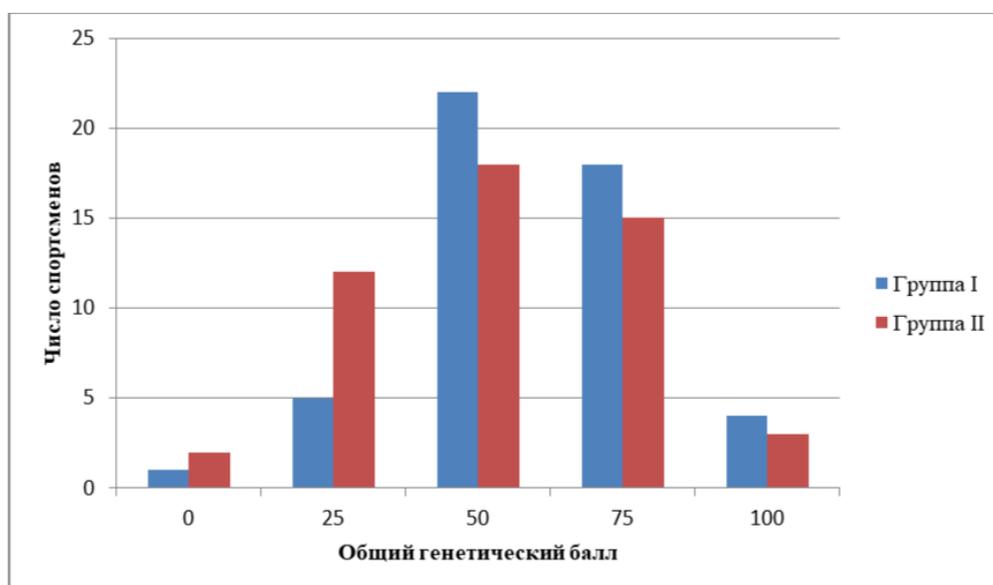


Рис. 2. Распределение общего генетического балла, установленного у испытуемых (n=100) для качества выносливость, на основании полиморфизма генов *ADRB2* и *PPARGC1A*

[Distribution of the total genetic score determined in the subjects (n=100) for the quality “endurance”, based on the polymorphism of the *ADRB2* and *PPARGC1A* genes]

С помощью критерия Фишера была проведена оценка различий среди двух выборок общим генетическим баллом между группами единоборцев и группой сравнения. Анализ частот общего генетического балла, определенного на основании полиморфизма двух генов, у спортсменов Группы I при сравнении с Группой II показал, что значимых отличий не выявлено.

Заключение

Полученные данные доказывают, что в процессе отбора отсеиваются спортсмены с неблагоприятными генотипами, т.к. у них не формируется выносливость в нужной для занятий единоборствами степени. Это происходит по многим причинам, одной из которых является их низкая работоспособность, обусловленная генетически, и долгое время восстановления после тренировки.

В данной выборке единоборцев испытуемые с высоким ОГБ встречаются чаще, чем в группе сравнения, но не значительно. Это можно объяснить тем, что для исследования выбраны только два гена, а также тем, что у всех спортсменов 2 юношеский разряд, что не является достаточно высоким, и, возможно, одни единоборцы еще не успели проявить себя, а другие в будущем могут оставить данный вид спорта.

Впервые установлено, что генотипы G/G и G/A гена *PPARGC1A* могут быть использованы в качестве маркерных для определения развития физического качества «выносливость» у спортсменов, занимающихся джиу-джитсу и вольной борьбой. Данные генетического анализа будут полезны в процессе подготовки единоборцев в спортивных школах, т.к. на их основе можно составлять индивидуальные программы подготовки с учетом генотипа и особенностей физической подготовки конкретного спортсмена. Это должно привести к росту спортивных достижений, сохранению здоровья и увеличению спортивного долголетия [Kambouris at al., 2012].

Для спортсменов с наивысшим ОГБ (100 баллов) и высоким ОГБ (75 баллов) по физическому качеству «выносливость», определенному на основании полиморфизма двух генов, возможны интенсивные нагрузки на тренировках. Спортсменам со средним ОГБ (50 баллов) по физическому качеству «выносливость», приемлема нагрузка умеренной интенсивности.

На основании всех полученных данных можно сделать вывод, что для спортсменов-единоборцев большое значение имеет развитие выносливости. Подход определения общего генетического балла позволяет выявить генетическую предрасположенность к формированию физических качеств спортсменов, а изучение предрасположенности спортсменов позволит в дальнейшем повысить надежность и эффективность системы индивидуального отбора и подготовки высококвалифицированных спортсменов. Необходимо учитывать наличие благоприятных генотипов необходимо учитывать наряду с другими факторами, влияющими на достижения единоборцев в спортивной карьере. Помимо генотипов, в достижении высоких спортивных результатов большую роль играют и другие факторы, например, морфометрические показатели, физиологическое и психологическое состояние спортсмена.

Список источников

1. Аксенов М.О. Генетические факторы формирования мышечной силы и массы у спортсменов // Вестник спортивной науки. 2019. № 4. С. 29–34.
2. Ахметов И.И. Молекулярная генетика спорта. М.: Советский спорт, 2009. 268 с.
3. Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. 528 с.
4. Вострикова А.В., Боронникова С.В., Закиров Р.М. Молекулярно-генетический анализ генов *ACTN3* и *AMPD1* у дзюдоистов спортивной школы по самбо и дзюдо «Витязь» г. Перми // Бюллетень науки и практики. 2020. № 4. С. 27–35.
5. Выборная К.В., Сорокина Е.Ю., Пескова Е.В. Генетические полиморфизмы, ассоциированные со спортивной успешностью, у спортсменов, представляющих художественную гимнастику // Тенденции развития науки и образования. 2021. № 79-1. С. 78–83.
6. Глотов А.С. Разработка и апробация тест-систем на основе гелевых биочипов для изучения генетического полиморфизма человека: автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2006. 18 с.
7. Гурович Л.И., Иванова Г.П. Спортивные и подвижные игры: учебник. М.: Физкультура и спорт, 1977. 382 с.
8. Зайцева А.О., Аксенов М.О. Роль гена *PPARGC1A* в развитии выносливости спортсменов // Материалы III Всерос. науч.-практ. конф. М., 2021. С. 785–790.
9. Иманбекова М.К. и др. Спорт и генетика // Eurasian Journal of Applied Biotechnology. 2013. № 2. С. 2–12.
10. Коваль К.Ю. Влияние принципов джиу-джитсу на эмоциональное состояние спортсменов // Педагогика, психология и мед.-биол. проблемы физ. воспитания и спорта. 2009. № 5. С. 121–124.
11. Рогозкин В.А., Назаров И.Б., Казаков В.И. Генетические маркеры физической работоспособности человека // Теория и практика физической культуры. 2000. № 12. С. 34–36.
12. Сихымбаев К.С., Утебеков Е.М., Мусаев А.О. Вольная борьба в Казахстане // Инновации. Наука. Образование. 2022. № 52. С. 896–899.

13. Сорокина А.В., Боронникова С.В. Молекулярно-генетический анализ генов *ADRB2*, *NOS3* и *PPARGC1A* у единоборцев города Перми // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 4. С. 385–393.

14. Сорокина Е.Ю., Денисова Н.Н., Кешабянц Э.Э. Частота встречаемости генетических полиморфизмов, ассоциированных со спортивной успешностью, у спортсменов игровых видов спорта высших достижений // Спортивная медицина: наука и практика. 2021. № 1. С. 5–10.

15. Ahmetov I.I. et al. Advances in sports genomics // *Advances in Clinical Chemistry*. 2022. Vol. 107. P. 215–263.

16. Brito E.C. et al. *PPARGC1A* sequence variation and cardiovascular risk-factor levels: a study of the main genetic effects and gene x environment interactions in children from the European Youth Heart Study // *Diabetologia*. 2009. Vol. 52. P. 609–613.

17. Kachkovska V.V. et al. Arg16Gly polymorphism in the β 2-adrenoceptor gene in patients with bronchial asthma // *Wiadomosci Lekarskie*. 2021. № 74. P. 1200–1203.

18. Kambouris M. et al. Predictive Genomics DNA Profiling for Athletic Performance // *Recent Patents on DNA & Gene Sequences*. 2012. Vol. 6, № 3. P. 229–239.

19. Sarpeshkar V., Bentley D.J. Adrenergic- β 2 receptor polymorphism and athletic performance // *Journal of Human Genetics*. 2010. Vol. 55. P. 479–485.

20. Williams A.G., Folland J.P. Similarity of polygenic profiles limits the potential for elite human physical performance // *The journal of physiology*. 2008. Vol. 586, № 1. P. 113–121.

References

1. Aksenov M.O. [Genetic factors in the formation of muscle strength and mass in athletes]. *Vestnik sportivnoj nauki*. No. 4 (2019): pp. 29-34. (In Russ.).

2. Ahmetov I.I. *Molekularnaja genetika sporta* [Molecular genetics of sports]. Moscow, Sovetskij sport Publ., 2009. 268 p. (In Russ.).

3. Baranov V.S. *Genetičeskij pasport – osnova individual'noj i prediktivnoj mediciny* [Genetic passport is the basis of individual and predictive medicine]. St-Peterburg, N-L Publ., 2009. 528 p. (In Russ.).

4. Vostrikova A.V., Boronnikova S.V., Zakirov R.M. [Molecular genetic analysis of the ACTN3 and AMPD1 genes in judokas of the sports school for sambo and judo “Vityaz” in Perm]. *Byulleten' nauki i praktiki*. No. 4 (2020): pp. 27-35. (In Russ.).

5. Vybornaya K.V., Sorokina Ye.Yu., Peskova Ye.V. [Genetic polymorphisms associated with sports success in athletes representing rhythmic gymnastics]. *Tendencii razvitija nauki i obrazovanija*, No. 79-1 (2021): pp. 78-83. (In Russ.).

6. Glotov A.S. *Razrabotka i aprobacija test-sistem na osnove gelevych biočipov dlja izučenija genetičeskogo polimorfizma čeloveka. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Progressus et probatio testium systematum gel biochips innixum ad investigandum polymorphismum geneticum humanum. Abstract Cand. Diss.]. St-Peterburg, 2006. 18 p. (In Russ.).

7. Gurovish L.N., Ivanova G.P. *Sportivnye i podvižnye igry* [Sports and outdoor games: textbook]. Moscow, Fiskul'tura i sport Publ., 1977. 382 p. (In Russ.).

8. Zaytseva A.O., Aksenov M.O. [The role of the *PPARGC1A* gene in the development of endurance in athletes]. *Materialy III Vserossijskoj naučno-praktičeskoj konferencii s meždunarodnym učastiem* [Materials of the III All-Russian Scientific and Practical Conference]. Moscow, 2021, pp. 785-790. (In Russ.).

9. Imanbekova M.K., Zholdibaeva E.V., Esentaev T.K., Mominaliev K.T. [Sports and genetics]. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. No. 2 (2013): pp. 2-12. (In Russ.).

10. Koval K.Yu. [Influentia principiorum jiu-jitsu in statu permotionis athletarum]. *Pedagogika, psihologija i med.-biol. problemy fiz. vospitanija i sporta*. No. 5 (2009): pp. 121-124. (In Russ.).

11. Rogozkin V.A. [Genetic markers of human physical performance]. *Teorija i praktika fizičeskoj kul'tury*. No. 12 (2000): pp. 34-36. (In Russ.).

12. Sikhymbayev K.S., Utebekov Ye.M., Musayev A.O. [Freestyle wrestling in Kazakhstan]. *Innovacii. Nauka. Obrazovanie*, No. 52 (2022): pp. 896-899. (In Russ.).

13. Sorokina A.V., Boronnikova S.V. [Molecular genetic analysis of *ADRB2*, *NOS3* and *PPARGC1A* genes in martial artists of the city of Perm]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 4 (2023): pp. 385-393. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-4-385-393>.

14. Sorokina Ye.Yu., Denisova N.N., Keshabyants E.E. [Frequency of occurrence of genetic polymorphisms associated with sports success in elite team sports athletes]. *Sportivnaja medicina: nauka i praktika*. No. 1 (2021): pp. 5-10. (In Russ.).

15. Ahmetov I.I., Hall E.C.R., Semenova E.A., Pranckeviciene E., Gineviciene V. Advances in sports genomics. *Advances in Clinical Chemistry*. V. 107 (2022): pp. 215-263.

16. Brito E.C., Vimalaswaran K.S., Brage S., Andersen L.B., Sardinha L.B., Wareham N.J., Ekelund U., Loos R.J., Franks P.W. *PPARGC1A* sequence variation and cardiovascular risk-factor levels: a study of the main

genetic effects and gene x environment interactions in children from the European Youth Heart Study. *Diabetologia*. V. 52 (2009): pp. 609-613.

17. Kachkovska V.V., Kovchun A.V., Moiseyenko I.O., Dudchenko I.O. Arg16Gly polymorphism in the β 2-adrenoceptor gene in patients with bronchial asthma. *Wiadomosci Lekarskie*. No. 74 (2021): pp. 1200-1203.

18. Kambouris M., Ntalouka F., Ziogas G., Maffulli N. Predictive Genomics DNA Profiling for Athletic Performance. *Recent Patents on DNA & Gene Sequences*. V. 6, No. 3 (2012): pp. 229-239.

19. Sarpeshkar V., Bentley D.J. Adrenergic- β 2 receptor polymorphism and athletic performance. *Journal of Human Genetics*. V. 55 (2010): pp. 479-485.

20. Williams A.G., Folland J.P. Similarity of polygenic profiles limits the potential for elite human physical performance. *The journal of physiology*. V. 586, No. 1 (2008): pp. 113-121.

Статья поступила в редакцию 21.01.2024; одобрена после рецензирования 29.01.2024; принята к публикации 05.03.2024.

The article was submitted 21.01.2024; approved after reviewing 29.01.2024; accepted for publication 05.03.2024.

Информация об авторах

А. В. Сорокина – аспирант кафедры ботаники и генетики растений;

А. С. Корякова – студент магистратуры, кафедра ботаники и генетики растений;

Д. Р. Левина – студент бакалавриата, кафедра ботаники и генетики растений.

Information about the authors

A. V. Sorokina – Postgraduate student of the Faculty of Biology, Department of Botany and Plant Genetics;

A. S. Koryakova – Master's student, Department of Botany and Plant Genetics;

D. R. Levina – Bachelor's student, Department of Botany and Plant Genetics.

Вклад авторов:

Сорокина А. В. – лабораторный анализ материала; обобщение результатов; итоговые выводы.

Корякова А. С. – лабораторный анализ материала; написание исходного текста.

Левина Д. Р. – лабораторный анализ материала; статистическая обработка материала.

Contribution of the authors:

Sorokina A. V. – laboratory analysis of the material; generalization of results; final conclusions.

Koryakova A. S. – laboratory analysis of the material; writing the source text.

Levina D. R. – laboratory analysis of the material; statistical processing of material.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

ПОЧВОВЕДЕНИЕ

Научная статья

УДК 631.4; 550.47:550.73

doi: 10.17072/1994-9952-2024-1-92-106

Об экосистемных функциях гумусогенного слоя технозёмов в отдалённый период землевания отвалов угледобычи в Сибири

Валентина Сергеевна Артамонова^{1✉}, Светлана Борисовна Бортникова²,
Владимир Алексеевич Андроханов³

^{1,3} Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, Новосибирск, Россия

✉ artamonovavs@yandex.ru

² Институт нефтегазовой геологии и геологии и геофизики им. А.А. Трофимука СО РАН, Новосибирск, Россия,
bortnikovasb@ipgg.sbras

³ androhanov@issa-siberia.ru

Аннотация. Создание продуктивных почв для повышения урожайности возделываемых культур известно с доисторических времен. В настоящее время восстановление почвенных свойств актуально для территорий, пострадавших от добычи полезных ископаемых. В Сибири многолетняя добыча угля привела к значительному разрушению почвенного покрова, накоплению на дневной поверхности отвалов вскрышных и вмещающих пород. Это обусловило поиск ресурсосберегающих технологий возмещения почвенных потерь, в том числе путём формирования искусственных почвоподобных тел с нанесённым плодородным слоем для последующего сельскохозяйственного использования. В данной статье изложены результаты исследования физико-химических и микробиологических свойств гумусо-аккумулятивного слоя после 40 лет землевания техногенных отходов в трёх природных зонах (подтаёжной, лесостепной, сухостепной) с целью характеристики экосистемных функций, обеспечивающих плодородие. Установлено, что гумусогенный слой многолетних технозёмов обладает экосистемными функциями фоновых почв, однако в лесостепной и сухостепной зоне обнаруживает признаки снижения устойчивости к повышенным значениям pH, повышения содержания экотоксикантов, уменьшения запаса органического углерода и пула метаболических активных азотфиксирующих бактерий. В аридных условиях диагностируется наибольшее биогенное обеднение технозёмов, проявление инсертационной мутации бактериальных популяций, обеспечивающее их диссоциирование и сохранение в экстремальных местообитаниях. Информация может быть использована при характеристике экосистемных функций и экосистемных сервисов многолетних технозёмов, в прогнозах результативности землевания техногенных отходов в разных природных зонах, учтена при разработке природоподобных технологий.

Ключевые слова: технозём, почва, природные зоны, экосистемные функции, азотобактер, тяжёлые металлы, мышьяк

Для цитирования: Артамонова В. С., Бортникова С. Б., Андроханов В. А. Об экосистемных функциях гумусогенного слоя технозёмов в отдалённый период землевания отвалов угледобычи в Сибири // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 1. С. 92–106. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-92-106>.

Благодарности: работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: ИПА СО РАН № 1210311700316-9 и ИНГТ СО РАН № 0266-2022-0028.

SOIL SCIENCE

Original article

On ecosystem functions of the technozem humusogenic layer in the remote period of soiling of coal mining waste dumps in Siberia

Valentina S. Artamonova^{1✉}, Svetlana B. Bortnikova², Vladimir A. Androhanov³

^{1,3} Institute of Soil Science and Agrochemistry SB RAS, Novosibirsk, Russia

✉ artamonovavs@yandex.ru

² Trofimuk Institute of Petroleum Geology and geophysics of the SB RAS, Novosibirsk, Russia, bortnikovasb@ipgg.sbras

³ androhanov@issa-siberia.ru

Abstract. People strove for creating productive soils to increase the yield of cultivated crops since prehistoric times. Currently, restoration of soil properties is relevant for areas affected by mining. In Siberia, long-term coal mining has led to significant destruction of the soil cover, accumulation of overburden and host rocks on the daytime surface. This initiated the search for resource-saving technologies to compensate for soil losses, including methods of formation of artificial soil-like bodies with a deposited fertile layer for subsequent agricultural use. This article presents the results of a study of physicochemical and microbiological properties of the humus-accumulative layer after 40 years of man-made wasteland soiling in three natural zones (sub-taiga, forest-steppe, dry-steppe) in order to characterize the ecosystem functions that ensure fertility. It was established that the humus layer of perennial technogenic soils (technozems) has ecosystem functions of background soils, however, in the forest-steppe and dry-steppe zones it shows signs of decreased resistance to elevated pH, increased ecotoxics, reduced organic carbon reserves and a pool of metabolic active nitrogen-fixing bacteria. In arid conditions, the greatest biogenic depletion of technozems is diagnosed, the manifestation of an inertial mutation of bacterial populations, ensuring their dissociation and preservation in extreme habitats. The information can be used to characterize ecosystem functions and ecosystem services of long-term technozems, in forecasts of the effectiveness of man-made wasteland management in different natural zones, and taken into account in the development of nature-like technologies.

Keywords: technozem, soil, natural zones, ecosystem functions, azotobacter, heavy metals, arsenics

For citation: Artamonova V. S., Bortnikova S. B., Androhanov V. A. [On ecosystem functions of the technozem humusogenic layer in the remote period of soiling of coal mining waste dumps in Siberia]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 1 (2024): pp. 92-106. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-92-106>.

Acknowledgments: the work was completed within the framework of the state task, the state registration number of the topic: IPA SB RAS No 1210311700316-9, TIPGG SBRAS No 0266-2022-0028.

Введение

С древних времён в земледелии разных стран мира были востребованы искусственно созданные почвоподобные образования агрогенного назначения с добавками аллохтонного (привнесённого) твёрдофазного материала, которые в Мировой системе почвенной классификации входят в группу Антросоли. В ней присутствуют почвы насыпного типа происхождения, например чинампы – на водно-болотных угодьях в Америке, плаггены – на флювиогляциальных или древнеаллювиальных отложениях, суглинках, бурых лесных почвах и подзолах в Северной Европе, хейлуту – на лессе Лессового Плато в бассейне р. Хуанхэ в Китае и другие. Возраст некоторых из них датируются 1–2 тысячелетиями до нашей эры, что подтверждается археологическими раскопками и космическими снимками, полученными с Landsat 7 и мультиспектральных изображений Quickbird VHR, интегрированных в систему ГИС [Hirst, 2021]. Такие объекты включены Организацией Объединённых Наций в состав Всемирного сельскохозяйственного наследия [Всемирным ..., 2018].

Примером почв насыпного типа в России являются шиферные почвы Крыма, образованные из плотного юрского глинистого сланца и суглинистых почв – продуктов выветривания этого сланца [Костычев, 1892], на поверхность которых наносились различные почвоулучшители, преимущественно с целью возделывания виноградников.

В XX в. список искусственно созданных почв пополнился почвоподобными конструкциями агрогенного назначения на территориях недропользования в связи острой необходимостью компенсации почв, утраченных при добыче полезных ископаемых. Технологии формирования искусственно созданных почвоподобных тел или образований (ИСПТ) рассматриваются как ресурсосберегающие, поскольку в почвообразование вовлекаются техногенные отходы, например вскрышные и вмещающие породы угледобычи, и отчуждённый ранее плодородный слой зрелых почв. Его привнос предполагает повышение биологической продуктивности нарушенных земель, ускорение восстановления экологических функций почв и продуктивности, а также видового разнообразия экологических систем¹. Период восстановления почвенно-растительного покрова после биологического этапа рекультивации нарушенных земель зависит от природно-климатических условий: скорости и направленности процессов почвообразования, биологической активности почв, гидротермических особенностей, длительности вегетационного периода, мощности и качества нанесенного плодородного слоя почвы, состава растительности прилегающей территории и естественных ландшафтов, последующего хозяйственного использования рекультивируемых земель.

В Сибири первые рекомендации по созданию ИСПТ, в том числе путём технозёмообразования, были представлены в 70-е годы прошлого века. ИСПТ с горизонтом $A_{\text{пах}}$, так называемые технозёмы гумусово-аккумулятивные, созданные на участках с землеванием спланированных отвалов вскрышных пород в

¹ ГОСТ Р 59057-2020. Охрана окружающей среды Земли. Общие требования по рекультивации нарушенных земель. Дата введения 2021-04-01. М.: Стандартинформ, 2020. 24 с.

районах добычи каменных углей, встречаются поныне на территории Кузбасса, КАТЭКа, Хакасии. Изначально они предназначались под посев многолетних трав, в том числе бобовых, затем – под сенокосы и пастбища, в настоящее время встречаются зачастую в виде залежей.

В Международной реферативной базе почвенных ресурсов технозёмы занимают классификационное положение Technosols. В 2019 г. реферативные группы Антросоли и Техносоли были объединены М.И. Герасимовой в единую общность на основании ряда схожих диагностических признаков и артефактов [Герасимова, 2019]. Технозёмы, состоящие из насыпного грунта с поверхностным плодородным слоем, формируемые при рекультивации целенаправленно, функционируют как почвы [Герасимова и др., 2003]. Исходя из этого, можно заключить, что технозёмам с интродуцированным плодородным слоем присущи схожие экологические функции почв: экосистемные (биогеоценоотические) и глобально-биосферные [Национальный..., 2011]. Первая группа функций в значительной степени обуславливается физико-химическими и микробиологическими свойствами. В последние годы биогеоценоотические функции почв оказались объектом научных интересов на бывших сельскохозяйственных территориях и леса, в отношении почвоподобных материалов и техногенных почв [Бондаренко, 2016; Васенев и др., 2018; Ананьева, Иващенко, Сушко, 2021; Ананьева и др., 2023; Довлетярова, 2023]. В некоторых случаях они представлены как экосистемные сервисы. Технозёмы с гумусово-аккумулятивным горизонтом с таких позиций ранее не рассматривались. Сведения об участии азотфиксирующих представителей педобиоты в сохранении и активности биогеоценоотических функций в многолетних технозёмах представляются своевременными.

Известно, что многолетняя распашка почв ведёт к снижению его запасов и азота [Назарюк, 2002], потере прочной фиксации свежесформированных соединений гумусовых соединений, препятствующей разрушительной деятельности микроорганизмов [Шарков и др., 2010], изменению состава термических фракций, уменьшению доли пиролизатов слабообразованных компонентов, в том числе азотсодержащих соединений [Фарходов, 2022]. Можно предположить, что конверсия гумусово-аккумулятивного горизонта фоновых почв на поверхность техногенных отходов и его вовлечение в распашку также будет сопровождаться истощением запасов исходного лабильного органического азотсодержащего вещества, особенно при доминировании растительных остатков с малым отношением C : N (белковые соединения энергично подвергаются процессам трансформации, вовлекаются в обменные процессы гетеротрофного звена азотного цикла). Результаты исследования 20-летних технозёмов после посевов бобовых культур, когда наблюдался рост количества азотсодержащих органических соединений, свидетельствуют о том, что стабилизации азотного режима к этому сроку не достигалось [Андроханов, Курачёв, 2010]. При этом азот микробных продуцентов, в том числе азотфиксирующей бактерии *Azotobacter chroococcum*, которая является активным природным поставщиком в корнеобитаемый слой растений доступных форм азота, ростстимулирующих и других экзометаболитов и относится к группе Plant-Growth-Promoting-Rhizobacteria – PGPR [Chennappa et al., 2022], не учитывался.

В последние годы представители рода *Azotobacter*, особенно широко распространённый вид *Az. chroococcum*, находятся в сфере интересов международного научного сообщества, особенно США и Индии. В 1990–2020-е гг. за рубежом наметилась восходящая тенденция публикаций, посвящённых бактерии, о чём свидетельствует библиометрическая информация базы данных Scopus (<https://www.scopus.com>) [Aasfar et al., 2021]. Результаты исследований, освещённые в кластерах «Agricultural and Biological Science» и «Environmental Science», занимают 2 и 4-е места соответственно. При этом акцентируется внимание на недостаток сведений о влиянии эдафических свойств почв на развитие популяций diaзотрофной бактерии, как и её метаболической активности в корневой зоне растений агроценозов [Rajakaruna, Boyd, 2019; Aasfar et al., 2021].

Пристальное внимание исследователей к данной бактерии обусловлено также тем, что штаммы *Az. chroococcum* считаются наиболее полезными в качестве фиксатора молекулярного азота атмосферы и экскретора (выделителя) аммиака, который идёт на клеточный синтез аминокислот и затем белка. Аэробное поглощение N₂ азотобактером происходит активнее, чем другими свободноживущими diaзотрофными бактериями и, следовательно, приток минерализуемых белков до аминокислот, а затем их дезаминирование с выделением NH₃ представляется значимым.

Абсолютная численность *Az. chlorococcum* является показателем биологической активности, характеризующим плодородие земель сельскохозяйственного пользования¹ и качества (плодородия) почв в пахотном горизонте², входит в состав показателей эколого-гигиенической оценки опасности отходов про-

¹ Методические указания по проведению комплексного мониторинга плодородия почв земель сельскохозяйственного назначения / под ред. Л.М. Державиной, Д.С. Булгаковой. М., 2003. 240 с.

² ГОСТ Р 70229-2022. Национальный стандарт Российской Федерации. Почвы. Показатели качества почв. Soils. Soil quality indicators. М.: Российский ин-т стандартизации, 2022. 32 с.

изводства¹. Кроме этого, обогащение корнеобитаемой зоны минеральным азотом бактериального происхождения считается экологически безопасным процессом, поскольку исключается загрязнение объектов окружающей среды, что происходит при использовании технического азота и бесподстилочного навоза [Завалин, Соколов, Шмырева, 2019].

Всё вышеизложенное послужило основанием для исследования физико-химических свойств и популяций гетеротрофной азотфиксирующей бактерии – *Az. chlorococcum* гумусогенного слоя 40-летних технозёмов подтаёжной, лесостепной и сухостепной зон Сибири с целью выявления в нём экосистемных функций.

Материалы и методы исследований

Исследованы ИСПТ (Technosols) с привнесённым гумусовым слоем и фоновые почвы, входящие в состав реферативных почвенных групп – Chernozems, Kastanozems [Герасимова, 2019], они расположены в разных природных зонах Сибири: подтаёжной (южная граница Кузнецкой котловины, Кузбасс), лесостепной (Назаровская котловина, КАТЭК Красноярский край), сухостепной (Минусинская котловина, Хакасия). Пробы для исследований отобраны в течение двух суток с постоянных участков наблюдений лаборатории рекультивации ИПА СО РАН (точки отбора: 807, 810, 811, 868, 897, 899). Площадь участков с технозёмами в подтаёжной зоне составляла 50 га, в лесостепной - 90 га, в сухостепной – 0.5 га. Фоновые почвы подтаёжной и лесостепной зон представлены чернозёмом оподзоленным и выщелоченным, в сухостепной зоне – тёмно-каштановой почвой (в соответствии с отечественной классификацией), почвоподобные образования – технозёмами гумусово-аккумулятивными (во всех трёх случаях). Отбор проб осуществлялся из гумусированного слоя технозёмов и фоновых почв. В каждом конкретном случае составляли средний – смешанный – образец, учитывая рекомендации, приведённые в соответствующих ГОСТах², поскольку нормативные требования к отбору образцов с участков технозёмов в настоящее время не существуют. Смешанный образец готовили из суммы точечных проб, взятых методом конверта в 5-кратной повторности (5 прикопок), которые смешивали и помещали в полиэтиленовые пакеты. Точечные пробы отбирали до глубины 20 см, поскольку при создании почвоподобных образований в Сибири почвенный слой, что наносился на породу, не превышал 20–35 см в связи с тем, что он лимитировался незначительной мощностью гумусовых горизонтов зональных почв, в отличие от почв европейской части страны. Для почвенно-микробиологических анализов отбирали пробы из смешанного образца в повторностях, указанных в статье. Определение содержания $C_{орг}$, актуальной кислотности, гранулометрического состава проводили традиционными в почвоведении методами с участием инженеров лаборатории географии и генезиса почв ИПА СО РАН. Предпочтение определению элементарных почвенных частиц по Н.А. Качинскому было отдано в связи с преимуществами метода (в сравнении с методом дифрактометрии), высказанными ранее при интерпретации данных [Болдырев и др., 2019].

Результаты определения химического состава почв, почвоподобных тел получены методом энергодисперсионного рентгенофлуоресцентного анализа с использованием синхротронного излучения (РФА-СИ) на станции синхротронного и терагерцового излучения в ИЯФ СО РАН. Ошибка определения для отдельных элементов находится в пределах 5–15%.

Азотобактер выявляли в лабораторных условиях методом обрастания (встречаемости, колонизации) почвенных комочков (порций, крупниц), традиционным в микробиологии. Данный метод наиболее приближен к естественным условиям обитания азотобактера [Aquilanti, Favilli, Clementi, 2004]. Появление обрастаний мелкозёма колониями бактерии учитывали через 12, 24, 36, 48, 72 часов, поскольку сроки обрастания почв, приводимые в литературе, разнятся. Пробы мелкозёма предварительно размещали в 3 чашки Петри (по 50 штук в каждую). Использовали голодную агаризованную питательную среду Эшби с маннитом в качестве источника углерода (спирт способствует затвердению среды и медленнее, чем глюкоза, утилизируется жизнедеятельными бактериями). Фенотипическое разнообразие колоний азотобактера учитывали по присутствию типичной формы и диссоциантов. Регистрировали штаммы, продуцирующие антибиотики и пигменты. Экспериментальные данные статистически обработаны с использованием компьютерной программы (Statistica 6.0).

¹ Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 16 июня 2003 г. N 144 "О введении в действие СП 2.1.7.1386-03" (с изменениями и дополнениями). Санитарные правила по определению класса опасности токсичных отходов производства и потребления. М.: Стандартинформ, 2003. 22 с.

² ГОСТ Р 57446-2017. Наилучшие доступные технологии. Рекультивация нарушенных земель и земельных участков. Восстановление биологического разнообразия. М.: Стандартинформ, 2019. 23 с.

ГОСТ Р 59057-2020. Охрана окружающей среды Земли. Общие требования по рекультивации нарушенных земель. Дата введения 2021-04-01. М.: Стандартинформ, 2020. 24 с.

ГОСТ Р 70229-2022. Национальный стандарт Российской Федерации. Почвы. Показатели качества почв. Soils. Soil quality indicators. М.: Российский ин-т стандартизации, 2022. 32 с.

Результаты и их обсуждение

Исследования показали, что в технозёмах подтайги и лесостепи содержание илистых частиц и физической глины по сравнению с фоновыми почвами увеличивается, в то время как в сухой степи, наоборот, уменьшается (табл. 1). Суммарное количество частиц пыли и ила, имеющих наибольшую развитую поверхность и, следовательно, адгезивную способность, в технозёме и фоновой почве, расположенных в зоне подтайги, оказалось близким, в то время как в технозёме лесостепи увеличилось в 1.4 раза по сравнению с фоном; в сухой степи, наоборот, снизилось в 1.1 раза. Не исключено, что это могло быть обусловлено различным минералогическим составом подстилающих пород. При этом актуальная кислотность технозёмов в зоне подтайги и сухой степи достоверно повысилась по сравнению с фоновыми почвами (табл. 2). Кислотность технозёма лесостепи изменилась по сравнению с фоном незначительно. Судя по ходу кривой кислотности технозёмов (рис. 1), проявляется тенденция к их защелачиванию.

Таблица 1

Гранулометрический состав гумусогенного слоя фоновых почв и технозёмов в разных природных зонах Западной Сибири
[Granulometric composition of the humus of the fire layer of background soils and technozems in different natural zones of Western Siberia]

Место отбора Place of sampling	Размер фракции (в мм и её содержание в (%)) Fraction size (in mm and its content in (%))						
	1-0.25	0.25-0.05	0.05-0.01	0.01-0.005	0.005-0.001	<0.001	<0.01
Подтайга/Subtaiga							
Фон, чернозём оподзоленный, т. 811/Background, chernozem podzolized, p. 811	0.07	20.19	39.72	10.52	18.88	10.62	40.02
Технозём, т. 810/ Technozem, p. 810	0.12	17.5	40.46	10.24	17.72	13.96	41.92
Лесостепь/Forest steppe							
Фон, чернозём выщелоченный, т. 807/Background, chernozem leached, p. 807	0.13	15.91	44.04	9.40	16.76	13.76	39.92
Технозём, т. 899/ Technozem, p. 899	0.09	4.31	41.72	11.48	22.36	20.04	53.88
Сухая степь/Dry Steppe							
Фон, тёмно-каштановая почва, т. 868/ Background, dark chestnut soil, p. 868	3.05	22.95	31.62	12.44	19.32	10.62	42.38
Технозём, т. 894/ Technozem, p. 894	10.67	40.73	14.84	7.12	15.84	10.80	33.76

В свою очередь, содержание $C_{орг}$ в технозёмах лесостепной и степной зон снижается, в наибольшей степени в степи – до 2.3% по сравнению с фоном (табл. 2).

Таблица 2

Показатели pH и $C_{орг}$ технозёмов в сравнении с фоном (n=3)
[pH and $C_{organic}$ parameters of technozems in comparison with the background (n=3)]

Показатель/ Parameter (M ± m)	Подтайга/ Subtaiga		Лесостепь/ Forest steppe		Степь/ Steppe	
	Чернозем оподзоленный / Chernozem podzolized	Технозем/ Technozem	Чернозем выщелоченный/ Chernozem leached	Технозем/ Technozem	Тёмно-каштановая почва/ dark chestnut soil	Технозем/ Technozem
pH водн.	5.83±0.01	6.45±0.02	6.75±0.03	6.37±0.01	7.8±0.01	9.08±0.01
$C_{орг}$	4.91±0.05	6.32±0.04	7.53±0.04	4.70±0.14	4.2±0.05	2.34±0.05

Этому не способствует исходно низкая доля корней, участвующих в формировании общего запаса подземного растительного вещества в фоновых почвах степей Минусинской котловины [Швабенланд, 2002]. Помимо этого, синтез и выделение корневых метаболитов в корнеобитаемый слой ослаблены, поскольку уменьшилась обводнённость протоплазмы наземных частей растений, которая рассматривается как физиологическая защита ксерофитов.

Ход кривой $C_{орг}$ технозёма сухой степи и лесостепи свидетельствует о резком снижении в них биогенного элемента по сравнению с фоновыми почвами (рис. 2). В технозёме подтайги потери содержания биогена не произошли.

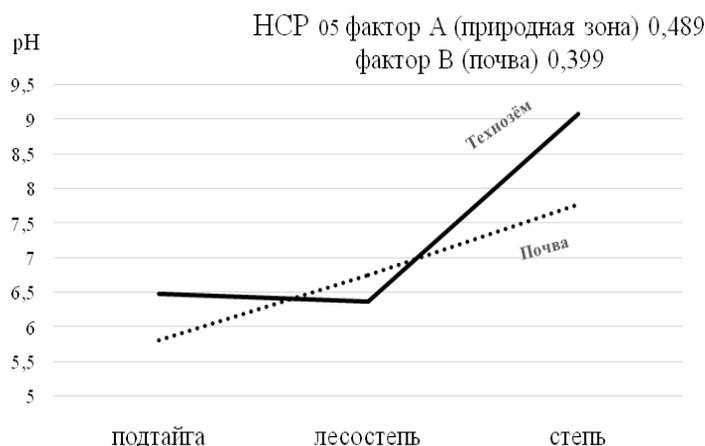


Рис. 1. Ход изменения рН в технозёмах и почвах в разных природных зонах
[The course of pH changes in technozems and soils in different natural zones]

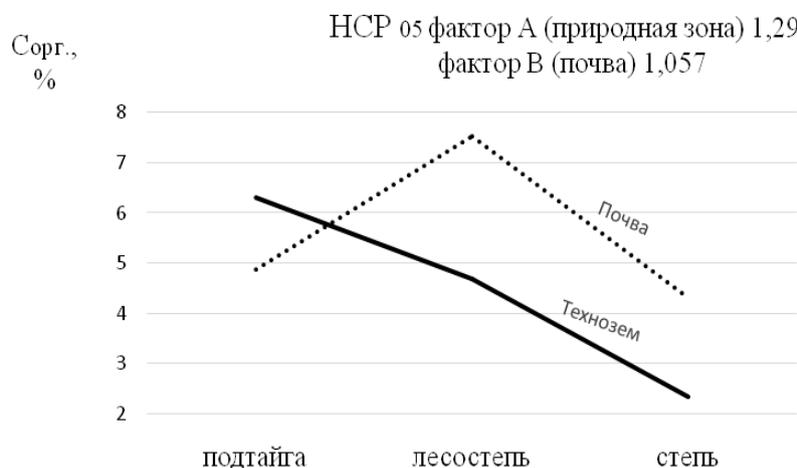


Рис. 2. Ход изменения $C_{орг}$ в технозёмах и почвах в разных природных зонах
[The course of changes in organic matter in technozems and soils in different natural zones]

Сравнение содержания гетеротрофного азотобактера в технозёмах и фоновых почвах трёх природных зон показало, что наибольшее количество метаболически активных клеток присуще подтаёжной зоне. Наибольшие темпы обрастания проб мелкозёма колониями бактерии присущи фоновой почве подтайги, где повсеместная (100%-ная) встречаемость зарегистрирована уже через 12 ч., но пробы технозёма обрастали медленнее – 24 ч. В лесостепной зоне обрастание мелкозёмистых частиц технозёма занимало также 24 ч., как и в фоновой почве, в степной зоне (в тех же вариантах) – 36 ч. Следует сказать, что значения кислотности технозёмов и фоновых почв трёх природных зон располагались в диапазоне рН = 5.8–9.09, который соответствовал диапазону роста азотобактера (рН = 4.5–9.0). Оптимальной кислотностью для бактерии считается рН = 6.8–7.2, что зарегистрировано лишь в фоновых почвах лесостепи и сухой степи. Но их заселённость бактерией оказалась ниже, чем в фоновой почве подтайги, кислотность которой оказалась ниже границы оптимального роста. Вероятно, в лесостепи и степи содержание метаболически активных клеток сдерживалось щелочностью, которая сопровождается увеличением времени генерации, снижением числа делений клеток в сутки. При этом не следует исключать пребывание азотобактера в анабиотическом состоянии (от греч. *Anabiosis* – «возвращение к жизни»), названным как «немножко умереть» [Пучков, 2015]. Прорастание покоящихся форм бактерии (цист) происходит в течение 4–6 ч. [Wyss, Neumann, Socolofsky, 1961], деление вегетативных клеток – 40–70 мин., т.е. переход жизнеспособных клеток в статус жизнедеятельных присутствовал при инкубации проб в течение 24–36 ч. Это свидетельствует о том, что технозёмы этих зон сохранили функцию депонирования клеток азотобактера, как и фоновые почвы. Однако существенное снижение содержания органического углерода, необходимого для C-гетеротрофии бактерии, как и защелачивание среды обитания, наиболее выраженное в

технозёме сухой степи, не способствовали активной жизнедеятельности бактерии в них. К тому же возрастание щелочности технозёмов сопровождалось поглощением катионов металлов и неметаллов гумусогенным слоем, превышающем фоновые почвы в большинстве случаев (табл. 3). По валовому количеству тяжёлых металлов и неметаллов, определённому ранее для территории нашего обследования [Богуславский и др., 2021], лидировали Zn, Pb, Cu, Ni, V и As, числовые значения которых превышали их кларки [Архипов, 2011; Касимов, Власов, 2015] и ОДК/ПДК¹. О присутствии металлов и неметаллов в почвах степной зоны сообщалось ранее [Язиков, Худяков, Азарова, 2002; Архипов, 2011; Швабенланд, Можайский, 2011], в том числе в биотоксичных концентрациях [Азарова, Васиков, Ильинских, 2004]. Средние значения содержания мышьяка на рекультивируемом отвале в Минусинской котловине и в почвенном горизонте АВ достигали 12 г/т [Язиков, Худяков, Азарова, 2002].

Таблица 3

Валовое содержание некоторых металлов (мг/кг) в почве и технозёме степной зоны (в районе Черногорского угольного месторождения, Хакасия)
[The total content of some metals (mg/kg) in the soil and technozem of the dry steppe zone (in the area of the Chernogorsky coal deposit, Khakassia)]

Почва/Soil	Металлы/Metals					
	Cu	Ni	Pb	Zn	V	As
Региональный кларк, каштановая почва, мг/кг [Архипов, 2011]/ Regional Clark, chestnut soil, mg/kg	31.4	26.8	13.3	62.8	119	Нет
Кларк по Виноградову [Касимов, Власов, 2015]/ Clark by Vinogradov	47	58	16	83	90	1.7
ПДК в почвах / MPC in soils	3.0	Нет	6.0	23.0	Нет	2.0
ПДК(ОДК) в почвах ² / MPC(ODC) in soils	132	80	130	220	Нет	10.0
Самозарастающий участок отвала/ Self-healing section of the dump*	61	98	19	127	122	5.3
Почва/ Soil*	51	78	20	106	180	9.6
Технозём/ Technozem*	58	101	19	121	151	11.3

Примечание. * –Богуславский и др. [2021].

К такому химическому составу азотобактер отчасти проявляет определённую толерантность, благодаря механизмам защиты. Установлено [Herter et al., 2013], что высокие концентрации сульфата меди активизируют синтез катехолатных сидерофоров азотфиксирующими меланогенными клетками, обеспечивающими детоксикацию меди. Устойчивость бактерии к Pb(II) достигается адсорбцией металла внеклеточными полисахаридами, исключением свинца из клеток, связыванием его в виде нерастворимых фосфатов, оттоком ионов наружу, экспрессией ионов регуляторными белками. Сообщается [Malynovska, 2017], что показатель содержания и биохимической активности клеток азотобактера можно считать индикаторным при уровнях загрязнения 5–100 предельно допустимых концентраций Pb в отсутствие фитоценоза, при уровнях загрязнения 10–100 ПДК — на почвах с фитоценозом. Показано [Ngumah et al., 2018], что высокие концентрации ZnSO₄ не снижают биомассу азотобактера, не подавляют азотфиксацию. В нашем случае бактерия развивалась на фоне высокого содержания кальция в технозёме и почве. Он способен задерживать поступление Zn внутрь бактерий и растений, т.к. эти катионы являются антагонистами. Несмотря на высокую растворимость солей Zn в щелочной среде, металл образует с Ca мало-растворимые цинкаты кальция [Шаврина, 2021].

Кроме того, в поддержании diazотрофного питания бактерии мог участвовать ванадий, недостаток которого в технозёме и фоновой почве сухой степи нет. Он входит в состав V-содержащей нитрогеназы, кислородоустойчивой в аэробных условиях. V-нитрогеназа, в отличие от белково-полиметалльных кластеров нитрогеназ (Mo-Fe-содержащей и альтернативной Fe-содержащей), наиболее активна в условиях пониженных температур (вплоть до 5°), которые характерны для резко континентального климата Хакасии. А температурный минимум мезофильного азотобактера соответствует 10–15°C, поэтому значение V-нитрогеназы велико. Помимо этого, V является парамагнитным и азотконцентрирующим (в больших количествах) элементом. Находясь в слизи и в цитоплазме бактерии, он ослабляет образование возбуд-

¹ Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве: гигиенические нормативы ГН 2.1.7.2041—ГН 2.1.7.2042— 06. ПДК в почвах (ГН 2.17.2041-06 «Предельно допустимые концентрации химических веществ в почве»). М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. 15 с.

² СанПин 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека и факторов среды обитания. М.: Стандартинформ, 2021. 8 с.

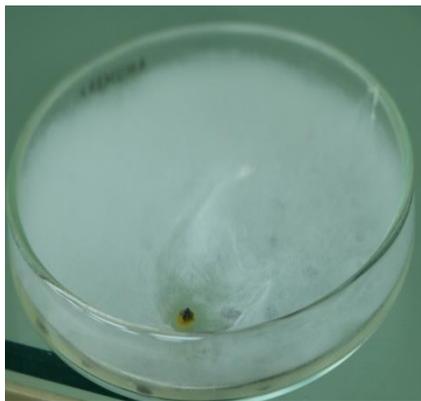
дѐнных молекул кислорода, снижает его негативное воздействие. В свою очередь, углеродсодержащие соединения, присутствующие в полисахаридной оболочке бактерии, выступают агентами гелеобразования, обеспечивая поглощение большого количества воды в присутствии (как правило) двухвалентных ионов. Сорбционная ёмкость полисахаридов по отношению к металлам значительно превышает таковую препаратов угля и лигнина [Хотимченко, 2011]. Это также играет важную роль в сохранении жизнедеятельности влаголюбивого азотобактера.

Особого внимания заслуживают ответные реакции азотобактера на мышьяковистое окружение. As – биотоксикант кумулятивного действия, он ингибирует процессы субстратного и окислительного фосфорилирования, блокирует SH-группы белков. Доказано, что бѐльшую чувствительность к высоким концентрациям As проявляют протеолитические микроорганизмы [Окунев, Сунгатуллина, Григорьян, 2015], которые участвуют в расщеплении белков, пептидов, аминокислот растительных остатков. Азотобактер проявляет различные стратегии защиты к мышьяку. Арсенат может осаждаться и на поверхности клеток в виде частиц минерала скородита ($\text{FeAsO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$), который слабо растворим. Экспериментально доказано, что сорбция As полисахаридами цист *Azotobacter* достигает 65%, в комплексе с керамическими гранулами – 96% [Gauri et al., 2011]. Не исключено, что оксидоредуктазы азотобактера подобно близкородственным микроорганизмам – *Pseudomonas aeruginosa* и цианобактериям – восстанавливают ион арсената до иона арсенита. Этот путь считается критическим, но он позволяет образовать комплекс со специфическими сульфгидрилсодержащими белками, обеспечивая детоксикацию металлоида. Известно также, что азотобактер способен окислять и метилировать арсенит, восстанавливать арсенат в цитоплазме, что обеспечивает сохранение жизнеспособности бактерии, как и других микроорганизмов [Dhuldhaj et al., 2013]. Кислые гетерополисахариды оболочки частично могут связывать 5-валентный As и вовлекать его в восстановительное метилирование с последующим улетучиванием алкилсерина. Тем не менее, полностью механизмы устойчивости бактерии к металлоиду не раскрыты.

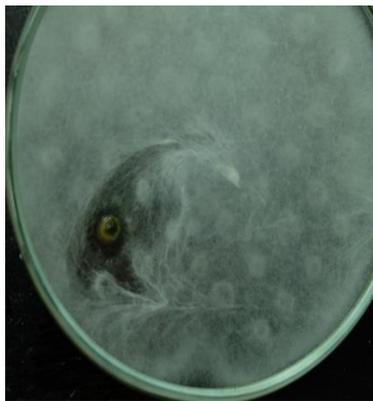
Что касается негативного влияния никеля на бактерию, содержание которого было в технозѐме выше, чем в почве, то оно изучено недостаточно. Можно предположить, что его токсичность в щелочном растворе технозѐма, как и фоновой тѐмно-каштановой почве, мала, поскольку металл обладает пассивацией, т.е. способностью образовывать защитную оксидную плѐнку. Водные растворы 2-х валентного металла содержат аква-ион, который осаждается в виде гидроксида никеля.

В свою очередь, факты диссоциирования популяции азотобактера свидетельствуют о присутствии техногенного загрязнения среды обитания бактерии. Причиной SR-диссоциации являются инсерционные мутации, научный интерес к которым в последнее время растѐт. Способность бактерий к расщеплению популяций проявляется в разнообразных экологических нишах [Maia, Sanchez, Vela, 1988; Пищик и др., 2016]. Диссоциирование популяции *Az. chlorococcum* зарегистрировано на отвалах добычи антрацита [Артамонова, Бортникова, Оплеухин, 2016], на отходах цианирования золотосодержащей руды [Артамонова, Бортникова, Оплеухин, 2020].

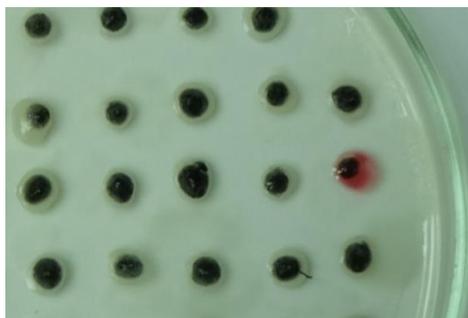
В технозѐме и фоновой почве сухой степи диссоциирование проявляется в присутствии атипичных R-, M- и P- колоний наряду с типичной S-формой (рис. 3). Для P-диссоциантов характерно наличие гидрофобных оболочек клеток и каротиноидных пигментов, которые повышают толерантность клеток азотобактера к токсичным агентам. Гидрофобность клеточных оболочек обусловлена стабильностью отдельных областей молекулы белка, в том числе путѐм её сворачивания, уплотнения молекул воды, а также образованием мембранных липидов, что ограничивает проникновение водорастворимых металлов внутрь клетки. Каротиноиды поглощают энергию возбуждения электрона без каких-либо химических превращений, возвращают кислород в основное триплетное состояние без повреждения биологических систем клетки, что важно для сохранения нитрогеназы и выживания при недостатке азотного питания. Ранее пигментированный P-диссоциант – *Pseudomonas aurantica*, – близкородственный вид азотобактеру, регистрировался на бедной среде с двукратным лимитом источника азота [Мулюкин, Козлова, Эль-Регистан, 2008]. Кроме того, в технозѐме сухой степи выявлены диссоцианты с пигментацией и антибиотической активностью. Выделение экзометаболита, очевидно, V_{12} , способствовало сохранению способности клеток синтезировать цианокобаламин, поскольку его повышенные концентрации в цитоплазме клетки могут полностью репрессировать синтез V_{12} способствовало сохранению цианокобаламина обеспечивает метионин в присутствии кислорода [Sekowska et al., 2004]. Цианокобаламин термостабилен, что проявляется даже в энзиматически неактивной биомассе. Он обладает антимикробным эффектом, повышая активную конкуренцию гетеротрофного микроба за ресурсы питания. Возможно и другое значение «сброса» метаболита за пределы клетки, связанное с хелатной природой соединения, что требует дополнительных исследований для подтверждения предположения. Присутствие в технозѐме сухой степи штаммов с антибиотическими свойствами подтверждает конкуренцию гетеротрофов за дефицитную органическую пищу. Следовательно, гумусогенный слой технозѐма сухой степи, несмотря на максимальное защелачивание, техногенное загрязнение, подавление илообразования, дефицит органического углерода, снижение биогенности, обеспечил сохранность популяции азотфиксирующей бактерии как неотъемлемой части экосистемы.



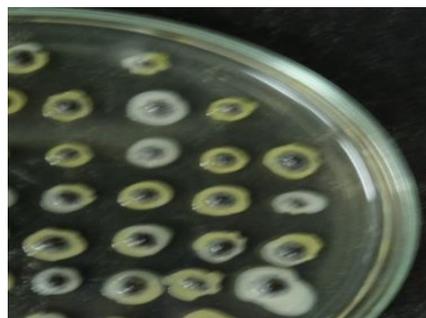
технозём
technozem



подстилаящая порода
bedrock



технозём
technozem



подстилаящая порода
bedrock

Диссоцианты/dissociants



S-тип/S-type



R-тип/R-type



P-тип/P-type



M-тип/M-type

Рис. 3. Внутривидовое разнообразие популяции *Az. chroococcum*
[Intraspecific diversity of the population *Az. chroococcum*]

Заключение

После 40 лет землевания отвалов угледобычи в гумусогенном слое технозёмов разных природных зон Сибири сохраняются экосистемные функции фоновых почв. Они проявились на уровне разных категорий: физической, физико-химической, биохимической, целостной. Гумусогенный слой технозёмов сохранил способность к депонированию мелкозёмом клеток азотобактера, обеспечил сохранение его популяций, как и накопление органического углерода, сорбцию химических элементов, илообразование, буферность и другие. Однако в технозёме сухостепной зоны обнаружены некоторые нежелательные признаки. В нём существенно снизилось содержание фракции ила, возросли защелачивание и количество Cu, Zn, Pb, Ni, V, As, уменьшились запас органического углерода, биогенность. Снижение количества илистых частиц, поглощательная способность которых в отношении тяжёлых металлов уменьшается в ряду Pb-Cu-Zn (по мере перехода к цинку) [Пинский и др., 2019], обусловило лидерство Cu и Zn. Присутствие экотоксикантов не оказало бактерицидного действия на популяцию азотобактера, но отразилось на диссоциировании популяции, что можно рассматривать как повышение устойчивости к полиметалльному окружению. Защелачивание снизило заселённость мелкозёма бактериями в связи с уменьшением размножения вегетативных клеток, что не способствует пополнению минеральных форм азота, доступных растениям. Повысить их пул можно путём использования «зелёных» технологий ускоренной рекультивации, в частности с привлечением сидератов, компостов, навоза, торфа, соломы, сапропелей, растительных остатков от пожнивных посевов и покровных культур.

Не следует исключать зарубежные подходы применения местных метаболически активных штаммов азотобактера, адаптированных к техногенному загрязнению и востребованных в фитовосстановлении участков на месте складирования угля [Barman, Dutta, Jha, 2022; Guzmán-Moreno et al., 2022]. Скрининг штаммов местных популяций азотобактера, устойчивых к экотоксикантам и сохраняющих активность размножения, снизит остроту проблемы дефицита биогенного азота в гумусогенном слое сухой степи.

Таким образом, гумусогенный слой многолетних технозёмов гумусово-аккумулятивных проявляет экосистемные функции, свойственные фоновым почвам исследованных природных зон. Однако способность данного слоя противостоять защелачиванию, техногенному загрязнению, а также снижению органического углерода и численности продуцентов биогенного азота в них разная. Наименьшие возможности для экосистемного сервиса складываются в технозёме сухой степи, что следует учитывать при разработке природоподобных технологий.

Список источников

1. Азарова С.В., Васиков У.Г., Ильинских Н.Н. Оценка экологической опасности отходов горнодобывающих предприятий республики Хакасия с применением метода биотестирования // Известия Томского политехнического ун-та. 2004. Т. 307, № 4. С. 55–59.
2. Ананьева Н.Д., Иващенко К.В., Сушко С.В. Микробные показатели городских почв и их роль в оценке экосистемных сервисов (обзор) // Почвоведение. 2021. № 10. С. 1231–1246.
3. Ананьева Н.Д. и др. Биофильные элементы (C, N, H) и дыхательная активность микробного сообщества лесопарков Москвы и пригородных лесов // Почвоведение. 2023. № 1. С. 102–117. DOI: 10.31857/S0032180X22600780
4. Андроханов В.А., Курачёв В.М. Почвенно-экологическое состояние техногенных ландшафтов: динамика и оценка / отв. ред. А.И. Сысо. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2010. 224 с.
5. Артамонова В.С., Бортникова С.Б., Оплеухин А.В. Техногенное загрязнение почв подотвальными водами в районе угледобычи // Известия Коми научного центра УрО РАН. 2016. Вып. 4(28). С. 38–45.
6. Артамонова В.С., Бортникова С.Б., Оплеухин А.В. Фитотоксичность лежалых отходов цианирования золотосодержащей руды на территории накопленного экологического ущерба // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2020. Вып. 1. С. 33–40.
7. Архипов А.Л. Геоэкологическое и геохимическое состояние геоэкологической среды Южно-Минусинской котловины (республика Хакасия): автореф. дис. ... канд. геол.-минер. наук. Томск, 2011. 23 с.
8. Богуславский А.Е. и др. Геохимический фон тяжёлых металлов в почвах и растениях на участках отвалов угольных месторождений // Известия Алтайского отделения Русского географического общества. Сер. Геология. 2021. № 2(61). С. 40–49.
9. Болдырев В.А. и др. Интерпретация результатов определения гранулометрического состава почв методом лазерной дифракции // Фундаментальные концепции физики почв: развитие, современные приложения и перспективы: материалы Междунар. конф. М., 2019. С. 114–118. DOI: 10.31453/kdu.ru.91304.0065.
10. Бондаренко Е.В. Опыт учёта экосистемных сервисов почв при оценке деградации земель (на примере УО ПЭЦ МГУ): дис. ... канд. биол. наук. М., 2016. 121 с.

11. Васенев В.И. и др. Экологические функции и экосистемные сервисы городских и техногенных почв: от теории к практическому применению (обзор) // Почвоведение. 2018. № 10. С. 1177–1191.
12. Всемирным сельскохозяйственным наследием признаны в мире 52 объекта. 2018. URL: <https://foodindustry.kz/vsemirnym-selskohozyajstvennym-naslediem-priznany-s-mire-52-objekta/?ysclid=lifr2l8c1844759192> (дата обращения: 18.05.2023).
13. Герасимова М.И. и др. Антропогенные почвы: генезис, география, рекультивация / отв. ред. Г.В. Добровольский. Смоленск: Ойкумена, 2003. 268 с.
14. Герасимова М.И. Международная классификация почв и возможности её применения в географических исследованиях // Вестник Московского ун-та. Сер. 5. География. 2019. № 3. С. 49–56.
15. Довлетярова Э.А. Функционально-экологическая оценка почв в условиях антропогенной нагрузки мегаполиса и промышленного предприятия: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2023. 50 с.
16. Завалин А.А., Соколов О.А., Шмырева Н.А. Экология азотфиксации. М., 2019. 252 с.
17. Касимов Н.С., Власов Д.В. Кларки химических элементов как эталоны сравнения в экогеохимии // Вестник Московского ун-та. Сер. 5. География. 2015. № 2. С. 7–17.
18. Костычев П.А. Изследование почвъ изъ виноградниковъ Крыма и Кавказа // Вѣстникъ Винодѣлія. 1892. № 1, 2. С. 1–23.
19. Мулюкин А.Л., Козлова Н.Н., Эль-Регистан Г.И. Свойства фенотипических диссоциантов бактерий *Pseudomonas aurantica* и *Pseudomonas fluorescens* // Микробиология. 2008. Т. 77, № 6. С. 766–776.
20. Назарюк В.М. Баланс и трансформация азота в агроэкосистемах / отв. ред. В.Б. Ильин. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002. 257 с.
21. Национальный атлас почв Российской Федерации / отв. ред. чл.-корр. РАН С.А. Шоба. М.: Астрель, АСТ, 2011. 632 с.
22. Окунев Р.В., Сунгатуллина Л.М., Григорьян Б.Р. Влияние арсената (V) натрия на содержание свободных и связанных аминокислот растворённого органического вещества почвы // Вестник Крас. ГАУ. 2015. № 6. С. 9–12.
23. Пинский Д.Л. и др. Особенности сорбции меди чернозёмами различного гранулометрического состава // Фундаментальные концепции физики почв: развитие, современные приложения и перспективы: материалы Междунар. конф. М., 2019. С. 385–389. DOI: 10.31453/kdu.ru.91304.0065.
24. Пищик В.Н. и др. Механизмы адаптации растений и микроорганизмов в растительно-микробных системах к тяжёлым металлам // Микробиология. 2016. Т. 85, № 3. С. 232–247.
25. Пучков Е.О. Немножко умереть // Химия и жизнь. 2015. № 1. С. 1–23.
26. Фарходов Ю.Р. Молекулярный состав лабильного и стабильного органического вещества типичных чернозёмов разного вида использования: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2022. 24 с.
27. Хотимченко М.Ю. Сорбционные свойства и фармакологическая активность некрахмальных полисахаридов: дис. ... д-ра мед. наук. Владивосток, 2011. 327 с.
28. Шаврина К.Ф. Конкурентное взаимодействие цинка, кальция и магния в системе дерново-подзолистая почва – растения: автореф. ... дис. канд биол. наук. СПб., 2021. 26 с.
29. Шарков И.Н. и др. Воспроизводство гумуса как составная часть системы управления плодородием почвы: метод. пособие. Новосибирск, 2010. 36 с.
30. Швабенланд И.С. Запас лабильного органического вещества в почвах Хакасии // Геоэкологические проблемы почвоведения и оценки земель: материалы Междунар. науч. конф. Томск, 2002. С. 210–211.
31. Швабенланд И.С., Мажайский Ю.А. Геолого-почвенная характеристика Минусинского прогиба на примере Черногорского каменноугольного месторождения // Агрехимический вестник. 2011. № 6. С. 2–4.
32. Язиков Е.Г., Худяков В.М., Азарова С.В. Геоэкологические проблемы угледобывающих предприятий и геохимическая оценка воздействия отвалов на почвы (на примере угольного разреза Чалпан, республика Хакасия) // Известия Томского политехнического университета. 2002. Т. 305, вып. 6. С. 433–445.
33. Aasfar A. et al. Nitrogen Fixing *Azotobacter* Species as Potencial Soil Biological Enhancers for Crop Nutrition and Yield Stability // Front. Microbiol. 2021. Vol. 12. P. 1–19. DOI: 10.3389/fmicb.2021.628379.
34. Aquilanti L., Favilli F., Clementi F. Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples // Soil Biology and Biochemistry. 2004. Vol. 36. P. 1475–1483.
35. Barman D., Dutta I., Jha D.K. Heavy metal resistant bacteria from coal dumping site with plant growth promoting potentials // Biologia. 2022. Vol. 77. P. 533–545. URL: <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00963-y>.
36. Chennappa Gurikar C. et al. *Azotobacter* – a potential symbiotic rhizosphere // Rhizosphere Engineering: Academic press, 2022. P. 97–112. URL: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89973-4.00010-7>.
37. Dhuldhaj U.P. et al. Microbial interactions in the arsenic cycle: adoptive strategies and applications in environmental management // Reviews Environmental Contamination and Toxicology. 2013. Vol. 24. P. 1–38. DOI: 10.1007/978-1-4614-5882-1_1.

38. Gauri Samiran S. et al. Removal of arsenic from aqueous solution using pottery granules coated with cyst of *Azotobacter* and portland cement: characterization, kinetics and modeling // *Bioresource Technology*. 2011. 102(10). P. 6308–6312. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.02.037.
39. Guzmán-Moreno J. et al. *Bacillus megaterium* HgT21: a Promising Metal Multiresistant Plant Growth-Promoting Bacteria for Soil Bioremediation // *Microbiology Spectrum*. 2022. Vol. 10, № 5: e0065622. DOI: 10.1128/spectrum.00656-22. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35980185/>.
40. Herter S. et al. Investigating the effects of metals on phenol oxidase-producing nitrogen-fixing *Azotobacter chroococcum* // *J. Basic Microbiol.* 2013. Vol. 53, № 6. P. 509–517. DOI: 10.1002/jobm.201100443.
41. Hirst K. Kris. Chinampa: Raised Field Agriculture in the Americas // *Chinampa of Floating Gardens*. Thought Co, 2021. URL: <https://www.thoughtco.com/chinampa-floating-gardens-170337> (дата обращения: 18.05.2023).
42. Maia M., Sanchez J.M., Vela G. Plasmids of *Azotobacter vinelandii* // *Journal of Bacteriology*. 1988. Vol. 170. № 4. P. 1984–1985.
43. Malynovska I.M. Effect of heavy metal ions on the number and activity of *Azotobacter* and melanin synthesizing micromycetes // *Biotechnologia Acta*. 2017. Vol. 10, № 3. P. 65–71.
44. Ngumah C. et al. Impacts of different concentrations of Copper and Zinc on in vitro responses of *Azotobacter chroococum* in biomass and nitrogen fixing outputs // *Ecotoxicol. Environ. Contam.* 2018. Vol. 13, № 1. P. 79–83. DOI: 10.5132/eec.2018.01.09.
45. Rajakaruna H., Boyd R.S. Edaphic Factor // *Encyclopedia of Ecology*, 2019. Bd. 3. P. 361–367.
46. Sekowska A. et al. Bacterial variations on the methionine salvage pathway // *BMC Microbiology*. 2004. Vol. 4, № 9. P. 1–17. URL: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-4-9>.
47. Wyss O., Neumann M.G., Socolofsky M.D. Development and germination of the *Azotobacter* cyst // *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*. 1961. Vol. 10. P. 555–565.

References

1. Azarova S.V., Vasikov U.G., Ilyinskikh N.N. [Assessment of the Environmental hazard of waste from mining enterprises of the Republic of Khakassia with the use of the biotesting method]. *Izvestija Tomskogo politehničeskogo universiteta*. V. 307, No. 4 (2004): pp. 55-59. (In Russ.).
2. Ananjeva N.D., Ivashchenko K.V., Sushko S.V. [Microbial indicators of urban soils and their role in the assessment of ecosystem services (review)]. *Počvovedenie*. No. 10 (2021): pp.1231-1246. (In Russ.).
3. Ananjeva N.D., Khatit R.Yu., Ivashchenko K.V., Sushko S.V., Gorbacheva F.Yu., Dolgikh A.V., Kadulin M.S., Sotnikova Yu.L., Vasenev V.I., Komarova A.E., Yudina A.V., Dovlyarova E.A. [Biophilic elements (C, N, H) and respiratory activity of the microbial community of Moscow forest parks and suburban forests]. *Počvovedenie*. No. 1 (2023): pp. 102-117. DOI: 10.31857/S0032180X22600780 (In Russ.).
4. Androkhonov V.A., Kurachev V.M. *Počvenno-ekologičeskoe sostojanie technogennykh landšaftov: dinamika i ocenka* [Soil and ecological state technogenic landscapes: dynamics and assessment]. Novosibirsk, SO RAN Publ., 2010. 254 p. (In Russ.).
5. Artamonova V.S., Bortnikova S.B., Opleukhin A.V. [Technogenic soil pollution by sub-basement waters in the coal mining area]. *Izvestija Komi naučnogo centra UrO RAN*. V. 4, Iss. 28 (2016): pp. 38-45. (In Russ.).
6. Artamonova V.S., Bortnikova S.B., Opleukhin A.V. [Phytotoxicity stale waste of cyanidation of gold - bearing ore on the territory of accumulated environmental damage]. *Bulletin of the Perm University. Biology*. Iss. 1 (2020): pp. 33-40. (In Russ.).
7. Arhipov A.L. *Geoekologičeskoe i ekogeochimičeskoe sostojanie sredy Južno-Minusinskoj kotloviny (respublika Chakasija)*. Avtoref. diss. kand. geologo-miner. nauk [Geoecological and ecogeochemical state geoecological environment of the South Minusinsk basin (Republic of Khakassia). Abstract Cand. Diss.]. Tomsk, 2011. 23 p. (In Russ.).
8. Boguslavskij A.E., Androkhonov V.A., Kolmagorova Yu.O., Uzhegova A.A., Gossen I.N., Isaeva O.P. [Geochemical background of heavy metals in soils and plants in coal deposit dumps]. *Izvestiya Altayskogo otdeleniya Russkogo geograficheskogo obshchestva. Geologija*. No. 2(61) (2021): pp. 40-49. (In Russ.).
9. Boldyrev V.A., Morozov I.V., Bezuglova O.S. [Interpretation of the results of determining the granulometric composition of soils by laser diffraction]. *Fundamental'nye koncepcii fiziki pochv* [Fundamental concepts of soil physics: development, modern applications and prospects. Materials of the International Conference]. Moscow, 2019, pp. 114-118. (In Russ.).
10. Bondarenko E.V. *Opyt učeta ekosistemnykh servisov počv pri ocenke degradacii zemel' (na primere UO PEC MGU)*. Diss. cand. biol. nauk [The experience of taking into account ecosystem services of soils in assessing land degradation (on the example of the MSU UO PET). Cand. Diss.]. Moscow, 2016. 121 p. (In Russ.).

11. Vasenev V.I., Van Audenhoven A.P., Romzaikina O.N. [Ecological functions and ecosystem services of urban and technogenic soils: from theory to practical application (review)]. *Počvovedenie*. No. 10 (2018): pp. 1177-1191. (In Russ.).
12. *Vsemirnym sel'skochozjaistvennym naslediem priznany v mire 52 objekta* [52 sites in the world are recognized as World Agricultural Heritage] 2018. Available at: <https://foodindustry.kz/vsemirnym-selskochozjaystvennym-naslediem-priznany-s-mire-52-obekta/?ysclid=lif218c1844759192> (accessed 18.05.2023). (In Russ.).
13. Gerasimova M.I., Stroganova M.N., Mocharova N.V., Propkofjeva T. V. *Antropogennye počvy: genesis, geografija, rekultivacija* [Anthropogenic soils: genesis, geography, reclamation]. Smolensk, Oykumena Publ., 2003. 268 p. (In Russ.).
14. Gerasimova M.I. [International Classification of soils and opportunities for its application in geographical research]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Ser. 5. Geografija*. No. 3 (2019): pp. 49-56. (In Russ.).
15. Dovyjarova E.A. *Funkcional'no-ekologičeskaja ocenka počv v usloviyach antropogennoj nagruzki megapolisa i promyšlennogo predpriyatija. Avtoref. diss. doct. biol. nauk*. [Functional and ecological assessment of soils in conditions of anthropogenic load of a megapolis and an industrial enterprise. Abstract Doct. Diss.]. Moscow, 2023. 50 p. (In Russ.).
16. Zavalin A.A., Sokolov O.A., Shmyreva N.A. *Èkologija azotfiksacii* [Ecology of nitrogen fixation]. Moscow, 2019. 252 p. (In Russ.).
17. Kasimov N.S., Vlasov D.V. [Clarks of chemical elements as reference standards in ècogeochemistry]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Ser. 5. Geografija*. No. 2 (2015): pp. 7-17. (In Russ.).
18. Kostychev P.A. [Study of soils from vineyards of the Crimea and the Caucasus]. *Vestnik Vinodelija*. No. 1, 2 (1892): pp. 1-23. (In Russ.).
19. Mulyukin A.L., Kozlova N.N., El-Registan G.I. [Properties of phenotypic dissociants of *Pseudomonas aurantiaca* and *Ps. fluorescens*]. *Microbiologija*. V. 77, No. 6 (2008): pp. 766-776. (In Russ.).
20. Nazaryuk V.M. *Balans i transformacija azota v agroèkosistemach* [Nitrogen balance and transformation in agroecosystems]. Novosibirsk, SO RAN Publ., 2002. 257 p. (In Russ.).
21. Shoba S.A., ed. *Nacional'nyj atlas počv Rossijskoj Federacii* [National Atlas of soils of the Russian Federation]. Moscow, Astrel, AST Publ., 2011. 632 p. (In Russ.).
22. Okunev R.V., Sungatullina L.M., Grigoryan B.R. [The effect of sodium arsenate (V) on the content of free and bound amino acids of dissolved organimatter of the soil]. *Vestnik Kras. GAU*. No. 6 (2015): pp. 9-12. (In Russ.).
23. Pinsky D.L., Minkina T.M., Zamulina I.V., Burachevskaya M.V., Mandzhieva S.S. [Features of copper sorption by chernozems of various granulometric composition]. *Fundamental'nye koncepcii fiziki počhv: razvitiie, sovremennye prilozhenija i perspektivy* [Fundamental concepts of soil physics: development, modern applications and prospects. Materials of the International Conference]. Moscow, 2019, pp. 385-389. (In Russ.). DOI: 10.31453/kdu.ru.91304.0065.
24. Pishik V.N., Vorobyov N.I., Provorov N.A., Khomyakov Yu.V. [Mechanisms adaptations of plants and microorganisms in plant-microbial systems for heavy metals]. *Microbiologija*. V. 85, No. 3 (2016): pp. 232-247. (In Russ.).
25. Puchkov E.O. [A little to die]. *Chimija i žizn'*. No. 1 (2015): pp. 1-23. (In Russ.).
26. Farhodov Ju.R. *Molekuljarnyj sostav labil'nogo i stabil'nogo organičeskogo veščestva tipičnyh černozemov raznogo vida ispol'zovanija. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Molecular composition of labile and stable organic matter of typical chernozems of different types uses. Abstract Cand. Diss.]. Moscow, 2022. 24 p. (In Russ.).
27. Hotimchenko M.Yu. *Sorbcionnyje svojstva i farmakologičeskaja aktivnost' nekrachmal'nykh polisacharidov. Diss. Dokt. Med. Nauk* [Sorbtion properties and pharmacological activity of non-starch polisacharidov. Diss. Doct.]. Vladivostok, 2011. 327 p. Available at: <https://www.dissercat.com/content/sorbtsionnye-svoistva-i-farmakologičeskaja-aktivnost-nekrachmalnykh-polisacharidov>. (In Russ.).
28. Shavrina K.F. *Konkurentnoe vzaimodejstvie cinka, kal'cija i magnija v sisteme dernovo-podzolistaja počva - rastenie. Avtoref. diss. kand. biol. nauk* [Competitive interaction zinc, calcium and magnia in the system dernovo-subzolic soil - plants. Abstract Cand. Diss.]. St-Peterburg, 2021. 26 p. (In Russ.).
29. Sharkov I.N., Danilova A.A., Prozorov A.C., Samohvalova L.M., Bushmeleva T.I., Shepelev A.G. *Vosproizvodstvo gumusa kak sostavnaja čast' sistemy upravlenija plodorodiem počvy: metodičeskoe posobie* [Reproduction of humus as an integral part of the soil fertility management system: a methodological guide]. Novosibirsk, 2010. 36 p. (In Russ.).
30. Shvabenland I.S. [Stocks of labile organic matter in soils Khakassia]. *Geoèkologičeskie problemy počvovedenija v ocenke zemel'*. *Materialy Meždunarodnoj konferencii* [Geoecological problems of soil science

and land assessment. Materials of the International Scientific Conference]. Tomsk, 2002, pp. 210-211. (In Russ.).

31. Shvabenland I.S., Mazhaysky Yu.A. [Geological and soil characteristics Minusinsk deflection on the example of the Montenegrin coal deposits]. *Agrochimičeskij vestnik*. No. 6 (2011):pp. 2-4. (In Russ.).

32. Yazikov E.G., Khudyakov V.M., Azarova S.V. [Geoecological problems coal mining enterprises and geochemical impact assessment dumps on soils (on the example of the Chalpan coal mine, Republic Khakassia)]. *Izvestija Tomskogo politehničeskogo universiteta*. V. 305, Iss. 6 (2002): pp. 433-445. (In Russ.).

33. Aasfar et al. Nitrogen Fixing *Azotobacter* Species as Potential Soil Biological Enhancers for Crop Nutrition and Yield Stability. *Front. Microbiol.* V. 12 (2021): pp. 1-19 p. DOI: 10.3389/fmicb.2021.628379.

34. Aquilanti L., Favilli F., Clementi F. Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples. *Soil Biology and Biochemistry*. V. 36 (2004): pp.1475-1483.

35. Barman D., Dutta I., Jha D.K. Heavy metal resistant bacteria from coal dumping site with plant growth promoting potentials. *Biologia*. V. 77 (2022): pp. 533-545. URL: <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00963-y>.

36. Chennappa G.C., Sreenivasa M.Y., Nanje Gowda N.A., Lokesh A.C. *Azotobacter* – a potential symbiotic rhizosphere. *Rhizosphere Engineering, Academic press, 2022, pp. 97-112*. Available at: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biologic-sciences/azotobacter> (accessed 25.10.2023).

37. Dhuldhaj U.P., Yadav I.Ch., Singh S., Sharma N.K. Microbial interactions in the arsenic cycle: adoptive strategies and applications in environmental management. *Reviews Environmental Contamination and Toxicology*. V. 24 (2013): pp. 1-38.

38. Gauri Samiran S., Archana S., Mondal Keshab C., Pati Bikas R., Mandal Santi M., Dey Satyahari. Removal of arsenic from aqueous solution using pottery granules coated with cyst of *Azotobacter* and portland cement: characterization, kinetics and modeling. *Bioresource Technology*. V. 102, Iss. 10 (2011): pp. 6308-6312. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21392969/>

39. Guzmán-Moreno J., García-Ortega L.F., Torres-Saucedo L., Rivas-Noriega P., María Ramírez-Santoyo R., Sánchez-Calderón L., Quiroz-Serrano I.N., Vidales-Rodríguez L.E. et al. *Bacillus megaterium* HgT21: a Promising Metal Multiresistant Plant Growth-Promoting Bacteria for Soil Bioremediation. *Microbiology Spectrum*. V. 10, No. 5 (2022): e0065622 DOI: 10.1128/spectrum.00656-22. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35980185/>.

40. Herter S., Schmidt M., Thompson M.L., Mikolasch A., Schauer F.S. Investigating the effects of metals on phenol oxidase-producing nitrogen-fixing *Azotobacter chroococcum*. *J. Basic Microbiol.* V. 53. No. 6 (2013): pp. 509-517. DOI: 10.1002/jobm.201100443.

41. Hirst K. Kris. Chinampa: Raised Field Agriculture in the Americas. *Chinampa of Floating Gardens*. Thought Co, 2021. Available at: <https://www.thoughtco.com/chinampa-floating-gardens-170337>.

42. Maia M., Sanchez J.M., Vela G. Plasmids of *Azotobacter vinelandii*. *Journal of Bacteriology*. V. 170, No. 4 (1988): pp. 1984-1985. Available at: https://digital.library.unt.edu/ark:/67531/metadc287021/m2/1/high_res_d/PMC211066.pdf.

43. Malynovska I.M. Effect of heavy metal ions on the number and activity of *Azotobacter* and melanin synthesizing micromycetes. *Biotechnologia Acta*. V. 10, No. 3 (2017): pp. 65-71. Available at: <https://doi.org/10.15407/biotech10.03.065>.

44. Ngumah C., Orji J., Akubuokwuoma J. & Anoliefoh U. Impacts of different concentrations of Copper and Zinc on in vitro responses of *Azotobacter chroococum* in biomass and nitrogen fixing outputs. *Ecotoxicol. Environ. Contam.* V. 13, No. 1 (2018): pp. 79-83. DOI: 10.5132/eec.2018.01.09.

45. Rajakaruna H., Boyd R.S. Edaphic Factor. *Encyclopedia of Ecology*. Bd. 3 (2019): pp. 361-367. Available at: <https://www.sciencedirect.com/referencework/9780444641304/encyclopedia-of-ecology#book-info>

46. Sekowska A.A., Dénervaud V., Ashida H., Michoud K., Haas D., Yokota A., Danchin A. et al. Bacterial variations on the methionine salvage pathway. *BMC Microbiology*. V. 4, No. 9 (2004): pp. 1-17. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-4-9>.

47. Wyss O., Neumann M. G., Socolofsky M. D. Development and germination of the *Azotobacter* cyst. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*. V. 10 (1961): pp. 555-565.

Статья поступила в редакцию 27.11.2023; одобрена после рецензирования 15.01.2024; принята к публикации 05.03.2024.

The article was submitted 27.11.2023; approved after reviewing 15.01.2024; accepted for publication 05.03.2024.

Информация об авторах

В. С. Артамонова - д-р биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории рекультивации почв;

С. Б. Бортникова – д-р геол.-минер. наук, профессор, зав. лабораторией геоэлектрохимии;

В. А. Андроханов, д-р биол. наук, директор ИПА СО РАН.

Information about the authors

V. S. Artamonova – doctor of biology, associate professor, leading researcher of the Department of soil reclamation;

S. B. Bortnikova - doctor geology, professor, head of the Department of Geoelectrochemistry;

V. A. Androhanov - doctor of biology, Director of the Institute of Soil Science and Agrochemistry SB RAN.

Вклад авторов:

Артамонова В. С. – концепция исследования; развитие методологии; написание исходного текста; итоговое заключение.

Бортникова С. Б. – доработка текста/

Андроханов В. А. – инициирование исследования; организация и финансирование маршрутной полевой экспедиции для отбора образцов.

Contribution of the authors:

Artamonova V. S. – research concept; development of methodology; writing of the source text; final conclusion/

Bortnikova S. B. – revision of the text/

Androhanov V. A. – initiating research; organization and financing of a route expedition for sampling.

ИММУНОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 612.018:616.832-004.2

doi: 10.17072/1994-9952-2024-1-107-112

НК-клетки, преобработанные эстриолом и клетками комменсальной флоры, регулируют созревание Treg и Th17 из CD4⁺ лимфоцитов у больных рассеянным склерозом и здоровых доноров

И. В. Некрасова¹, Н. С. Глебздина¹, И. Л. Масленникова^{1, 2}, И. Ю. Данченко²,
С. В. Ширшев¹

¹ Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь, Россия

² Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия
Автор, ответственный за переписку: Ирина Валерьевна Некрасова, nirina5@mail.ru

Аннотация. Рассеянный склероз (РС) – это воспалительное хроническое заболевание центральной нервной системы, одним из патогенетических механизмов которого является иммуноопосредованная атака миелиновой оболочки нервных аксонов под управлением аутореактивных Т-клеток. НК-клетки, один из подтипов ILC клеток, обладают способностью регулировать аутоиммунные механизмы посредством продукции цитокинов или цитотоксического действия непосредственно против эффекторных клеток, таких как аутореактивные Т-клетки или антигенпрезентирующие клетки. В то же время они могут лизировать клетки микроглии, астроцитов и олигодендроцитов, что указывает на двойную функцию НК-клеток при РС. В данной работе исследовали влияние гормона беременности эстриола (Е₃) и комменсальной микрофлоры на способность НК-клеток модулировать уровень Т-регуляторных (Treg) и IL-17-продуцирующих (Th17) лимфоцитов больных рассеянным склерозом (РС) в сравнении со здоровыми донорами. Для активации НК-клеток использовались штаммы *Escherichia coli* K12 и *Lactobacillus plantarum* 8R-A3. Фенотип Treg и Th17 клеток оценивали методом проточной цитометрии с использованием окрашивания моноклональными антителами. Установлено, что НК-клетки, проинкубированные с Е₃ и *E.coli*, стимулируют образование Treg, а преобработка НК-клеток *L. plantarum* угнетает формирование Th17 из CD4⁺ лимфоцитов. В целом, регуляторные лимфоциты больных РС оказались более чувствительны к влиянию НК-клеток, чем клетки здоровых доноров.

Ключевые слова: НК-клетки, Treg, Th17, рассеянный склероз, эстриол, *E. coli*, *L. plantarum*

Для цитирования: НК-клетки, преобработанные эстриолом и клетками комменсальной флоры, регулируют созревание Treg и Th17 из CD4⁺ лимфоцитов у больных рассеянным склерозом и здоровых доноров / И. В. Некрасова, Н. С. Глебздина, И. Л. Масленникова, И. Ю. Данченко, С. В. Ширшев // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 1. С. 107–112. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-107-112>.

Благодарности: работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 22-25-00787, <https://rscf.ru/project/22-25-00787>.

IMMUNOLOGY

Original article

NK cells pretreated with estriol and commensal flora cells regulate the maturation of Treg and Th17 from CD4⁺ lymphocytes in multiple sclerosis patients and healthy donors

I. V. Nekrasova¹, N. S. Glebezdina¹, I. L. Maslennikova^{1, 2}, I. Yu. Danchenko²,
S. V. Shirshv¹

¹ Perm Federal Research Center UB RAS, Perm, Russia

² E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia
Corresponding author: Irina V. Nekrasova, nirina5@mail.ru

Abstract. Multiple sclerosis (MS) is an inflammatory chronic disease of the central nervous system, one of the pathogenetic mechanisms of which is an immune-mediated attack to the myelin sheath of nerve axons under the control of autoreactive T cells. NK cells, one of subtypes of ILC cells, have the ability to regulate autoimmune mechanisms through the production of cytokines or cytotoxic effects directly against effector cells, such as

autoreactive T cells or antigen-presenting cells. At the same time, they can also lyse microglial, astrocyte, and oligodendrocyte cells, indicating a dual function of NK cells in MS. The influence of the pregnancy hormone estradiol (E_2) and commensal microflora on the ability of NK cells to modulate the level of T regulatory (Treg) and IL-17-producing (Th17) lymphocytes from patients with multiple sclerosis (MS) in comparison with healthy donors was studied. To activate NK cells, *Escherichia coli* K12 and *Lactobacillus plantarum* 8R-A3 strains were used. The phenotype of Treg and Th17 cells was assessed by flow cytometry using monoclonal antibody staining. It was found that NK cells incubated with E_2 and *E. coli* stimulate the formation of Tregs, and pretreatment of NK cells with *L. plantarum* inhibits the formation of Th17 from $CD4^+$ lymphocytes. In general, regulatory lymphocytes from MS patients turned out to be more sensitive to the influence of NK cells than cells from healthy donors.

Keywords: NK cells, Treg, Th17, multiple sclerosis, estradiol, *E. coli*, *L. plantarum*

For citation: Nekrasova I. V., Glebezdina N. S., Maslennikova I. L., Danchenko I. Yu., Shirshov S. V. [NK cells pretreated with estradiol and commensal flora cells regulate the maturation of Treg and Th17 from $CD4^+$ lymphocytes in multiple sclerosis patients and healthy donors]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 1 (2024): pp. 107-112. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-1-107-112>.

Acknowledgments: the work was carried out within the Russian Science Foundation project № 22-25-00787, <https://rscf.ru/project/22-25-00787>.

Введение

Рассеянный склероз (РС) – это воспалительное хроническое заболевание центральной нервной системы, одним из патогенетических механизмов которого является иммуноопосредованная атака миелиновой оболочки нервных аксонов под управлением аутореактивных Т-клеток [Jadidi-Niaragh, Mirshafiey, 2011]. NK-клетки, один из подтипов ИЛС клеток, обладают способностью регулировать аутоиммунные механизмы посредством продукции цитокинов или цитотоксического действия непосредственно против эффекторных клеток, таких как аутореактивные Т-клетки или антигенпрезентирующие клетки. В то же время они также могут лизировать лиганды NKG2D микроглии, астроцитов и олигодендроцитов, что указывает на двойную функцию NK-клеток при РС. Кроме того, установлено, что NK-опосредованный контроль активности Т-клеток нарушен при РС, но может быть восстановлен путем лечения даклизумабом [Gross et al., 2016]. Также в одной из недавних работ показано, что ИЛС клетки презентуют Т-лимфоцитам пептидные фрагменты антигенов бактериального происхождения в комплексе с молекулами МНС II класса. Однако по причине того, что на мембране ИЛС клеток нет костимулирующих молекул, эта презентация носит толерогенный, а не активирующий характер. То есть ИЛС клетки учат Т-лимфоциты «не трогать» симбиотическую флору [Herworth et al., 2015]. При этом метаболиты бактерий, а также их пробиотические штаммы способны оказывать влияние на функциональные характеристики ИЛС [von Burg et al., 2015; Aziz, Bonavida, 2016].

Известно, что частота РС у женщин гораздо выше, чем у мужчин [Harbo, Gold, Tintore, 2013]. Установлено, что при беременности наблюдается ослабление проявлений Th1-опосредованных аутоиммунных патологий, в том числе РС [Pelfrey et al., 2005; Neuteboom et al., 2012]. Учитывая, что гестационный процесс сопровождается существенной гормональной перестройкой, можно предположить, что гормоны плаценты являются теми факторами, которые ослабляют течение РС. Одним из возможных кандидатов на роль регулятора функций иммунных клеток при РС является эстриол (E_3) [Sicotte, 2002; Voskuhl et al., 2016]. Его уровень возрастает с 7-й недели беременности вплоть до родов практически в 10 раз, в то время как у небеременных женщин E_3 продуцируется в очень малых количествах и практически не определяется. Показано, что данный гормон способен эффективно регулировать функции лейкоцитов как здоровых доноров, так и больных РС [Soldan et al., 2003; Ширшев, Некрасова, 2011; Papenfuss et al., 2011; Некрасова, Ширшев, 2013; Ширшев и др., 2017, 2018; Nekrasova, Shirshov, 2020].

Цель данной работы – исследовать влияние обработанных E_3 , а также стимулированных клетками комменсальной микрофлоры NK-клеток на регуляцию баланса Treg/Th17 лимфоцитов.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали кровь больных РС, согласно модифицированным диагностическим критериям МакДональда [McDonald et al., 2001], с ремитирующим типом течения заболевания, не подвергавшихся терапии препаратами, изменяющими течение РС, а также иммуномодулирующей терапии и находящихся в стадии клинической ремиссии (n=10), и здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста (n=10).

В градиенте плотности фиколл-верографина (1.077 г/мл) выделяли мононуклеары периферической крови (МПК), из которых затем методом иммуномагнитной сепарации выделяли NK-клетки и $CD4^+$ лимфоциты. Полученные NK-клетки инкубировали с E_3 в концентрациях, соответствующих уровням

данного гормона во время I и III триместров физиологически протекающей беременности – 2 и 20 нг/мл [Kase, Reyniak, 1985], в течение 48 ч. при 37°C в условиях 5% CO₂ в среде RPMI 1640 с добавлением 1 mM HEPES и 2 mM L-глутамин. В контрольные пробы вместо гормона вносили соответствующий растворитель.

В ряде проб для активации NK-клеток использовались штаммы *Escherichia coli* K12 и *Lactobacillus plantarum* 8R-A3. Бактерии (1×10⁶) выращивали в течение 18 ч. на LB и MRS бульоне соответственно при 37°C. Ночные культуры центрифугировали при 13 000 об/мин, бактерии ресуспендировали в 0.9% NaCl. Срок контакта с NK-клетками составлял 30 мин., после чего добавляли гентамицин (конечная концентрация 100 мкг/мл).

После обработки гормоном и/или бактериями NK-клетки культивировали в течение 48 ч. совместно с сингенными сепарированными лимфоцитами CD4⁺, у которых затем методом проточной цитометрии определяли экспрессию маркеров FOXP3 и RORγt (все антитела «Biolegend», США).

Статистический анализ проводили с использованием W критерия Вилкоксона. Результаты представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей Me (LQ; UQ).

Результаты и обсуждение

При исследовании влияния NK-клеток здоровых доноров на образование Treg установлено, что предобработка *E. coli*, в том числе в комбинации с E₃ вне зависимости от концентрации, способствовала генерации Treg при взаимодействии с NK-клетками. При этом предобработка E₃ и *L. plantarum* не приводила к статистически значимому изменению уровня данной субпопуляции регуляторных лимфоцитов (таблица).

Влияние NK-клеток, обработанных E₃ и бактериальными штаммами, на изменение процентного соотношения Treg и Th17 клеток у здоровых доноров и больных РС [Effect of NK cells treated with E₃ and bacterial strains on Treg and Th17 percentage in healthy donors and MS patients]

Воздействие	Здоровые доноры		Больные РС	
	CD4 ⁺ FoxP3 ⁺	CD4 ⁺ RORγt ⁺	CD4 ⁺ FoxP3 ⁺	CD4 ⁺ RORγt ⁺
Контроль	1.10 (0.65;1.72)	0.98 (0.60;1.23)	0.85 (0.51;1.00)	0.81 (0.23;2.96)
E ₃ (2 нг/мл)	1.85 (1.15;2.17)	0.67 (0.32;0.95)	1.98 (1.00;2.85)*	0.72 (0.22;1.60)
E ₃ (20 нг/мл)	1.23 (0.71;2.33)	1.79 (0.84;1.92)	1.97 (0.65;3.09)*	0.42 (0.20;0.76)
<i>L. plantarum</i>	1.70 (0.93;2.99)	0.47 (0.34;0.81)	1.05 (0.46;2.79)	0.27 (0.16;0.37)*
<i>L. plantarum</i> + E ₃ (2 нг/мл)	1.40 (0.47;2.44)	0.54 (0.40;0.72)	1.01 (0.63;1.50)	0.38 (0.11;0.56)*
<i>L. plantarum</i> + E ₃ (20 нг/мл)	1.48 (0.86;3.16)	0.96 (0.49;1.43)	0.88 (0.54;2.37)	0.31 (0.13;0.45)*
<i>E. coli</i>	2.90 (1.61;3.03)*	1.02 (0.58;1.30)	1.80 (0.92;3.87)*	0.35 (0.18;0.98)
<i>E. coli</i> +E ₃ (2 нг/мл)	2.82 (1.37;5.09)*	0.73 (0.27;1.18)	1.47 (0.92;2.54)*	0.27 (0.20;0.78)*
<i>E. coli</i> +E ₃ (20 нг/мл)	2.41 (1.93;4.57)*	0.90 (0.38;1.58)	1.54 (0.71;2.51)*	0.43 (0.18;0.60)

Примечание. * – p < 0.05 по сравнению с контролем.

В отношении способности NK-клеток больных РС влиять на изменение процентного соотношения Treg выявлено стимулирующее действие E₃ вне зависимости от используемой концентрации. Ранее нами показано, что E₃ способен стимулировать продукцию TGF-β сепарированными NK-клетками [Ширшев и др., 2016]. Известно, что данный цитокин способствует дифференцировке в направлении Treg [Xu, Kitani, Strober, 2010]. Как и в случае здоровых доноров, бактерии *E. coli* также способствовали увеличению количества Treg при взаимодействии с NK-клетками больных РС. В комбинации с E₃ вне зависимости от концентрации данное влияние бактериального штамма сохранялось (таблица).

При исследовании влияния NK-клеток здоровых доноров на образование Th17 значимых изменений не обнаружено. Статистически достоверный эффект получен только на клетках больных РС. Так, предобработка NK-клеток штаммом *L. plantarum*, в том числе в комбинации с E₃, способствует угнетению формирования Th17. Аналогичным действием обладает штамм *E. coli*, но лишь при совместном действии с E₃ (2 нг/мл). Сам гормон значимого влияния на изменение процента Th17 лимфоцитов не оказал (таблица).

Известно, что децидуальные NK-клетки способны как индуцировать Treg (при участии CD14⁺ клеток) [Vassa et al., 2010], так и угнетать образование Th17 [Fu et al., 2013]. По-видимому, гормон беременности E₃, как и клетки комменсальной микрофлоры, являются факторами, приводящими к формированию толерантного фенотипа NK-клеток, которые в свою очередь смещают баланс Th17/Treg в сторону последних.

Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что НК-клетки, преобработанные гормоном беременности E_3 и штаммами комменсальной микробиоты, способны к регуляции баланса Treg/Th17. При этом выявлены различия в действии исследуемых факторов. Так, НК-клетки, проинкубированные с E_3 и *E. coli* стимулируют образование Treg, а преобработка НК-клеток *L. plantarum* угнетает формирование Th17 из $CD4^+$ лимфоцитов. В целом, регуляторные лимфоциты больных РС оказались более чувствительны к влиянию НК-клеток, чем клетки здоровых доноров.

Список источников

1. Некрасова И.В., Ширшев С.В. Женские половые стероидные гормоны в регуляции ферментативной активности нейтрофилов // Доклады Академии наук. 2013. Т. 453, № 6. С. 690–693. DOI: 10.7868/S0869565213360231.
2. Ширшев С.В., Некрасова И.В. Комплексное исследование иммуномодулирующей активности эстриола // Иммунология. 2011. Т. 32, № 2. С. 72–74.
3. Ширшев С.В. и др. Влияние хорионического гонадотропина и эстриола на фенотип и функциональную активность НК-клеток // Физиология человека. 2016. Т. 42, № 5. С. 102–107. DOI: 10.7868/S0131164616050143.
4. Ширшев С.В. и др. Участие микроРНК в гормональных механизмах регуляции функций НК-клеток // Доклады Академии наук. 2017. Т. 474, № 1. С. 123–127. DOI: 10.7868/S0869565217130254.
5. Ширшев С.В. и др. Гормональная регуляция дифференцировки дендритных клеток тимуса // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018. Т. 165, № 2. С. 193–197.
6. Aziz N., Bonavida B. Activation of Natural Killer Cells by Probiotics // For Immunopathol. Dis. Therap. 2016. Vol. 7, № 1–2. P. 41–55. DOI: 10.1615/ForumImmunDisTher.2016017095.
7. Fu B. et al. Natural killer cells promote immune tolerance by regulating inflammatory TH17 cells at the human maternal-fetal interface // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. Vol. 110, № 3. P. E231–240. DOI: 10.1073/pnas.1206322110.
8. Gross C.C. et al. Alemtuzumab treatment alters circulating innate immune cells in multiple sclerosis // Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm. 2016. Vol. 3, № 6. P. e289. DOI: 10.1212/NXI.0000000000000289.
9. Harbo H.F., Gold R., Tintore M. Sex and gender issues in multiple sclerosis // Archive of Therapeutic Advances in Neurological Disorders. 2013. Vol. 6, № 4. P. 237–248. DOI: 10.1177/1756285613488434.
10. Hepworth M.R. et al. Immune tolerance. Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria-specific $CD4^+$ T cells // Science. 2015. Vol. 348, № 6238. P. 1031–1035. DOI: 10.1126/science.aaa4812.
11. Jadidi-Niaragh F., Mirshafiey A. Th17 cell, the new player of neuroinflammatory process in multiple sclerosis // Scandinavian Journal of Immunology. 2011. Vol. 74, № 1. P. 1–13. DOI: 10.1111/j.1365-3083.2011.02536.x.
12. Kase N.G., Reyniak J.V. Endocrinology of pregnancy // Mount Sinai Journal of Medicine. 1985. Vol. 52, № 1. P. 11–34.
13. McDonald W.I. et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for the International Panel on diagnosis of multiple sclerosis // Annals of Neurology. 2001. Vol. 50, № 1. P. 121–127. DOI: 10.1002/ana.1032.
14. Nekrasova I., Shirshov S. Estriol in regulation of cell-mediated immune reactions in multiple sclerosis // Journal of Neuroimmunology. 2020. Vol. 349C. P. 577421. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2020.577421.
15. Neuteboom R.F. et al. Pregnancy in multiple sclerosis: clinical and self-report scales // Journal of Neurology. 2012. Vol. 259. P. 311–317. DOI: 10.1007/s00415-011-6186-7.
16. Papenfuss T.L. et al. Estriol generates tolerogenic dendritic cells in vivo that protect against autoimmunity // Journal of Immunology. 2011. Vol. 186, № 6. P. 3346–3355. DOI: 10.4049/jimmunol.1001322.
17. Pelfrey C.M. et al. Effects of sex hormones on costimulatory molecule expression in multiple sclerosis // Journal of Neuroimmunology. 2005. Vol. 167, № 1–2. P. 190–203. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2005.06.014.
18. Sicotte N.L. et al. Treatment of multiple sclerosis with the pregnancy hormone estriol // Annals of Neurology. 2002. Vol. 52, № 4. P. 421–428. DOI: 10.1002/ana.10301.
19. Soldan S.S. et al. Immune modulation in multiple sclerosis patients treated with the pregnancy hormone estriol // Journal of Immunology. 2003. Vol. 171. P. 6267–6274. DOI: 10.4049/jimmunol.171.11.6267.
20. Vacca P. et al. Crosstalk between decidual NK and $CD14^+$ myelomonocytic cells results in induction of Tregs and immunosuppression // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. Vol. 107, № 26. P. 11918–11923. DOI: 10.1073/pnas.1001749107.
21. von Burg N. et al. Maintenance of Immune Homeostasis through ILC/T Cell Interactions // Front Immunol. 2015. Vol. 6. P. 1–13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00416>.

22. Voskuhl R.R. et al. Estriol combined with glatiramer acetate for women with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised, placebo-controlled, phase 2 trial // *Lancet Neurology*. 2016. Vol. 15, № 1. P. 35–46. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00322-1.

23. Xu L., Kitani A., Strober W. Molecular mechanisms regulating TGF- β -induced Foxp3 expression // *Mucosal Immunology*. 2010. Vol. 3, № 3. P. 230–238. DOI: 10.1038/mi.2010.7.

References

1. Nekrasova I.V., Shirshv S.V. Female sex steroid hormones in regulation of neutrophil enzymatic activity. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. V. 453, No. 1 (2013): pp. 312-315. doi: 10.1134/S1607672913060100.

2. Shirshv S.V., Nekrasova I.V. [The complex study of estriol immunomodulating activity]. *Immunologiya*. V. 32, No. 2 (2011): pp. 72-74. (in Russ.).

3. Shirshv S.V., Nekrasova I.V., Gorbunova O.L., Orlova E.G. The influence of chorionic gonadotropin and estriol on NK cell phenotype and functional activity. *Human Physiology*. V. 42. No. 5 (2016). pp. 554-558. doi: 10.1134/S0362119716050145.

4. Shirshv S.V., Nekrasova I.V., Gorbunova O.L., Orlova E.G., Maslennikova I.L. MicroRNA in hormonal mechanisms of regulation of NK cell function. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. V. 474, No. 1 (2017): pp. 168-172.

5. Shirshv S.V., Orlova E.G., Loginova O.A., Nekrasova I.V., Gorbunova O.L., Maslennikova I.L. Hormonal regulation of dendritic cell differentiation in the thymus. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. V. 165, No. 2 (2018): pp. 230-234. doi: 10.1007/s10517-018-4136-4.

6. Aziz N., Bonavida B. Activation of Natural Killer Cells by Probiotics. *Forum on Immunopathological Diseases and Therapeutics*. V. 7, No. 1-2 (2016): pp. 41-55. doi: 10.1615/ForumImmunDisTher.2016017095.

7. Fu B., Li X., Sun R., Tong X., Ling B., Tian Z. et al. Natural killer cells promote immune tolerance by regulating inflammatory TH17 cells at the human maternal-fetal interface. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. V. 110, No. 3 (2013): pp. E231-240. doi: 10.1073/pnas.1206322110.

8. Gross C.C. Ahmetspahic D., Ruck T., Schulte-Mecklenbeck A., Schwarte K., Jörgens S. et al. Alemtuzumab treatment alters circulating innate immune cells in multiple sclerosis. *Neurology Neuroimmunology and Neuroinflammation*. 2016. V. 3, No. 6 (2016): pp. e289. doi: 10.1212/NXI.0000000000000289.

9. Harbo H.F., Gold R., Tintore M. Sex and gender issues in multiple sclerosis. *Archive of Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. V. 6, No. 4 (2013): pp. 237-248. doi: 10.1177/1756285613488434.

10. Hepworth M.R., Fung T.C., Masur S.H., Kelsen J.R., McConnell F.M., Dubrot J. et al. Immune tolerance. Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria-specific CD4⁺ T cells. *Science*. V. 348, No. 6238 (2015): pp. 1031-1035. doi: 10.1126/science.aaa4812.

11. Jadidi-Niaragh F, Mirshafiey A. Th17 cell, the new player of neuroinflammatory process in multiple sclerosis. *Scandinavian Journal of Immunology*. V. 74, No. 1 (2011): pp. 1-13. doi: 10.1111/j.1365-3083.2011.02536.x.

12. Kase N.G., Reyniak J.V. Endocrinology of Pregnancy. *Mount Sinai Journal of Medicine*. V. 52, No. 1 (1985): pp. 11-34.

13. McDonald W.I., Compston A., Edan G., Goodkin D., Hartung H.P., Lublinet F.D. et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for the International Panel on diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of Neurology*. V. 50, No. 1 (2001): pp. 121-127. doi: 10.1002/ana.1032.

14. Nekrasova I., Shirshv S. Estriol in regulation of cell-mediated immune reactions in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. V. 349C (2020): p. 577421. doi: 10.1016/j.jneuroim.2020.577421.

15. Neuteboom R.F., Janssens A.C.J.W., Siepmann T.A.M., Hoppenbrouwers I.A., Ketelslegers I.A., Jafari N. et al. Pregnancy in multiple sclerosis: clinical and self-report scales. *Journal of Neurology*. V. 259 (2012): pp. 311-317. doi: 10.1007/s00415-011-6186-7.

16. Papenfuss T.L., Powell N.D., McClain M.A., Bedarf A., Singh A., Gienapp I.E. et al. Estriol generates tolerogenic dendritic cells in vivo that protect against autoimmunity. *Journal of Immunology*. V. 186, No. 6 (2011): pp. 3346-3355. doi: 10.4049/jimmunol.1001322.

17. Pelfrey C.M., Moldovan I.R., Cotleur A.C., Zamor N., Rudick R.A. Effects of sex hormones on costimulatory molecule expression in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. V. 167, No. 1-2 (2005): pp. 190-203. doi: 10.1016/j.jneuroim.2005.06.014.

18. Sicotte N.L., Liva S.M., Klutch R., Pfeiffer P., Bouvier S., Odesa S. et al. Treatment of multiple sclerosis with the pregnancy hormone estriol. *Annals of Neurology*. V. 52, No. 4 (2002): pp. 421-428. doi: 10.1002/ana.10301.

19. Soldan S.S., Alvarez-Retuerto A.I., Sicotte N.L., Voskuhl R.R. Immune modulation in multiple sclerosis patients treated with the pregnancy hormone estriol. *Journal of Immunology*. V. 171 (2003): pp. 6267-6274. doi: 10.4049/jimmunol.171.11.6267.

20. Vacca P., Cantoni C., Vitale M., Prato C., Canegallo F., Fenoglio D. et al. Crosstalk between decidual NK and CD14⁺ myelomonocytic cells results in induction of Tregs and immunosuppression. *Proceedings of the*

National Academy of Sciences of the United States of America. 2010. V. 107, No. 26 (2010). pp. 11918-11923. doi: 10.1073/pnas.1001749107.

21. von Burg N., Turchinovich G., Finke D. Maintenance of Immune Homeostasis through ILC/T Cell Interactions. *Frontiers in Immunology*. V. 6 (2015): p. 416. doi: 10.3389/fimmu.2015.00416.

22. Voskuhl R.R., Wang H., Wu T.C., Sicotte N.L., Nakamura K., Kurth F. et al. Estriol combined with glatiramer acetate for women with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *The Lancet Neurology*. V. 15, No. 1 (2016): pp. 35-46. doi: 10.1016/S1474-4422(15)00322-1.

23. Xu L., Kitani A., Strober W. Molecular mechanisms regulating TGF- β I-induced Foxp3 expression. *Mucosal Immunology*. V. 3, No. 3 (2010). pp. 230-238. doi: 10.1038/mi.2010.7.

Статья поступила в редакцию 21.11.2023; одобрена после рецензирования 27.12.2023; принята к публикации 05.03.2024.

The article was submitted 21.11.2023; approved after reviewing 27.12.2023; accepted for publication 05.03.2024.

Информация об авторах

Ирина Валерьевна Некрасова – nirina5@mail.ru, канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции;

Наталья Сергеевна Глебездина – glebezdina_n@mail.ru, канд. биол. наук, младший научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции;

Ирина Леонидовна Масленникова – i.maslennikova1974@gmail.com, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции;

Ирина Юрьевна Данченко – irene-dan@mail.ru, канд. мед. наук, ассистент кафедры неврологии и медицинской генетики;

Сергей Викторович Ширшев – shirshev@iegm.ru, д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией иммунорегуляции.

Information about the authors

Irina V. Nekrasova – nirina5@mail.ru, candidate of biology, researcher of laboratory of immunoregulation;

Natalia S. Glebezdina – glebezdina_n@mail.ru, candidate of biology, junior researcher of laboratory of immunoregulation;

Irina L. Maslennikova – i.maslennikova1974@gmail.com, candidate of biology, senior researcher of laboratory of immunoregulation;

Irina Yu. Danchenko – irene-dan@mail.ru, candidate of medicine, assistant of the department of neurology and medical genetics;

Sergey V. Shirshov – shirshev@iegm.ru, doctor of medicine, professor, head of laboratory of immunoregulation.

Вклад авторов:

Некрасова И. В. – проведение экспериментов, обработка материалов, написание текста статьи.

Глебездина Н. С. – проведение экспериментов, доработка текста статьи.

Масленникова И. Л. – работа с бактериальными культурами.

Данченко И. Л. – подбор доноров, сбор неврологического анамнеза.

Ширшев С. В. – научное руководство работой на всех этапах.

Contribution of the authors:

Nekrasova I. V. – conducting experiments, materials processing, writing the article.

Glebezdina N. S. – conducting experiments, revision of the article.

Maslennikova I. L. – work with bacterial cultures.

Danchenko I. L. – selection of donors, collection of neurological anamnesis.

Shirshov S. V. – scientific management of the work at all stages.

**Вестник Пермского университета.
Серия БИОЛОГИЯ =
2024. Выпуск 1**

**Bulletin of Perm University.
BIOLOGY
2024. Issue 1**

Научное издание

Редактор *А. С. Беляева*

Корректор *Е. Г. Ефимик*

Компьютерная верстка *С. А. Овеснова*

Подписано в печать 05.03.2024. Выход в свет 20.03.2024.

Формат 60×84/8. Усл. печ. л. 13,1. Тираж 29 экз. Заказ № 801.

Распространяется бесплатно.

Издательский центр Пермского государственного
национального исследовательского университета
614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15

Отпечатано с готового оригинал-макета в типографии издательства
Пермского национального исследовательского политехнического университета
614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29, к. 113.

Подписка на журнал осуществляется онлайн на сайте агентства «Урал-Пресс»

<https://www.ural-press.ru/catalog/97266/8940022/>

Подписной индекс 41000