

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY OF PLANTS

УДК 581.2
doi:10.21685/2307-9150-2022-2-1

Влияние различных концентраций ионов тяжелых металлов на каллусогенез и генерацию супероксидного анион-радикала в каллусах огурца и редиса

И. Д. Михайлова¹, А. С. Лукаткин²

¹АО «Биохимик», Саранск, Россия

²Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарёва, Саранск, Россия

¹irinamihajlova113@gmail.com, ²aslukatkin@yandex.ru

Аннотация. *Актуальность и цели.* Влияние тяжелых металлов (ТМ) на растения *in vivo* детально изучено в отличие от действия ТМ на культуры растительных клеток. В то же время известно, что ответные реакции на стресс у растений и в культуре клеток могут очень сильно различаться. В связи с этим необходимо подробное изучение устойчивости культур клеток *in vitro* к ТМ с последующей разработкой способов повышения металлоустойчивости растений. Цель исследования – изучить воздействие различных доз ионов ТМ – меди, никеля, цинка и свинца в среде культивирования на каллусообразование и генерацию супероксидного анион-радикала в каллусах огурца и редиса. *Материалы и методы.* В качестве объекта исследования были взяты каллусы огурца (*Cucumis sativus* L., сорт Единство) и редиса (*Raphanus sativus* L., сорт Красный великан). Эксперимент включал в себя получение каллусной культуры огурца и редиса с последующей пересадкой на среду Мурасиге – Скуга, содержащую соли ТМ в концентрациях от 10 мкМ до 1 мМ. Ионы тяжелых металлов в низких концентрациях стимулировали образование и рост каллусов, тогда как в высоких сильно угнетали каллусогенез и рост. Приведен ряд токсичности ТМ для каллусов редиса и огурца. *Результаты.* Длительное (4–6 недель) выращивание каллусных культур на средах с добавлением различных доз ионов ТМ дифференцированно влияло на скорость генерации супероксидного анион-радикала. *Выводы.* Выявлено неодинаковое влияние ионов ТМ и их концентраций на генерацию супероксида в каллусах огурца и редиса, что может свидетельствовать о процессах адаптации к ТМ культур *in vitro*.

Ключевые слова: огурец, редис, тяжелые металлы, каллус, рост, супероксидный анион-радикал

Для цитирования: Михайлова И. Д., Лукаткин А. С. Влияние различных концентраций ионов тяжелых металлов на каллусогенез и генерацию супероксидного анион-радикала в каллусах огурца и редиса // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 2. С. 3–11. doi:10.21685/2307-9150-2022-2-1

© Михайлова И. Д., Лукаткин А. С., 2022. Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 License / This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 License.

The effect of different concentrations of heavy metals ions on the callusogenesis and generation of superoxide cucumber and radish calluses

I.D. Mikhaylova¹, A.S. Lukatkin²

¹Joint-stock company “Biokhimik”, Saransk, Russia

²Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia

¹irinamihajlova113@gmail.com, ²aslukatkin@yandex.ru

Abstract. *Background.* The effect of heavy metals (HM) on plants *in vivo* has been studied in detail, in contrast to the effect of HM on plant cell cultures. At the same time, it is known that responses to stress in a plant and cell culture can vary greatly. In this regard, it is necessary to study in detail the resistance of cell cultures *in vitro* to HM, followed by the development of ways to increase the metal resistance of plants. The purpose of the work is to study the effect of various doses of HM – copper, nickel, zinc and lead ions in the culture medium on callus formation and generation of superoxide anion radical in cucumber and radish callus. *Materials and methods.* The callus of cucumber (*Cucumis sativus* L., variety Unity) and radish (*Raphanus sativus* L., variety Red Giant) were taken as the object of the study. The experiment included obtaining a callus culture of cucumber and radish, followed by transplantation to a Murashige-Skuga medium (MS) containing TM salts in concentrations from 10 µM to 1 mM. Ions of heavy metal in low concentrations stimulated the formation and growth of callus, while in high concentrations strongly inhibited callus formation and growth. A number of HM toxicity for radish and cucumber calluses is given. *Results.* Long-term (4-6 weeks) cultivation of callus cultures on media with the addition of various doses of HM ions had a differentiated effect on the rate of generation of superoxide anion radical. *Conclusions.* The unequal influence of HM ions and their concentrations on the generation of superoxide in cucumber and radish callus was revealed, which may indicate the processes of adaptation to HM cultures *in vitro*.

Keywords: cucumber, radish, heavy metals, callus, growth, superoxide anion

For citation: Mikhaylova I.D., Lukatkin A.S. The effect of different concentrations of heavy metals ions on the callusogenesis and generation of superoxide cucumber and radish calluses. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(2):3–11. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-2-1

Введение

В последнее время условия жизни растений усложняются в связи с глобальными климатическими процессами на Земле, которые сопровождаются усилением антропогенной нагрузки. В связи с этим возникает необходимость в точной оценке адаптивного потенциала культурных растений, которая невозможна без изучения их устойчивости и повреждения при стрессовых воздействиях окружающей среды [1].

Одним из токсикантов, действующих на культурные растения, являются ТМ, и их действие постоянно усиливается с возрастанием антропогенной нагрузки на экосистемы. Большинство овощных растений выращивается в непосредственной близости от городов, что может способствовать поступлению больших доз ТМ в растения, вызывающих нарушения физиологических процессов. Поэтому оценка резистентности к ТМ видов и сортов культурных растений имеет большое значение, особенно в плане повышения устойчиво-

сти посредством клеточной селекции [1, 2]. В результате клеточной селекции были получены газонные травы, устойчивые к ионам кадмия и свинца [2], растения-регенеранты сахарного тростника, обладающие устойчивостью к соли кадмия [3].

Использование культуры *in vitro* дает возможность изучения влияния стрессовых факторов на растение на клеточном уровне. Показано, что клеточные культуры являются хорошим объектом для решения задач оценки токсического действия ТМ на растительные объекты [1–3].

Известно, что действие некоторых ТМ (в частности, ионов меди) вызывает в растениях и клеточных культурах состояние окислительного стресса [4–6]. При этом выявлено повышение уровня генерации супероксидного анион-радикала ($O_2^{\bullet-}$), усиление интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ), изменение активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталазы, аскорбат-пероксидазы) [4, 5]. В суспензионной культуре клеток *Nicotiana tabacum* L. наблюдали быстрое концентрационно-зависимое накопление H_2O_2 , индуцированное избыточной концентрацией ионов Cu^{2+} (до 100 мкМ) [6].

В связи с этим целью работы было исследование эффектов различных доз ионов ТМ (меди, никеля, цинка и свинца) в среде культивирования на каллусообразование, рост и генерацию $O_2^{\bullet-}$ в каллусных культурах огурца и редиса.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования были взяты каллусы огурца (*Cucumis sativus* L., сорт Единство) и редиса (*Raphanus sativus* L., сорт Красный великан).

Эксперимент включал в себя следующие этапы:

1. Получение каллусной культуры. Выращенные из простерилизованных семян растения эксплантировали на питательную среду Мурасиге – Скуга (МС), содержащую 7,5 г/л агары с добавлением регуляторов роста 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) в концентрациях от 1 до 5 мг/л и 6-бензиламинопурина (6-БАП) в концентрациях от 0,5 до 2 мг/л;

2. Изучение влияния ТМ на каллусогенез огурца и редиса в эксперименте прямого помещения эксплантов (гипокотилей) на среду МС, дополнительно содержащую соли ТМ ($NiSO_4 \times 7H_2O$, $ZnSO_4 \times 7H_2O$, $CuSO_4 \times 5H_2O$, $Pb(NO_3)_2$) в концентрациях 10 мкМ, 0,1 мМ, 1 мМ, с последующей оценкой каллусогенеза и роста каллусов.

3. Пересадка полученных каллусов на среды МС с добавлением различных концентраций (10 мкМ, 0,1 мМ, 1 мМ) солей ТМ. Каллусы выращивали в течение 4–6 недель в термостате при температуре 21–22°C, после чего оценивали влияние различных доз тяжелых металлов на каллусы огурца и редиса, которое определяли по скорости генерации супероксидного анион-радикала [7]. В опытах было не менее 10 каллусов каждого варианта. В таблицах приведены средние из всех опытов с их стандартными ошибками.

Результаты

Влияние ТМ на каллусогенез и рост каллусов огурца и редиса

Для оценки влияния различных ТМ на образование и рост каллусов брали экспланты (гипокотиль) огурца и редиса и высаживали на среды МС с добавлением ионов ТМ; через четыре недели роста оценивали результат.

Ионы меди угнетающе действовали на каллусогенез в эксперименте с эксплантами огурца. Подобные реакции наблюдались в каллусных побегах *Daphne jasminea* [8], каллусах *Belamcanda chinensis* [9]. При высокой концентрации Cu^{2+} (1 мМ) нарастания каллуса не происходило; при более низких концентрациях ионов меди в среде наблюдалось незначительное увеличение каллусной культуры; во всех вариантах опыта цвет ткани менялся со светло-желтого на темно-желтый (рис. 1).

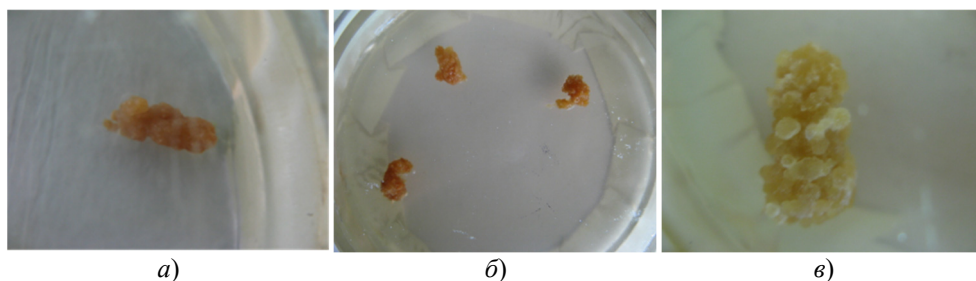


Рис. 1. Каллусогенез на эксплантах огурца на средах с разным содержанием ионов меди: а – 1 мМ; б – 0,1 мМ; в – 10 мкМ

Для каллусов редиса показано, что на среде, содержащей 1 мМ Cu^{2+} , они не росли и характеризовались очень слабым каллусогенезом; концентрация 0,1 мМ Cu^{2+} не оказала выраженного токсического эффекта на образование и рост каллусов; на среде с добавлением 10 мкМ Cu^{2+} экспланты редиса обрастали каллусом быстрее и сильнее относительно контроля, а пересадочные каллусы имели наибольший размер и более интенсивную окраску (рис. 2).

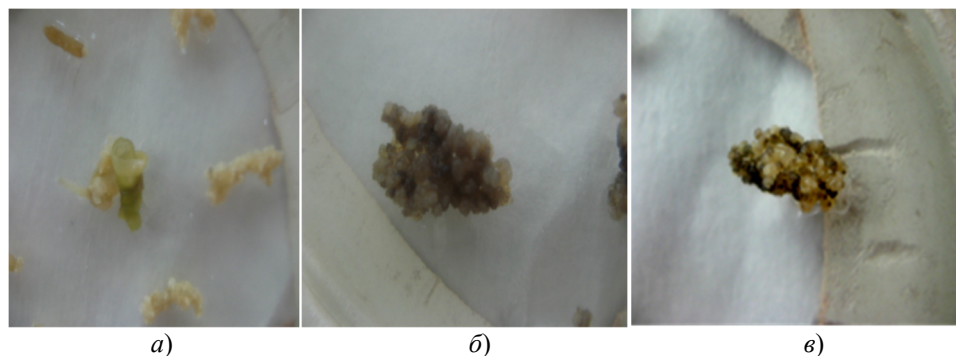


Рис. 2. Каллусогенез на эксплантах редиса на среде с содержанием ионов меди: а – 1 мМ; б – 0,1 мМ; в – 10 мкМ

У эксплантов огурца на среде с низким содержанием ионов Ni^{2+} наблюдали интенсивный каллусогенез (чего не происходило на средах с более высокой концентрацией никеля). Рост каллусной культуры огурца, пересаженной на среду МС, содержащую ионы никеля, практически не наблюдался, за исключением среды с низким содержанием Ni^{2+} . В опыте с редисом при добавлении в среду МС ионов Ni^{2+} в концентрации 1 мМ наблюдали замедленное образование каллусной ткани мелкозернистой структуры. Каллусы редиса, выращенные на среде с добавлением 1 мМ Ni^{2+} , имели больший размер по сравнению с каллусами, выращенными на среде с внесением 1 мМ Cu^{2+} , но

меньший по сравнению с контролем. Каллусы, выращенные на среде с добавлением 10 мкМ Ni^{2+} , существенно не отличались от таковых, выращенных на среде с добавлением ионов Cu^{2+} .

Ионы свинца не оказали негативного влияния на каллусогенез и рост каллусной ткани огурца, а в средней и низкой концентрациях даже стимулировали рост каллусной ткани. Концентрация 1 мМ Pb^{2+} приводила к угнетению роста каллусов огурца и изменению цвета каллусной культуры со светло-желтого до насыщенного желтого. У редиса не отмечено существенного подавления каллусогенеза на средах с добавлением ионов Pb^{2+} , как и роста каллусов. При этом рост каллусов редиса на среде с добавлением 10 мкМ Pb^{2+} незначительно отличался от контроля. Угнетение роста отмечено только при самой высокой дозе металла в среде 1 мМ, но в то же время каллусы редиса имели больший размер по сравнению с каллусами, выращенными на средах с добавлением ионов Cu^{2+} и Ni^{2+} .

Ионы цинка оказали весьма негативное действие на каллусогенез и рост каллусов огурца, вызывая отмирание клеток при высокой концентрации ионов, а в остальных концентрациях наблюдался лишь очень незначительный рост культуры клеток. Однако на каллусы редиса ионы Zn^{2+} оказали меньшее ингибирующее воздействие по сравнению с другими использованными ТМ. Каллусогенез редиса на средах с добавлением ионов Zn^{2+} проходил немного медленнее по сравнению с контролем, но заметного замедления роста каллусов отмечено не было (при всех использованных концентрациях).

На основании этого можно сделать заключение, что ТМ в низких концентрациях (очевидно, выступая в качестве микроэлементов) стимулируют образование и рост каллусов, тогда как в высоких сильно угнетают каллусогенез и рост. По негативному действию ТМ на каллусогенез и рост каллусов огурца их можно расположить в следующем порядке, начиная с самого токсичного: $\text{Zn}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Pb}^{2+}$. В то же время для редиса этот ряд выглядел несколько иначе: $\text{Cu}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$.

Скорость генерации супероксидного анион-радикала в каллусах овощных культур

На каллусных культурах огурца и редиса гипокотильного происхождения определяли эффекты длительного выращивания в присутствии ТМ в среде на генерацию одной из потенциально опасных активированных форм кислорода – супероксидного анион-радикала ($\text{O}_2^{\bullet-}$).

В каллусах огурца выявлена четкая прямая зависимость между концентрацией ионов цинка в среде и скоростью генерации $\text{O}_2^{\bullet-}$ (табл. 1). Это свидетельствует о неблагоприятном воздействии на каллусную культуру ионов цинка, вызывающих усиление генерации $\text{O}_2^{\bullet-}$ (и, следовательно, возникновение окислительного стресса) [7].

В то же время выявлено, что остальные ионы ТМ не оказали выраженного активирующего действия на генерацию супероксида в каллусной культуре огурца. Так, при внесении в среду ионов никеля скорость генерации $\text{O}_2^{\bullet-}$ была ниже контроля, и наименьшее значение (меньше контроля в 2 раза) наблюдалось при концентрации 1 мМ (см. табл. 1). Скорость генерации супероксидного анион-радикала в каллусах огурца, длительно выращиваемых на среде МС с добавлением ионов Cu^{2+} , была ниже контроля в 1,5–3 раза. Значе-

ния генерации $O_2^{\bullet-}$ в каллусах огурца на среде с внесением ионов Pb^{2+} находились на уровне контроля при низких концентрациях, но снижались в 2 раза относительно контроля при самой высокой концентрации 1 мМ. Можно предположить, что ионы Ni^{2+} , Cu^{2+} и Pb^{2+} не индуцировали окислительный стресс в каллусной культуре огурца.

Таблица 1

Скорость генерации $O_2^{\bullet-}$ в 4-недельных каллусах огурца при действии различных концентраций ТМ, % к водному контролю

Ионы ТМ	Концентрация ионов ТМ		
	10 мкМ	0,1 мМ	1 мМ
Ni^{2+}	$81,3 \pm 2,3$	$91,5 \pm 4,6$	$52,9 \pm 0,2$
Zn^{2+}	$115,4 \pm 1,7$	$134,9 \pm 3,7$	$169,7 \pm 2,8$
Cu^{2+}	$53,0 \pm 2,3$	$61,4 \pm 1,1$	$36,1 \pm 0,1$
Pb^{2+}	$99,4 \pm 3,1$	$93,0 \pm 1,6$	$64,3 \pm 1,2$

Таким образом, длительное выращивание каллусов огурца на средах с избытком ТМ в большинстве вариантов не индуцировало повышения генерации $O_2^{\bullet-}$ (за исключением ионов Zn^{2+}). Возможно, развивающаяся в условиях хронического действия ТМ культура клеток адаптируется к ТМ либо за счет селекционных процессов, либо путем биохимической адаптации [10, 11].

Аналогичные определения, проведенные на каллусных культурах редиса, дали совершенно иные результаты (табл. 2). Так, наибольшее увеличение (относительно контроля) скорости генерации $O_2^{\bullet-}$ было обнаружено в каллусных линиях редиса, выращенных на средах с добавлением ионов Pb^{2+} , максимально (в 1,5 раза) – при самой малой дозе свинца в среде. На средах с добавлением ионов Ni^{2+} и Cu^{2+} генерация $O_2^{\bullet-}$ была самой высокой при минимальной концентрации ионов (10 мкМ). Парадоксально, что увеличение концентраций ТМ в среде не индуцировало усиления генерации супероксида в каллусах редиса. А при внесении в среду ионов цинка реакция была полностью аномальной, поскольку при всех использованных концентрациях уровни $O_2^{\bullet-}$ были ниже контроля.

Таблица 2

Скорость генерации $O_2^{\bullet-}$ в 4-недельных каллусах редиса при действии различных концентраций ТМ, % к водному контролю

Ионы ТМ	Концентрация ионов ТМ		
	10 мкМ	0,1 мМ	1 мМ
Ni^{2+}	$124,8 \pm 0,6$	$93,9 \pm 0,1$	$107,9 \pm 0,4$
Zn^{2+}	$60,3 \pm 0,3$	$53,8 \pm 0,3$	$45,0 \pm 0,1$
Cu^{2+}	$132,9 \pm 0,1$	$88,4 \pm 0,2$	$123,0 \pm 0,1$
Pb^{2+}	$148,0 \pm 0,1$	$127,9 \pm 0,2$	$133,8 \pm 0,1$

Таким образом, несмотря на явно выраженное токсическое проявление ТМ на каллусогенез и рост каллусных культур огурца и редиса, отсутствие сильного окислительного стресса (судя по генерации супероксидного анион-радикала) в большинстве каллусов, длительно выращиваемых на различных

концентрациях ТМ, указывает на высокую вероятность акклимации клеточной популяции к токсическому действию ТМ. Это является подтверждением потенциальной возможности направленного повышения металлоустойчивости овощных культур посредством клеточной селекции.

Заключение

1. ТМ в низких концентрациях стимулировали образование и рост каллусов, тогда как в высоких сильно угнетали каллусогенез и рост. По токсическому действию ТМ на каллусогенез и рост каллусов можно расположить их в следующем порядке: $Zn^{2+} > Cu^{2+} > Ni^{2+} > Pb^{2+}$ (огурец), $Cu^{2+} > Ni^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+}$ (редис).

2. В каллусах огурца выявлено возникновение окислительного стресса при действии Zn^{2+} , причем между концентрацией ионов цинка в среде и скоростью генерации $O_2^{\bullet-}$ обнаружена прямая зависимость. В каллусах редиса, напротив, проявления окислительного стресса выявлены при действии ионов Pb^{2+} , а также самых малых или высоких концентраций Cu^{2+} и Ni^{2+} .

3. Длительное выращивание каллусов овощных культур на некоторых вариантах сред с внесением избыточных количеств ТМ не вызывало усиления генерации $O_2^{\bullet-}$, что может свидетельствовать о процессах адаптации клеток к ТМ.

Список литературы

1. Гладков Е. А. Биотехнологические методы получения растений, устойчивых к тяжелым металлам. 1. Сравнительная оценка токсичности тяжелых металлов для каллусных клеток и целых растений // Биотехнология. 2006. № 3. С. 79–82.
2. Гладков Е. А. Биотехнологические методы получения растений, устойчивых к тяжелым металлам. 2. Получение растений, толерантных к ионам кадмия и свинца // Биотехнология. 2006. № 4. С. 87–92.
3. Fornazier R. K., Ferreira R. R., Pereira G. J. [et al.]. Cadmium stress in sugar cane callus cultures: Effect of antioxidant enzymes // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2002. Vol. 71, № 2. P. 125–131.
4. Lukatkin A. S., Michailova I. D., Teixeira da Silva J. A. Prooxidative and antioxidative properties of cucumber (*Cucumis sativus* L.) callus *in vitro* and young *in vivo* plantlets in response to copper ions // Folia Horticulturae. 2013. Vol. 25, № 2. P. 141–151.
5. Lukatkin A., Egorova I., Michailova I. [et al.]. Effect of copper on pro- and antioxidative reactions in radish (*Raphanus sativus* L.) *in vitro* and *in vivo* // Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 2014. Vol. 28, № 1. P. 80–86.
6. Raeymaekers T., Potters G., Asard P. [et al.]. Copper-mediated oxidative burst in *Nicotiana tabacum* L. cv. Bright Yellow 2 cell suspension cultures // Protoplasma. 2003. Vol. 221, № 12. P. 93–100.
7. Лукаткин А. С. Вклад окислительного стресса в развитие холодового повреждения в листьях теплолюбивых растений. 1. Образование активированных форм кислорода при охлаждении растений // Физиология растений. 2002. Т. 49, № 5. С. 697–702.
8. Wiszniewska A., Muszyńska E., Kołton A. [et al.]. *In vitro* acclimation to prolonged metallic stress is associated with modulation of antioxidant responses in a woody shrub *Daphne jasminea* // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2019. Vol. 139. P. 339–357.
9. Zhu Y., Chen Y., Zhang X. [et al.]. Copper stress-induced changes in biomass accumulation, antioxidant activity and flavonoid contents in *Belamcanda chinensis* calli // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2020. Vol. 142. P. 299–311.

10. Huang G., Jin Y., Zheng J. [et al.]. Accumulation and distribution of copper in castor bean (*Ricinus communis* L.) callus cultures: *in vitro* // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (PCTOC). 2017. Vol. 128, № 1. P 177–186.
11. Cipriano R., Martins J. P. R., Conde L. T. [et al.]. Anatomical, physiological, and biochemical modulations of silicon in *Aechmea blanchetiana* (Bromeliaceae) cultivated *in vitro* in response to cadmium // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (PCTOC). 2021. Vol. 147. P. 271–285.

References

1. Gladkov E.A. Biotechnological methods for obtaining plants resistant to heavy metals. 1. Comparative assessment of toxicity of heavy metals for callus cells and whole plants. *Biotehnologiya = Biotechnology*. 2006;(3):79–82. (In Russ.)
2. Gladkov E.A. Biotechnological methods for obtaining plants resistant to heavy metals. 2. Production of plants tolerant to cadmium and lead ions. *Biotehnologiya = Biotechnology*. 2006;(4):87–92. (In Russ.)
3. Fornazier R.K., Ferreira R.R., Pereira G.J. [et al.]. Cadmium stress in sugar cane callus cultures: Effect of antioxidant enzymes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2002;71(2):125–131.
4. Lukatkin A.S., Michailova I.D., Teixeira da Silva J.A. Prooxidative and antioxidative properties of cucumber (*Cucumis sativus* L.) callus *in vitro* and young *in vivo* plantlets in response to copper ions. *Folia Horticulturae*. 2013;25(2):141–151.
5. Lukatkin A., Egorova I., Michailova I. [et al.]. Effect of copper on pro- and atioxidative reactions in radish (*Raphanus sativus* L.) *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2014;28(1):80–86.
6. Raeymaekers T., Potters G., Asard P. [et al.]. Copper-mediated oxidative burst in *Nicotiana tabacum* L. cv. Bright Yellow 2 cell suspension cultures. *Protoplasma*. 2003;221(12):93–100.
7. Lukatkin A.S. The contribution of oxidative stress to the development of cold damage in the leaves of thermophil plants. 1. Formation of activated oxygen species during plant cooling. *Fiziologiya rasteniy = Plant physiology*. 2002;49(5):697–702. (In Russ.)
8. Wiszniewska A., Muszyńska E., Kołton A. [et al.]. *In vitro* acclimation to prolonged metallic stress is associated with modulation of antioxidant responses in a woody shrub *Daphne jasmine*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (PCTOC). 2019;139:339–357.
9. Zhu Y., Chen Y., Zhang X. [et al.]. Copper stress-induced changes in biomass accumulation, antioxidant activity and flavonoid contents in *Belamcanda chinensis* calli. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (PCTOC). 2020;142:299–311.
10. Huang G., Jin Y., Zheng J. [et al.]. Accumulation and distribution of copper in castor bean (*Ricinus communis* L.) callus cultures: *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (PCTOC). 2017;128(1):177–186.
11. Cipriano R., Martins J.P.R., Conde L.T. [et al.]. Anatomical, physiological, and biochemical modulations of silicon in *Aechmea blanchetiana* (Bromeliaceae) cultivated *in vitro* in response to cadmium. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (PCTOC). 2021;147:271–285.

Информация об авторах / Information about the authors

Ирина Дмитриевна Михайлова
технолог, АО «Биохимик»,
(Россия, г. Саранск, ул. Васенко, 15А),

Irina D. Mikhaylova
Production engineer,
Joint-stock company “Biokhimik”
(15A Vasenko street, Saransk, Russia)

E-mail: irinamihajlova113@gmail.com

Александр Степанович Лукаткин

доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой ботаники,
физиологии и экологии растений,
Национальный исследовательский
Мордовский государственный
университет имени Н. П. Огарёва
(Россия, г. Саранск,
ул. Большевистская, 68)

E-mail: aslukatkin@yandex.ru

Aleksandr S. Lukatkin

Doctor of biological sciences, professor,
head of the sub-department of botany,
physiology and ecology of plants,
Ogarev Mordovia State University
(68 Bolshevistskaya street, Saransk, Russia)

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.

Поступила в редакцию / Received 22.06.2022

Поступила после рецензирования и доработки / Revised 06.07.2022

Принята к публикации / Accepted 30.07.2022

УДК 579.6/9:504.74.054
doi:10.21685/2307-9150-2022-2-2

Влияние загрязненности среды на морфометрические и биохимические показатели *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771)

Д. М. Гамидова¹, А. И. Рабаданова²

^{1,2}Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

¹djamka_90@mail.ru, ²ashty06@mail.ru

Аннотация. *Актуальность и цели.* Рост антропогенной нагрузки на водоемы из-за расширения агломераций способствует сокращению численности как редких, так и широко распространенных видов земноводных. Мы изучили особенности адаптаций озерной лягушки *Pelophylax ridibundus*, обитающей в городских водоемах, к антропогенному загрязнению на основе изучения ряда морфометрических и биохимических показателей. *Материалы и методы.* Для исследования использовали три водоема на территории г. Махачкалы с различной степенью загрязненности, на основе расчета коэффициента комплексности загрязненности среды. У половозрелых особей *P. ridibundus* после нереста снимали морфометрические промеры, измеряли массу тела, рассчитывали линейные индексы, определяли содержание общего белка, холестерина в тканях и глюкозы в крови. *Результаты.* В ходе исследования морфометрических параметров у *P. ridibundus* в загрязненной среде выявлено уменьшение морфометрических параметров тела, наличие размерно-весового полового диморфизма, отмечено увеличение размеров головы и конечностей у самок. Корреляционный анализ показал наличие отрицательной корреляции у самок между индексами $L/L.c.$ и F/T из загрязненных водоемов и положительную корреляцию из водоема с низкой степенью загрязнения. У самцов отмечена только положительная корреляция. По данным факторного дисперсионного анализа выявлено, что загрязнение среды влияет на снижение массы тела, содержание холестерина и глюкозы, а также повышение содержания общего белка в тканях *P. ridibundus* ($R^2 \geq 53 \%$, $p \leq 0,05$). На некоторые параметры влияет половая принадлежность, а также взаимодействие двух факторов. *Выводы.* Популяционная изменчивость массы тела и биохимических параметров у *P. ridibundus* в большей степени обусловлена загрязненностью среды, а изменчивость морфометрических показателей как внутри, так и между популяциями обусловлена комплексом факторов, где степень загрязненности среды влияет в меньшей степени.

Ключевые слова: *Pelophylax ridibundus*, адаптации, антропогенное загрязнение, морфометрические показатели, размерно-весовой половой диморфизм, биохимические показатели

Для цитирования: Гамидова Д. М., Рабаданова А. И. Влияние загрязненности среды на морфометрические и биохимические показатели *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 2. С. 12–25. doi:10.21685/2307-9150-2022-2-2

The effect of environmental pollution on *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) morphometric and biochemical parameters

D.M. Gamidova¹, A.I. Rabadanova²

^{1,2}Dagestan State University, Makhachkala, Russia

¹djamka_90@mail.ru, ²ashty06@mail.ru

Abstract. *Background.* The growth of anthropogenic pressure on water bodies due to the expansion of agglomerations contributes to the reduction in the abundance of both rare and widespread amphibian species. We studied the features of *Pelophylax ridibundus* adaptations living in urban water bodies to anthropogenic pollution based on the study of a number of morphometric and biochemical parameters. *Materials and methods.* For the study, three reservoirs were used on the territory of the city of Makhachkala with varying degrees of pollution, based on the calculation of the coefficient of complexity of environmental pollution. In mature *P. ridibundus*, after spawning, morphometric measurements were taken, body weight was measured, linear indices were calculated, and the content of total protein, cholesterol in tissues, and blood glucose was determined. *Results.* In the course of studying the morphometric parameters of *P. ridibundus* in a polluted environment, a decrease in the morphometric parameters of the body, the presence of size-weight sexual dimorphism, and an increase in the size of the head and limbs in females were noted. Correlation analysis showed the presence of a negative correlation in females between the *L/L.c.* and *F/T* indices from polluted water bodies and a positive correlation from a water body with a low degree of pollution. In males, only a positive correlation was noted. According to the factor analysis of variance, it was revealed that environmental pollution affects the decrease in body weight, cholesterol and glucose levels, as well as an increase in the total protein content in *P. ridibundus* tissues ($R^2 \geq 53 \%$, $p \leq 0.05$). Some parameters are also affected by gender, as well as the interaction of two factors. *Conclusions.* The population variability of body weight and biochemical parameters in *P. ridibundus* is largely due to environmental pollution, while the variability of morphometric parameters both within and between populations is due to a complex of factors, where the degree of environmental pollution affects to a lesser extent.

Keywords: *Pelophylax ridibundus*, adaptation, anthropogenic pollution, morphometric indicators, size-weight sexual dimorphism, biochemical parameters

For citation: Gamidova D.M., Rabadanova A.I. The effect of environmental pollution on *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) morphometric and biochemical parameters. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(2):12–25. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-2-2

Введение

Оценка состояния видов и отдельных популяций, подвергающихся воздействию ксенобиотиков, с помощью методологических приемов является крайне важной в связи с наметившейся в последние годы тенденцией к сокращению численности многих видов животных [1–4]. Доминирующим фактором, вызывающим деградацию многих экосистем в биосфере, является техногенное загрязнение, которое рассматривается как мощный фактор отбора, формирующий адаптивные особенности организмов, в том числе земноводных [3–8]. Перспективными объектами биоиндикационных исследований считаются популяции бесхвостых земноводных [9–11]. Оценку их состояния можно осуществлять с использованием морфометрических и биохимических

параметров [11, 12]. В ряде исследований получены противоречивые результаты о влиянии политоксикантов на размеры особей в популяциях загрязненных водоемов. Одни авторы отмечают уменьшение размеров тела [13, 14], другие – их увеличение в загрязненных биотопах [15]. Отмечено, что в антропогенно нарушенных местообитаниях у амфибий наблюдаются различные адаптивные реакции, связанные с изменением интенсивности обменных процессов [11]. Это также связывают с разным составом политоксикантов в каждом из загрязненных водоемов [16]. В связи с этим изучение адаптивных механизмов земноводных является актуальным [11, 16]. Накопление сведений по этой проблеме будет способствовать разработке приемов и методов сохранения популяций земноводных, населяющих различные биотопы и биоиндикации.

Озерная лягушка *Pelophylax ridibundus* является широко распространенным видом в Дагестане. Она населяет различные антропогенные и естественные водоемы. В последние десятилетия отмечено сокращение численности как редких, так и широко распространенных видов в ряде местообитаний [17]. Этому способствуют усиление аридизации региона и рост антропогенной нагрузки на водоемы из-за расширения агломераций. В связи с этим актуальным является вопрос о влиянии степени загрязненности среды обитания на адаптивные механизмы *P. ridibundus*.

Цель настоящего исследования – изучить особенности адаптации *P. ridibundus*, обитающих в городских водоемах, к антропогенному загрязнению на основе изучения ряда морфометрических и биохимических показателей.

Материалы и методы

Для исследования использованы три водоема на территории г. Махачкалы с различной степенью загрязненности, в которых отлавливали половозрелых особей *P. ridibundus*, в период размножения (табл. 1).

Таблица 1
Характеристика нерестовых водоемов озерной лягушки и объем материала

Номер водоема	Места отлова	Тип водоема	Год исследования	Число особей		K_{ff} (%)
				♀	♂	
1	Озеро Ак-Гель	Природный	2019/2020	12	10	18,4
2	ул. Гапцахская	Искусственный	2020/2021	14	12	38,9
3	ул. Коргмасова	Искусственный	2020/2021	16	20	11,1

Степень загрязненности водоемов определялась на основе расчета коэффициента комплексности загрязненности воды (K_{ff}) по формуле [18]

$$K_{ff} = \frac{N'_{ff}}{N_{ff}} \cdot 100 \%,$$

где N'_{ff} – количество нормируемых ингредиентов и показателей качества воды, содержание или значение которых превышают соответствующие им ПДК; N_{ff} – общее количество нормируемых ингредиентов и показателей качества воды, определенных в результате анализа.

Исследуемые водоемы являлись зимовальными и кормовыми для *P. ridibundus*, со средней площадью 45 м² и глубиной 1,5 м. Низкая степень загрязнения в третьем водоеме обусловлена поступлением пресной воды из близлежащих водопроводных труб. Второй водоем с высокой степенью загрязнения расположен рядом с многоэтажными новостройками. Источниками загрязнения в нем являлись отходы как бытового, так и промышленного характера. Первый водоем со средней степенью загрязнения вытекает из оз. Ак-Гель, в котором в последнее время специалистами обнаружен замор рыбы в связи со снижением концентрации кислорода в воде, причина которого пока не установлена.

Морфологические промеры снимали по стандартным методикам [19]. Для самок и самцов в каждом исследуемом водоеме получены морфометрические промеры (L – длина тела, $L.c.$ – длина головы, F – длина бедра, T – длина голени) с помощью электронного штангенциркуля Electronic Digital caliper "Deko" (Китай) с точностью 0,1 мм. Оценку линейных параметров проводили по индексам ($L/L.c.$, L/T , F/T , $L/F+T$). Массу тела половозрелых особей (самок после нереста) определяли на электронных весах «Масса-К», (Россия) с погрешностью 0,05 г. Для более точного результата массы тела оценивали наполненность желудков у особей при вскрытии.

Для выявления связи между изменениями пропорций тела и скорости разных видов обмена определяли количество общего белка [20], холестерина (мМ/г) [21] в 10 % гомогенате печени (соединительная ткань) и глюкозы (мМ/л) в крови экспресс-методом с помощью тест-полосок Accu-check.

Снятие морфометрических промеров и декапитация животных для изъятия печени были проведены сразу после отлова, с соблюдением всех этических норм работы с животными, установленными Комиссией по биоэтике ДГУ.

Различия между самцами и самками в пределах одного водоема и между популяциями определяли в результате дисперсионного анализа данных в программе Excel 10 и Statistica 10. Достоверность различий оценивалась с использованием критерия Стьюдента (t), для выборок с нормальным распределением ($p < 0,05$). Рассчитывали среднее арифметическое по каждому морфометрическому параметру (Mean и стандартное отклонение SD). Нормальность распределения оценивали критериями Шапиро – Уилка, асимметрии и эксцесса. Для выборок, распределение которых не является нормальным, использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Рассчитанные значения приводили в виде медианы (Me). Рассчитывали коэффициент корреляции (r) и коэффициент вариации (CV). Влияние степени загрязненности на самцов и самок определяли на основе факторного дисперсионного анализа (ANOVA).

Результаты исследования и обсуждение

Степень загрязненности обусловлена превышением предельно допустимой концентрации хлоридов, сульфатов, анионных поверхностно-активных веществ, солей тяжелых металлов, а также общей жесткостью воды. При этом стоит отметить, что во всех исследуемых водоемах была отмечена слабощелочная реакция воды ($pH = 7,7$). Так, по данным коэффициента комплексности загрязненности воды (K_{ff}) нами установлено, что самый вы-

сокий процент загрязненности наблюдается во втором водоеме (38,9 %), тогда как в первом и в третьем он значительно ниже (18,4 и 11,1 % соответственно) (табл. 1).

В табл. 2 приводятся данные морфометрических показателей самцов и самок трех исследуемых водоемов.

Таблица 2

Популяционная изменчивость массы тела (г),
и морфометрических показателей (мм), *Pelophylax ridibundus*
из различных мест обитания между выборками и особями разного пола

Водоемы		Параметры тела, $M \pm SD$				
		<i>m</i>	<i>L</i>	<i>L.c.</i>	<i>F</i>	<i>T</i>
1	♀	<u>28,5 ± 4,4</u>	78,9 ± 3,3*	22,9 ± 3,3*	38,3 ± 2,5*	29,3 ± 4,1
	♂	<u>31,2 ± 1,6*</u>	<u>79,1 ± 2,5*</u>	23,9 ± 5,4*	30,6 ± 2,7*	40,4 ± 4,2*
2	♀	26,9 ± 1,8	64,1 ± 5,8	19,4 ± 2,4	24,8 ± 3,5	30,9 ± 2,2
	♂	13,6 ± 2,1	49,5 ± 4,4*	17,2 ± 1,3	20,3 ± 3,2	26,3 ± 2,7
3	♀	42 ± 1,1*	77,4 ± 1,4*	21,5 ± 2,7*	29,8 ± 0,6*	33 ± 5,3
	♂	42,6 ± 1,3*	71,3 ± 4,6*	21,2 ± 0,4*	30,9 ± 6,6*	35,7 ± 6,5*

Примечания: *m* – масса тела; *L* – длина тела; *L.c.* – длина головы; *F* – длина бедра; *T* – длина голени; *M* – среднее значение; *SD* – стандартное отклонение. Жирным шрифтом выделены статистически значимые половые различия в пределах популяции, ($p < 0,05$); * – относительно второй популяции, ($p < 0,05$); _ относительно третьей популяции, ($p < 0,05$).

Как видно из табл. 2, достоверно значимые половые размерно-весовые различия по всем исследуемым показателям обнаружены во втором водоеме с высокой степенью загрязнения (38,9 %). При этом следует отметить, что достоверно крупными оказались самки. В первом водоеме со средней степенью загрязнения (18,4 %) различия отмечены только по показателям длины бедра и голени (табл. 2). Эти различия не были обнаружены у особей из третьего водоема с наименьшей степенью загрязнения (11,1 %), за исключением достоверно значимого увеличения длины туловища у самок. Это свидетельствует о наличии половых различий в размерно-весовых показателях между особями в загрязненных и отсутствии их в относительно чистых водоемах.

Сравнение морфологических промеров самцов и самок в исследуемых водоемах показало статистически значимые различия по большинству показателей у особей из второго водоема, с высокой степенью загрязнения (табл. 2, рис. 1). Так, длина туловища у особей из этого водоема ниже в среднем на 18,0 % у самок и 33,5 % у самцов. Длина головы ниже в среднем на 23 % у самцов и на 12,5 % у самок. Длина бедра у самок и самцов ниже на 16,7 и 34,3 %, чем в третьем, и на 33,2 %, чем в первом. Длина голени ниже в среднем на 31 % у самцов. Достоверно значимые отличия отмечены и при сравнении показателей массы тела особей из исследуемых популяций относительно третьего водоема. Так, масса самок в третьем водоеме выше на 32,3 и 37,0 %, а самцов на 26,7 и 68,0 %, чем в первом и втором соответственно. Большинство статистических отличий по исследуемым показателям свидетельствуют о быстром приспособлении лягушек к загрязненной среде изменением пропорций тела.

Для выявления связи между степенью загрязненности среды и размерно-весовыми показателями был проведен двухфакторный дисперсионный анализ (рис. 1).

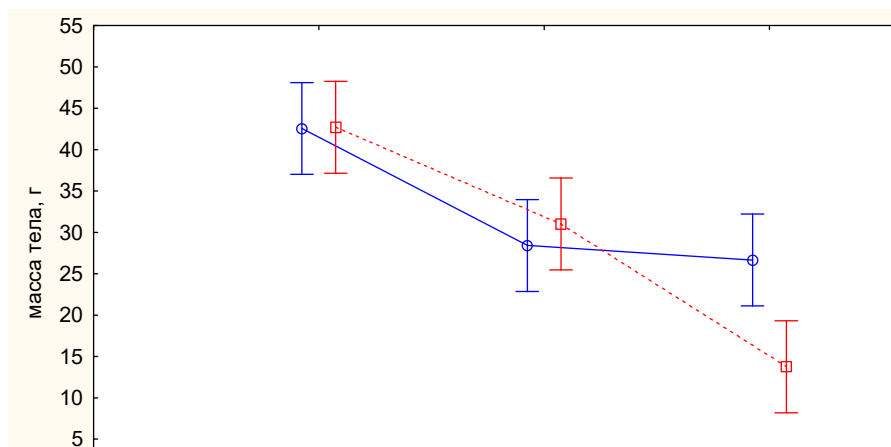


Рис. 1. Изменчивость массы тела (г) *Pelophylax ridibundus* в зависимости от степени загрязнения водоема ($p \leq 0,05$)

Следует отметить, что фактор – степень загрязненности среды проявляется в изменении массы тела с долей влияния $R^2 = 53\%$ ($p < 0,05$), но он не влияет на линейные параметры и индексы ($p > 0,05$). Как видно из рис. 1, с увеличением степени загрязненности отмечается достоверная тенденция снижения массы тела у самцов *P. ridibundus*. Вероятно, это напрямую обусловливает связь с включениями быстрых приспособительных механизмов для осуществления репродуктивной функции в данных условиях среды. А это в свою очередь может привести к изменению плодовитости как важного репродуктивного показателя.

Полученные результаты согласуются с данными других исследователей. Так, по мнению А.Н. Мисюры [15], наступление половозрелости у лягушек на урбанизированных участках, подверженных наибольшему антропогенному воздействию, происходит раньше, чем на умеренно или слабо трансформированных участках. В связи с этим половозрелые животные не достигают больших размеров. Меньшие размеры амфибий в загрязненных водоемах Т. Ю. Пескова [16] объясняет накоплением токсических веществ в организме, а также и ухудшением кормовой базы, т.е. данные размеры являются следствием неблагоприятных условий существования.

Для более точной оценки изменений пропорций тела нами изучены морфометрические индексы у *P. ridibundus* из исследуемых водоемов (табл. 3, рис. 2).

Как видно из рис. 2, результаты исследования морфометрических индексов также показывают, что в исследуемых водоемах скорость роста отдельных линейных параметров разная. Так, индекс $L/L.c.$ показал, что во втором водоеме у самок достоверно увеличивается длина головы, а в первом и третьем преобладают достоверно коротконогие самки (L/T). Вероятно, увеличение размеров голени у самок в загрязненной среде носит приспособительный характер в связи с быстрым переходом к размножению с малыми размерами тела.

Морфометрические индексы тела *Pelophylax ridibundus*
из различных мест обитания между выборками и особями разного пола

Водоемы		Индексы тела, $M \pm SD$			
		<i>L/L.c.</i>	<i>L/T</i>	<i>F/T</i>	<i>L/(F + T)</i>
№ 1	♀	3,4 ± 0,3	2,6 ± 0,1	1,3 ± 0,4	1,2 ± 0,1
	♂	3,3 ± 0,2	1,9 ± 0,1	0,7 ± 0,1	1,2 ± 0,1
№ 2	♀	3,3 ± 0,2	2,1 ± 0,3	0,8 ± 0,1	1,2 ± 0,2
	♂	2,8 ± 0,2	1,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	1,1 ± 0,1
№ 3	♀	3,6 ± 0,2	2,3 ± 0,2	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,1
	♂	3,3 ± 0,2	1,9 ± 0,2	0,8 ± 0,1	1,1 ± 0,1

Примечания. *L* – длина тела; *L.c.* – длина головы; *F* – длина бедра; *T* – длина голени; *M* – среднее значение; *SD* – стандартное отклонение. Жирным шрифтом выделены статистически значимые половые различия в пределах популяции, ($p < 0,05$).

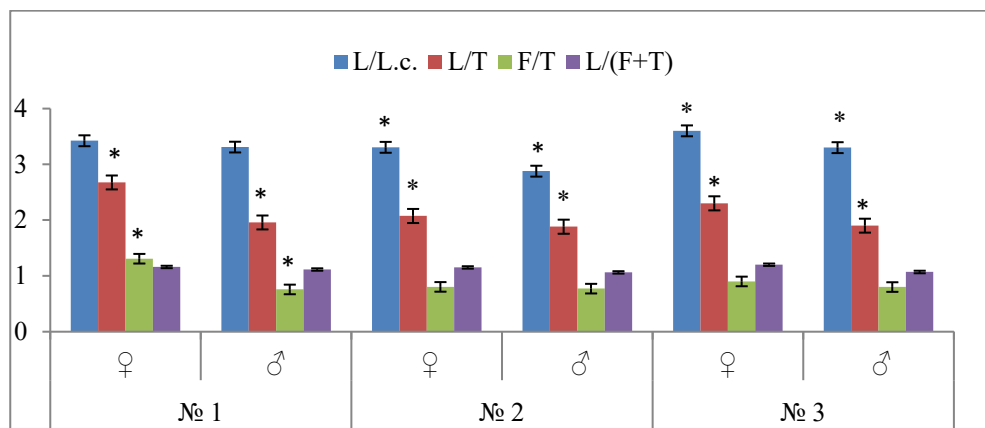
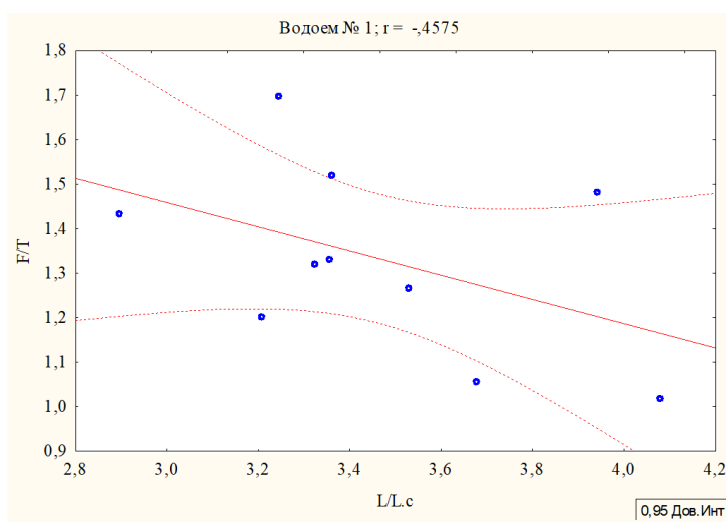


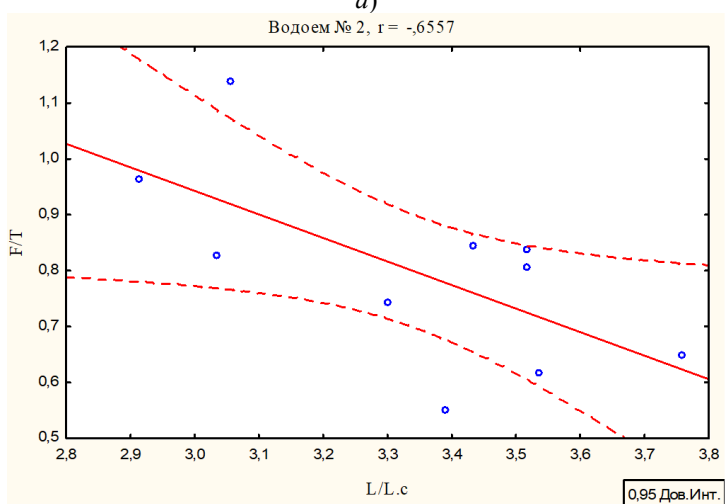
Рис. 2. Изменчивость морфологических индексов *Pelophylax ridibundus* из исследованных (1–3) водоемов: * – обозначены достоверные половые различия согласно критерию Стьюдента ($p < 0,05$)

В связи с выявленными достоверно значимыми отличиями между морфометрическими параметрами и индексами тела в исследуемых водоемах нами был проведен корреляционный анализ между линейными индексами *L/L.c.* и *F/T* для выявления взаимосвязи в соотношении роста параметров тела и конечностей (рис. 3).

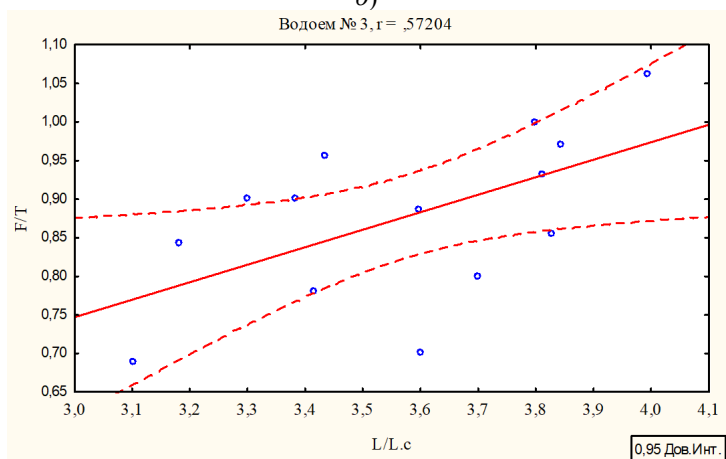
Как видно из рис. 3, корреляционный анализ между индексами *L/L.c.* и *F/T* *P. ridibundus* показал среднюю отрицательную линейную корреляцию у самок в водоемах со средней и высокой степенью загрязнения ($r = -0,5$; $-0,7$, ($p < 0,05$)) и положительную корреляционную связь в водоеме с низкой степенью ($r = 0,6$, ($p < 0,05$)). У самцов отмечалась средняя положительная корреляция ($r = 0,5$, ($p < 0,05$)) во всех исследуемых водоемах. Появление отрицательной корреляционной связи в загрязненной среде также подтверждает наличие быстрых приспособительных механизмов у самок (увеличение размеров голени в ответ на уменьшение размеров туловища) для улучшения репродуктивных показателей. По имеющимся литературным данным разные формы антропогенного воздействия могут вызвать разнонаправленные реакции в популяциях одного вида [16].



а)



б)



в)

Рис. 3. Корреляционный анализ между $L/L.c$ и F/T у самок *Pelophylax ridibundus* из исследованных (1–3) водоёмов

В трех исследуемых водоемах нами обнаружена разная интенсивность протекания белкового, жирового и углеводного обменов. Результаты по исследованию содержания общего белка, холестерина и глюкозы представлены в табл. 4.

Таблица 4

Популяционная изменчивость биохимических параметров *Pelophylax ridibundus* из различных мест обитания ($n = 10$)

Водоемы		Общий белок, (ммоль/г)	Холестерин, (ммоль/г)	Глюкоза, (ммоль/л)
№ 1	♀	$Me = 15,8^*$ (63 %)	$M \pm SD$ $4,4 \pm 0,4^*$	$Me = 1,5$ (1 %)
	♂	$Me = 19,4^*$ (96 %)	$M \pm SD$ $4,7 \pm 0,4^*$	$Me = 1,4$ (5 %)
№ 2	♀	$M \pm SD$ $19,4 \pm 0,3$	$M \pm SD$ $3,4 \pm 0,3$	$Me = 3,0$ (16 %)
	♂	$M \pm SD$ $17,4 \pm 0,2$	$M \pm SD$ $3,3 \pm 0,1$	$Me = 1,9$ (21,9 %)
№ 3	♀	$Me = 14,5^*$ (92 %)	$M \pm SD$ $5,5 \pm 0,4^*$	$M \pm SD$ $4,0 \pm 1,3^*$
	♂	$Me = 15,7^*$ (92 %)	$M \pm SD$ $5,6 \pm 0,1^*$	$M \pm SD$ $4,7 \pm 1,5^*$

Примечания: M – среднее значение; SD – стандартное отклонение; Me – медиана; % – коэффициент вариации (CV). Жирным шрифтом выделены статистически значимые половые различия, ($p < 0,05$); * – относительно второй популяции, ($p < 0,05$); _ – относительно третьей популяции, ($p < 0,05$)

Как видно из табл. 4, достоверные отличия между популяциями отмечены по всем параметрам, за исключением содержания глюкозы в крови у самок из второго водоема. Достоверные отличия по содержанию общего белка между особями отмечены во всех исследуемых водоемах и имеют разнонаправленный характер. Следует отметить, что средняя корреляционная связь между содержанием общего белка и массой тела отмечена только у самок из третьего водоема ($r = 0,6$, $p < 0,05$).

Сравнение показателя общего белка между самцами и самками в трех исследуемых водоемах показало значимые различия с достоверно повышенными значениями этого параметра в загрязненной среде в большей степени у самок, чем у самцов. Так, значения были выше у самок на 34,4 % во втором водоеме, а у самцов на 26,6 и 14,2 % в первом и втором водоеме соответственно (см. табл. 3). Значимые отличия по содержанию холестерина и глюкозы выявлены между водоемами с достоверно пониженными значениями в первом и втором. Так, у лягушек в этих водоемах содержание холестерина и глюкозы в печени уменьшается почти в два раза (табл. 3). Такие показатели могут носить компенсаторный характер приспособлений во всех сравниваемых средах, что обеспечивает лучшее выживание лягушек. Влияние загрязненности среды на биохимические показатели *P. ridibundus* подтверждается данными дисперсионного анализа. Однако следует отметить, что изменения содержания общего белка связаны еще и с половыми различиями, а также взаимодействием этих двух факторов. Изменения содержания холестерина также обусловлены взаимодействием степени загрязненности и пола (рис. 4).

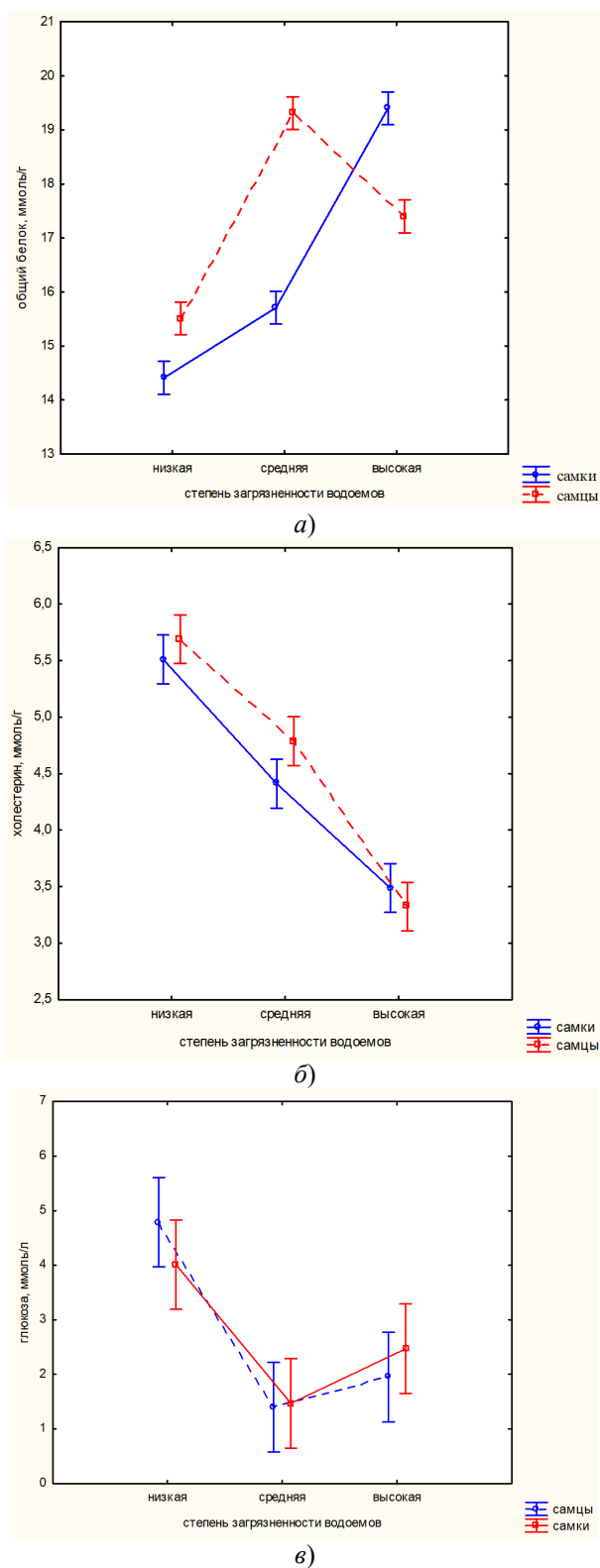


Рис. 4. Изменчивость общего белка (а), холестерина (б) и глюкозы (в) *Pelophylax ridibundus* в зависимости от степени загрязненности среды, ($p \leq 0,05$)

Результаты наших данных подтверждаются литературными, по которым известно, что увеличение концентрации общего белка происходит при адаптации к загрязненной окружающей среде, стабилизации метаболизма и некотором уровне адаптации амфибий к фактору загрязнения [22], при обезвоживании организма, а также острых и хронических инфекционных поражениях тканей [23]. Помимо этого, установлено, что увеличение количества белков и холестерина в мембранах клеток органов и тканей способствует меньшему проникновению токсикантов в организм за счет увеличения массы мембран клеток кожи [12]. Снижение глюкозы может свидетельствовать о некачественной кормовой базе лягушек из загрязненных сред обитания [16].

Заключение

Таким образом, степень загрязненности среды напрямую влияет на изменения массы тела, содержание общего белка, холестерина и глюкозы у *P. ridibundus*, что отражается в результатах дисперсионного анализа ($R^2 \geq 70\%$, $p \leq 0,05$). Для параметров массы тела, общего белка и холестерина эти изменения также обусловлены взаимодействием степени загрязненности среды и половых различий ($p \leq 0,05$). Все остальные изменения: уменьшение морфометрических параметров тела, наличие размерно-весаго полового диморфизма в загрязненной среде – проявляются под воздействием другого комплекса факторов. На возникновение приспособлений в загрязненной среде, связанных с изменением пропорций тела у самок, указывает наличие отрицательной корреляционной связи между линейными индексами $L/L.c.$ и F/T , в то время как в относительно чистой среде она положительная. Из вышесказанного следует, что популяционная изменчивость массы тела и биохимических параметров у *P. ridibundus* в большей степени обусловлена загрязненностью среды, а изменчивость морфометрических показателей как внутри, так и между популяциями обусловлена комплексом факторов, где степень загрязненности среды влияет в меньшей степени.

Список литературы

1. Вершинин В. Л., Терешин С. Ю. Физиологические показатели амфибий в экосистемах урбанизированных территорий // Экология. 1999. № 4. С. 283–287.
2. Blaustein A. R., Kiesecker J. M. Complexity in conservation: Lessons from the global decline of amphibian populations // Ecology Letters. 2002. № 5. P. 598–608.
3. Скоркина М. Ю., Липунова Е. А. Система крови как скрининг-тест экологического состояния окружающей среды // Проблемы региональной экологии. 2009. № 1. С. 147–150.
4. Hayes T. B., Falso P., Gallipeau S., Stice M. The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's perspective // Journal of Experimental Biology. 2010. № 213. P. 921–933.
5. Houlahan J. E., Findlay C. S., Schmidt B. R. [et al.]. Quantitative evidence for global amphibian population declines // Nature. 2000. Vol. 404. P. 752–755.
6. Gardner T. Declining amphibian populations: a global phenomenon in conservation biology // Animal Biodiversity and Conservation. 2001. № 24. P. 25–44.
7. Файзулин А. И. Влияние техногенного загрязнения тяжелыми металлами и урбанизации на морфофизиологические показатели популяций озерной лягушки (*Rana ridibundus*) // Вестник Томского государственного университета. 2013. Т. 18, № 3. С. 122–134.
8. Романова Е. Б., Рябинина Е. С., Ляпков С. М. Размерные, Возрастные, Фенетические, Морфофизиологические И Цитогенетические Характеристики Популяций

- Озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus*) (Amphibia, Ranidae) Загрязненных Термальных Водоемов Камчатки // Зоологический журнал. 2020. Т. 99, № 8. С. 924–937.
9. Шварц С. С. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных. Свердловск, 1968. 386 с.
 10. Baraquet M. Intraspecific variation in erythrocyte sizes among populations of *Hypsibos cordobae* (Anura: Hylidae) // Acta Herpetologica. 2013. № 8. P. 93–97.
 11. Замалетдинов Р. И., Назаров Н. Г., Свинин А. О. [и др.]. Биохимические особенности периферической крови особей прудовой лягушки *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882) из популяций, населяющих водоемы города Казани // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2019. № 1. С. 41–49.
 12. Романова Е. Б., Николаев В. Ю., Гелашвили Д. Б. Экологические аспекты организации иммунной системы амфибий // Современная герпетология. 2014. Т. 14, № 3/4. С. 126–133.
 13. Кубанцев Б. С., Жукова Т. И. Некоторые экологические результаты антропогенных воздействий на популяции и среду обитания озерной лягушки // Экология. 1982. № 6. С. 46–51.
 14. Жукова Т. И., Кубанцев Б. С., Бурлаченко Т. Л. Некоторые реакции популяций озерной лягушки на пестицидное загрязнение водоемов // Антропогенные воздействия на популяции животных. Волгоград : Изд-во Волгоград. гос. пед. ин-та, 1986. С. 61–81.
 15. Мисюра А. Н. Некоторые морфофизиологические и экологические особенности зеленой жабы в условиях урбанизации // Вестник Днепропетровского университета. Биология и экология. 2004. Т. 2, № 11. С. 99–104.
 16. Пескова Т. Ю. Морфологические и морфофизиологические изменения земноводных при обитании в условиях загрязнения // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2004. № 1. С. 60–64.
 17. Аскендеров А. Д. Земноводные Дагестана: распространение, экология, охрана : дис. ... канд. биол. наук : 03.02.08 / Аскендеров А. Д. Махачкала, 2017. 223 с.
 18. РД 52.24.643-2002. Метод комплексной оценки степени загрязненности поверхностных вод по гидрохимическим показателям. Ростов н/Д., 2002. 56 с.
 19. Ищенко В. Г. Метод морфофизиологических индикаторов: руководство по изучению земноводных и пресмыкающихся. Киев, 1989. С. 92–100.
 20. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // Journal of Biological Chemistry. 1951. Vol. 193. P. 265–275.
 21. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований: липидный и энергетический обмен. Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1982. С. 272.
 22. Залипухина И. Н. Биохимические показатели амфибий из водоемов с различным уровнем поступления отходов уранодобывающей промышленности // Биология. Экология. 2009. Т. 1, № 17. С. 87–94.
 23. Аджиев Д. Д. Функциональные показатели пойкилотермных гидробионтов из природных и искусственных водных биоценозов // Сельскохозяйственная биология. 2018. Т. 53. С. 337–347.

References

1. Vershinin V.L., Tereshin S.Yu. Physiological indicators of amphibians in ecosystems of urban areas. *Ekologiya = Ecology*. 1999;(4):283–287. (In Russ.)
2. Blaustein A.R., Kiesecker J.M. Complexity in conservation: Lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecology Letters*. 2002;(5):598–608.
3. Skorkina M.Yu., Lipunova E.A. The blood system as a screening test of the ecological state of the environment. *Problemy regional'noy ekologii = Issues of regional ecology*. 2009;(1):147–150. (In Russ.)

4. Hayes T.B., Falso P., Gallipeau S., Stice M. The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's perspective. *Journal of Experimental Biology*. 2010;(213):921–933.
5. Houlihan J.E., Findlay C.S., Schmidt B.R. [et al.]. Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature*. 2000;404:752–755.
6. Gardner T. Declining amphibian populations: a global phenomenon in conservation biology. *Animal Biodiversity and Conservation*. 2001;(24):25–44.
7. Fayzulin A.I. The effect of technogenic pollution with heavy metals and urbanization on the morphophysiological parameters of populations of the lake frog (*Rana ridibundus*). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta = Bulletin of Tomsk State University*. 2013;18(3):122–134. (In Russ.)
8. Romanova E.B., Ryabinina E.S., Lyapkov S.M. Size, age, phenetic, morphophysiological and cytogenetic characteristics of lake frog (*Pelophylax ridibundus*) (Amphibia, Ranidae) populations in polluted thermal reservoirs of Kamchatka. *Zoologicheskii zhurnal = Zoological journal*. 2020;99(8):924–937. (In Russ.)
9. Shvarts S.S. *Metod morfofiziologicheskikh indikatorov v ekologii nazemnykh pozvonochnykh = Method of morphophysiological indicators in the ecology of terrestrial vertebrates*. Sverdlovsk, 1968:386. (In Russ.)
10. Baraquet M. Intraspecific variation in erythrocyte sizes among populations of *Hypsiboas cordobae* (Anura: Hylidae). *Acta Herpetologica*. 2013;(8):93–97.
11. Zamaletdinov R.I., Nazarov N.G., Svinin A.O. [et al.]. Biochemical features of the peripheral blood of pond frogs *Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882) from populations inhabiting the reservoirs of the city of Kazan. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences*. 2019;(1):41–49. (In Russ.)
12. Romanova E.B., Nikolaev V.Yu., Gelashvili D.B. Ecological aspects of the organization of the amphibian immune system. *Sovremennaya gerpetologiya = Modern herpetology*. 2014;14(3/4):126–133. (In Russ.)
13. Kubantsev B.S., Zhukova T.I. Some ecological results of anthropogenic impacts on the populations and habitat of the lake frog. *Ekologiya = Ecology*. 1982;(6):46–51. (In Russ.)
14. Zhukova T.I., Kubantsev B.S., Burlachenko T.L. *Nekotorye reaktsii populyatsiy ozernoy lyagushki na pestitsidnoe zagryaznenie vodoemov. Antropogennye vozdeystviya na populyatsii zivotnykh = Some responses of lake frog populations to pesticide pollution of water bodies. Anthropogenic impacts on animal populations*. Volgograd: Izd-vo Volgograd. gos. ped. in-ta, 1986:61–81. (In Russ.)
15. Misyura A.N. Some morphophysiological and ecological features of the green toad in the conditions of urbanization. *Vestnik Dnepropetrovskogo universiteta. Biologiya i ekologiya = Bulletin of Dnepropetrovsk University. Biology and ecology*. 2004;2(11):99–104. (In Russ.)
16. Peskova T.Yu. Morphological and morphophysiological changes in amphibians living in conditions of pollution. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Severo-Kavkazskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. North Caucasus region. Natural sciences*. 2004;(1):60–64. (In Russ.)
17. Askenderov A.D. *Zemnovodnye Dagestana: rasprostranenie, ekologiya, okhrana = Amphibians of Dagestan: distribution, ecology, protection*. PhD dissertation. Makhachkala, 2017:223. (In Russ.)
18. RD 52.24.643-2002. *Metod kompleksnoy otsenki stepeni zagryaznennosti poverkhnostnykh vod po gidrokhimicheskim pokazatelyam = Method for a comprehensive assessment of the degree of pollution of surface waters by hydrochemical indicators*. Rostov n/D., 2002:56. (In Russ.)
19. Ishchenko V.G. *Metod morfofiziologicheskikh indikatorov: rukovodstvo po izucheniyu zemnovodnykh i presmykayushchikhsya = Method of morphophysiological indicators: a guide to the study of amphibians and reptiles*. Kiev, 1989:92–100. (In Russ.)

20. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 1951;193:265–275.
21. Prokhorova M.I. *Metody biokhimicheskikh issledovaniy: lipidnyy i energeticheskiy obmen = Methods of biochemical research: lipid and energy metabolism*. Leningrad: Izd-vo Leningradskogo universiteta, 1982:272. (In Russ.)
22. Zalipukhina I.N. Biochemical indicators of amphibians from water bodies with different levels of waste from the uranium mining industry. *Biologiya. Ekologiya = Biology. Ecology*. 2009;1(17):87–94. (In Russ.)
23. Adzhiev D.D. Functional indicators of poikilothermic hydrobionts from natural and artificial aquatic biocenoses. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya = Agricultural biology*. 2018;53:337–347. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Джамия Магомедсаидовна Гамидова

старший лаборант кафедры зоологии и физиологии, аспирант, Дагестанский государственный университет (Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Дзержинского, 12)

E-mail: djamka_90@mail.ru

Dzhamiya M. Gamidova

Senior laboratory assistant of the sub-department of zoology and physiology, postgraduate student, Dagestan State University (12 Dzerzhinskogo street, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia)

Аминат Ибрагимовна Рабаданова

кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии и физиологии, Дагестанский государственный университет (Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Дзержинского, 12)

E-mail: ashty06@mail.ru

Aminat I. Rabadanova

Candidate of biological sciences, associate professor of the sub-department of zoology and physiology, Dagestan State University (12 Dzerzhinskogo street, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia)

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.

Поступила в редакцию / Received 14.04.2022

Поступила после рецензирования и доработки / Revised 17.05.2022

Принята к публикации / Accepted 04.07.2022

УДК 599.323.45

doi:10.21685/2307-9150-2022-2-3

Влияние потребления этанола матерями на активность карбоксипептидазы E у потомства крыс разного возраста

А. Н. Вернигора¹, Н. В. Волкова²

^{1,2}Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

¹vanvan7@yandex.ru, ²balikovan@mail.ru

Аннотация. *Актуальность и цели.* Потребление этанола матерями сильно влияет на организм потомства, на его здоровье, как при рождении, так и в течение всей жизни. Особенно сильно это влияние сказывается на функционировании различных регуляторных систем, в частности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и опиоидергической. В конечной стадии образования эффекторов этих систем – биологически активных пептидов участвует карбоксипептидаза E (КПЕ, ЕС 3.4.17.10, NF- α 1). Поэтому целью работы было изучение влияния потребления этанола матерями на активность этого фермента. *Материалы и методы.* Опыты проводили на самцах и самках белых беспородных крыс (*Rattus norvegicus*) различного возраста. В работе использовали две группы крыс: пренатально алкоголизированную (ПА, опытную) и контрольную. Активность КПЕ определяли флюорометрическим методом Fricker и соавт. с субстратом дансил-Phe-Ala-Arg по ингибированию гуанидиноэтилмеркаптоянтарной кислотой. Белок определяли методом Лоури. *Результаты.* ПА достоверно влияла на активность КПЕ в гипоталамусе, стриатуме и надпочечниках, возраст – во всех изученных отделах, взаимодействие ПА и пола – в гипоталамусе, взаимодействие ПА и возраста – в гипоталамусе и стриатуме, взаимодействие пола и возраста – во всех исследованных отделах, взаимодействие всех трех факторов – в стриатуме и надпочечниках. *Выводы.* Таким образом, потребление этанола матерями оказывало существенное влияние на активность КПЕ в гипоталамусе, стриатуме и надпочечниках потомства, причем в гипоталамусе и стриатуме это влияние зависело от пола и возраста животных. Вероятно, изменение активности фермента способствует вызываемым ПА нейрофизиологическим, нейрохимическим, нейрогуморальным и поведенческим нарушениям.

Ключевые слова: крысы, потребление этанола матерями, возраст, пол, карбоксипептидаза E, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система, энкефалины

Для цитирования: Вернигора А. Н., Волкова Н. В. Влияние потребления этанола матерями на активность карбоксипептидазы E у потомства крыс разного возраста // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 2. С. 26–35. doi:10.21685/2307-9150-2022-2-3

The effect of ethanol consumption on the carboxypeptidase E activity on different age rats posterity

A.N. Vernigora¹, N.V. Volkova²

^{1,2}Penza State University, Penza, Russia

¹vanvan7@yandex.ru, ²balikovan@mail.ru

Abstract. *Background.* The consumption of ethanol by dams strongly effects the offspring's body, its health both at birth and throughout life. This effect has a particularly

© Вернигора А. Н., Волкова Н. В., 2022. Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 License / This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 License.

strong effect on the functioning of various regulatory systems, in particular hypothalamic-pituitary-adrenal and opioidergic. Carboxypeptidase E (CPE, EC 3.4.17.10, NF- α 1) participates in the final stage of the formation of effectors of these systems – biologically active peptides. Therefore, the purpose of the work is to study the effect of ethanol consumption by mothers on the activity of this enzyme. *Materials and methods.* Experiments were carried out on males and females of white mongrel rats (*Rattus norvegicus*) of different ages. 2 groups of rats were used in the study: prenatally alcoholized (PA, experimental) and control. The activity of CPE was determined by the fluorometric method of Fricker et al. with dancyl-Phe-Ala-Arg substrate for inhibition by guanidinoethylmercaptosuccinic acid. Protein was determined by the Lowry method. *Results.* PA significantly influenced the activity of CPE in the hypothalamus, striatum and adrenal glands, age – in all the studied departments, the interaction of PA and sex – in the hypothalamus, the interaction of PA and age – in the hypothalamus and striatum, the interaction of sex and age – in all the studied departments, the interaction of all three factors – in the striatum and adrenal glands. *Conclusions.* Thus, the consumption of ethanol by dams had a significant effect on the activity of CPE in the hypothalamus, striatum and adrenal glands of the offspring, and in the hypothalamus and striatum this effect depended on the sex and age of the animals. Probably, changes in enzyme activity contribute to neurophysiological, neurochemical, neurohumoral and behavioral disorders caused by PA.

Keywords: rats, maternal ethanol consumption, age, gender, carboxypeptidase E, hypothalamic-pituitary-adrenal system, enkephalins

For citation: Vernigora A.N., Volkova N.V. The effect of ethanol consumption on the carboxypeptidase E activity on different age rats posterity. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(2):26–35. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-2-3

Введение

Потребление этанола крысами во время беременности длительно негативно влияет на функционирование гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) потомства [1–4]. Длительное изменение функционирования ГГНС при этом связано с широким спектром молекулярных, нейрофизиологических и поведенческих нарушений у потомков. При этом изменяется уровень как мРНК различных регуляторных пептидов, так и самих пептидов [3, 5]. Пренатальная алкоголизация вносит нарушения и в функционирование опиоидергической системы [5], вызывая изменение уровня опиоидных рецепторов [5]. Все эти изменения носят тканеспецифичный характер и зависят от возраста и пола потомков.

Биологически активные пептиды синтезируются в виде высокомолекулярных неактивных предшественников. Последние активируются путем протеолитического расщепления (процессинга) [6]. В процессинге участвует и карбоксипептидаза E (КПЕ, EC 3.4.17.10, NF- α 1) [6–10]. Она катализирует отщепление остатков аргинина и лизина с С-конца пептидов [7–10] и играет большую роль в функционировании центральной нервной, эндокринной, половой, опиоидергической системы [7–10], в ответе на стресс, этанол и в процессах адаптации [11].

Описаны половые [12] и возрастные [13] отличия в активности КПЕ в отделах ГГНС и отделах мозга. Фермент также вовлекается в ответ на однократное и хроническое потребление этанола. Показано, что пренатальная алкоголизация усиливает изменения активности фермента в отделах мозга при последующей алкоголизации взрослых самцов крыс [14].

Целью работы было изучение влияния потребления этанола матерями на активность карбоксипептидазы E в гипоталамусе, гипофизе, надпочечниках истриатуме самцов и самок крыс разного возраста.

Материалы и методы

Опыты проводили на самцах и самках белых беспородных крыс (*Rattus norvegicus*) в возрасте 0 (новорожденные, P0), 14 (инфантильные, P14), 28 (P28), 45 (P45) и 120 (P120) суток. В работе использовали две группы крыс: пренатально алкоголизованную (ПА, опытную) и контрольную. Крысы ПА группы являлись потомством самок, получавших в течение всего периода беременности в качестве единственного источника жидкости 12 % раствор этанола, содержащий 5 % сахарозы; контрольной – потомством самок, получавшим в этот период 5 % раствор сахарозы. Схема формирования экспериментальных групп представлена на рис. 1. После декапитации животных извлекали гипофиз, гипоталамус, стриатум и надпочечники.

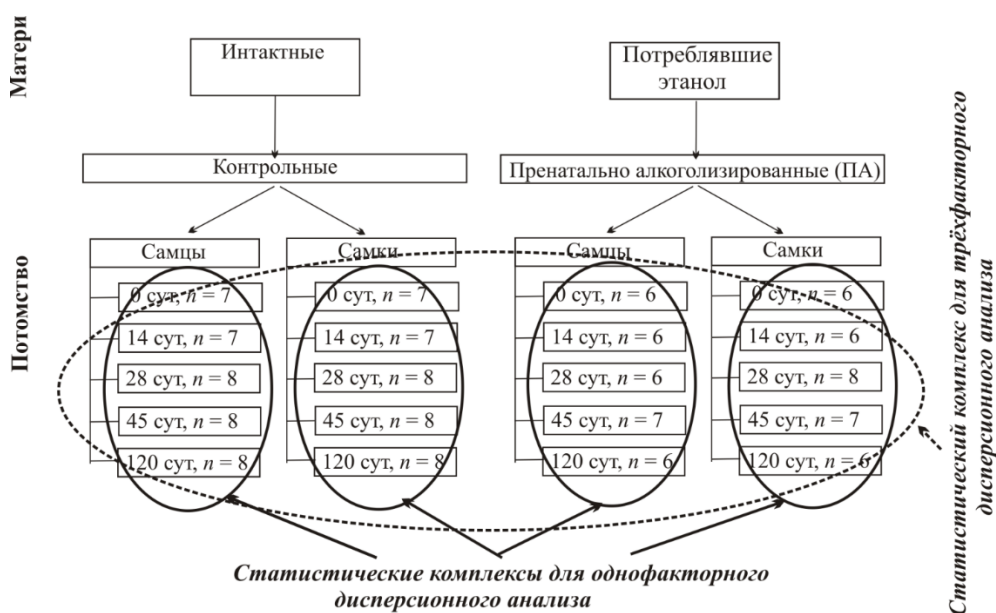


Рис. 1. Схема формирования экспериментальных групп и статистических комплексов для дисперсионного анализа

Активность КПЕ определяли флюорометрическим методом Fricker и соавт. с субстратом дансил-Phe-Ala-Arg по ингибированию гуанидиноэтилмеркаптоянтарной кислотой [15]. Также определяли белок методом Лоури [16]. Активность фермента выражали в нмоль дансил-Phe-Ala, освободившегося за 1 мин инкубации в расчете на 1 мг белка.

Данные представлены в виде среднего арифметического значения \pm стандартная ошибка среднего. Дисперсионный анализ проводили с помощью программы Stat Soft Statistica Basic Academic 13 for Windows (лицензия ООО «АйТи Штурман Пенза», Договор № 074-19-223 от 30 декабря 2019 г.). Достоверность влияния факторов (пола, возраста и пренатальной алкоголизации) (трехфакторный статистический комплекс, все группы животных, рис.1)

оценивали с помощью трехфакторного дисперсионного анализа в режиме Factorial ANOVA. Для сравнения возрастной динамики изменений активности КПЕ оценивали достоверность влияния возраста для каждой экспериментальной группы (однофакторные статистические комплексы, рис. 1). Для этого проводили однофакторный дисперсионный анализ в режиме One-way ANOVA. В случае достоверности отношения Фишера с помощью post-hoc test Range test Duncan's оценивали принадлежность каждой из возрастных подгрупп животных к разным гомогенным группам. Полученные результаты выражали в баллах. Баллы временным подгруппам присваивали на основании их принадлежности к разным гомогенным группам по мере увеличения среднего. При этом наименьший балл, равный единице, получала временная подгруппа с наименьшим средним, а наибольший балл – временная подгруппа с наибольшим средним. Дробный балл (1,5, 2,5 и т.д.) получали подгруппы, входящие одновременно в две гомогенные группы.

Результаты

На рис. 2 представлены значения активности КПЕ у самцов и самок контрольных крыс и животных, являющихся потомством самок, потреблявших во время беременности этанол.

Для выявления половых отличий во влиянии потребления этанола матерями на активность КПЕ у потомства и сравнения динамики возрастных изменений фермента у ПА и контрольных животных экспериментальный материал был подвергнут трехфакторному дисперсионному анализу (по факторам пол, ПА и возраст) активности КПЕ (табл. 1), а также однофакторному дисперсионно и ранговому анализу (табл. 2) (формирование статистических комплексов см. на рис. 1).

ПА достоверно влияла на активность КПЕ в гипоталамусе, стриатуме и надпочечниках, возраст – во всех изученных отделах, взаимодействие ПА и пола – в гипоталамусе, взаимодействие ПА и возраста – в гипоталамусе и стриатуме, взаимодействие пола и возраста – во всех исследованных отделах, взаимодействие всех трех факторов – в стриатуме и надпочечниках. Достоверного влияния пола животных на активность фермента не выявлено (табл. 1).

Согласно результатам однофакторного дисперсионного анализа (табл. 2) достоверное влияние возраста на активность КПЕ наблюдалось у всех экспериментальных групп животных (контрольные самцы, контрольные самки, ПА самцы, ПА самки) в гипофизе, стриатуме и надпочечниках. В гипоталамусе достоверное влияние возраста на активность фермента наблюдалось только у контрольных самок. У контрольных животных наблюдались некоторые отличия в динамике изменения активности КПЕ у самцов и самок. У обеих групп животных сначала наблюдалось повышение активности фермента, а затем – ее снижение (рис. 1, табл. 2), однако у самок максимальная активность достигалась к P14, а у самцов – к P28. У ПА самцов в надпочечниках и ПА самок в гипоталамусе и стриатуме наблюдалось изменение динамики активности фермента: в надпочечниках ПА самцов максимальная активность фермента наблюдалась в P0, затем она постепенно снижалась; у ПА самок в гипоталамусе возрастная динамика активности КПЕ исчезала, а в стриатуме максимум активности фермента смещался в P45.

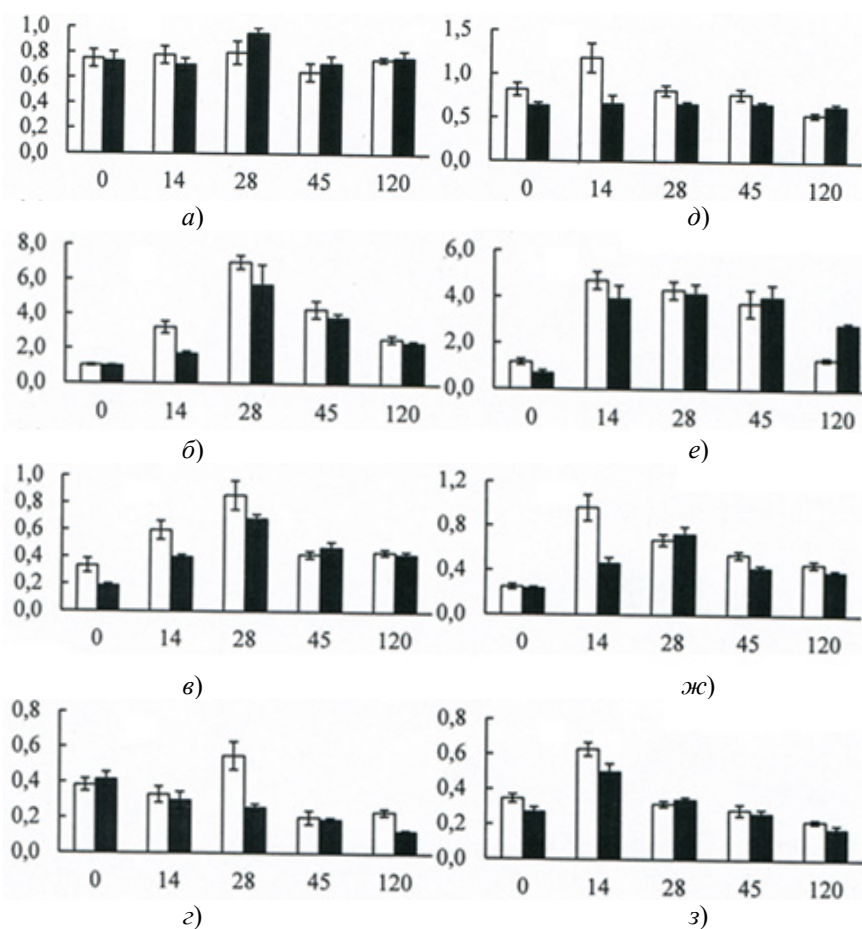


Рис. 2. Активность карбоксипептидаза Е (КПЕ) в гипоталамусе (а, д), гипофизе (б, е), стриатуме (в, ж) и надпочечниках (г, з) самцов (а, б, в, г) и самок (д, е, ж, з) пренатально алкоголизованных крыс

Примечание. По оси абсцисс: возраст, сут; по оси ординат: активность. Незакрашенные столбики – контрольные, закрашенные – пренатально алкоголизованные животные.

Таблица 1
Трёхфакторный дисперсионный анализ влияния потребления этанола матерями на активность карбоксипептидазы Е в тканях потомства

Фактор	Отдел			
	Гипоталамус	Гипофиз	Стриатум	Надпочечники
ПА	4,4*	1,0	20,1***	11,6***
Пол	0,3	2,0	1,0	3,0
Возраст	2,9*	47,1***	35,0***	21,6***
ПА * Пол	7,4**	1,6	10,5***	0,6
ПА * Возраст	2,9*	1,3	4,8**	1,3
Пол * Возраст	3,0*	6,4***	3,8**	9,3***
ПА * Пол * Возраст	1,5	1,0	2,8*	3,6**

Примечание. Здесь и в табл. 2 звездочками показана достоверность критерия Фишера: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Таблица 2

Дисперсионный и ранговый анализ влияния возраста на активность карбоксипептидазы E в тканях потомства

Ткань	Контрольная группа							Пренатально алкоголизирующая группа						
	F	Возрастные подгруппы						F	Возрастные подгруппы					
		m	P0	P14	P28	P45	P120		m	P0	P14	P28	P45	P120
Самцы														
Гипоталамус	0,4							1,8						
Гипофиз	35,5***	4	1	2,5	4	3	2	11,5***	3	1	1,5	3	2,5	1,5
Стриатум	7,9***	2	1	1,5	2	1	1	31,6***	3	1	2	3	2	2
Надпочечники	12,7***	2	1	1	2	1	1	9,2***	3	3	2,5	2	1,5	1
Самки														
Гипоталамус	5,8**	2	1,5	2	1,5	1,5	1	0,2						
Гипофиз	12,5***	2	1	2	2	2	1	8,7***	2	1	2	2	2	2
Стриатум	15,4***	3	1	3	2	2	1,5	11,9***	3	1	2	3	1,5	1,5
Надпочечники	33,8***	3	1,5	3	2	1,5	1	8,1***	2	1	2	1,5	1	1

Примечание. Условные обозначения: F – значения критерия Фишера, m – число гомогенных групп.

Обсуждение

Таким образом, потребление этанола матерями сильно влияло на активность КПЕ в гипоталамусе, стриатуме и надпочечниках потомства, причем в гипоталамусе и стриатуме это влияние зависело от пола и возраста животных (табл. 1). У самок это влияние было более выраженным, чем у самцов (рис. 2, табл. 2), причем в гипоталамусе и стриатуме ПА самок и в надпочечниках ПА самцов наблюдалось изменение возрастной динамики активности КПЕ (табл. 2). Постнатальное развитие крыс характеризуется определенной последовательностью «включения» различных систем организма, в особенности гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы [17], функциональная активность которой регулируется рилизинг-факторами гипоталамуса [17]. Поэтому нарушение возрастной динамики изменения активности КПЕ в гипоталамусе ПА самок может, вероятно, приводить к нарушениям возрастной динамики уровня гонадотропин-рилизинг фактора [17], в процессинге которого она участвует, и к нарушениям процессов полового созревания у потомков алкоголизованных самок. В литературе приводятся многочисленные данные о половых отличиях влияния ПА на уровень мРНКпропептидов и различных биологически активных пептидов [4]. Представляется возможным, что обнаруженные половые отличия во влиянии ПА на активность КПЕ могут способствовать формированию половых отличий к изменению уровня биологически активных пептидов у ПА самцов и самок.

Следует отметить, что у новорожденных (P0) и инфантильных (P14) ПА животных наблюдалось в основном снижение активности КПЕ (рис. 2). Такие изменения активности фермента несколько противоречат традиционно сложившимся представлениям о том, что потребление этанола матерями вызывает гиперреактивность ГГНС [4]. Последняя проявляется в однократном и/или длительном повышении уровня адренкортикотропина (АКТГ) и/или кортикостерона, в том числе и в ответ на стресс, увеличении чувствительности надпочечников к АКТГ, изменении чувствительности гипофиза к корти-

котропин-рилизинг фактору [4]. Однако последние исследования свидетельствуют скорее о нарушениях регуляции ответа на стресс ГГНС ПА крыс [1–3], что проявляется в изменении соотношения проопиомеланокортин-происходящих пептидов в различных отделах ГГНС. Так, например, при повышении уровня мРНКпроопиомеланокортина (ПОМК) и уровня синтеза и секреции АКТГ в гипофизе [1] наблюдается снижение уровня экспрессии гена ПОМК и уровня β -эндорфина в гипоталамусе [2, 3], т.е. ПА изменяет соотношение между пептидами, образующимися из одного и того же предшественника, т.е. изменяет его процессинг. Вероятно, снижение активности КПЕ-фермента, участвующего в конечной стадии образования β -эндорфина из ПОМК [8], способствует описанному снижению уровня β -эндорфина. Функции АКТГ и β -эндорфина в ответе на стресс несколько отличаются. Если АКТГ активирует надпочечники и инициирует периферический ответ на стресс [4], то β -эндорфин ослабляет ответ на стресс, в частности, ингибируя секрецию КРФ [5] и блокируя стресс-индуцируемую ноцицепцию [5]. Таким образом, снижение активности КПЕ в ранний постнатальный и инфантильный периоды ПА крыс, особенно выраженные в гипоталамусе самок, могут способствовать усилению ответа на стресс и формированию предрасположенности к стрессу [2].

Вместе с тем у взрослых ПА самок (P120) в гипоталамусе и гипофизе активность КПЕ была выше, чем у контрольных крыс, что хорошо согласуется с представлениями о гиперреактивности ГГНС у ПА животных [4] и может способствовать повышению уровня АКТГ [4]. Следует также отметить, что в стриатуме и надпочечниках – тканях с высоким содержанием энкефалинов, дефицит которых возникает у пренатально алкоголизированных взрослых животных, активность КПЕ у пренатально алкоголизированных взрослых крыс была либо ниже, либо не отличалась от таковой у контрольных животных.

Заключение

Таким образом, потребление этанола матерями оказывало существенное влияние на активность КПЕ в гипоталамусе, стриатуме и надпочечниках потомства, причем в гипоталамусе и стриатуме это влияние зависело от пола и возраста животных. У самок влияние ПА на активность фермента было более выраженным, чем у самцов, причем в гипоталамусе и стриатуме ПА самок и в надпочечниках ПА самцов наблюдалось изменение возрастной динамики активности КПЕ. Наиболее выраженные изменения активности КПЕ (снижение) наблюдались у новорожденных (P0) и инфантильных (P14) ПА животных. Вероятно, что снижение активности фермента в этот период способствует вызываемым ПА нейрофизиологическим, нейрохимическим, нейрогуморальным и поведенческим нарушениям.

Список литературы

1. Zhang X., Sliwowska J. H., Weinberg J. Prenatal alcohol exposure and fetal programming: effects on neuroendocrine and immune function // *Experimental Biology and Medicine* (Maywood). 2005. Vol. 230, № 6. P. 376–388. doi: 10.1177/15353702-0323006-05
2. Bekdash R., Zhang C., Sarkar D. Fetal alcohol programming of hypothalamic proopiomelanocortin system by epigenetic mechanisms and later life vulnerability to

- stress // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2014. Vol. 38, № 9. P. 2323–2330. doi: 10.1111 / acer.12497
3. Gangisetty O., Bekdash R., Maglakelidze G., Sarkar D. K. Fetal alcohol exposure alters proopiomelanocortin gene expression and hypothalamic-pituitary-adrenal axis function via increasing MeCP2 expression in the hypothalamus // *PLoS One*. 2014. Vol. 9, № 11. P. 1–9. doi:10.1371 / journal.pone.0113228
 4. Osborn J. A., Yu C., Stelzl G. E., Weinberg J. Effects of fetal ethanol exposure on pituitary-adrenals sensitivity to secretagogues // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2000. Vol. 24, № 7. P. 1110–1119.
 5. Fricker L. D., Margolis E. B., Gomes I., Devi L. A. Five decades of research on opioid peptides: current knowledge and unanswered questions molecular pharmacology // *Molecular Pharmacology*. 2020. Vol. 98. P. 96–108. doi: 10.1124/mol.120.119388
 6. Hook V., Funkelstein L., Lu D. [et al.]. Hwang proteases for processing proneuropeptides into peptide neurotransmitters and hormones // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2008. Vol. 48. P. 393–423. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094812
 7. Вернигора А. Н., Генгин М. Т. Механизмы регуляции активности и биологическая роль карбоксипептидазы Н-фермента процессинга нейропептидов // *Биохимия*. 1995. Т. 60, № 12. С. 1953–1963.
 8. Ji L., Wu H.-T., Qin X.-Y., Lan R. Dissecting carboxypeptidase E: properties, functions and pathophysiological roles in disease // *Endocrine Connections*. 2017. Vol 6. P. 18–38. doi: 10.1530/EC-17-0020
 9. Xiao L., Yang X., Loh Y. P. Neurotrophic, gene regulation, and cognitive functions of carboxypeptidase E – neurotrophic factor- $\alpha 1$ and its variants // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2019. Vol. 13. № 243. P. 1–10. doi: 10.3389/fnins.2019.00243
 10. Xiao L., Loh Y. P. Neurotrophic factor- $\alpha 1$ /carboxypeptidase E functions in neuroprotection and alleviates depression // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2022. Vol. 15, № 918852. P. 1–8. doi: 10.3389/fnmol.2022.918852
 11. Гомазков О. А. Функциональная биохимия регуляторных пептидов. М. : Наука, 1993. 160 с.
 12. Щетинина Н. В., Вернигора А. Н., Генгин М. Т. Активность основных карбоксипептидаз у крыс разного пола // *Украинский биохимический журнал*. 1997. Т. 70, № 3. С. 110–113.
 13. Вернигора А. Н., Щетинина Н. В., Генгин М. Т. Исследование активности основных (отщепляющих остатки аргинина и лизина) карбоксипептидаз у крыс разного возраста // *Биохимия*. 1996. Т. 61, № 10. С. 1848–1856.
 14. Вернигора А. Н., Мухина Е. С., Балькова Н. В., Генгин М. Т. Влияние хронического потребления этанола на активность основных карбоксипептидаз в отделах мозга пренатальноалкоголизированных крыс // *Нейрохимия*. 2002. Т. 19, № 4. С. 283–286.
 15. Fricker L. D., Supattapone S., Snyder S. H. Enkephalinconvertase: a specific enkephalin synthesizing carboxypeptidase in adrenal chromaffin granules, brain and pituitary gland // *Life sciences*. 1982. Vol. 31. P. 1841–1844.
 16. Lowry O. H., Rosebrought N. J., Farr A. G., Randall R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent // *The Journal of biological chemistry*. 1951. Vol. 193, № 1. P. 265–275.
 17. Бабичев В. Н. Нейроэндокринный контроль процессов пубертации // *Успехи современной биологии*. 1994. Т. 114, № 3. С. 330–344.

References

1. Zhang X., Sliwowska J.H., Weinberg J. Prenatal alcohol exposure and fetal programming: effects on neuroendocrine and immune function. *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*. 2005;230(6):376–388. doi: 10.1177/15353702-0323006-05

2. Bekdash R., Zhang C., Sarkar D. Fetal alcohol programming of hypothalamic proopiomelanocortin system by epigenetic mechanisms and later life vulnerability to stress. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2014;38(9):2323–2330. doi: 10.1111 / acer.12497
3. Gangisetty O., Bekdash R., Maglakelidze G., Sarkar D.K. Fetal alcohol exposure alters proopiomelanocortin gene expression and hypothalamic-pituitary-adrenal axis function via increasing MeCP2 expression in the hypothalamus. *PLoS One*. 2014;9(11):1–9. doi:10.1371 / journal.pone.0113228
4. Osborn J.A., Yu C., Stelzl G.E., Weinberg J. Effects of fetal ethanol exposure on pituitary-adrenals sensitivity to secretagogues. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2000;24(7):1110–1119.
5. Fricker L.D., Margolis E.B., Gomes I., Devi L.A. Five decades of research on opioid peptides: current knowledge and unanswered questions molecular pharmacology. *Molecular Pharmacology*. 2020;98:96–108. doi: 10.1124/mol.120.119388
6. Hook V., Funkelstein L., Lu D. [et al.]. Hwang proteases for processing proneuropeptides into peptide neurotransmitters and hormones. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2008;48:393–423. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094812
7. Vernigora A.N., Gengin M.T. Mechanisms of regulation of activity and the biological role of carboxypeptidase X, an enzyme of neuropeptide processing. *Biokhimiya = Biochemistry*. 1995;60(12):1953–1963. (In Russ.)
8. Ji L., Wu H.-T., Qin X.-Y., Lan R. Dissecting carboxypeptidase E: properties, functions and pathophysiological roles in disease. *Endocrine Connections*. 2017;6:18–38. doi: 10.1530/EC-17-0020
9. Xiao L., Yang X., Loh Y.P. Neurotrophic, gene regulation, and cognitive functions of carboxypeptidase E – neurotrophic factor- $\alpha 1$ and its variants. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2019;13(243):1–10. doi: 10.3389/fnins.2019.00243
10. Xiao L., Loh Y. P. Neurotrophic factor- $\alpha 1$ /carboxypeptidase E functions in neuroprotection and alleviates depression. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2022;15(918852):1–8. doi: 10.3389/fnmol.2022.918852
11. Gomazkov O.A. *Funktsional'naya biokhimiya regulyatornykh peptidov = Functional biochemistry of regulatory peptides*. Moscow: Nauka, 1993:160. (In Russ.)
12. Shchetinina N.V., Vernigora A.N., Gengin M.T. Activity of the main carboxypeptidases in rats of different sexes. *Ukrainskiy biokhimicheskiy zhurnal = Ukrainian biochemical journal*. 1997;70(3):110–113. (In Russ.)
13. Vernigora A.N., Shchetinina N.V., Gengin M.T. Investigation of the activity of basic (cleaving off arginine and lysine residues) carboxypeptidases in rats of different ages. *Biokhimiya = Biochemistry*. 1996;61(10):1848–1856. (In Russ.)
14. Vernigora A.N., Mukhina E.S., Balykova N.V., Gengin M.T. The effect of chronic ethanol consumption on the activity of the main carboxypeptidases in the brain regions of prenatal alcoholized rats. *Neyrokhimiya = Neurochemistry*. 2002;19(4):283–286. (In Russ.)
15. Fricker L.D., Supattapone S., Snyder S.H. Enkephalinconvertase: a specific enkephalin synthesizing carboxypeptidase in adrenal chromaffin granules, brain and pituitary gland. *Life sciences*. 1982;31:1841–1844.
16. Lowry O.H., Rosebrought N.J., Farr A.G., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent. *The Journal of biological chemistry*. 1951;193(1):265–275.
17. Babichev V.N. Neuroendocrine control of puberty processes. *Uspekhi so-vremennoy biologii = Advances in modern biology*. 1994;114(3):330–344. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Александр Николаевич Вернигора

кандидат биологических наук, доцент,
доцент кафедры химии и теории
и методики обучения химии,
Пензенский государственный
университет (Россия,
г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: vanvan7@yandex.ru

Aleksandr N. Vernigora

Candidate of biological sciences, associate
professor, associate professor of the
sub-department of chemistry and theory
and methods of teaching chemistry,
Penza State University (40 Krasnaya
street, Penza, Russia)

Наталья Валентиновна Волкова

кандидат биологических наук, доцент,
заведующий кафедрой химии и теории
и методики обучения химии,
Пензенский государственный
университет (Россия,
г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: balikovan@mail.ru

Nataliya V. Volkova

Candidate of biological sciences, associate
professor, head of the sub-department
of chemistry and theory and methods
of teaching chemistry, Penza State
University (40 Krasnaya street,
Penza, Russia)

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.

Поступила в редакцию / Received 18.06.2022

Поступила после рецензирования и доработки / Revised 15.07.2022

Принята к публикации / Accepted 01.08.2022

УДК 599.426(470.67):591.9+504.74.06
doi:10.21685/2307-9150-2022-2-4

Сравнительная характеристика эхолокационных сигналов трех видов подковоносов (*Chiroptera*, *Rhinolophidae*) Восточного Кавказа (Дагестан)

Д. Г. Смирнов¹, Г. С. Джамирзоев², Ю. А. Быков³

¹Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

²Институт экологии горных территорий
имени А. К. Темботова РАН, Нальчик, Россия

²Государственный природный заповедник «Дагестанский», Махачкала, Россия

³Национальный парк «Мещёра», Гусь-Хрустальный, Россия

¹eptesicus@mail.ru, ²dzhmir@mail.ru, ³bykov_goos@yahoo.com

Аннотация. *Актуальность и цели.* В российской части Восточного Кавказа встречается три вида подковоносов: *Rhinolophus hipposideros*, *R. mehelyi* и *R. ferrumequinum*. Их эхолокационные характеристики в этой части ареала практически не изучены. При этом основные параметры сигналов этих видов, полученные из других частей ареалов, не могут быть использованы для идентификации, что обусловлено географической изменчивостью. Целью нашей работы было описание основных характеристик эхолокационных сигналов у трех видов подковоносов, обитающих на территории Дагестана, и выявление основных признаков, по которым их можно идентифицировать. *Материалы и методы.* Работы проводили в теплое время года в 2019–2022 гг. Записи делали с помощью детектора BATLOGGER M и анализировали в программе BatSound 3.31. Всего для трех видов подковоносов собрано около 80 минут записей. Общее количество проанализированных эхолокационных импульсов составило 146. Временные и частотные параметры измеряли на второй гармонике: длину импульса, начальную, конечную, пиковую частоты и расстояние между импульсами. У первой гармоники измеряли пиковую частоту. Статистическую обработку проводили в программе Statistica®6.0. *Результаты и выводы.* У трех видов подковоносов, обитающих на территории Дагестана, сигналы обладают комплексом специфических признаков, которые можно легко использовать в идентификации. Для определения *R. ferrumequinum* не требуется специального анализа, так как основные частотные показатели сигналов минимальны и не перекрываются с таковыми у других видов. У *R. hipposideros* и *R. mehelyi* существуют совпадения в частотах. Значение пиковых частот второй гармоники у видов имеет минимальное перекрытие, поэтому этот показатель удобен для идентификации. Эти виды легко распознаются по средним значениям длины импульсов и интервала между ними. Кроме того, хорошим признаком *R. mehelyi* может быть наличие в сигнале коротких тандемных импульсов.

Ключевые слова: рукокрылые, подковоносы, *Rhinolophus ferrumequinum*, *R. hipposideros*, *R. mehelyi*, эхолокационные сигналы, Дагестан

Для цитирования: Смирнов Д. Г., Джамирзоев Г. С., Быков Ю. А. Сравнительная характеристика эхолокационных сигналов трех видов подковоносов (*Chiroptera*, *Rhinolophidae*) Восточного Кавказа (Дагестан) // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 2. С. 36–48. doi:10.21685/2307-9150-2022-2-4

Comparative characteristics of the echolocation signals of three horseshoe bats species (Chiroptera, Rhinolophidae) from the Eastern Caucasus (Dagestan)

D.G. Smirnov¹, G.S. Dzhamirzoev², Yu.A. Bykov³

¹Penza State University, Penza, Russia

²Institute of Ecology of Mountain Territories

named after A.K. Tembotov of the Russian Academy of Sciences, Nalchik, Russia

²Dagestan State Nature Reserve, Makhachkala, Russia

³Meshchera National Park, Gus-Khrustalny, Russia

¹eptesicus@mail.ru, ²dzhamir@mail.ru, ³bykov_goos@yahoo.com

Abstract. *Background.* In the Eastern Caucasus there are three species of horseshoe bats: *Rhinolophus hipposideros*, *R. mehelyi* and *R. ferrumequinum*. Their echolocation characteristics in this part of the range have not been adequately studied. At the same time, the main signal parameters of these species obtained from other parts of the range cannot be used for identification, which is caused by geographical variability. The purpose of the study is to describe the main characteristics of the echolocation signals in three species of horseshoe bats inhabiting the territory of Dagestan and to identify the main features by which they can be identified. *Materials and methods.* The work was performed during warm periods from 2019 to 2022. Recordings were made with a BATLOGGER M detector and analyzed in the BatSound 3.31 program. In total, about 80 minutes of recordings were collected for three species of horseshoe bats. The total number of echolocation pulses analyzed was 146. Time and hour-ton parameters were measured at the second harmonic: pulse length, initial, final, peak frequencies, and distance between pulses. The peak frequency of the first harmonic was measured. Statistical processing was performed using Statistica®6.0 software. *Results and conclusions.* In the three species of horseshoe bats inhabiting the territory of Dagestan, the signals possess a complex of specific characters that can be easily used in identification. No special analysis is required to identify *R. ferrumequinum* does not require special analysis because the main frequency values of the signals are minimal and do not overlap with those of other species. In *R. hipposideros* and *R. mehelyi* there are coincidences in frequencies. The values of the peak frequencies of the second harmonic in the species have minimal overlap, so this indicator is convenient for identification. These species are easily recognized by average values of pulse length and interval between them. In addition, a good sign of *R. mehelyi* can be the presence of sequences of short tandem pulses in the signal.

Keywords: bats, horseshoe bats, *Rhinolophus ferrumequinum*, *R. hipposideros*, *R. mehelyi*, echolocation signals, Dagestan

For citation: Smirnov D.G., Dzhamirzoev G.S., Bykov Yu.A. Comparative characteristics of the echolocation signals of three horseshoe bats species (Chiroptera, Rhinolophidae) from the Eastern Caucasus (Dagestan). *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(2):36–48. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-2-4

Полевые записи и последующий анализ эхолокационных сигналов рукокрылых могут предоставить ценную информацию о видовой идентичности, уровне активности, биотопической приуроченности, особенностях распространения, о разнообразии и т.д. Однако при всей очевидности подобной работы идентификация видов по эхолокационным сигналам значительно чаще бывает крайне затруднительной или даже невозможной из-за внутривидовых вариаций звука и межвидового перекрытия диапазона частот [1–5]. По этим причинам применение уже широко распространенных программных автома-

тических классификаторов, основанных на работе с «жесткими» параметрами сигналов видов, в отношении конечных результатов неоднозначно и в большинстве случаев спорно [5]. Выходом из положения может быть проведение тщательного анализа эхолокационных сигналов в ручном режиме с использованием «ваучерных» записей в качестве сравнительного материала и обработки их методами стандартной и многомерной статистики.

Из четырех видов подковоносов, известных на территории России [6], в российской части Восточного Кавказа (Дагестан) встречается три: *Rhinolophus hipposideros* (Borkhausen 1797), *R. mehelyi* Matschie 1901 и *R. ferrumequinum* (Schreber 1774) [7]. Все они крайне уязвимы и занесены в Красную книгу Дагестана [8] и Российской Федерации [9].

Подковоносы издают высокочастотные эхолокационные импульсы, включающие длинную основную *CF*-компоненту постоянной частоты, за которой следуют и часто предшествуют короткие частотно-модулированные *FM*-компоненты [10]. Как правило, такие сигналы квалифицируют как *FM-CF-FM*. Частота с максимальной энергией соответствует второй гармонике, издаваемой через нос. Первая гармоника, издаваемая гортанью, намного слабее – это основной звук [11].

Частотные характеристики сигналов у *R. ferrumequinum* видоспецифичны [1, 12], поэтому в полевых условиях проводить его акустическую идентификацию не вызывает сложности даже с помощью гетеродинного детектора. Наоборот, у *R. hipposideros* и *R. mehelyi* диапазоны частот сильно перекрываются [1, 12–15], что серьезно осложняет их определение.

Эхолокационные сигналы всех трех видов с территории Дагестана практически не изучены. При этом временные и сонограммные параметры сигналов *R. hipposideros*, *R. mehelyi* и *R. ferrumequinum*, полученные из других частей ареалов, не могут быть полностью адекватными для идентификации подковоносов из российской части Восточного Кавказа. Это обусловлено существующими отличиями основных эхолокационных характеристик у особей одного вида из различных географических регионов, что было уже ранее установлено [16–18]. Поэтому целью нашей работы было описание основных характеристик эхолокационных сигналов у трех видов подковоносов, обитающих на территории Дагестана, и выявление основных признаков, по которым их можно идентифицировать.

Материал и методы

Район исследования. Записи эхолокационных сигналов проводили в теплое время года в 2019–2022 гг. на территории Республики Дагестан. Исследованиями были охвачены административные районы, находящиеся в пределах Кумской и Присулакской равнин, северо-западных, центральных и юго-восточных предгорий Внешнегорного Дагестана, а также дельты р. Самур.

Сбор материала. Акустическую запись сигналов проводили в различных местах обитания, начиная с полудня после захода солнца и в течение не менее трех последующих часов. Эхолокационные сигналы записывали с помощью BATLOGGER M (Elekon AG, Switzerland) в режиме time-expansion с фактором 10, частотой дискретизации 312,5 кГц и разрядностью 16 bit. Оцифрованные в формате «wav» записи анализировали с помощью программного обеспечения BatSound 3.31 (Pettersson Elektronik AB, Sweden).

Всего для трех видов подковоносов собрано около 80 минут записей, которые состояли из 78 аудиофайлов ультразвуковых сигналов. Для анализа отбирали только четкие импульсы из поисковых серий, не включающих фазы приближения, а также с интенсивностью не менее -30 dB. Общее количество проанализированных эхолокационных импульсов составило 146.

Основные измерения в BatSound проводили на осциллограммах, спектрограммах (окно Хэннинга) и в окне спектра мощности с *FFT* размером 1024. Разрешение по времени было улучшено перекрытием *FFT* 97%. Временные и частотные параметры измеряли на второй гармонике, содержащей наибольшее количество энергии: длину импульса (*DUR*), начальную (*Fst*), конечную (*Fend*), пиковую (*Fpeak*) частоты и расстояние между импульсами (*IP1*). У первой гармоники измеряли только пиковую частоту (*Fh1*). Для того чтобы избежать эффекта Доплера, использовали только самые высокочастотные импульсы длинных последовательностей. Сопоставление и классификацию проводили по видовым характеристикам сигналов, описанных в ряде источниках [1, 13, 15, 19, 20].

Статистика. Для статистического описания временных и частотных показателей эхолокационных сигналов использовали средние значения (*Mean*), стандартное отклонение (*SD*) и показатели min-max. Для анализа различий показателей и сравнения их средних значений применяли непараметрический *U*-тест Манн – Уитни, с пороговым уровнем значимости $p \leq 0,05$. Анализ главных компонент был использован для определения ключевых параметров сигналов в дифференциации видов и демонстрации степени их акустической неоднородности. Расчеты осуществляли с помощью программы Statistica®6.0.

Результаты

Мы наблюдали подковоносов, летающих низко над травянистой и кустарниковой растительностью на высоте до 3 м. В большинстве случаев их полет был относительно медленным, однако у *R. hipposideros* он отличался большим количеством резких поворотов, чем у более крупных *R. ferrumequinum* и *R. mehelyi*. Все подковоносы издавали серии *FM-CF-FM*-сигналов с выраженной по интенсивности *CF*-компонентой (рис. 1–3), которая является определяющей для идентификации видов.

Эхолокационные сигналы *R. ferrumequinum* имеют пиковую частоту второй гармоники, не превышающую 85 kHz, первой гармоники – не более 45 kHz (табл. 1). Внутривидовая вариация этих показателей не превышала 5 и 3 kHz соответственно. Небольшая изменчивость также у показателей *Fst* и *Fend*, которые специфичны для этого вида и не имеют перекрытий с двумя другими. Ширина пропускания *FM*-компоненты колеблется от 7,8 до 19,4 kHz.

У *R. hipposideros* и *R. mehelyi* пиковые частоты второй гармоники имеют небольшое перекрытие и их значения хорошо различаются (*U*-тест = 3, $p < 0,001$). Разброс пиковых частот по первой гармонике, а также начальной и конечной частот, наоборот, довольно большой, однако их средние значения также отличаются статистически (*U*-тест = 0, $p < 0,001$). Ширина пропускания фланкирующей *FM*-компоненты больше, чем у *R. ferrumequinum*, и нахо-

дится в пределах от 14,3 до 26,9 kHz у *R. hipposideros* и от 15,4 до 24,6 kHz у *R. mehelyi*.

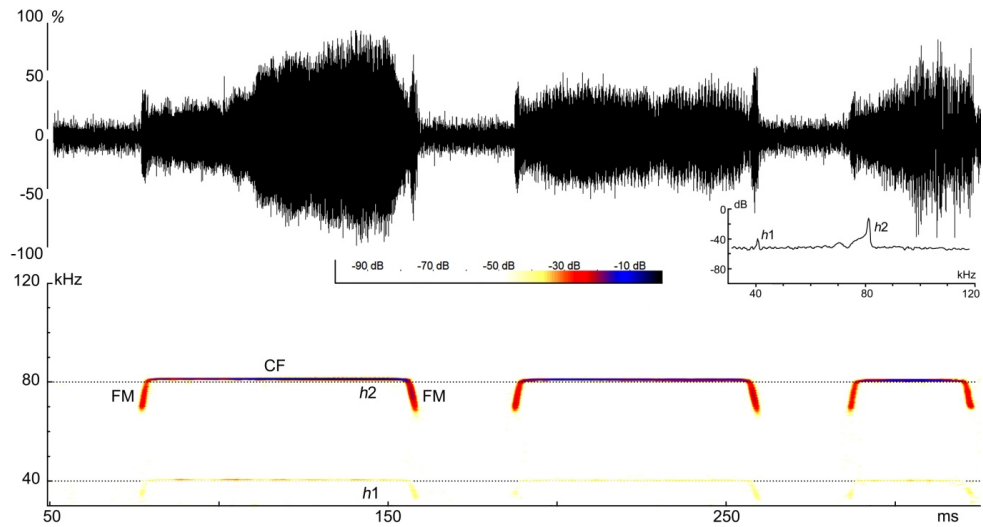


Рис. 1. Фрагмент записи сигналов *Rhinolophus ferrumequinum*. Импульсы сигналов представлены в виде осциллограммы, спектрограммы с амплитудной формой волны (линейное масштабирование) и диаграммы мощности спектра

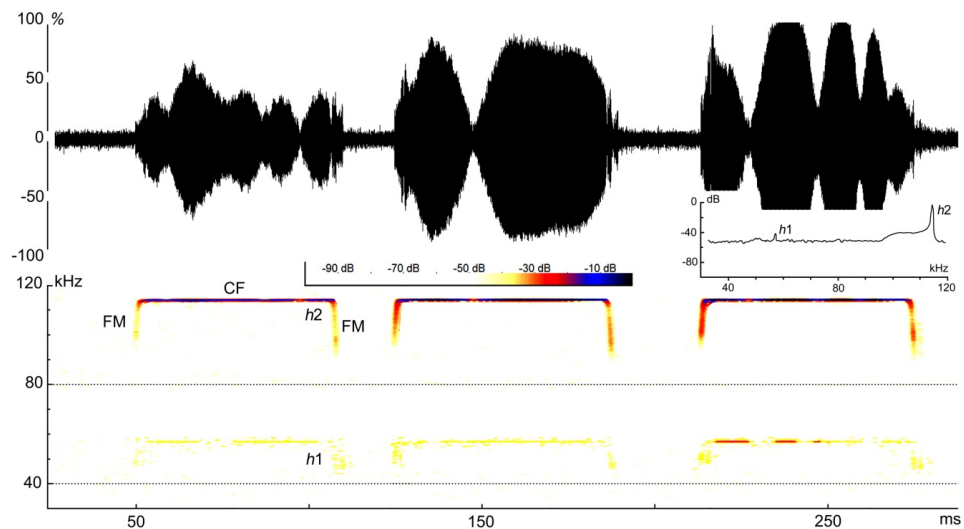


Рис. 2. Фрагмент записи сигналов *Rhinolophus hipposideros*. Импульсы сигналов представлены в виде осциллограммы, спектрограммы с амплитудной формой волны (линейное масштабирование) и диаграммы мощности спектра

Наибольшую изменчивость у подковоносов имеют длина импульсов и расстояние между ними. По первому показателю хорошо отличается *R. mehelyi*, который издает последовательности из двух, трех или четырех коротких импульсов, реже из пяти или шести. Первый импульс в каждой последовательности часто немного короче последующих. У сигналов *R. ferrumequinum* и *R. hipposideros* мы не обнаружили таких серий. Все их импульсы по

сравнению с *R. mehelyi* среднестатистически отличаются большей длительностью и интервалом ($p < 0,001$).

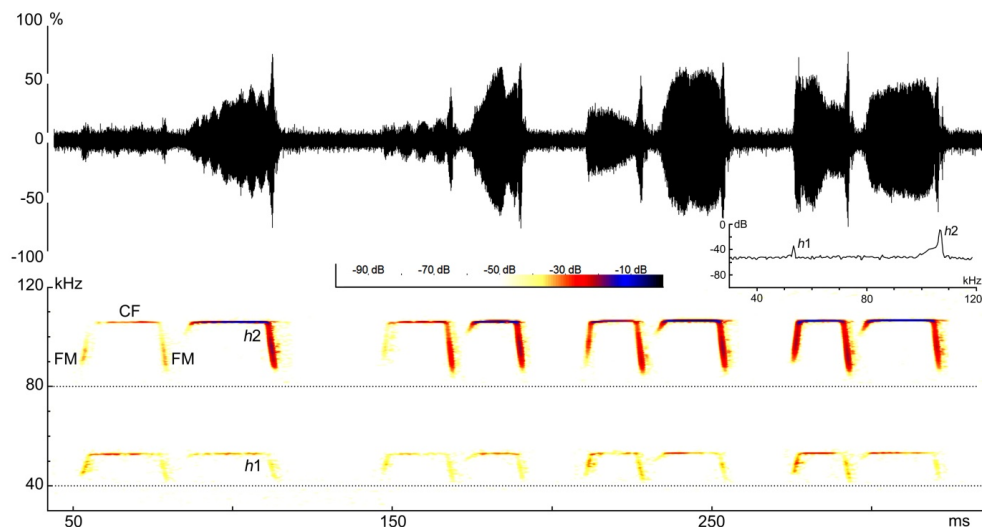


Рис. 3. Фрагмент записи сигналов *Rhinolophus mehelyi*. Импульсы сигналов представлены в виде осциллограммы, спектрограммы с амплитудной формой волны (линейное масштабирование) и диаграммы мощности спектра

Таблица 1

Характеристики эхолокационных сигналов трех видов подковоносов

Виды (число записей/ число импульсов)	<i>DUR</i> , ms	<i>Fst</i> , kHz	<i>Fend</i> , kHz	<i>Fpeak</i> , kHz	<i>IPI</i> , ms	<i>Fh1</i> , kHz
	Mean \pm SD (min–max)	Mean \pm SD (min–max)	Mean \pm SD (min–max)	Mean \pm SD (min–max)	Mean \pm SD (min–max)	Mean \pm SD (min–max)
<i>Rhinolophus ferrumequinum</i> (5/56)	59,7 \pm 9,7 (35,1–89,0)	67,8 \pm 1,5 (64,9–70,1)	66,8 \pm 2,6 (62,9–72,9)	81,4 \pm 1,1 (78,6–82,8)	95,4 \pm 13,5 (66,0–122,1)	40,8 \pm 0,6 (39,1–41,7)
<i>Rhinolophus hipposideros</i> (7/51)	47,8 \pm 10,6 (21,8–68,0)	96,0 \pm 1,7 (90,2–98,9)	91,8 \pm 2,4 (86,0–96,6)	113,7 \pm 1,6 (109,6–115,2)	78,8 \pm 10,8 (39,2–94,0)	56,9 \pm 0,8 (54,9–57,8)
<i>Rhinolophus mehelyi</i> (4/39)	19,6 \pm 4,4 (13,9–29,9)	98,3 \pm 5,6 (88,6–104,6)	85,0 \pm 1,4 (82,2–87,8)	106,4 \pm 1,2 (103,2–109,9)	27,4 \pm 9,4 (17,0–49,0)	53,4 \pm 0,5 (52,4–54,8)

Наиболее наглядную степень эхолокационной дифференциации видов представляет анализ главных компонент. Параметры сигналов подковоносов сравнительно хорошо факторизуются (первые две латентные переменные описывают 97,0 % общей вариации), что свидетельствует о существующих различиях эхолокационных сигналов между видами. В пространстве первых двух главных компонент исследованные выборки подковоносов делятся на три хорошо обособленные группы, четко соответствующие *R. ferrumequinum*, *R. hipposideros* и *R. mehelyi* (рис. 4). Их дифференциация происходит исключительно за счет первой главной компоненты, которая положительно сильно скоррелирована с частотными параметрами звука (*Fpeak*, *Fst*, *Fend*, *Fh1*) (табл. 2). По этой переменной хорошо расходятся, с одной стороны, *R. fer-*

rumequinum, с другой – *R. hipposideros* и *R. mehelyi*. Последние два вида обладают сходными частотными характеристиками, поэтому их облака рассеяния на проекции переменной образуют широкую трансгрессию. Вторая главная компонента относительно хорошо отрицательно скоррелирована с временными показателями сигналов (*DUR* и *IPI*) и дифференцирует *R. hipposideros* и *R. mehelyi*.

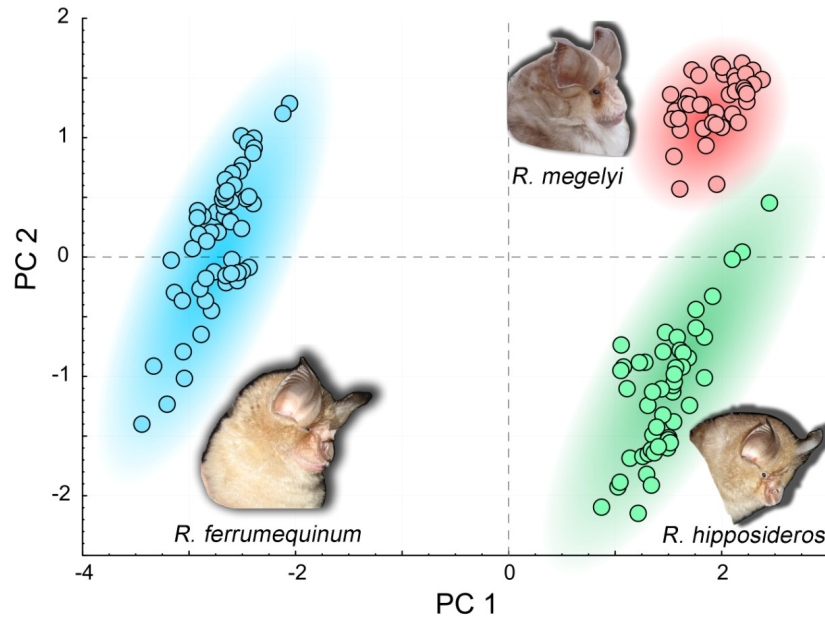


Рис. 4. Распределение 146 сигнальных импульсов трех видов подковоносов (*Rhinolophus mehelyi*, *R. hipposideros*, *R. ferrumequinum*) в пространстве первых двух главных компонент (PC1 и PC2), вычисленное на основе шести параметров эхолокационных сигналов

Таблица 2

Факторные нагрузки параметров эхолокационных сигналов трех видов подковоносов, рассчитанные для первых двух главных компонент (PC1 и PC2)

Параметры	PC1	PC2
<i>DUR</i>	-0,727	-0,652
<i>Fst</i>	0,980	-0,070
<i>Fend</i>	0,920	-0,364
<i>Fpeak</i>	0,953	-0,290
<i>IPI</i>	-0,718	-0,664
<i>Fh1</i>	0,953	-0,285
Показатели статистики		
Собственные числа	4,669	1,168
Объясненная дисперсия, %	77,81	19,47

Обсуждение

Полученные данные по эхолокационным сигналам трех видов подковоносов Дагестана можно успешно использовать для их идентификации. Од-

нако следует учитывать, что частотные и временные характеристики, в зависимости от ряда причин могут отличаться от приведенных выше интервальных значений. Отклонения, например, могут быть обусловлены доплеровским эффектом. В исследованиях показано, что основная частота эхолокационных сигналов может измениться на 2 % в сторону уменьшения или увеличения в зависимости от того, куда направлено движение полета животного по отношению к записывающему устройству [21]. Скорость полета также влияет на пиковую частоту эхолокационных сигналов: разница между частотой сигнала у сидящих на субстрате и летящих при скорости 5 м/с летучих мышей составляет около 3 % [12], а при 7 м/с – до 6 % [21].

У подковоносов прослеживается возрастная, половая и географическая изменчивость. Выявлено, что молодые животные воспроизводят эхолокационные сигналы на более низких частотах и часто более короткие, чем у взрослых [20, 22–24]. Не исключено, что такая разница в воспроизведении звуков может иметь адаптивное значение при коммуникации, позволяющее молодым и взрослым особям узнавать друг друга, а также играть определенную роль в социальных взаимодействиях [24]. Половые различия были выявлены у *R. hipposideros*, самки которого издают более высокие сигналы, чем самцы [22, 25–27]. Были предложены три гипотезы для объяснения таких различий у этого вида: коммуникация при взаимном узнавании особей противоположного пола, разделение ниши [22] и расширение спектра потенциальной добычи у самок [26]. В то же время у *R. mehelyi* различия по полу обнаружены не были [21, 24, 25].

Показатели сигналов могут изменяться в зависимости от окружающего пространства места охоты. Например, в загроможденной среде межимпульсный интервал и длительность уменьшаются, а полоса пропускания FM-компонентов может увеличиться [20]. Такие сигналы подходят для обнаружения движущейся добычи на неподвижном фоне, а эхо от FM-компонент предоставляет летучей мыши информацию о расстоянии до цели, а также местоположении и характере препятствий [28, 29]. В исследованиях *R. ferrumequinum*, проведенных в китайской провинции Цзилинь, показано, что такие факторы, как растительность, климат и топография местности, могут легко повлиять на структуру эхолокационных сигналов [30].

Выявленная в ряде исследований у подковоносов географическая изменчивость эхолокационных сигналов ставит под сомнение ранее предлагавшиеся акустические методы идентификации, которые были основаны на опубликованных данных из других географических областей [1, 12]. На это следует обращать внимание в первую очередь, особенно в тех регионах, где исследования эхолокационных сигналов видов не проводили.

В Дагестане особи *R. ferrumequinum* издают эхолокационные сигналы со средней пиковой частотой 81,4 kHz. В юго-восточной Европе этот показатель у вида ниже и варьирует от 77 до 81 kHz [13], в Британии он составляет 82,3 kHz [31], а в Китае – около 68 kHz [30].

В пределах ареала подвержены большой изменчивости сигналы у *R. hipposideros*. В Дагестане они имеют пиковую частоту 113,7 kHz. Дитц с соавторами [12] описали частотный интервал вида между 108–114 kHz. Однако, по данным Баратауд [1], интервал *R. hipposideros* составляет 102,5–113 kHz. В то же время на материковой Европе средние значения частоты с максимальной энергией у вида могут опускаться до 105 kHz [20]. Например,

в Венгрии для самок пиковая частота CF -компоненты составляет 106,8 kHz, тогда как для самцов 104 kHz [26]. На Крите частота поднимается до максимально известных значений – 115 kHz [20].

Не менее изменчивы в пределах ареала эхолокационные сигналы и у *R. mehelyi*. В Дагестане их средняя пиковая частота составляет 106,4 kHz. Примерно такие значения получены из Испании (106,8 kHz) [16] и из Южного Ирана (106,2 kHz) [32]. На севере Ирана зарегистрированы сигналы с более низкой частотой (104,9 kHz), однако их значения от таковых с Южного Ирана не являются значимыми [32]. В целом эхолокационные сигналы *R. mehelyi* из Ирана соответствуют единой эхолокационной последовательности с максимальной энергией 105 kHz, которые были описаны ранее для вида из Синая [33]. Согласно данным, полученным от европейских популяций, *R. mehelyi* издает звуки в диапазоне от 104 до 112 kHz [15, 16, 21, 24]. Например, в Сардинии средняя пиковая частота составляет 107 kHz [25], в Болгарии – 108,5 kHz [21], в Южной Италии – 107,5–108,1 kHz [24], а максимальные значения для вида зарегистрированы в Сицилии – 112,2 kHz [20].

Заключение

Таким образом, наши исследования показали, что эхолокационные сигналы у *R. ferrumequinum*, *R. hipposideros* и *R. mehelyi*, обитающих на территории Республики Дагестан, могут отличаться от их сигналов из других частей ареала. В Дагестане у этих трех видов сигналы обладают комплексом специфических признаков, которые можно легко использовать в идентификации. Для определения *R. ferrumequinum* не требуется специального анализа, так как основные частотные показатели сигналов минимальны для подковоносов Дагестана, не перекрываются с таковыми других видов и легко распознаются даже с помощью гетеродинного детектора. У *R. hipposideros* и *R. mehelyi* существуют совпадения в частотах. Значения пиковых частот второй гармоники у видов имеют минимальное перекрытие (109,6–109,9 kHz), поэтому этот показатель удобен для идентификации. Также эти виды легко распознаются по средним значениям длины импульсов и интервала между ними. Кроме того, хорошим признаком *R. mehelyi* может быть наличие в сигнале коротких тандемных импульсов.

Список литературы

1. Barataud M. Acoustic ecology of European bats. Species Identification and Studies of Their Habitats and Foraging Behaviour. Biotope Editions, Mèze; National Museum of Natural History (collection Inventaires et biodiversité). Paris, 2015. 340 p.
2. Lemen C., Freeman P. W., White J. A., Andersen B. R. The problem of low agreement among automated identification programs for acoustical surveys of bats // Western North American Naturalist. 2015. Vol. 75. P. 218–225.
3. Russo D., Voigt C. C. The use of automated identification of bat echolocation calls in acoustic monitoring: a cautionary note for a sound analysis // Ecological Indicators. 2016. Vol. 66. P. 598–602.
4. Rydell J., Nyman S., Eklöf J. [et al.]. Testing the performances of automated identification of bat echolocation calls: A request for prudence // Ecological Indicators. 2017. Vol. 78. P. 416–420.
5. Russo D., Ancillotto L., Jones G. Bats are still not birds in the digital era: echolocation call variation and why it matters for bat species identification // Canadian Journal of Zoology. 2017. Vol. 96. P. 63–78.

6. Лисовский А. А., Шефтель Б. И., Савельев А. П. [и др.]. Млекопитающие России: список видов и прикладные аспекты // Сборник трудов Зоологического музея МГУ. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2019. Т. 56. 191 с.
7. Смирнов Д. Г., Джамирзоев Г. С., Газарян С. В. [и др.]. Рукокрылые (Chiroptera) Дагестана: обзор фауны по итогам исследований в 2017–2019 гг. // Plecotus. 2019. № 22. С. 3–48.
8. Красная книга Республики Дагестан. Махачкала : Типография ИП Джамалудинов М. А., 2020. С. 686–687.
9. Красная книга Российской Федерации. Животные. 2-е изд. М. : ВНИИ Экология, 2021. С. 942–947.
10. Fenton M. B. Describing the echolocation calls and behaviour of bats // Acta Chiropterologica. 1999. Vol. 1. P. 127–136.
11. Neuweiler G. Echolocation. In The Biology of Bats. Oxford : Oxford University Press, 2000. P. 151–156.
12. Dietz C., von Helversen O., Nill D. Bats of Britain, Europe and northwest Africa. London : A and C Black, 2009. 400 p.
13. Heller K. G., von Helversen O. Resource partitioning of sonar frequency bands in rhinolophid bats // Oecologia. 1989. Vol. 80. P. 178–186.
14. Ahlen I. Identification of bats in flight // Swedish Society for Conservation of Nature & The Swedish Youth Association for Environmental Studies and Conservation. Stockholm, 1990. 50 p.
15. Papadatou E., Butlin R. K., Altringham J. D. Identification of bat species in Greece from their echolocation calls // Acta Chiropterologica. 2008. Vol. 10. P. 127–143.
16. Salsamendi E., Aihartza J., Goiti U. [et al.]. Echolocation calls and morphology in the Mehelyi's (*Rhinolophus mehelyi*) and mediterranean (*R. euryale*) horseshoe bats: implications for resource partitioning // Hystrix. The Italian Journal of Mammalogy. 2005. Vol. 16, № 2. P. 149–158. URL: <https://doi.org/10.4404/hystrix-16.2-4353>
17. Chen S. F., Jones G., Rossiter S. J. Determinants of echolocation call frequency variation in the Formosan lesser horseshoe bat (*Rhinolophus monoceros*) // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 2009. Vol. 276, № 1674. P. 3901–3909.
18. Jacobs D. S., Catto S., Mutumi G. L. [et al.]. Testing the Sensory Drive Hypothesis: Geographic variation in echolocation frequencies of Geoffroy's horseshoe bat (Rhinolophidae: *Rhinolophus clivosus*) // PLoS ONE. 2017. Vol. 12. P. e0187769.
19. Russo D., Jones G. Identification of twenty-two bat species (Mammalia: Chiroptera) from Italy by analysis of time-expanded recordings of echolocation calls // Journal of Zoology. 2002. Vol. 258. P. 91–103.
20. Russ J. Bat Calls of Britain and Europe. A Guide to Species Identification. Milton Keynes : Pelagic Publishing Ltd, 2021. 432 p.
21. Siemers B. M., Beedhol K., Dietz C. [et al.]. Is species identity, sex, age or individual quality conveyed by echolocation call frequency in European horseshoe bats? // Acta Chiropterologica. 2005. Vol. 7. P. 259–274.
22. Jones G., Gordon T., Nightingale J. Sex and age differences in the echolocation calls of the lesser horseshoe bat, *Rhinolophus hipposideros* // Mammalia. 1992. Vol. 56. P. 189–193.
23. Jones G., Ransome R. D. Echolocation calls of bats are influenced by maternal effects and change over a lifetime // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 1993. Vol. 252B. P. 125–128.
24. Russo D., Jones G., Mucedda M. Influence of age, sex and body size on echolocation calls of Mediterranean and Mehely's horseshoe bats, *Rhinolophus euryale* and *R. mehelyi* (Chiroptera: Rhinolophidae) // Mammalia. 2001. Vol. 65. P. 429–436.
25. Russo D., Mucedda M., Bello M. [et al.]. Divergent echolocation call frequencies in insular rhinolophids (Chiroptera): a case of character displacement? // Journal of Biogeography. 2007. Vol. 34, № 12. P. 2129–2138.

26. Györössy D., Györössy K., Estók P. Comparative analysis of the echolocation calls of the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) and the Mediterranean horseshoe bat (*Rhinolophus euryale*) in the Carpathian Basin // *North-Western Journal of Zoology*. 2020. Vol. 16. P. 204–210.
27. Kohyt J., Pierzchała E., Koza A., Piksa K. Resting Frequency of Echolocation Calls within a Lesser Horseshoe Bat Population (Southern Poland) and its Relation to Body Size, Condition and Mass // *Folia Biologica-Krakow*. 2022. Vol. 70, № 1. P. 33–42.
28. Simmons J. A., Fenton M. B., O'Farrell M. J. Echolocation and pursuit of prey by bats // *Science*. 1979. Vol. 203. P. 16–21.
29. Jones G., Rayner J. M. V. Foraging Behavior and Echolocation of Wild Horseshoe Bats *Rhinolophus ferrumequinum* and *R. hipposideros* (Chiroptera, Rhinolophidae) // *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 1989. Vol. 25. P. 183–191.
30. Xu Z., Jing W., Keping S. [et al.]. Echolocation calls of *Rhinolophus ferrumequinum* in relation to habitat type and environmental factors // *Acta Ecologica Sinica*. 2008. Vol. 28. P. 5248–5258.
31. Vaughan N., Jones G., Harris S. Identification of British bat species by multivariate analysis of echolocation call parameters // *The International Journal of Animal Sound and its Resording*. 1997. Vol. 7. P. 189–207.
32. Akmal V., Najafi N., Sharifi M. New distribution records and echolocation call information of the Mehely's Horseshoe Bat, *Rhinolophus mehelyi*, (Chiroptera: Rhinolophidae) in Iran // *Iranian Journal of Animal Biosystematics*. 2018. Vol. 14, № 1. P. 43–54.
33. Benda P., Dietz C., Andreas M. [et al.]. Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean and Middle East. Part 6. Bats of Sinai (Egypt) with some taxonomic, ecological and echolocation data on that fauna // *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae*. 2008. Vol. 72. P. 1–103.

References

1. Barataud M. *Acoustic ecology of European bats. Species Identification and Studies of Their Habitats and Foraging Behaviour. Biotope Editions, Mèze; National Museum of Natural History (collection Inventaires et biodiversité)*. Paris, 2015:340.
2. Lemen C., Freeman P.W., White J.A., Andersen B.R. The problem of low agreement among automated identification programs for acoustical surveys of bats. *Western North American Naturalist*. 2015;75:218–225.
3. Russo D., Voigt C.C. The use of automated identification of bat echolocation calls in acoustic monitoring: a cautionary note for a sound analysis. *Ecological Indicators*. 2016;66:598–602.
4. Rydell J., Nyman S., Eklöf J. [et al.]. Testing the performances of automated identification of bat echolocation calls: A request for prudence. *Ecological Indicators*. 2017;78:416–420.
5. Russo D., Ancillotto L., Jones G. Bats are still not birds in the digital era: echolocation call variation and why it matters for bat species identification. *Canadian Journal of Zoology*. 2017;96:63–78.
6. Lisovskiy A.A., Sheftel' B.I., Savel'ev A.P. [et al.]. Mammals of Russia: list of species and applied aspects. *Sbornik trudov Zoologicheskogo muzeya MGU = Proceedings of the Zoological museum of Moscow State University*. Moscow: Tovarischestvo nauchnykh izdaniy KMK, 2019;56:191.
7. Smirnov D.G., Dzhmirzoev G.S., Gazaryan S.V. [et al.]. Rukokrylye (Chiroptera) Dagestana: obzor fauny po itogam issledovaniy v 2017–2019 gg. = *Bats (Chiroptera) of Dagestan: a review of the fauna based on the results of research in 2017–2019. Plecotus*. 2019;(22):3–48. (In Russ.)
8. *Krasnaya kniga Respubliki Dagestan = The Red Book of the Republic of Dagestan*. Makhachkala: Tipografiya IP Dzhmaludinov M.A., 2020:686–687. (In Russ.)

9. *Krasnaya kniga Rossiyskoy Federatsii. Zhivotnye. 2nd ed = The Red Book of the Russian Federation. Animals. The 2nd edition.* Moscow: VNIi Ekologiya, 2021:942–947. (In Russ.)
10. Fenton M.B. Describing the echolocation calls and behaviour of bats. *Acta Chiropterologica*. 1999;1:127–136.
11. Neuweiler G. *Echolocation. In The Biology of Bats.* Oxford: Oxford University Press, 2000:151–156.
12. Dietz C., von Helversen O., Nill D. *Bats of Britain, Europe and northwest Africa.* London: A and C Black, 2009:400.
13. Heller K.G., von Helversen O. Resource partitioning of sonar frequency bands in rhinolophid bats. *Oecologia*. 1989;80:178–186.
14. Ahlen I. Identification of bats in flight. *Swedish Society for Conservation of Nature & The Swedish Youth Association for Environmental Studies and Conservation.* Stockholm, 1990:50.
15. Papadatou E., Butlin R.K., Altringham J.D. Identification of bat species in Greece from their echolocation calls. *Acta Chiropterologica*. 2008;10:127–143.
16. Salsamendi E., Aihartza J., Goiti U. [et al.]. Echolocation calls and morphology in the Mehelyi's (*Rhinolophus mehelyi*) and mediterranean (*R. euryale*) horseshoe bats: implications for resource partitioning. *Hystrix. The Italian Journal of Mammalogy*. 2005;16(2):149–158. Available at: <https://doi.org/10.4404/hystrix-16.2-4353>
17. Chen S.F., Jones G., Rossiter S.J. Determinants of echolocation call frequency variation in the Formosan lesser horseshoe bat (*Rhinolophus monoceros*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2009;276(1674):3901–3909.
18. Jacobs D.S., Catto S., Mutumi G.L. [et al.]. Testing the Sensory Drive Hypothesis: Geographic variation in echolocation frequencies of Geoffroy's horseshoe bat (*Rhinolophidae: Rhinolophus clivosus*). *PLoS ONE*. 2017;12:e0187769.
19. Russo D., Jones G. Identification of twenty-two bat species (Mammalia: Chiroptera) from Italy by analysis of time-expanded recordings of echolocation calls. *Journal of Zoology*. 2002;258:91–103.
20. Russ J. *Bat Calls of Britain and Europe. A Guide to Species Identification.* Milton Keynes: Pelagic Publishing Ltd, 2021:432.
21. Siemers B.M., Beedhol K., Dietz C. [et al.]. Is species identity, sex, age or individual quality conveyed by echolocation call frequency in European horseshoe bats? *Acta Chiropterologica*. 2005;7:259–274.
22. Jones G., Gordon T., Nightingale J. Sex and age differences in the echolocation calls of the lesser horseshoe bat, *Rhinolophus hipposideros*. *Mammalia*. 1992;56:189–193.
23. Jones G., Ransome R.D. Echolocation calls of bats are influenced by maternal effects and change over a lifetime. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 1993;252B:125–128.
24. Russo D., Jones G., Mucedda M. Influence of age, sex and body size on echolocation calls of Mediterranean and Mehelyi's horseshoe bats, *Rhinolophus euryale* and *R. mehelyi* (Chiroptera: Rhinolophidae). *Mammalia*. 2001;65:429–436.
25. Russo D., Mucedda M., Bello M. [et al.]. Divergent echolocation call frequencies in insular rhinolophids (Chiroptera): a case of character displacement? *Journal of Biogeography*. 2007;34(12):2129–2138.
26. Györössy D., Györössy K., Estók P. Comparative analysis of the echolocation calls of the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) and the Mediterranean horseshoe bat (*Rhinolophus euryale*) in the Carpathian Basin. *North-Western Journal of Zoology*. 2020;16:204–210.
27. Kohyt J., Pierzchała E., Koza A., Piksa K. Resting Frequency of Echolocation Calls within a Lesser Horseshoe Bat Population (Southern Poland) and its Relation to Body Size, Condition and Mass. *Folia Biologica-Krakow*. 2022;70(1):33–42.
28. Simmons J.A., Fenton M.B., O'Farrell M.J. Echolocation and pursuit of prey by bats. *Science*. 1979;203:16–21.

29. Jones G., Rayner J.M.V. Foraging Behavior and Echolocation of Wild Horseshoe Bats *Rhinolophus ferrumequinum* and *R. hipposideros* (Chiroptera, Rhinolophidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 1989;25:183–191.
30. Xu Z., Jing W., Keping S. [et al.]. Echolocation calls of *Rhinolophus ferrumequinum* in relation to habitat type and environmental factors. *Acta Ecologica Sinica*. 2008;28:5248–5258.
31. Vaughan N., Jones G., Harris S. Identification of British bat species by multivariate analysis of echolocation call parameters. *The International Journal of Animal Sound and its Resording*. 1997;7:189–207.
32. Akmal V., Najafi N., Sharifi M. New distribution records and echolocation call information of the Mehely's Horseshoe Bat, *Rhinolophus mehelyi*, (Chiroptera: Rhinolophidae) in Iran. *Iranian Journal of Animal Biosystematics*. 2018;14(1):43–54.
33. Benda P., Dietz C., Andreas M. [et al.]. Bats (Mammalia: Chiroptera) of the Eastern Mediterranean and Middle East. Part 6. Bats of Sinai (Egypt) with some taxonomic, ecological and echolocation data on that fauna. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae*. 2008;72:1–103.

Информация об авторах / Information about the authors

Дмитрий Григорьевич Смирнов

доктор биологических наук, доцент,
профессор кафедры зоологии
и экологии, Пензенский
государственный университет
(Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: eptesicus@mail.ru

Dmitriy G. Smirnov

Doctor of biological sciences, associate
professor, professor of the sub-department
of zoology and ecology, Penza State
University (40 Krasnaya street,
Penza, Russia)

Гаджибек Сефибекович Джамирзоев

старший научный сотрудник,
Институт экологии горных территорий
имени А. К. Темботова РАН (Россия,
Кабардино-Балкарская Республика,
г. Нальчик, ул. И. Арманд, 37а);
заместитель директора по науке,
Государственный природный заповедник
«Дагестанский» (Россия, г. Махачкала,
ул. Гагарина, 120)

E-mail: dzhamir@mail.ru

Gadzhibek S. Dzhamirzoev

Senior researcher, Institute of Ecology
of Mountain Territories named after
A.K. Tembotov of the Russian Academy
of Sciences (37a I. Armand street, Nalchik,
Kabardino-Balkaria, Russia); deputy
director for science, Dagestan State
Nature Reserve (120 Gagarina street,
Makhachkala, Russia)

Юрий Александрович Быков

научный сотрудник, Национальный парк
«Мещёра» (Россия, г. Гусь-Хрустальный,
ул. Интернациональная, 111)

E-mail: bykov_goos@yahoo.com

Yuriy A. Bykov

Researcher, Meschera National Park
(111 Internatsionalnaya street,
Gus-Khrustalny, Russia)

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.

Поступила в редакцию / Received 09.07.2022

Поступила после рецензирования и доработки / Revised 03.08.2022

Принята к публикации / Accepted 15.08.2022

УДК 599.742.21(471.327)
doi:10.21685/2307-9150-2022-2-5

Бурый медведь на южной границе ареала в Поволжье (Пензенская область)

О. А. Ермаков¹, Д. В. Салагин², Д. А. Капустин³, В. Ю. Ильин⁴

^{1,4}Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

^{2,3}Министерство лесного, охотничьего хозяйства
и природопользования Пензенской области, Пенза, Россия

¹oermakov@list.ru, ^{2,3}minlhpr@yandex.ru, ⁴iljin_bat@mail.ru

Аннотация. *Актуальность и цели.* В настоящее время наблюдается рост численности и расселение бурого медведя (*Ursus arctus*) в южном направлении, в том числе и на территории Пензенской области. Появление крупного хищника в густонаселенных районах лесостепного региона представляет значительный интерес. Целью работы является обобщение достоверных фактов обитания и выявление особенностей распространения медведя в Пензенской области за период 2018–2022 гг. *Материалы и методы.* Использовались сведения о случаях пребывания медведя, подтвержденные документально (фотографии животных, следов их лап, следов жизнедеятельности) и полученные от специалистов сферы охотничьего хозяйства и природопользования. *Результаты.* Всего за пятилетний период зафиксировано 25 случаев пребывания медведя на территории девяти районов. Хищник заселил большинство крупных лесных массивов области, распространившись к югу до 52°46' с.ш., что является южным пределом ареала медведя в Поволжье. *Выводы.* Присутствие разновозрастных зверей, в том числе медвежат, встречи следов ранней весной и поздней осенью позволяют предполагать начало закрепления вида на новых территориях юга лесостепной зоны.

Ключевые слова: бурый медведь, граница ареала, *Ursus arctos*

Для цитирования: Ермаков О. А., Салагин Д. В., Капустин Д. А., Ильин В. Ю. Бурый медведь на южной границе ареала в Поволжье (Пензенская область) // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 2. С. 49–58. doi:10.21685/2307-9150-2022-2-5

Brown bear on the southern border of the range in Volga region (Penza region)

O.A. Ermakov¹, D.V. Salagin², D.A. Kapustin³, V.Yu. Il'in⁴

^{1,4}Penza State University, Penza, Russia

^{2,3}Ministry of Forestry, Hunting and Nature Management
of Penza Region, Penza, Russia

¹oermakov@list.ru, ^{2,3}minlhpr@yandex.ru, ⁴iljin_bat@mail.ru

Abstract. *Background.* At the present time there is an increase in the number and resettlement of the brown bear (*Ursus arctus*) in a southerly direction, including Penza region. The appearance of a large predator in densely populated areas of the forest-steppe region is of considerable interest. The purpose of the study is to summarize the reliable facts of the habitat and identify the features of bear distribution in Penza region during

2018–2022. *Materials and methods.* We used information about the cases of the bear's stay, documented (photographs of animals, paw prints, traces of vital activity) and received from specialists in the field of hunting and nature management. *Results.* In total, over a five-year period, 25 cases of a bear staying in 9 districts were recorded. The predator inhabited most of the large forest areas of the region, spreading to the south to 52°46' N, which is the southern limit of the bear's range in the Volga region. *Conclusions.* The presence of animals of different ages, including cubs, and the sighting of tracks in early spring and late autumn suggest the beginning of the establishment of the species in new territories in the south of the forest-steppe zone.

Keywords: brown bear, range border, *Ursus arctos*

For citation: Ermakov O.A., Salagin D.V., Kapustin D.A., Il'in V.Yu. Brown bear on the southern border of the range in Volga region (Penza region). *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(2):49–58. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-2-5

Введение

В последние десятилетия отмечается рост численности бурого медведя (*Ursus arctus* Linnaeus, 1758) и смещение южной границы его ареала к югу [1, 2]. По территории Среднего Поволжья и сопредельных регионов проходит южная граница ареала вида [3], здесь он является редким и внесен в региональные Красные книги Татарстана, Чувашии, Мордовии, Ульяновской, Пензенской, Рязанской и Тамбовской областей [4].

Пензенская область расположена на стыке зоны широколиственных лесов (северо-восточная часть) и лесостепи (западная половина и юго-восток), леса занимают 21,4 % общей площади и сосредоточены главным образом в северо-восточной и менее в северо-западной и центральной частях [5, 6]. Сведения об обитании бурого медведя на территории региона известны с конца XVIII в. По материалам Генерального межевания вид упоминался для Нижнеломовского уезда Пензенской губернии и Моршанского и Спасского уездов Тамбовской губернии, территории которых позднее вошли в состав Пензенской области [7]. В конце XIX – первой половине XX столетия в Европейской России происходило сокращение ареала и падение численности медведя [8]. В 20-х гг. прошлого века медведь сохранился в ограниченном количестве в лесах Спасского уезда [9], однако его роль как объекта охоты снижалась, и в 1948 г. охота на медведя на территории области была запрещена [5]. На северо-западе региона (Земетчинский р-н) бурый медведь продолжал жить оседло до пожаров 1972 г., после чего отмечались единичные встречи – в 1995 г. обнаружена берлога и в 2003 г. следы лап на границе с Тамбовской областью [10, 11]. Спорадичность встреч хищника послужила основанием исключения медведя из списка видов Красной книги Пензенской области, и перевода в перечень таксонов, нуждающихся в особом внимании к их состоянию в природной среде [12]. Однако в последние годы, начиная с осени 2018 г., вновь стали поступать сведения о следах пребывания бурого медведя на территории области, причем число таких случаев росло. Продвижение к югу крупного хищника и заселение им территорий, на которых его ранее не отмечали, представляет значительный интерес, поэтому авторы поставили задачу обобщить достоверные факты обитания и выявить особенности распространения медведя в области за пятилетний период.

Материалы и методы

В работе использовали сведения о регистрации следов пребывания бурого медведя в Пензенской области, собранные в 2018–2022 гг. Учитывали данные с указанием места находки с точностью 1–3 км, подтвержденные либо документально – фотографии животных, следов их лап, следов жизнедеятельности (рис. 1), либо полученные от специалистов сферы охотничьего хозяйства и природопользования. Все случаи регистрации хищника заносились в базу данных портала «Млекопитающие России» (<https://rusmam.ru/> [13]).



Рис. 1. Примеры фотографий как источников данных для работы:
a – фотоловушка (Сосновоборский р-н); *б* – след на снегу с масштабной линейкой (Лунинский р-н); *в* – след на грязи (Земетчинский р-н)

Результаты и обсуждение

Всего за период с октября 2018 г. по август 2022 г. в Пензенской области зафиксировано 25 случаев пребывания медведя на территории 9 из 27 районов. В северо-западной части региона в Земетчинском районе, в восточной – в правобережных частях Лунинского и Бессоновского, а также в Городищенском, Никольском, Сосновоборском, Кузнецком, Шемышейском и Камешкирском районах (табл. 1, рис. 2). Для всех 9 районов характерна высокая для лесостепной зоны площадь облесенности – от 28 до 52 %, достаточная

для выживания медведя, так как считается, что общая лесистость обитаемой территории должна быть не ниже 15 % [14].

Таблица 1
Места регистрации бурого медведя на территории Пензенской области

№	Дата	Адрес	Координаты	Источник данных	Способ определения
<i>Земетчинский район</i>					
1	05.06.2022	пос. Голубцы	53.79N, 42.33E	Фото	Следы
2	09.09.2021	пос. Пашково	53.64N, 42.36E	Фото	Следы
<i>Лунинский район</i>					
3	07.05.2022	с. Чертеим	53.48N, 45.25E	Дистантная регистрация	Следы
<i>Бессоновский район</i>					
4	03.05.2022	с. Лопуховка	53.33N, 45.30E	Фото	Следы
5	18.04.2020	с. Пазелки	53.40N, 45.41E	Дистантная регистрация	Следы
<i>Городищенский район</i>					
6	25.05.2021	с. Верхний Шкафт	53.53N, 45.46E	Фото	Следы
7	16.05.2021	с. Верхний Шкафт	53.53N, 45.62E	Фото	Следы
8	09.06.2022	с. Архангельское	53.23N, 45.86E	Фото	Следы
<i>Никольский район</i>					
9	01.11.2019	с. Аришка	53.57N, 45.53E	Фото	Следы, экскременты
10	22.05.2022	с. Прудное	53.67N, 46.01E	Фото	Следы
11	12.06.2022	г. Никольск	53.69N, 46.06E	Дистантная регистрация	Внешний вид
12	28.07.2022	г. Никольск	53.73N, 46.11E	Интернет	Внешний вид
<i>Сосновоборский район</i>					
13	12.10.2018	с. Маркино	53.45N, 46.01E	Фото	Следы
14	09.06.2022	с. Альмяшевка	53.21N, 46.01E	Фото	Внешний вид
15	24.05.2022	с. Балук	53.35N, 46.38E	Фото	Экскременты
16	10.04.2022	с. Шкудим	53.37N, 46.47E	Фото	Следы
<i>Кузнецкий район</i>					
17	12.05.2022	с. Часы	53.37N, 46.74E	Фото	Следы
18	03.11.2021	с. Часы	53.33N, 46.79E	Фото	Экскременты
19	01.08.2022	с. Сурмино	53.30N, 46.71E	Фото	Следы
20	30.05.2022	с. Ульяновка	53.12N, 46.74E	Фото	Следы
<i>Шемьшейский район</i>					
21	10.05.2022	с. Дубровка-на-Узе	52.81N, 45.51E	Дистантная регистрация	Внешний вид
22	20.06.2021	с. Каржимант	52.78N, 45.51E	Видео	Внешний вид
23	02.10.2021	с. Неклюдово	52.83N, 45.68E	Фото	Следы
<i>Камешкирский район</i>					
24	02.09.2021	с. Кулясово	52.81N, 45.86E	Фото	Следы
25	13.10.2021	с. Кулясово	52.80N, 45.85E	Фото	Следы
<i>Ульяновская область</i>					
26	2015	Инзенский р-н, с. Первомайское	54.01N, 45.92E	Литература[15]	Следы
27	19.10.2021	Барышский р-н, с. Сурские Вершины	53.37N, 46.92E	Фото	Следы

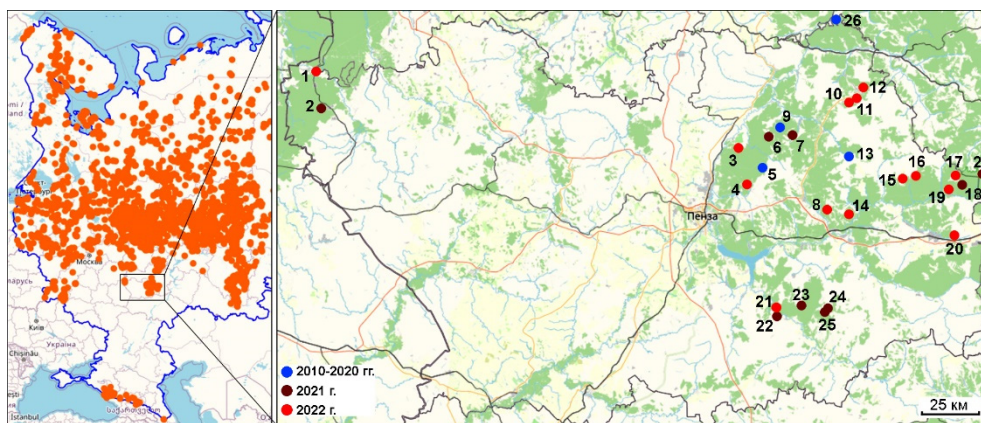


Рис. 2. Карта мест регистрации бурого медведя на территории Европейской части России (слева) и Пензенской области (справа) по оригинальным сведениям и данным портала «Млекопитающие России» (<https://rusmam.ru/>). Номера точек соответствуют табл. 1

Первые сведения о следах медведя в Засурских лесах северо-восточной части области (окр. с. Кенчурка Никольского р-на) появились в 2009–2010 гг. Эти сведения посчитали сомнительными в связи с тем, что медведь ранее был известен только в Заметчинских лесах на северо-западе региона, а в восточной части он никогда не отмечался. Однако по литературным данным медведь с 2005 г. обитал в 12 км севернее с. Кенчурка в окрестностях пос. Первомайский Ульяновской области (точка 26, рис. 2) [15], поэтому упомянутые выше заходы на территорию Пензенской области были возможны.

В 2018–2020 гг. зарегистрировано всего три находки следов медведя на западе и в центре Засурских лесов (точки 5, 9, 13, рис. 2). Из них в двух случаях следы принадлежали одиночным особям, в одном, судя по различной ширине пальмарных мозолей (14 и 7 см соответственно), медведице с медвежонком.

В 2021 г. зафиксировано 8 случаев пребывания медведя. Следы хищника стали встречаться не только в Засурских лесах (точки 6 и 7), но и в верховьях р. Суры на востоке Пензенской области и пограничной территории Ульяновской (точки 18 и 27), а также в междуречье рек Узы и Суры в южной части региона (точки 22–24). Последние локалитеты расположены ниже 53 параллели и являются самыми южными пределами ареала медведя в Поволжье. В этом же году, после 18 лет отсутствия, медведь вновь появился на северо-западе области в Заметчинском районе (точка 2).

За первое полугодие 2022 г. обнаружено 14 фактов регистрации следов, расположенных как рядом с уже известными метами находок (точки 1, 3, 4, 17, 19, 21), так и на новых территориях в центральной части Засурья (точки 8, 10–12, 14–16, 20). Медведь к настоящему времени отмечен во всех крупных лесных массивах области, за исключением лесов, расположенных на северном берегу Пензенского водохранилища к востоку от г. Пензы и в междуречье рек Суры и Кадады на юго-востоке региона.

Максимальное количество встреч (54 %) по месяцам года за пятилетний период приходилось на май и июнь (9 и 5 встреч соответственно), что, вероятно, связано с периодом гона (перемещениями самцов в поиске полово-

го партнера), а в дальнейшем – началом нажировочного периода. Самая ранняя встреча отмечена 4 апреля, поздняя – 3 ноября. Наличие следов разновозрастных зверей, в том числе медвежат с шириной пальмарных мозолей 6–8 см в трех точках наблюдений (12, 13, 19, рис. 2) и фиксация следов ранней весной и поздней осенью позволяют говорить не о единичных заходах, а о начале закрепления популяции медведя на территории лесных массивов восточной части области.

Расселение медведя к югу на территорию области происходило независимо из двух известных ранее очагов обитания медведя, на западе – из Мордовских лесов, на востоке – из Присурских. Оба очага в 1960–1970 гг. считались «островными», изолированными от основной части ареала в Заволжье, с низкой плотностью хищника, составляющей 0,04–0,11 особи на 1000 га [16, 17]. Переходы медведей из Мордовских лесов в Присурские маловероятны из-за наличия больших безлесных пространств [18].

К факторам, определяющим наблюдаемый рост численности и расселение медведя, относят как присущие этому виду-генералисту биологические особенности – лабильность поведения, скрытность, эффективное размножение независимо от климатических факторов, устойчивость к болезням, долголетие [2], так и внешние факторы, такие как характер лесных экосистем, миграционная активность при обитании в антропогенноосвоенном ландшафте [19], антропогенные источники пищи – подкормочные площадки для привлечения диких копытных в охотничьих хозяйствах [20], заброшенные яблоневые сады, засеваемые в рамках биотехнических мероприятий овсяные поля, а также развивающиеся на местах бывших деревень луговые сообщества [21].

Без проведения специальных учетов объективно оценить численность медведя на территории области невозможно. Считается, что для выживания одной особи нужно не менее 10 км², а для популяции – не менее 300 км² леса [2]. Размеры индивидуальных участков медведей чрезвычайно изменчивы, зависят от пола, возраста, социального статуса [3]. Например, на Дальнем Востоке по данным спутникового слежения за четырьмя медведями площадь участка составила 6–28 км² для самок и 153 км² для самца [22]. В Болгарии в результате GPS-GSM-телеметрии девяти особей показано, что площадь участка в среднем составила 149 км² (25–605 км²), в том числе 77 км² для самок и 190 км² для самцов [23]. Исходя из приведенных данных и полученных нами сведений о современном распространении медведя на территории области, можно предполагать, что минимальная численность медведя в настоящее время составляет 7–10 особей (1–2 на северо-западе и 6–8 на востоке). В то же время ресурсная емкость районов, где отмечен хищник (более 6000 км² покрытых лесом земель), может обеспечить обитание популяции медведей в 2–4 раза большей численности.

Заключение

Бурый медведь, ранее населявший северо-западную часть Пензенской области, почти полностью исчез в конце XX в. За последние 5 лет медведь впервые заселил большинство крупных лесных массивов восточной части региона и вновь появился на его северо-западе. Динамика обнаружения следов пребывания медведя за пятилетний период отличается ростом встреч в последние два года: по одному случаю в 2018–2020 гг., и 8 и 14 – в 2021 и

2022 гг. соответственно. Наличие разновозрастных зверей, включая прирбы-
 лых медвежат, и встречи поздней осенью и ранней весной, позволяют гово-
 рить о начале закрепления вида на южном пределе ареала в Поволжье.

Список литературы

1. О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2020 году. Государственный доклад. М. : Минприроды России ; МГУ имени М. В. Ломоносова, 2021. 864 с.
2. Вайсфельд М. А., Баскин Л. М., Губарь Ю. П. [и др.]. Динамика южной границы ареала бурого медведя в Европейской России // Известия РАН. Серия географическая. 2008. № 3. С. 81–91.
3. Аристов А. А., Барышников Г. Ф. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Хищные и ластоногие. СПб., 2001. 560 с.
4. Лисовский А. А., Шефтель Б. И., Савельев А. П. [и др.]. Млекопитающие России: список видов и прикладные аспекты. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2019. 191 с.
5. Природа Пензенской области. Пенза : Пензенское книжное издательство, 1955. 460 с.
6. Кудрявцев А. Ю. Леса Пензенской области // Известия Пензенского государственного педагогического университета имени В. Г. Белинского. Естественные науки. 2007. № 5. С. 17–23.
7. Румянцев В. Ю., Хитров Д. А., Голубинский А. А. Историко-экологический анализ распространения млекопитающих юга Европейской России по материалам Генерального межзаведования // Аридные экосистемы. 2018. Т. 24, № 3. С. 25–35.
8. Кириков С. В. Промысловые животные, природная среда и человек. М. : Наука, 1966. 348 с.
9. де-Ливрон А. Охота в Пензенской губернии // Природа и хозяйство Пензенского края. 1925. № 6. С. 69–82.
10. Ильин В. Ю., Ермаков О. А., Лукьянов С. Б. Новые данные по распространению млекопитающих в Поволжье и Волго-Уральском междуречье // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. 1996. Т. 101, № 2. С. 30–37.
11. Ильин В. Ю., Быстракова Н. В., Добролюбов А. Н. [и др.]. Конспект фауны млекопитающих Пензенской области // Известия Пензенского государственного педагогического университета им. В. Г. Белинского. 2006. № 1. С. 73–89.
12. Красная книга Пензенской области. Животные. Т. 2. 2-е изд. Воронеж, 2019. 264 с.
13. Lisovsky A. A., Sheftel B. I., Stakheev V. V. [et al.]. Creating an integrated information system for the analysis of mammalian fauna in the Russian Federation and the preliminary results of this information system // Russian Journal of Theriology. 2018. Vol. 17, № 2. P. 85–90.
14. Пажетнов В. С. Центр Европейской территории России // Медведи. М. : Наука, 1993. С. 51–60.
15. Корольков М. А., Кривошеев В. А. Бурый медведь // Красная книга Ульяновской области. М. : Буки Веди, 2015. С. 504–505.
16. Приклонский С. Г. Размещение и численность бурого медведя и рыси в средней полосе Европейской части РСФСР // Труды Окского государственного заповедника. М., 1967. С. 69–115.
17. Полякова А. Д. Изменения в размещении и численности бурого медведя и рыси в средней полосе РСФСР за десятилетний период // Труды Окского государственного заповедника. 1975. № 11. С. 289–311.
18. Бугаев К. Е. Бурый медведь Мордовского государственного природного заповедника // Труды Мордовского государственного природного заповедника имени П. Г. Смидовича. 2006. № 4. С. 4–9.

19. Винобер А. В. Миграционное поведение бурого медведя (*Ursus arctos* L.) // Гуманитарные аспекты охоты и охотничьего хозяйства. 2019. № 11. С. 45–56.
20. Пучковский С. В. Человек и бурый медведь в России: как обеспечить бесконфликтное сосуществование и устойчивое развитие. Ижевск : Изд-во «Удмуртский университет», 2009. 106 с.
21. Огурцов С. С. Моделирование пригодности местообитаний и распределения бурого медведя (*Ursus arctos*) в подзоне южной тайги с помощью метода максимальной энтропии // Nature Conservation Research. Заповедная наука. 2019. Т. 4, № 4. С. 34–64.
22. Середкин И. В., Пачковский Дж., Борисов М. Ю. [и др.]. Участки обитания бурого медведя на полуострове Камчатка и острове Сахалин // Сибирский экологический журнал. 2017. Т. 24, № 6. С. 680–695.
23. Todorov V. R., Zlatanova D. P., Valchinkova K. V. Home range, mobility and hibernation of brown bears (*Ursus arctos*, Ursidae) in areas with supplementary feeding // Nature Conservation Research. 2020. Vol. 5, № 4. P. 1–15.

References

1. *O sostoyanii i ob okhrane okruzhayushchey sredy Rossiyskoy Federatsii v 2020 godu. Gosudarstvennyy doklad = On the state and protection of the environment of the Russian Federation in 2020. State report.* Moscow: Minprirody Rossii; MGU imeni M.V. Lomonosova, 2021:864. (In Russ.)
2. Vaysfel'd M.A., Baskin L.M., Gubar' Yu.P. [et al.]. Dynamics of the Southern Border of the Brown Bear Range in European Russia. *Izvestiya RAN. Seriya geograficheskaya = Proceedings of the Russian Academy of Sciences. Series: Geography.* 2008;(3):81–91. (In Russ.)
3. Aristov A.A., Baryshnikov G.F. *Mlekopitayushchie fauny Rossii i sopredel'nykh territoriy. Khishchnye i lastonogie = Mammals of the fauna of Russia and adjacent territories. Carnivores and pinnipeds.* St. Petersburg, 2001:560. (In Russ.)
4. Lisovskiy A.A., Sheftel' B.I., Savel'ev A.P. [et al.]. *Mlekopitayushchie Rossii: spisok vidov i prikladnye aspekty = Mammals of Russia: list of species and applied aspects.* Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK, 2019:191. (In Russ.)
5. *Priroda Penzenskoy oblasti. Penza: Penzenskoe knizhnoe izdatel'stvo = Nature of Penza region. Penza: Penza book publishing house.* Penza: Penza book publishing house. 1955:460. (In Russ.)
6. Kudryavtsev A.Yu. Forests in Penza region. *Izvestiya Penzenskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta imeni V. G. Belinskogo. Estestvennye nauki = Proceedings of Penza State Pedagogical University named after V. G. Belinskiy. Natural sciences.* 2007;(5):17–23. (In Russ.)
7. Rumyantsev V.Yu., Khitrov D.A., Golubinskiy A.A. Historical and ecological analysis of the distribution of mammals in the south of European Russia based on the materials of the General Land Survey. *Aridnye ekosistemy = Arid ecosystems.* 2018;24(3):25–35. (In Russ.)
8. Kirikov S.V. *Promyslovye zhivotnye, prirodная среда i chelovek = Game animals, natural environment and human.* Moscow: Nauka, 1966:348.
9. de-Livron A. Hunting in Penza region. *Priroda i khozyaystvo Penzenskogo kraya = Nature and economy of Penza region.* 1925;6:69–82. (In Russ.)
10. Il'in V.Yu., Ermakov O.A., Luk'yanov S.B. New data on the distribution of mammals in the Volga region and the Volga-Ural interfluvium. *Byulleten' Moskovskogo obshchestva ispytateley prirody. Otdel biologicheskoy = Bulletin of Moscow Society of nature testers. Department of biology.* 1996;101(2):30–37. (In Russ.)
11. Il'in V.Yu., Bystrakova N.V., Dobrolyubov A.N. [et al.]. Summary of the mammalian fauna of the Penza region. *Izvestiya Penzenskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo*

- universiteta imeni V. G. Belinskogo = Proceedings of Penza State Pedagogical University named after V. G. Belinskiy*. 2006;1:73–89. (In Russ.)
12. *Krasnaya kniga Penzenskoy oblasti. Zhivotnye. T. 2. 2-e izd = The Red Book of Penza region. Animals. Volume 2. The 2nd edition*. Voronezh, 2019:264. (In Russ.)
 13. Lissovsky A.A., Sheftel B.I., Stakheev V.V. [et al.]. Creating an integrated information system for the analysis of mammalian fauna in the Russian Federation and the preliminary results of this information system. *Russian Journal of Theriology*. 2018;17(2):85–90.
 14. Pazhetnov V.S. Center of the European territory of Russia. *Medvedi = Bears (Ursus)*. Moscow: Nauka, 1993:51–60. (In Russ.)
 15. Korol'kov M.A., Krivosheev V.A. Brown bear. *Krasnaya kniga Ulyanovskoy oblasti = The Red Book of Ulyanovsk region*. Moscow: Buki Vedi, 2015:504–505. (In Russ.)
 16. Priklonskiy S.G. Distribution and abundance of the brown bear and lynx in the middle zone of the European part of the RSFSR. *Trudy Okskogo gosudarstvennogo zapovednika = Proceedings of the Oka State Reserve*. Moscow, 1967:69–115. (In Russ.)
 17. Polyakova A.D. Changes in the distribution and abundance of the brown bear and lynx in the central zone of the RSFSR over a 10-year period. *Trudy Okskogo gosudarstvennogo zapovednika = Proceedings of the Oka State Reserve*. 1975;(11):289–311. (In Russ.)
 18. Bugaev K.E. Brown bear of the Mordovia State Nature Reserve. *Trudy Mordovskogo gosudarstvennogo prirodnogo zapovednika imeni P. G. Smidovicha = Proceedings of Mordovia State Nature Reserve named after P. G. Smidovich*. 2006;(4):4–9. (In Russ.)
 19. Vinober A.V. Migration behavior of the brown bear (*Ursus arctos* L.). *Gumanitarnye aspekty okhoty i okhotnich'ego khozyaystva = Humanitarian aspects of hunting and game economy*. 2019;(11):45–56. (In Russ.)
 20. Puchkovskiy S.V. *Chelovek i buryy medved' v Rossii: kak obespechit' beskonfliktnoe sosushchestvovanie i ustoychivoe razvitiye = Man and the brown bear in Russia: how to ensure conflict-free coexistence and sustainable development*. Izhevsk: Izd-vo Udmurtskiy universitet, 2009:106. (In Russ.)
 21. Ogurtsov S.S. Modeling the Habitat Suitability and Distribution of the Brown Bear (*Ursus arctos*) in the Southern Taiga Subzone Using the Maximum Entropy Method. *Nature Conservation Research. Zapovednaya nauka = Nature Conservation Research. Reserved science*. 2019;4(4):34–64. (In Russ.)
 22. Sereдкин I.V., Pachkovskiy Dzh., Borisov M.Yu. [et al.]. Brown bear habitats on the Kamchatka Peninsula and Sakhalin Island. *Sibirskiy ekologicheskiy zhurnal = Siberian ecological journal*. 2017;24(6):680–695. (In Russ.)
 23. Todorov V.R., Zlatanova D.P., Valchinkova K.V. Home range, mobility and hibernation of brown bears (*Ursus arctos*, *Ursidae*) in areas with supplementary feeding. *Nature Conservation Research*. 2020;5(4):1–15.

Информация об авторах / Information about the authors

Олег Александрович Ермаков

кандидат биологических наук, доцент,
доцент кафедры зоологии и экологии,
Пензенский государственный
университет (Россия, г. Пенза,
ул. Красная, 40)

E-mail: oaermakov@list.ru

Oleg A. Ermakov

Candidate of biological sciences, associate
professor, associate professor of the
sub-department of zoology and ecology,
Penza State University (40 Krasnaya
street, Penza, Russia)

Денис Валерьевич Салагин

начальник отдела охраны
и государственного охотничьего надзора,
Министерство лесного, охотничьего
хозяйства и природопользования
Пензенской области (Россия, г. Пенза,
Лодочный проезд, 10)

E-mail: minlhpr@yandex.ru

Denis V. Salagin

Head of the department of protection
and state hunting supervision, Ministry
of Forestry, Hunting and Nature
Management of the Penza Region
(10 Lodochniy passage, Penza, Russia)

Денис Александрович Капустин

главный специалист-эксперт,
Министерство лесного, охотничьего
хозяйства и природопользования
Пензенской области (Россия,
г. Пенза, Лодочный проезд, 10)

E-mail: minlhpr@yandex.ru

Denis A. Kapustin

Chief specialist-expert, Ministry of Forestry,
Hunting and Nature Management
of the Penza Region (10 Lodochniy
passage, Penza, Russia)

Владимир Юрьевич Ильин

доктор биологических наук, профессор,
профессор кафедры зоологии
и экологии, Пензенский
государственный университет
(Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: iljin_bat@mail.ru

Vladimir Yu. Il'in

Doctor of biological sciences, professor,
professor of the sub-department of zoology
and ecology, Penza State University
(40 Krasnaya street, Penza, Russia)

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.

Поступила в редакцию / Received 04.07.2022

Поступила после рецензирования и доработки / Revised 01.08.2022

Принята к публикации / Accepted 15.08.2022

УДК 574.24

doi:10.21685/2307-9150-2022-2-6

Особенности адаптации к тяжелым металлам у растений из разных жизненных форм и экологических групп

Д. И. Башмаков

Национальный исследовательский Мордовский государственный
университет имени Н. П. Огарёва, Саранск, Россия

dimabashmakov@yandex.ru

Аннотация. *Актуальность и цели.* Загрязнения тяжелыми металлами (ТМ) вызывают серьезные нарушения на разных уровнях организации растительного мира и приводят к существенным экологическим рискам. При этом уровни ТМ, токсичные для разных видов и сортов растений, существенно различаются. Однако до сих пор крайне мало информации об особенностях устойчивости к ТМ у различных экологических групп растений. Поэтому целью данной работы было оценить по интегральному отклику физиологических и биохимических адаптивных параметров степень адаптации к ТМ у различных жизненных форм растений. *Материалы и методы.* Семена рудеральных видов из биотопов с умеренным уровнем загрязнения ТМ и культурных растений проращивали в факторостатируемых условиях на воде (контроль) или на средах, содержащих от 1 до 10 000 мкМ ионов Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} и Pb^{2+} . Спустя 7–14 сут опыта измеряли чувствительные к ТМ адаптивные параметры растений. Дескриптивный анализ полученных данных проводили в программе MS Excel. Существенность различий между вариантами опыта оценивали по критерию Дункана при 5 % уровне значимости. Для оценки степени адаптации растений к ТМ использовали индекс адаптации ($\text{ИА}_{\text{ТМ}}$), рассчитываемый как среднее геометрическое всех исследованных адаптационных эффектов (АЭ, % к водному контролю). *Результаты и выводы.* Токсичное действие ТМ на растения ожидаемо усиливалось с повышением концентрации металла в корнеобитаемой среде. Среди исследованных жизненных форм терофиты в наибольшей степени адаптированы к ионам ТМ. Многие дикорастущие формы отличаются повышенной адаптацией к ионам Zn^{2+} и Ni^{2+} . Наиболее толерантными к действию ТМ были монокарпники, в то время как поликарпические многолетние растения, независимо от степени загрязнения среды ТМ, реализуют стратегию резистентности к металлам.

Ключевые слова: индекс адаптации, жизненные формы растений, тяжелые металлы, моно- и поликарпические растения

Для цитирования: Башмаков Д. И. Особенности адаптации к тяжелым металлам у растений из разных жизненных форм и экологических групп // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 2. С. 59–69. doi:10.21685/2307-9150-2022-2-6

The features of adaptation to heavy metals in different life forms and ecological groups of plants

© Башмаков Д. И., 2022. Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 License / This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 License.

D.I. Bashmakov

Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia

dimabashmakov@yandex.ru

Abstract. *Background.* Heavy metals (HMs) pollution causes serious disturbances at different levels of the organization of the plant world and leads to significant environmental risks. At the same time, the levels of HMs that are toxic to different species and varieties of plants vary significantly. However, there is still very little information about the features of HMs resistance in different ecological groups of plants. Therefore, the purpose of this work is to assess the degree of adaptation to HMs by the integral response of physiological and biochemical adaptive parameters in various plant life forms. *Materials and methods.* Seeds of ruderal species from biotopes with a moderate level of HMs contamination and seeds of cultivated plants were germinated under controlled conditions on water (control) or on media containing from 1 to 10,000 μM of Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} or Pb^{2+} ions. After 7-14 days of the experiment, the HM-sensitive adaptive parameters of plants were measured. Descriptive statistics was made in the MS Excel program. The significance of the differences between the variants of the experiment was assessed by the Duncan test at $p \leq 0.05$. To assess the plants adaptation degree to HMs, the adaptation index (IA_{HM}) was used. *Results and conclusions.* The toxic HMs effect on plants increased with an increase in the metal concentration in the environment. Among the studied life forms, therophytes are most adapted to HMs ions. Many wild-growing forms are characterized by increased adaptation to Zn^{2+} and Ni^{2+} ions in the. Annual plants were the most tolerant to the HMs while polycarpic perennials implement a metal resistance strategy.

Keywords: adaptation index, plant life forms, heavy metals, mono- and polycarpic plants

For citation: Bashmakov D.I. The features of adaptation to heavy metals in different life forms and ecological groups of plants. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(2):59–69. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-2-6

Введение

Тяжелые металлы (ТМ) являются одними из наиболее токсичных среди химических элементов [1]. Загрязнения ТМ вызывают серьезные нарушения на разных уровнях организации растительного мира и приводят к существенным экологическим рискам [2, 3]. При этом уровни ТМ, токсичные для разных видов и сортов растений, существенно различаются [4, 5].

Имеются полевые и экспериментальные данные, свидетельствующие о способности ряда видов развить устойчивость в условиях природного загрязнения почв ТМ [6–8]. Однако до сих пор крайне мало информации об особенностях устойчивости к ТМ у различных экологических групп и жизненных форм растений [7–10]. Поэтому целью данной работы было оценить по интегральному отклику физиологических и биохимических адаптивных параметров степень адаптации к ТМ у различных экологических групп и жизненных форм растений.

Материалы и методы

В ходе предварительных исследований согласно ГОСТ Р 53123-2008¹ заложены пробные площадки, располагающиеся в функциональных зонах

¹ ГОСТ Р 53123-2008 (ИСО 10381-5: 2005). Качество почвы. Отбор проб. Часть 5. Руководство по изучению городских и промышленных участков на предмет загрязнения почвы; введ. 2010-01-01.

г. Саранска и его окрестностей с умеренным уровнем антропогенного воздействия. Отбор почвенных проб на площадках осуществляли методом «конверта» с глубины 0–10 см в середине вегетационного периода в соответствии с тем же ГОСТом. Валовое количество ТМ в почве определяли – по ГОСТ 2642.3–2014¹ на атомно-абсорбционном спектрометре АА–7000 (Shimadzu, Япония). Исходя из принятых норм², суммарное загрязнение по четырем металлам – ведущим загрязнителям почв (Pb, Cu, Zn и Ni) – составило от 2,58 (опушка пригородного леса) до 3,73 (пустырь близ транспортной зоны) ОДК. Проведенные ранее исследования дают основание предполагать, что загрязнение никелем и цинком имеет преимущественно природное, а свинцом и медью – антропогенное происхождение [11].

На пробных площадках были собраны семена растений, относящихся к разным жизненным формам (табл. 1). Кроме того, в опытах использовали семена культурных растений.

Таблица 1

Жизненные формы растений – объектов исследования

Название вида	Жизненные формы растений	
	по И. Г. Серебрякову [12]	по К. Раункиеру [13]
1	2	3
дикорастущие виды		
<i>Acer negundo</i> L.	дерево, поликарпик	микрофанерофит
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	однолетник, монокарпик	терофит
<i>Arctium tomentosum</i> Mill.	двулетник, монокарпик	гемикриптофит
<i>Arctium lappa</i> L.	двулетник, монокарпик	гемикриптофит
<i>Artemisia absinthium</i> L.	короткокорневищный травянистый поликарпик	хамефит
<i>Artemisia vulgaris</i> L.	короткокорневищный травянистый поликарпик	гемикриптофит
<i>Betula pendula</i> Roth.	дерево, поликарпик	мезофанерофит
<i>Bidens tripartita</i> L.	однолетник, монокарпик	терофит
<i>Chenopodium album</i> L. s.1.	однолетник, монокарпик	терофит
<i>Calamagrostis epigejos</i> (L.) Roth	длиннокорневищный травянистый поликарпик	гемикриптофит
<i>Melilotus officinalis</i> (L.) Lam.	двулетник (реже однолетник), поликарпик	гемикриптофит (реже терофит)
<i>Taraxacum officinale</i> F. H. Wigg. s. 1.	стержнекорневой травянистый поликарпик	гемикриптофи
культурные растения		
<i>Allium cepa</i> L.	луковичный травянистый монокарпик	криптофит (геофит)
<i>Beta vulgaris</i> L.	двулетник (реже однолетник), монокарпик	гемикриптофит (реже терофит)
<i>Cucumis sativus</i> L.	однолетник	терофит

¹ ГОСТ 2642.3–2014. Огнеупоры и огнеупорное сырье. Методы определения оксида кремния (IV). Взамен ГОСТ 2642.3–97; введ. 2016–01–01.

² Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) тяжелых металлов и мышьяка в почвах (Дополнения №1 к перечню ПДК и ОДК № 6229-91): гигиенические нормативы.

Окончание табл. 1

1	2	3
<i>Dahlia pinnata</i> Cav.	клубненосный травянистый поликарпик	криптофит (геофит)
<i>Hordeum vulgare</i> L.	однолетник, монокарпик	терофит
<i>Pelargonium zonale</i> L.	кустарник, поликарпик	нанофанерофит
<i>Secale cereale</i> L.	однолетник, монокарпик	терофит
<i>Triticum aestivum</i> L.	однолетник, монокарпик	терофит
<i>Zea mays</i> L.	однолетник, монокарпик	терофит

Семена проращивали в факторостатируемых условиях (фотопериод 16/8 ч (день/ночь), влажность воздуха $\sim 70\%$; освещенность люминесцентными лампами $\sim 80 \mu\text{M}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{c}^{-1}$; температура 22–24 °C (для дикорастущих видов – 14–18 °C) в рулонной культуре [14] на воде (контроль) или на средах, содержащих от 1 мкМ/л до 10 мМ/л ионов ТМ (концентрации охватывают диапазон от дефицитных до сублетальных / летальных соответственно). Использованы соли ТМ квалификации ч.д.а.: $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$; $\text{NiSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Спустя 7–14 сут опыта измеряли адаптивные физиологические и биохимические параметры молодых растений: всхожесть семян – по ГОСТ 12038–84¹; длину подземных (главный корень) и надземных (побег) органов – анализируя отсканированные изображения в программе Curvometer v.1.4 [14]; оводненность тканей – высушиванием до постоянной массы при 95–105 °C [14]; степень повреждения клеточных мембран – по выходу электролитов из клеток – кондуктометрическим методом на кондуктометре ОК-102 («Radelkis», Венгрия) с последующим расчетом величины коэффициента повреждаемости (КП) – по О. А. Зауралов, А. С. Лукаткин [15]. Биохимические адаптационные параметры измеряли с помощью спектрофотометра UV-mini 1240 (Shimadzu, Япония): интенсивность перекисного окисления липидов – по накоплению малонового диальдегида в цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой при длине волны 532 нм с последующим расчетом содержания МДА по коэффициенту молярной экстинкции ($\varepsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ (M}\cdot\text{cm)}^{-1}$) [16]; скорость генерации супероксидного аниона – по восстановлению адреналина в адренохром – при длине волны 480 нм, с последующим расчетом скорости генерации $\cdot\text{O}_2^-$ по коэффициенту молярной экстинкции ($\varepsilon = 4020 \text{ (M}\cdot\text{cm)}^{-1}$) [15]; активность каталазы (КАТ) – при длине волны 240 нм – по падению оптической плотности за минуту с последующим расчетом по коэффициенту молярной экстинкции ($\varepsilon = 39,4 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) [17].

Все опыты и анализы проводили не менее, чем в трех повторениях. Дескриптивный анализ полученных данных проводили в программе MS Excel (лиц. OfficeProPlus 2013 RUS OLP NL Acdmc №62526942). Достоверность различий между вариантами оценивали по критерию Дункана при 5 % уровне значимости.

Для оценки устойчивости растений к ТМ использовали разработанный ранее индекс адаптации ($\text{ИА}_{\text{ТМ}}$), рассчитываемый как среднее геометрическое всех исследованных адаптационных эффектов (АЭ_i , % к водному контролю):

¹ ГОСТ 12038–84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести (с Изменениями № 1, 2, с Поправкой). Взамен ГОСТ 12038-66 ; введ. 19.12.1984 № 4710.

$$ИА_{ТМ} = \left(\prod_{i=1}^n АЭ_i \right)^{1/n} \pm GSD,$$

где $6 \leq n \leq 8$ – количество оцененных АЭ растений на данную концентрацию ТМ.

Значения $ИА_{ТМ}$ (с учетом GSD) были эмпирически соотнесены с градациями зон экологической толерантности растений следующим образом:

– $ИА_{ТМ} \pm GSD > 100\%$ – витальная зона, очень высокая адаптация к ТМ;

– $ИА_{ТМ} \pm GSD \approx 100\%$ – оптимальная зона, высокая (хорошая) адаптация к ТМ;

– $80\% < ИА_{ТМ} \pm GSD < 100\%$ – субоптимальная зона, удовлетворительная адаптация к ТМ;

– $50\% < ИА_{ТМ} \pm GSD < 80\%$ – пессимальная зона, низкая адаптация к ТМ;

– $20\% < ИА_{ТМ} \pm GSD < 50\%$ – сублетальная зона, адаптация к ТМ очень низка;

– $ИА_{ТМ} \pm GSD < 20\%$ – летальная зона (адаптация к ТМ отсутствует).

Результаты и обсуждение

Показано, что все исследованные виды различались степенью адаптации как к относительно непродолжительному, так и к хроническому действию ионов ТМ. Степень адаптации исследованных растений к ТМ ожидаемо падала с повышением концентрации металла в среде выращивания, этот эффект был более выражен у двудольных растений (табл. 2).

Таблица 2

Степень адаптации различных групп растений к ионам ТМ в лабораторных условиях, $ИА_{ТМ}$, %

Концентрация ТМ	Класс		Культурные	Рудеральные	
	однодольные	двудольные			
1	2	3	4	5	
Zn	1 мкМ	103,3 ± 1,3	115,4 ± 4,0	104,7 ± 1,2	117,1 ± 5,1
	10 мкМ	103,7 ± 0,8	101,2 ± 2,2	107,4 ± 1,4	96,7 ± 2,4
	0,1 мМ	93,5 ± 2,7	84,1 ± 4,1	98,2 ± 2,1	71,4 ± 3,2
	1 мМ	80,3 ± 3,3	67,7 ± 2,5	81,9 ± 2,2	61,7 ± 1,8
	10 мМ	48,8 ± 4,3	36,5 ± 8,0	46,0 ± 3,8	н/д
Ni	1 мкМ	98,3 ± 0,5	110,8 ± 5,5	100,6 ± 1,2	111,6 ± 7,1
	10 мкМ	98,2 ± 2,7	95,6 ± 3,6	103,0 ± 2,6	90,0 ± 4,4
	0,1 мМ	79,6 ± 3,1	79,8 ± 4,4	84,8 ± 2,6	71,5 ± 6,8
	1 мМ	57,8 ± 2,2	62,8 ± 2,4	63,4 ± 2,1	59,3 ± 3,1
	10 мМ	56,1 ± 6,7	36,0 ± 10,5	44,9 ± 7,1	н/д
Cu	1 мкМ	98,7 ± 0,8	120,6 ± 4,5	102,8 ± 2,2	121,8 ± 5,8
	10 мкМ	106,7 ± 0,9	98,6 ± 2,9	111,1 ± 1,3	91,6 ± 3,1
	0,1 мМ	88,5 ± 0,6	76,1 ± 2,1	84,4 ± 1,6	73,9 ± 3,2
	1 мМ	58,5 ± 2,1	53,7 ± 2,0	58,6 ± 1,4	52,3 ± 2,5
	10 мМ	30,8 ± 0,5	погибли	30,8 ± 0,5	н/д

Окончание табл. 2

	1	2	3	4	5
Pb	1 мкМ	98,2 ± 1,2	116,1 ± 4,4	99,4 ± 1,0	119,5 ± 5,3
	10 мкМ	101,6 ± 4,3	95,7 ± 2,1	101,3 ± 2,5	94,3 ± 2,6
	0,1 мМ	84,9 ± 3,1	79,8 ± 3,6	87,4 ± 2,4	74,5 ± 4,5
	1 мМ	73,2 ± 2,9	62,2 ± 3,2	70,6 ± 3,0	60,9 ± 3,8
	10 мМ	23,7 ± 14,5	погибли	23,7 ± 14,5	н/д

Условные обозначения. □ – витальная зона, очень высокая адаптация – $IA_{TM} \pm GSD > 100\%$; □ – оптимальная зона, высокая (хорошая) адаптация – $IA_{TM} \pm GSD \approx 100\%$; □ – субоптимальная зона, удовлетворительная адаптация – $80\% < IA_{TM} \pm GSD < 100\%$; □ – пессимальная зона, низкая адаптация – $50\% < IA_{TM} \pm GSD < 80\%$; □ – сублетальная зона, адаптация очень низка – $20\% < IA_{TM} \pm GSD < 50\%$; □ – летальная зона (адаптация отсутствует) – $IA_{TM} \pm GSD < 20\%$; □ – нет данных по концентрации.

Рудеральные растения, как правило, обладали большей устойчивостью к действию низких и средних концентраций ионов Ni^{2+} и Zn^{2+} , а культурные, особенно злаки – к ионам Cu^{2+} и Pb^{2+} . Рудеральные растения лучше адаптированы к дефициту (1 мкМ) эссенциальных ТМ в среде выращивания.

Среди исследованных культурных растений рожь отличалась наименьшей, а пшеница – наибольшей толерантностью к повышенным дозам ТМ. Огурец проявлял достаточно высокую степень адаптации к ионам Zn^{2+} и Ni^{2+} , кукуруза – к Cu^{2+} и Pb^{2+} , а пеларгония – к ионам Pb^{2+} .

Обобщенная информация о степени адаптации различных жизненных форм растений к ионам ТМ в лабораторных условиях представлена в табл. 3 и 4.

Таблица 3

Степень адаптации различных жизненных форм (по И. Г. Серебрякову [12]) растений к ионам ТМ в модельном эксперименте, IA_{TM} , %

Концентрация ТМ	монокарпические		поликампические	
	однолетники	двухлетники	двухлетники	многолетники
	1	2	3	4
Zn	1 мкМ	113,3 ± 3,7	115,1 ± 2,9	91,4 ± 6,8
	10 мкМ	105,9 ± 1,6	98,5 ± 2,0	95,3 ± 5,7
	0,1 мМ	91,1 ± 3,0	87,1 ± 5,3	76,0 ± 13,7
	1 мМ	74,5 ± 2,8	67,2 ± 1,8	66,2 ± 7,6
	10 мМ	48,8 ± 4,3	36,5 ± 8,0	20,4 ± 2,1
Ni	1 мкМ	110,4 ± 4,7	110,4 ± 1,4	79,5 ± 5,4
	10 мкМ	101,8 ± 3,1	100,1 ± 1,6	79,8 ± 8,2
	0,1 мМ	83,0 ± 3,1	89,2 ± 0,2	61,8 ± 11,8
	1 мМ	61,1 ± 1,9	68,6 ± 2,6	55,5 ± 6,9
	10 мМ	56,1 ± 6,7	36,0 ± 10,5	15,4 ± 5,2
Cu	1 мкМ	110,9 ± 4,7	125,2 ± 4,3	93,6 ± 9,3
	10 мкМ	103,7 ± 1,9	106,0 ± 3,4	89,1 ± 8,3
	0,1 мМ	81,8 ± 1,9	81,3 ± 2,5	75,0 ± 8,3
	1 мМ	56,7 ± 1,8	52,4 ± 5,2	54,2 ± 3,2
	10 мМ	30,8 ± 0,5	погибли	погибли

Окончание табл. 3

	1	2	3	4
Pb	1 мкМ	110,0 ± 5,2	107,1 ± 1,9	107,9 ± 5,8
	10 мкМ	98,2 ± 2,7	98,2 ± 1,4	92,2 ± 7,4
	0,1 мМ	84,1 ± 3,0	86,1 ± 1,8	60,2 ± 13,9
	1 мМ	67,3 ± 2,7	67,1 ± 7,0	53,8 ± 9,7
	10 мМ	23,7 ± 14,5	погибли	погибли

Примечание: условные обозначения см. в табл. 2.

Таблица 4

Степень адаптации растений различных жизненных форм к ионам ТМ в лабораторном эксперименте, ИА_{ТМ}, %

Концентрация ТМ	Жизненные формы К. Раункиеру [13]					
	терофиты	криптофиты	гемикриптофиты	хамефиты	фанерофиты	
Zn	1 мкМ	113,3 ± 3,7	101,4 ± 2,3	106,6 ± 4,3	103,8 ± 3,3	103,4 ± 3,2
	10 мкМ	105,9 ± 1,6	101,5 ± 4,8	92,3 ± 3,4	98,6 ± 4,7	102,0 ± 6,0
	0,1 мМ	91,1 ± 3,0	84,1 ± 9,3	75,4 ± 6,9	75,9 ± 7,9	68,3 ± 7,4
	1 мМ	74,5 ± 2,8	62,6 ± 14,8	61,5 ± 3,5	64,4 ± 8,1	69,0 ± 6,0
	10 мМ	48,8 ± 4,3	42,1 ± 5,8	36,5 ± 8,0	33,0 ± 5,3	20,4 ± 2,1
Ni	1 мкМ	110,4 ± 4,7	96,8 ± 3,8	99,0 ± 5,5	99,0 ± 4,0	101,2 ± 2,8
	10 мкМ	101,8 ± 3,1	91,2 ± 2,7	86,2 ± 6,7	91,1 ± 6,8	96,0 ± 11,0
	0,1 мМ	83,0 ± 3,1	69,7 ± 7,4	71,7 ± 9,0	73,5 ± 7,6	79,1 ± 6,3
	1 мМ	61,1 ± 1,9	56,6 ± 7,1	58,9 ± 5,6	60,8 ± 6,9	67,0 ± 8,0
	10 мМ	56,1 ± 6,7	27,1 ± 12,6	36,0 ± 10,5	26,2 ± 9,4	15,4 ± 5,2
Cu	1 мкМ	110,9 ± 4,7	86,9 ± 6,4	113,7 ± 5,8	98,6 ± 5,4	95,3 ± 4,1
	10 мкМ	103,7 ± 1,9	99,5 ± 5,7	93,1 ± 6,5	97,9 ± 5,4	101,0 ± 4,0
	0,1 мМ	81,8 ± 1,9	84,7 ± 3,0	74,4 ± 4,0	76,2 ± 3,2	69,5 ± 2,7
	1 мМ	56,7 ± 1,8	59,4 ± 0,9	50,5 ± 3,9	56,0 ± 4,3	58,0 ± 8,0
	10 мМ	30,8 ± 0,5	погибли	погибли	погибли	погибли
Pb	1 мкМ	110 ± 5,2	98,6 ± 3,1	107,4 ± 1,1	101,8 ± 1,8	99,3 ± 1,2
	10 мкМ	98,2 ± 2,7	91,1 ± 1,9	93,2 ± 2,7	97,1 ± 2,9	107,0 ± 4,0
	0,1 мМ	84,1 ± 3,0	79,8 ± 2,5	76,4 ± 5,2	74,8 ± 3,3	68,1 ± 2,2
	1 мМ	67,3 ± 2,7	59,4 ± 5,3	59,4 ± 6,7	62,9 ± 6,7	70,0 ± 8,0
	10 мМ	23,7 ± 14,5	погибли	погибли	погибли	погибли

Примечание: условные обозначения см. в табл. 2.

Наиболее устойчивыми к действию как повышенных, так и дефицитных количеств ТМ в тестируемой среде оказались однолетние растения, которые, вероятно, вследствие более короткого жизненного цикла эволюционно успевают быстрее развивать адаптационные механизмы, например, регулирующие количество металлов в осевых органах. Можно предположить, что ведущими механизмами толерантности к ТМ у этих растений являются запасаение металлов в тканях корня и/или побега (в зависимости от условий загрязнения) в физиологически неактивных формах и жесткая регуляция транслокации ТМ при их повышенном содержании в корнеобитаемой среде. Чуть меньшей металлоустойчивостью отличались монокарпические двулетние растения. Тем не менее они проявляли очень высокую и высокую степени адаптации к небольшим (1–10 мкМ) и удовлетворительную – к средним

(0,1 мМ) концентрациям ТМ. Однако переход от диапазона сублетальных к летальным концентрациям ТМ у них более резок и при высоких (10 мМ) концентрациях за время тестирования двулетники получали летальные дозы ионов Cu^{2+} и Pb^{2+} . Самой низкой степенью адаптации к ТМ среди исследованных растений отличались поликарпические многолетники, которые показали удовлетворительный уровень металлоустойчивости к физиологическим концентрациям эссенциальных ТМ, но более высокий – к ионам Pb^{2+} . Это, отчасти, подтверждает выдвинутую ранее (Башмаков, Лукаткин, 2002) гипотезу о преобладании стратегии резистентности (но не толерантности) к ТМ у многолетних растений.

Среди исследованных жизненных форм по классификации К. Раункиера [13] в наибольшей степени адаптированы к ионам ТМ терофиты, которые сохраняли жизнеспособность на всем диапазоне тестируемых концентраций, и даже при 10 мМ ионов ТМ в среде сохраняли низкий уровень адаптации к ионам Zn^{2+} и Ni^{2+} , и очень низкий – к Cu^{2+} и Pb^{2+} .

Гемикриптофиты отличались повышенной адаптацией к дефициту эссенциальных и неэссенциальных ТМ, но удовлетворительной и низкой – к остальным тестируемым концентрациям металлов. Фанерофиты достаточно хорошо (на высоком уровне адаптации) приспособлены к физиологическим концентрациям эссенциальных ТМ и низким (1–10 мкМ) концентрациям Pb . Однако степень адаптации к концентрациям ТМ 0,1 мМ и выше у растений этой жизненной формы крайне мала. Криптофиты и хамефиты обладают сходной высокой и удовлетворительной устойчивостью к ионам ТМ в области низких и средних концентраций эссенциальных металлов соответственно. Тем не менее к ионам Pb^{2+} хамефиты развили большую степень адаптации по сравнению с криптофитами. Все исследованные жизненные формы (за исключением терофитов) не способны выживать в присутствии 10 мМ ионов Cu^{2+} и Pb^{2+} , что вполне можно связать, особенно у дикорастущих форм, с повышенной адаптацией растений к природным геохимическим аномалиям Zn и Ni в почвах исследованного региона.

Заключение

Проведенные исследования дают основание сделать вывод о широком спектре устойчивости культурных видов к ТМ, которая обеспечивается обширным кругом механизмов на разных уровнях биологической организации, позволяющих адаптированным растениям поддерживать в присутствии ТМ гомеостаз физиологических и биохимических функций: всхожесть, ростовые характеристики, водный режим, окислительный статус. Токсичное действие ТМ на растения усиливалось с повышением концентрации ТМ в корнеобитаемой среде. Интактные растения сильнее всего адаптированы к действию ионов Zn^{2+} (как однодольные, так и двудольные), на втором месте у большинства злаков была медь, а у двудольных – Cu и Ni . Наименьшие $\text{IA}_{\text{ТМ}}$ показаны для растений, выросших в среде с ионами Pb^{2+} .

Среди исследованных жизненных форм по классификации К. Раункиера терофиты в наибольшей степени адаптированы к ионам ТМ. Многие дикорастущие формы отличаются повышенной адаптацией к ионам Zn^{2+} и Ni^{2+} в корнеобитаемой среде, что, вероятно, обусловлено существующими природными аномалиями этих металлов в почвах исследуемого региона.

Наиболее устойчивыми к действию ТМ были однолетние растения; у монокарпических двулетников отмечен весьма резкий переход от физиологических к летальным концентрациям ТМ. Можно предположить, что монокарпические однолетники, независимо от степени загрязнения среды ТМ, реализуют стратегию толерантности, а поликарпические многолетние растения – стратегию резистентности к металлам.

Список литературы

1. Edelstein M., Ben-Hur M. Heavy metals and metalloids: sources, risks and strategies to reduce their accumulation in horticultural crops // *Scientia Horticulturae*. 2018. Vol. 234. P. 431–444. doi:10.1016/j.scienta.2017.12.039
2. Розенцвет О. А., Нестеров В. Н., Богданова Е. С., Розенцвет В. А. Влияние ионов Cd²⁺ на структурно-функциональные параметры галофита *Suaeda salsa* // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2018. Т. 20, № 5-2. С. 317–323.
3. Rizvi A., Khan M. S. Heavy metal-mediated toxicity to maize: oxidative damage, anti-oxidant defence response and metal distribution in plant organs // *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2019. Vol. 16, № 8. P. 4873–4886. doi:10.1007/s13762-018-1916-3
4. Кожевникова А. Д., Серегин И. В., Схат Х. Накопление никеля исключателем *Thlaspi arvense* и гипераккумулятором *Noccaea caerulescens* при кратковременной и длительной инкубации // *Физиология растений*. 2020. Т. 67, № 2. С. 168–176. doi:10.31857/S0015330320020086.
5. Seregin I. V., Kozhevnikova A. D., Schat H. Correlated Variation of the Zn Accumulation and Tolerance Capacities Among Populations and Ecotypes of the Zn Hyperaccumulator, *Noccaea caerulescens* // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2021. Vol. 68. P. S26–S36. doi:10.1134/S1021443721070128
6. Безель В. С., Жуйкова Т. В., Позолотина В. Н. Структура ценопопуляций одувачика и специфика накопления тяжелых металлов // *Экология*. 1998. № 5. С. 376–382.
7. Жуйкова Т. В. Реакция ценопопуляций и травянистых сообществ на химическое загрязнение среды : автореф. дис. ... докт. биол. наук : Екатеринбург, 2009. 40 с.
8. Позолотина В. Н., Антонова Е. В., Шималина Н. С. Адаптация *Plantago major* L. к длительному радиационному и химическому воздействию // *Экология*. 2016. № 1. С. 3–13. doi:10.7868/S0367059716010121
9. Кротова Л. А., Чибис С. П. Эколого-генетическое влияние химических соединений на адаптацию растений // *Современные проблемы науки и образования*. 2017. № 6. С. 250–257.
10. Zverev V., Kozlov M. V., Lama A. D. Fluctuating asymmetry of birch leaves did not increase with pollution and drought stress in a controlled experiment // *Ecological Indicators*. 2018. Vol. 84. P. 283–289. doi:10.1016/J.ECOLIND.2017.08.058
11. Башмаков Д. И., Лукаткин А. С. Аккумуляция тяжелых металлов некоторыми высшими растениями в разных условиях местообитания // *Агрохимия*. 2002. № 9. С. 66–71.
12. Серебряков И. Г. Экологическая морфология растений. М. : Высшая школа, 1962. 378 с.
13. Raunkiaer Ch. The Life Forms of Plants and Statistical Plant Geography, being the collected papers of C. Raunkiaer / transl. from Danish. Introduction by A. G. Tansley. Oxford : Clarendon Press, 1934. 632 p.
14. Лукаткин А. С., Башмаков Д. И., Шаркаева Э. Ш. [и др.] Большой практикум по ботанике, физиологии и экологии растений / под общ. ред. А. С. Лукаткина. Саранск : Изд-во Мордовского университета, 2015. 330 с.

15. Зауралов О. А., Лукаткин А. С. Кинетика экзосмоса электролитов у теплолюбивых растений под действием пониженных температур // Физиология растений. 1985. Т. 32. С. 347–354.
16. Лукаткин А. С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск : Изд-во Мордовского университета, 2002. 208 с.

References

1. Edelstein M., Ben-Hur M. Heavy metals and metalloids: sources, risks and strategies to reduce their accumulation in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*. 2018;234:431–444. doi:10.1016/j.scienta.2017.12.039
2. Rozentsvet O.A., Nesterov V.N., Bogdanova E.S., Rozentsvet V.A. The effect of Cd²⁺ ions on the structural and functional parameters of the halophyte Suaeda salsa. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk = Proceedings of Samara scientific center of the Russian Academy of Sciences*. 2018;20(5-2):317–323. (In Russ.)
3. Rizvi A., Khan M.S. Heavy metal-mediated toxicity to maize: oxidative damage, antioxidant defence response and metal distribution in plant organs. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2019;16(8):4873–4886. doi:10.1007/s13762-018-1916-3
4. Kozhevnikova A.D., Seregin I.V., Skhat Kh. Accumulation of Nickel by Excluder *Tnlaspi arvensis* and hyperaccumulator *Noccaea kaerolensis* during short-term and long-term. *Fiziologiya rasteniy = Plant physiology*. 2020;67(2):168–176. doi:10.31857/S0015330320020086. (In Russ.)
5. Seregin I.V., Kozhevnikova A.D., Schat H. Correlated Variation of the Zn Accumulation and Tolerance Capacities Among Populations and Ecotypes of the Zn Hyperaccumulator, *Noccaea caerulea*. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2021;68:S26–S36. doi:10.1134/S1021443721070128
6. Bezel' V.S., Zhuykova T.V., Pozolotina V.N. The structure of the dandelion cenopopulation and the specifics of the accumulation of heavy metals. *Ekologiya = Ecology*. 1998;(5):376–382. (In Russ.)
7. Zhuykova T.V. *Reaktsiya tsenopopulyatsiy i travyanistykh soobshchestv na khimicheskoe zagryaznenie sredy = Response of cenopopulation and herbaceous communities to chemical pollution of the environment*. PhD abstract. Ekaterinburg, 2009:40. (In Russ.)
8. Pozolotina V.N., Antonova E.V., Shimalina N.S. Adaptation of *Plantago major* L. to long-term radiation and chemical exposure. *Ekologiya = Ecology*. 2016;(1):3–13. doi:10.7868/S0367059716010121 (In Russ.)
9. Krotova L.A., Chibis S.P. Ecological and genetic influence of chemical compounds on plant adaptation. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern issues of science and education*. 2017;(6):250–257. (In Russ.)
10. Zverev V., Kozlov M.V., Lama A.D. Fluctuating asymmetry of birch leaves did not increase with pollution and drought stress in a controlled experiment. *Ecological Indicators*. 2018;84:283–289. doi:10.1016/J.ECOLIND.2017.08.058
11. Bashmakov D.I., Lukatkin A.S. Accumulation of heavy metals by some higher plants in different habitat conditions. *Agrokhimiya = Agrichemistry*. 2002;(9):66–71. (In Russ.)
12. Serebryakov I.G. *Ekologicheskaya morfologiya rasteniy = Ecological morphology of plants*. Moscow: Vysshaya shkola, 1962:378. (In Russ.)
13. Raunkiaer Ch. *The Life Forms of Plants and Statistical Plant Geography, being the collected papers of C. Raunkiaer* / transl. from Danish. Introduction by A.G. Tansley. Oxford: Clarendon Press, 1934:632.
14. Lukatkin A.S., Bashmakov D.I., Sharkaeva E.Sh. [et al.]. *Bol'shoy praktikum po botanike, fiziologii i ekologii rasteniy = Big workshop on botany, physiology and ecology of plants*. Saransk: Izd-vo Mordovskogo univesiteta, 2015:330. (In Russ.)

15. Zauralov O.A., Lukatkin A.S. Kinetics of exosmosis of electrolytes and heat-loving plants under the influence of low temperatures. *Fiziologiya rasteniy = Plant physiology*. 1985;32:347–354. (In Russ.)
16. Lukatkin A.S. Kholodovoe povrezhdenie teplolyubivyykh rasteniy i okislitel'nyy stress = Cold damage to thermophilic plants and oxidative stress. Saransk: Izd-vo Mordovskogo universiteta, 2002:208. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Дмитрий Идрисович Башмаков

кандидат биологических наук, доцент,
доцент кафедры общей биологии
и экологии, Национальный
исследовательский Мордовский
государственный университет
имени Н. П. Огарёва (Россия, г. Саранск,
ул. Большевикская, 68)

E-mail: dimabashmakov@yandex.ru

Dmitriy I. Bashmakov

Candidate of biological sciences,
associate professor, associate professor
of the sub-department of general biology
and ecology, Ogarev Mordovia State
University (68 Bolshevistskaya street,
Saransk, Russia)

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.

Поступила в редакцию / Received 21.05.2022

Поступила после рецензирования и доработки / Revised 19.06.2022

Принята к публикации / Accepted 03.07.2022

УДК 58+581.6

doi:10.21685/2307-9150-2022-2-7

Жизненная стратегия цианобактериально-водорослевых группировок в освоении экстремальных мест обитания

Ж. Ф. Пивоварова¹, А. Г. Благодатнова², З. З. Багаутдинова³

^{1,2}Новосибирский государственный педагогический университет, Новосибирск, Россия

³Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

¹pivovarova4117@yandex.ru, ²ablagodatnova@yandex.ru, ³zulfir-a@yandex.ru

Аннотация. *Актуальность и цели.* Выявить возможности использования жизненной стратегии цианобактериально-водорослевыми группировками в освоении экстремальных мест обитания как показателей протекания разных типов первичных ксеропсаммо-литофильных сукцессий. *Материал и методика.* Сбор проб проведен по общепринятой альгологической методике. *Результаты.* В результате флористического анализа выявлены виды, относящиеся к 4 отделам, 11 классам, 15 порядкам, 29 семействам, 47 родам и 75 видам (78 видов и внутривидовых таксонов). Как и следовало ожидать, первое место на всех субстратах занимают цианопрокариоты (60 % всей флоры). На видовом уровне коэффициенты сходства и меры включения показали слабую степень родства флор исследованных субстратов. Показателями степени сформированности этих образований (флор) являются спектры доминантов, их обилие, спектры морфотипов, встречаемость видов, фитоценотическая нагрузка и другие показатели. Выявлено, что доминантов около 23 % флоры, но они достаточно субстратоспецифичны. Отмечено, что на начальных этапах эцезиса превалирует дисперсное распределение водорослей и цианобактерий. С появлением лишайников и тем более мхов распределение водорослей приобретает «агрегирующую» структуру. Для каждого типа субстрата выстраивается своя модель эцезиса и формирования пробиогеоценоза. *Выводы.* Описан процесс первичного освоения (эцезис) скальных пород и песчаного грунта (насыпные и вскрышные пески) цианобактериально-водорослевой флорой в разных регионах России: Северо-Восток азиатской России и Западная Сибирь. Выявлена специфика протекания первичных сукцессий, установлены разные модели протекания сукцессий, что позволит судить о жизненных стратегиях и различном характере фитоценотической организации цианобактериально-водорослевых группировок как начального этапа формирования пробиогеоценозов в экстремальных местах обитания.

Ключевые слова: цианобактериально-водорослевые группировки, жизненная стратегия, песок, скальные породы, Северо-Восток Азии, Западная Сибирь

Финансирование: работа поддержана бюджетным проектом 0259-2019-0005.

Для цитирования: Пивоварова Ж. Ф., Благодатнова А. Г., Багаутдинова З. З. Жизненная стратегия цианобактериально-водорослевых группировок в освоении экстремальных мест обитания // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 2. С. 70–83. doi:10.21685/2307-9150-2022-2-7

Life strategy of cyanobacterial-algal groups in the extreme habitat establishment

Zh.F. Pivovarova¹, A.G. Blagodatnova², Z.Z. Bagautdinova³

© Пивоварова Ж. Ф., Благодатнова А. Г., Багаутдинова З. З., 2022. Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 License / This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 License.

^{1,2}Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russia³Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences (SB RAS), Novosibirsk, Russia¹pivovarova4117@yandex.ru, ²ablagodatnova@yandex.ru, ³zulfir-a@yandex.ru

Abstract. *Background.* To reveal the possibilities of using the life strategy of cyanobacterial-algal groups in the development of extreme habitats as an indicator of the course of different types of primary xeropesammo-lithophilic successions. *Materials and methods.* The collection of samples were carried out according to the generally accepted algological method. Results. The floristic analysis revealed 4 divisions, 11 classes, 15 orders, 29 families, 47 genera and 78 species. As expected, cyanobacteria occupy the first place on all substrates (60 % of all flora). At the species level, the coefficients of similarity and inclusion measures showed a weak degree of affinity between the floras of the studied substrates. The indicators of the degree of formation of these formations are the spectra of dominants, their abundance, and spectra of morphotypes, occurrence of species, phytocenotic load and other indicators. It was revealed that about 23 % of the flora are dominants, but they are quite substrate-specific. It is noted that at the initial stages of development, the dispersed distribution of algae and cyanobacteria prevails. With the appearance of lichens and even more so mosses, the distribution of algae becomes “aggregating”. For each type of substrate, its own model of development and formation of probiogeocenosis built. *Conclusions.* The process of primary development of rocks and sandy soil (loose and overburden sands) by cyanobacterial-algal flora in different regions of Russia: Northeast of Asian Russia and Western Siberia is described. The specificity of the course of primary successions has been clarified, different models of the course of successions have been established, which will make it possible to judge the life strategies and the different nature of the phytocenotic organization of cyanobacterial-algal groups, as the initial stage of the formation of probiogeocenoses in the outer habitats.

Keywords: cyanobacterial-algal groups, life strategy, sand, rock formations, Northeast Asia, Western Siberia

Acknowledgments: the work was supported by the budget project 0259-2019-0005.

For citation: Pivovarova Zh.F., Blagodatnova A.G., Bagautdinova Z.Z. Life strategy of cyanobacterial-algal groups in the extreme habitat establishment. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(2):70–83. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-2-7

Введение

Вопросы освоения первичных субстратов по различным причинам всегда вызывают определенный интерес [1–3]. Первыми на таких субстратах поселяются низшие растения. Флора экстремальных мест обитания в настоящее время исследуется достаточно активно [2, 4–6], в то время как фитоценотическая организация и сукцессионные перестройки фототрофной цианобактериально-водорослевой компоненты экстремальных мест обитания (скальные породы, пески) и экосистем изучены пока недостаточно [7, 8]. При освоении субстратов используются жизненные стратегии как отдельных видов, так и цианобактериально-водорослевых группировок (ЦВГ) в целом. В связи с этим целесообразно иметь информацию о доминантных видах, обилии, встречаемости, эколого-ценотической значимости видов (ЭЦЗ). Рассматривая водоросли как своеобразные ценотипы [9], их можно отнести к эксплорентам, которые не выдерживают конкуренцию с высшими растениями, но быстро осваивают освободившийся субстрат. П. Хочачка и Д. Сомеро [10] в моно-

графической сводке «Стратегия биохимической адаптации» определяют адаптацию как «структурные и функциональные особенности организма, рассчитанные на то, чтобы повысить шансы на успех в соответствующем местобитании». Именно изучение фитоценотической организации группировок водорослей и цианобактерий позволяет раскрыть тончайшие механизмы освоения субстратов во времени и пространстве [5, 11–13]. Индикационными возможностями направления протекания такого рода сукцессий, безусловно, обладает таксономическая структура цианобактериально-водорослевой флоры [2, 6, 13–18]. Мы предполагаем, что их фитоценотическая организация не менее информативна и исследования в этом плане вполне актуальны.

Особенности фитоценотической организации группировок водорослей и цианобактерий определяются самой природой первичных субстратов. Стоит отметить, что существуют разные точки зрения на особенности пространственно фитоценотической организации водорослей и цианобактерий в почвах. Водоросли могут проявлять себя как в статусе альгосинузий, так и альгоценозов [19]. Альгосинузию определяет группа доминантных и субдоминантных видов, и она входит в состав фитоценоза. Альгоценозы – это аутэнтические сообщества водорослей, связанные с типом ландшафта, где отсутствуют или почти отсутствуют высшие растения. Структура и функциональные особенности таких сообществ определяются в первую очередь абиотическими условиями. Некоторые ученые считают, что разделять эти два понятия нет необходимости в силу высокой экологической лабильности почвенных водорослей и цианобактерий, группировки которых могут менять свой «пространственный статус – свое пространственное положение» с альгосинузии до альгоценоза в зависимости от ряда как биотических, так и абиотических факторов [20]. Более того, чтобы достичь статуса альгоценоза, водоросли и цианобактерии проходят еще длительный путь структурирования своих группировок. Следуя представлениям А. А. Гроссгейма [21], формирующиеся или инициальные фитоценозы высших растений проходят стадии агрегации, агломерации и семиассоциации, что вполне соответствует и вектору перестроек ЦВГ.

Цель исследования – выявить возможности использования жизненной стратегии цианобактериально-водорослевыми группировками в освоении экстремальных мест обитания как показателя течения автогенных ксеропсаммо-литофильных сукцессий.

Материалы и методика исследования

Работы проведены в двух регионах азиатской части России. На Яно-Оймяконском нагорье исследованы скальные (гранитные) субстраты перигляциальных четвертичных петрофитных степей [22]. Исследованы крутые склоны к рекам Северо-Востока Азии – р. Нера и р. Яна. Особенно суровы условия в заполярных янских степях, находящихся на северной окраине Яно-Оймяконского нагорья. Летом амплитуды суточных температур весьма разительны (до 30 °С). Регион охвачен глубоко идущим процессом криогенеза [23]. В Новосибирской области процесс освоения цианобактериями и водорослями изучали на вскрышных (подзона южной тайги Новосибирская область, Колыванский район) и намывных песках (Новосибирский сельский район, с. Криводановка). К моменту отбора проб разработка вскрышных песков закончи-

лась более 20 лет назад. Травостоя до сих пор практически нет, проективное покрытие 1 %. Влажность песка составляла около 1 %, рН солевой 4,4 вытяжки. Намывные пески осваиваются отдельными экземплярами солянок; высота травостоя около 10 см, влажность песка составляла 0,2 %, рН 7,1. Экологические условия жесткие.

Материал представлен 90 образцами, каждый из которых состоит из 10 индивидуальных проб. В лаборатории с целью выявления видового состава водорослей и цианобактерий применен метод водных и чашечных культур со стеклами обрастания. Культивирование проведено в стационарной установке «Флора-1» при температуре 23–25 °С, освещении лампами (ЛБ-40) 10 ч в сутки. Субстрат увлажняли средой Кнопа. Микроскопирование проведено с использованием световых микроскопов марки Carl Zeiss AxioLab.A1; LOMOMICMED-2 объектив x20, x40 и x100, окуляр x7, x10, x15, окулярный микрометр x10. Просмотр проб осуществляли в течение пяти месяцев, начиная с первых признаков прорастания спор, учитывая сукцессионные этапы появления отдельных видов и групп почвенных водорослей, цианобактерий, а также специфику их роста.

Фитоценотический анализ проводили с учетом видов и внутривидовых таксонов. Степень обилия видов оценивали по 3-балльной шкале, встречаемость – в процентах. Деятельность видов оценивалась через показатели эколого-ценотической значимости, предложенной Р. Р. Кабиловым и И. И. Шиловой [24]. С этой целью каждое из стекол обрастания просматривали под микроскопом пятью полосами: четыре по сторонам стекла и одну, проходящую через центр. Степень развития обнаруженных видов оценивали по 3-балльной шкале обилия: 1 балл – на трансекте обнаружено 1–3 особи, 2 балла – обнаружено 4–10 особей, 3 балла – более 10 экземпляров. Потом для каждого из выявленных видов рассчитывали сумму баллов обилия на одном стекле обрастания. Максимальный показатель обилия – 3 балла, минимальный – 1 [24]. В зависимости от соотношения этих показателей было выделено три ранга степени участия вида: доминант (Д), субдоминант (СД), сопутствующий (С) вид. Доминантами считали виды, имеющие обилие 3 балла. В группе доминантов, в зависимости от встречаемости, выделено две подгруппы, первая – с встречаемостью от 70 до 100 %, вторая – от 40 до 69 %. Субдоминанты имели 2 балла, сопутствующие виды имели 1 балл обилия при различных вариантах встречаемости. Классы встречаемости устанавливали по Раункиеру [24]. Морфотипы даны на основе строения слоевищ.

Результаты и обсуждение

Изучение фитоценотической организации ЦВГ невозможно без представления о таксономической и видовой структуре (табл. 1). Структурное соотношение отделов водорослей и цианобактерий может указывать не только на тип фитоценоза (лес, степь, болото и др.), но и на принадлежность к той или иной природной зоне. В пределах хорошо сформированного фитоценоза, водоросли могут выступать только в роли альгосинузий.

В ранее опубликованных материалах нами был представлен подробный анализ таксономической и видовой структуры флоры цианобактериально-водорослевых группировок гранитных и песчаных грунтов [8]. В связи с этим целесообразно только в общих чертах напомнить особенности организации

флоры для понимания внутренней, теперь уже фитоценотической, организации ЦВГ и их жизненной стратегии. Как на скальном субстрате, так и на песках на уровне крупных таксономических категорий значительных отличий не было отмечено, в то время как на уровне семейств, родов и тем более видов такие различия явно прослеживались. Таксономическое разнообразие несколько богаче на песках, нежели на скальном субстрате (табл. 1). Лидирующие позиции принадлежат отделу *Cyanoprokaryota* (46 видов), который включает в себя почти 60 % всего видового состава. *Chlorophyta* представлены 16 видами, что составляет всего 1/5 часть видового состава водорослей и цианобактерий. Такую же часть видового спектра занимают *Xanthophyta* и *Bacillariophyta* вместе взятые, имеющие по 8 видов. Представители этих отделов почвенных водорослей менее всего адаптированы к экстремальным условиям среды. На уровне видов и коэффициенты сходства, и меры включения диагностировали незначительную степень родства цианобактериально-водорослевой флоры разных типов субстрата. Объединяет эти флоры явное превалирование *Cyanoprokaryota* на том и другом типе субстрата, что в определенной степени уже является показателем жестких экологических условий среды. Особенности таксономической и видовой структуры флоры свидетельствуют о существенных отличиях формирования ЦВГ.

Таблица 1

Таксономическая структура цианобактериально-водорослевой флоры обследованных субстратов

Субстрат	Таксономические единицы					
	Отдел	Класс	Порядок	Семейство	Род	Вид
Гранит	4	7	9	16	28	38 (41)*
Песок	4	9	12	21	37	48
Всего	4	11	15	29	47	75 (78)

Примечание. *в скобках число видов и внутривидовых категорий, за скобками – число типовых видов.

Видовой состав цианобактериально-водорослевой флоры в результате первичного (эцезис) освоения субстратов рано или поздно формирует в той или иной мере интегрированные определенные группировки. Особенности фитоценотической организации ЦВГ исследованных территорий могут выступать маркерами двух натуральных моделей протекания субстратоспецифичных автогенных лито- и псаммосукцессий. Доминантные виды малочисленны, тем не менее именно они поддерживают конкретное состояние ЦВГ, придают им резистентность, надежность. Из выявленных видов доленое участие доминантов составляет чуть менее четверти всей флоры (23,1 %), на долю субдоминантов приходится 9 % и львиную долю спектра (около 68 %) занимают сопутствующие виды. Вместе с тем доминантные, субдоминантные и сопутствующие виды для разных типов субстратов различаются по числу и составу видов. Гранитные субстраты характеризуются такими доминантными видами, как *Nostoc punctiforme* Hariot, *Symplocastrum friesii* (Gomont) Kirchner, *Phormidium autumnale* Gomont. На песчаных субстратах подзоны южной тайги доминантный комплекс представлен *Scytonema ocellatum*

Lyngbye ex Bornet & Flahault, *Phormidium autumnale*, *Chlamydomonas atactogama* Korschikov. На намывных песках села Криводановка в доминантный комплекс входят *Phormidium foveolarum* (Mont.) Gom., *Chlorococcum infusionum* (Schrank.) Menegh., имеющие максимальное значение ЭЦЗ – 1. *Bracteacoccus minor* (Chodat) Petrova., (ЭЦЗ = 0,7), *Nostoc linckia* (Roth) Born. et Flah. И *Phormidium tenuissimum* Woronich. имеют ЭЦЗ по 0,5, в том и другом случае формируются олигодоминантные ЦБГ. Если не брать во внимание вид *Phormidium autumnale*, который является убиквистом, то доминантные комплексы явно отличаются. Показательно, что в доминантах на песках отмечен вид *Chlamydomonas atactogama*, который указан в аналогичных условиях многими авторами [5, 19, 26]. Один и тот же вид *Symplocastrum friesii* на разных субстратах имеет совершенно разную жизненную стратегию. Так, на гранитах это явный доминант с 85 % встречаемости, в то время как на песках этот вид имеет самый низкий балл обилия (из 3 баллов всего 1) и встречается в 25 % проб. Ведущей группой в доминантных комплексах являются цианобактерии (сине-зеленые водоросли). Только сине-зеленые водоросли с их спецификой индивидуальных систем адаптаций могут, по-видимому, наиболее лабильно использовать экстремальные условия среды. В. С. Залетаев писал [27], что высшие растения в экстремальных условиях пустынь обладают способностью «биомелиорировать» свою собственную среду, значительно смягчая ее, т.е. среда становится более благоприятной для обитания не только (в данном случае) водорослей, но и других организмов. Это явление можно экстраполировать и на доминантные виды цианобактерий, особенно такие, как *Nostoc punctiforme*, *Symplocastrum friesii*, *Scytonema ocellatum*. Они в силу способности образовывать огромное количество пектиновой слизи, плотного переплетения трихомов, формирования макроскопически заметных корочек или дерновинков дают убежище и другим более мезофильным группам водорослей, создавая характерные группировки водорослей на том или ином субстрате. Сами представители таких образований отличаются засухоустойчивостью и теплостойкостью, они показывают значительную устойчивость против холода.

В освоении субстратов помимо доминантных видов важную роль играют морфотипы. Все виды водорослей и цианобактерий, обнаруженные на выходах гранита и на разработках песка, представлены 7 морфотипами. В разрастаниях не обнаружен только слоевцовый морфотип, что косвенно может свидетельствовать о широких адаптивных возможностях водорослей в освоении свободной территории (табл. 2). Анализ морфотипов почвенных водорослей и цианопрокариот показал преобладание одноклеточного коккоидного морфотипа, а вместе с колониально-коккоидным они составляют практически 60 % всего спектра морфотипов. На исследованных нами субстратах для почвенных водорослей и цианопрокариот коккоидного морфотипа характерно рассеянное распространение [12].

Такие виды, как *Chlorococcum papillatum* Demczenko, *Chlorella vulgaris* Beyerinck, *Muriella terrestris* var. *terrestris* Komárek, Fott, *Botrydiopsis arhiza* Borzi, одни из первых поселяются на субстрате. Особенно важно поселение видов колониально-коккоидного морфотипа, таких как *Aphanothece castagnei* (Kützing) Rabenhorst, *Microcystis pulvereae* (Wood) Forti, *Aphanothece micros*

copica Nägeli, *Gloeobotrys ellipsoideus* Pascher, которые обладают большой средообразующей, противоэрозийной способностью. Еще один морфотип, условно названный нами разноритчатым (ложно пластинчатым), так как в процессе развития может приобретать разную форму, играет существенную роль в первичном освоении грунта. К нему, на наш взгляд, можно отнести *Pleurocapsa minor* Hansgirg, *Stigonema informe* Kützing ex Bornet & Flahault, *Xenococcus chroococcoides* Fritsch. М. М. Голлербах и Э. А. Штина [1] отмечают, что обильное образование слизи у зеленых и особенно у сине-зеленых водорослей (цианобактерий) является важным приспособлением к защите от засухи. Например, экспериментально доказано, что зиготы у рода *Chlamydomonas* обладают повышенной стойкостью к внешним воздействиям. Обильное образование слизи, в состав которой входят гидрофильные коллоидные полисахариды, способствует быстрому поглощению и удерживанию большого количества воды. Водоросли способны выдерживать обезвоживание до воздушно-сухого состояния, являющегося, как считает П. А. Генкель [28], нормой, а не патологией, так как после эстивации или даже относительно длительного выхода из активного состояния они вновь возвращаются к активной жизни. Это свойство может объяснить и способность выдерживать высокие температуры. Так, в течение 60 с водоросли выдерживали температуру 52 °С, а вегетативные клетки – 46 °С.

Таблица 2

Характерные морфотипы микроводорослей
и цианопрокариот для обследованных субстратов

Морфотип	Число видов	Долевое участие от всего спектра морфотипов, %	Типичные представители из обнаруженных видов
1	2	3	4
Одноклеточный монадный	5	6,5	<i>Chlamydomonas atactogama</i> , <i>Ch. globosa</i>
Одноклеточный коккоидный	28	36,4	<i>Chlorococcum papillatum</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Botrydiopsis arhiza</i>
Колониально-коккоидный	15	19,5	<i>Aphanothece castagnei</i> , <i>Aph. microscopica</i> , <i>Gloeobotrys ellipsoideus</i> , <i>Microcystis pulvereae</i> ,
Колониально-трихальный	3	3,9	<i>Nostoc punctiforme</i> , <i>N. microscopicum</i>
Трихальный	18	23,4	<i>Phormidium formosum</i> , <i>Anabaena variabilis</i> , <i>Oscillatoria jenensis</i> , <i>Chlorhormidium flaccidum</i> var. <i>flaccidum</i>
Политрихальный	5	6,5	<i>Microcoleus lacustris</i> , <i>M. tenerrimus</i>
Разноритчатый (ложнопластинчатый)	3	3,9	<i>Pleurocapsa minor</i> , <i>Stigonema informe</i> , <i>Xenococcus chroococcoides</i>
Слоевцовый	нет	нет	нет

Долевое участие трихальных морфотипов, представленных в основном цианобактериями, составляет почти четвертую часть всего спектра морфотипов. Несмотря на древнее происхождение цианобактерий, они превосходно приспособлены к жизни в современных условиях Земли и в настоящее время играют важную роль в фитоценозах и в биосфере в целом. Полная автотрофность и вместе с тем необычайная пластичность обмена, уникальная устойчивость к экстремальным факторам позволяют цианобактериям осваивать экологические ниши и преобладать в условиях, где высшие растения не встречаются. Одна из отличительных черт цианобактерий – это рост и выживаемость при высоких температурах 72–75 °С [29]. Следовательно, практически только две группы морфотипов (одноклеточный коккоидный и трихальный) обеспечивают конструкцию (структуру, организацию) будущего цианобактериально-водорослевого ценоза (альгоценоза). Можно еще отметить определенную роль в построении альгоценозов колониально-коккоидного морфотипа, который может составлять пятую часть всего спектра морфотипов. Долевое участие морфотипов отличается в сложении альгоценозов различных субстратов. На гранитных субстратах более 60 % составляют представители одноклеточного коккоидного и колониально-коккоидного морфотипов. На трихальный морфотип приходится всего около 13 % спектра морфотипов. Песчаный субстрат, прежде всего, в равном долевым участии осваивается одноклеточными коккоидными и трихальными морфотипами, также составляющими чуть больше 60 % всего спектра морфотипов. Колониально-коккоидный морфотип в отличие от скальных субстратов явно уступает остальным морфотипам. Остальные морфотипы, как на скальных, так и на песчаных субстратах выполняют явно подчиненную роль, являясь в определенной степени наполнителями альгоценозов. Они составляют от 2 до 8 % долевого участия в сложении спектров морфотипов.

В лабораторных условиях удалось (проследить) воссоздать возможный сценарий освоения вскрышных песков [30]. Сукцессионный ряд освоения песчаного грунта начинается с первичного освоения одноклеточными коккоидными морфотипами из зеленых водорослей. Затем появляются представители трихального морфотипа преимущественно из цианопрокариот. На следующем этапе встраиваются колониальные азотфиксирующие виды родов из цианопрокариот, такие как *Anabaena*, *Calothrix*, *Nostoc*, которые уже являются азотфиксаторами. Завершается этот процесс с появлением наиболее требовательных к условиям среды коккоидных диатомовых и желто-зеленых водорослей. Скорость освоения субстрата значительно увеличивается при появлении высших растений (в нашем случае куртинок мха), которые формируют отличные от открытых участков микроклиматические условия. Появление мхов, как типичных представителей лесной флоры, с одной стороны, возвращает соотношение желто-зеленых и зеленых водорослей к зональному типу, а с другой – значительно усложняет общую картину пространственно-временной организации, усиливая мозаичный характер формирования пробиогенезов, делая их более оструктуренными. Вполне можно экстраполировать представления В. С. Залетаева [27] об «индивидуализирующей» и «агрегирующей» дисперсии в формировании растительного покрова в дестабилизированных опустыненных ландшафтах Приаралья на формирование сукцессионных рядов в освоении субстратов цианобактериально-водорослевой

флорой. На начальных этапах освоения субстрата (эцезис) этот процесс вполне может соответствовать «индивидуализирующей» дисперсии. Нами отмечено, что с появлением высших растений и даже на уровне отдельных куртинок мхов, лишайников пространственное распределение цианобактерий и водорослей явно приобретает «агрегирующий» характер [16], тяготея к куртинкам мхов и слоевищам лишайников.

Стоит отметить, что по данным ранее проведенных нами исследований на скальных породах Тянь-Шаня в урочище Семизбель (Иссык-Кульская котловина) доказано [31], что в шлифах налетов цианобактерий материнская порода претерпевает малые изменения. Возникают только следы вторичного мелкоземистого материала в виде разрозненных частиц в несколько микрометров. Признаков вторичной органики (в поле зрения микроскопа) не наблюдалось. С помощью чашечных культур были обнаружены виды цианобактерий: *Microcystis pulverea*, *Gloeocapsa varia*, *Aphanothece castagne*. Биомасса их составляла 2×10^{-1} мг/см². Protozoa в шлифах такого рода обнаружены не были. Такой же вариант заселения субстрата этими видами был обнаружен для исследованных нами скальных пород Северо-Востока Азии. Группа консументов (микроскопические виды из Nematoda, Rotatoria, Protozoa (*Amoeba*, *Mastigophora*, *Ciliata*) появлялись только под слоевищами листоватых лишайников (*Parmellia*, *Xanthoria*), не были выявлены под корковыми лишайниками. К этому сукцессионному времени складывается уже полноценный пионерный биогеоценоз скального субстрата. Аналогичный тренд становления биогео- и гидроценозов исследован на высокогорном леднике Тянь-Шаня [15]. Отмечено, что в лужах у края ледника формируются альго-цианобактериальные и протозойные агрегации с образованием внутри этих скоплений своеобразных органо-минеральных структур, которые в обсыхающих лужах уже дают начало пленочным почвам. В соскобах с поверхности гранита обнаружено 8 видов четырех типичных отделов почвенных водорослей. Из них 3/4 – коккоидные морфотипы, кроме того, отмечены единично монадные и трихальные морфотипы, среди которых есть типично криофильные виды (*Chlamydomonas nivalis* (Bauer) Wille). Однако ядро экологического спектра составляют гидро- и мезофильные виды. Показательно, что как в варианте освоения гранитов на Яно-Оймяконском нагорье, так и на гранитах Тянь-Шаня основу освоения субстратов составляли коккоидные морфотипы, с той разницей, что в высоких широтах на гранитах велико участие колониально-коккоидных представителей ксероморфной природы, а в южных широтах у кромки ледника преобладали гидро- и мезофильные виды. Такой тандем морфотипов и экологических групп (даже при относительно небольшом числе видов) обуславливает надежность освоения субстратов и в будущем переход от агрегаций к созданию настоящих ценозов ксероморфного или мезогидроморфного типа моделей. Авторами [15] проанализированы тренды развития пробиогеоценозов на скалах, через бифуркации, которые были вызваны даже слабыми внешними воздействиями.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что цианобактериально-водорослевые группировки вырабатывают уникальные жизненные

стратегии в освоении экстремальных мест обитания через множественность адаптационных механизмов. Полученные данные позволяют заключить, что сама фитоценотическая организация цианобактериально-водорослевых группировок направлена на максимальную адаптацию в освоении первичных субстратов. Механизмов, возможностей у группировок гораздо больше, чем у отдельно взятых организмов и даже видов. На разных субстратах (скальные породы, намывные пески, вскрышные пески) механизмы могут выражаться в смене доминантов и их обилия, эколого-ценотической значимости, смене спектров морфотипов, формируя субстратоспецифичные цианобактериально-водорослевые группировки. В этом проявляется и жизненная стратегия ЦВГ при освоении того или иного субстрата.

Список литературы

1. Голлербах М. М., Штина Э. А. Почвенные водоросли. Л. : Наука, 1969. 142 с.
2. Pivovarova Jh. F., Blagodatnova A. G., Bagautdinova Z. Z. Specific features of taxonomic organization of cyanobacterial-algal flora in extreme habitats as reflection of different succession models // Contemporary Problems of Ecology. 2016. Vol. 9, № 6. P. 739–746.
3. Кабиров Р. Р. О возможности использования водорослей при создании искусственных экосистем и биосфер на других планетах // Водоросли: проблемы таксономии, экологии и использования в мониторинге. Сыктывкар : Филигрань, 2009. С. 338–340.
4. Бондаренко Н. А., Оболкина Л. А., Тимошкин О. А. Лед – хранитель жизни // Наука из первых рук. 2004. № 4. С. 78–83.
5. Новичкова-Иванова Л. Н. Водоросли экосистем степей Евразии // Общество. Среда. Развитие. 2012. № 2. С. 213–220.
6. Патова Е. Н. Разнообразие, экология и география Cyanophyta (Cyanoprokaryota) европейского сектора российской Арктики (инициативный проект РФФИ 07-04-00443-а) // Вестник Института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. 2013. № 4. С. 29–30.
7. Paerl H. W., Pinckney J. L., Stepe T. F. Cyanobacterial-bacterial mat consortia: examining the functional unit of microbial survival and growth in extreme environments // Environmental Microbiology. 2000. Vol. 2, № 1. P. 11–26.
8. Пивоварова Ж. Ф., Благодатнова А. Г., Илюшенко А. Е. [и др.]. Фототрофное звено почв как показатель нарушенности экосистемы // Фундаментальные и прикладные аспекты современных эколого-биологических и медико-технологических исследований : монография : в 3 т. Рижон Ле-Цион, 2016. Т. 3. С. 109–135.
9. Раменский Л. Г. Избранные работы. Проблемы и методы изучения растительного покрова. Л. : Наука, 1971. 335 с.
10. Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М., 1977. 398 с.
11. Бачура Ю. М., Благодатнова А. Г. Фитоценотическая структура группировок почвенных водорослей и цианобактерий городских газонов (на примере г. Новосибирска и г. Гомеля) // Вестник Новосибирского государственного педагогического университета. 2015. № 3. С. 82–93.
12. Пивоварова Ж. Ф., Благодатнова А. Г., Илюшенко А. Е. [и др.]. Фитоценотическая организация группировок почвенных водорослей антропогенно нарушенных экосистем: монография. Новосибирск : Изд-во НГПУ, 2015. 217 с.
13. Pivovarova Zh. F., Blagodatnova A. G. Phytocenotic organization of algal groups as a possible indicator of the trophic status of bog ecosystems // Russian Journal of Ecology. 2016. Vol. 47, № 2. P. 138–144.

14. Стебаев И. В., Колпаков В. Э., Горелова Т. А., Пивоварова Ж. Ф. Становление биогео- и гидроценозов у горно-ледниковых истоков рек // Сибирский экологический журнал. 1995. Т. 2, № 4. С. 353–362.
15. Стебаев И. В., Пивоварова Ж. Ф. Возникновение и развитие биогеоценозов на скалах // Журнал общей биологии. 1995. № 5. С. 715–729
16. Пивоварова Ж. Ф., Багаутдинова З. З. Участие почвенных водорослей и цианопрокариот в формировании пионерных биогеоценозов на антропогенно нарушенных субстратах. Ярославль : Филигрань, 2014. С. 172–173.
17. Wells M. L., Trainer V. L., Smayda T. J. [et al.]. Harmful algal blooms and climate change: Learning from the past and present to forecast the future // Harmful Algae. 2015. Vol. 49. P. 68–93.
18. Стебаев И. В., Сагды Ч. Т., Курбатская С. С., Пивоварова Ж. Ф. Останец Ончалаан как натуральная модель развития биогеоценозов стоковых серий ландшафтов Убсунурской котловины. Кызыл, 2017. 167с.
19. Новичкова-Иванова Л. Н. Почвенные водоросли фитоценозов Сахаро-Гобийской пустынной области. Л. : Наука, 1980. 255 с.
20. Гайсина Л. А., Фазлутдинова А. И., Кабиров Р. Р. Популяционная альгология. Уфа : АН РБ, 2008. 152 с.
21. Гроссгейм А. А. Введение в геоботаническое обследование зимних пастбищ ССР Азербайджана // Труды по геоботаническому обследованию пастбищ ССР Азербайджана. Серия А. 1929. № 1. С. 69–75.
22. Юрцев Б. А. Реликтовые степные комплексы северо-восточной Азии. Проблемы реконструкции криоксеротических ландшафтов Беренгии. Новосибирск : Наука, 1981. 168с.
23. Макеев О. В. Глобальная экология почвенного холода и тепла. Пушино, 1980. 35 с.
24. Кабиров Р. Р., Шилова И. И. Почвенные водоросли свалок и полигонов твердых бытовых отходов в условиях крупного промышленного города // Экология. 1990. № 5. С. 10–18.
25. Василевич В. И. Статистические методы в геоботанике. Л. : Наука, 1969. 232 с.
26. Андреева В. М., Сдобникова Н. В. О почвенных водорослях степных районов Прибайкалья // Новости систематики низших растений. Л. : Наука, 1975. Т. 12. С. 81–88.
27. Залетаев В. С. Жизнь в пустыне. М. : Мысль, 1976. 270 с.
28. Генкель П. А., Пронина Н. Д. Физиология анабиоза при высыхании у некоторых водорослей, лишайников и мхов // Методы изучения и практического использования почвенных водорослей. Киров, 1972. С. 106–112.
29. Гусев М. В. Сравнительная физиология сине-зеленых водорослей // Успехи микробиологии. 1966. Т. 3. С. 74–103.
30. Багаутдинова З. З., Пивоварова Ж. Ф. Флористическая характеристика цианобактерий и водорослей в почвах подзоны южной тайги Западной Сибири (Новосибирская область, Кольванский район) // Материалы V Международной научной молодежной школы по палеопочвоведению. Новосибирск : Издательский дом ООО «Окраина», 2016. С. 5–6.
31. Киншт А. В., Пивоварова Ж. Ф. Первичная сукцессия на скальных породах Тянь-Шаня // Экология. 1985. № 6. С. 59–61.

References

1. Gollerbakh M.M., Shtina E.A. *Pochvennyye vodorosli = Soil algae*. Leningrag: Nauka, 1969:142. (In Russ.)
2. Pivovarova Jh.F., Blagodatnova A.G., Bagautdinova Z.Z. Specific features of taxonomic organization of cyanobacterial-algal flora in extreme habitats as reflection of different sucfcession models. *Contemporary Problems of Ecology*. 2016;9(6):739–746.

3. Kabirov R.R. On the possibility of using algae to create artificial ecosystems and biospheres on other planets. *Vodorosli: problemy taksonomii, ekologii i ispol'zovaniy v monitoring* = *Algae: problems of taxonomy, ecology and use in monitoring*. Syktyvkar: Filigran', 2009:338–340. (In Russ.)
4. Bondarenko N.A., Obolkina L.A., Timoshkin O.A. The ice is the keeper of life. *Nauka iz pervykh ruk* = *First hand science*. 2004;(4):78–83. (In Russ.)
5. Novichkova-Ivanova L.N. Algae ecosystems of the steppes of Eurasia. *Obshchestvo. Sreda. Razvitie* = *Society. Habitat. Development*. 2012;(2):213–220. (In Russ.)
6. Patova E.N. Diversity, ecology and geography of Cyanofita (Cyanoprokaryote) of the European sector of the Russian Arctic (initiative project of RFBR 07-04-00443-a). *Vestnik instituta biologii Komi nauchnogo tsentra Ural'skogo otdeleniya RAN* = *Bulletin of the Institute of biology of Komi Scientific Center of the Ural branch of the Russian Academy of Sciences*. 2013;(4):29–30. (In Russ.)
7. Paerl H.W., Pinckney J.L., Stepe T.F. Cyanobacterial-bacterial mat consortia: examining the functional unit of microbial survival and growth in extreme environments. *Environmental Microbiology*. 2000;2(1):11–26.
8. Pivovarova Zh.F., Blagodatnova A.G., Ilyushenko A.E. [et al.]. Soil phototrophic link as an indicator of ecosystem disturbance. *Fundamental'nye i prikladnye aspekty sovremennykh ekologo-biologicheskikh i mediko-tekhnologicheskikh issledovaniy: monografiya: v 3 t.* = *Fundamental and applied aspects of modern ecological-biological and medical-technological research: monograph: in 3 volumes*. Rishon Le-Tsion, 2016;3:109–135. (In Russ.)
9. Ramenskiy L.G. *Izbrannye raboty. Problemy i metody izucheniya rastitel'nogo pokrova* = *Selected works. Problems and methods of studying the vegetation cover*. Leningrad: Nauka, 1971:335. (In Russ.)
10. Khochachka P., Somero Dzh. *Strategiya biokhimicheskoy adaptatsii* = *Biochemical adaptation strategy*. Moscow, 1977:398. (In Russ.)
11. Bachura Yu.M., Blagodatnova A.G. Phytocenotic structure of groups of soil algae and cyanobacteria in urban lawns (by the examples of Novosibirsk and Gomel). *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta* = *Bulletin of Novosibirsk State Pedagogical University*. 2015;(3):82–93. (In Russ.)
12. Pivovarova Zh.F., Blagodatnova A.G., Ilyushenko A.E. [et al.]. *Fitotsenoticheskaya organizatsiya gruppirovok pochvennykh vodorosley antropogenno narushennykh ekosistem: monografiya* = *Phytocenotic organization of groups of soil algae in anthropogenically disturbed ecosystems: monograph*. Novosibirsk: Izd-vo NGPU, 2015:217. (In Russ.)
13. Pivovarova Zh.F., Blagodatnova A.G. Phytocenotic organization of algal groups as a possible indicator of the trophic status of bog ecosystems. *Russian Journal of Ecology*. 2016;47(2):138–144.
14. Stebaev I.V., Kolpakov V.E., Gorelova T.A., Pivovarova Zh.F. Formation of biogeand hydrocenoses at the mountain-glacial sources of rivers. *Sibirskiy ekologicheskiy zhurnal* = *Siberian ecological journal*. 1995;2(4):353–362. (In Russ.)
15. Stebaev I.V., Pivovarova Zh.F. The emergence and development of biogeocenoses on rocks. *Zhurnal obshchey biologii* = *Journal of general biology*. 1995;(5):715–729. (In Russ.)
16. Pivovarova Zh.F., Bagautdinova Z.Z. *Uchastie pochvennykh vodorosley i tsiano-prokariot v formirovanii pionernykh biogeotsenozov na antropogenno narushennykh substratakh* = *Participation of soil algae and cyanoprokaryotes in the formation of pioneer biogeocenoses on anthropogenically disturbed substrates*. Yaroslavl': Filigran', 2014:172–173. (In Russ.)
17. Wells M.L., Trainer V.L., Smayda T.J. [et al.]. Harmful algal blooms and climate change: Learning from the past and present to forecast the future. *Harmful Algae*. 2015;49:68–93.

18. Stebaev I.V., Sagdy Ch.T., Kurbatskaya S.S., Pivovarova Zh.F. *Ostanets Onchalaan kak natural'naya model' razvitiya biogeotsenozov stokovykh seriy landshaftov Ubsunurskoy kotloviny = The Onchalaan remnant as a natural model for the development of biogeocenoses of the runoff series of landscapes in the Ubsunur basin*. Kyzyl, 2017:167. (In Russ.)
19. Novichkova-Ivanova L.N. *Pochvennye vodorosli fitotsenozov Sakharo-Gobiyskoy pustynnoy oblasti = Soil algae of phytocenoses of the Sahara-Gobi desert region*. Leningrad: Nauka, 1980:255. (In Russ.)
20. Gaysina L.A., Fazlutdinova A.I., Kabirov R.R. *Populyatsionnaya al'gologiya = Population algology*. Ufa: AN RB, 2008:152. (In Russ.)
21. Grossgeym A.A. Introduction to the geobotanical survey of winter pastures of the USSR of Azerbaijan. *Trudy po geobotanicheskomu obsledovaniyu pastbishch SSR Azerbaydzhana. Seriya A = Proceedings on the geobotanical survey of pastures of the USSR in Azerbaijan. Series A*. 1929;(1):69–75. (In Russ.)
22. Yurtsev B.A. *Reliktovye stepnye komplekсы severo-vostochnoy Azii. Problemy rekonstruktsii kriokseroticheskikh landshaftov Berengii = Relic steppe complexes of Northeast Asia. Problems of reconstruction of cryoxerotic landscapes of Berengia*. Novosibirsk: Nauka, 1981:168. (In Russ.)
23. Makeev O.V. *Global'naya ekologiya pochvennogo kholoda i tepla = Global ecology of soil cold and heat*. Pushchino, 1980:35. (In Russ.)
24. Kabirov R.R., Shilova I.I. Soil algae in landfills and landfills for solid household waste in a large industrial city. *Ekologiya = Ecology*. 1990;(5):10–18. (In Russ.)
25. Vasilevich V.I. *Statisticheskie metody v geobotanike = Statistical methods in geobotany*. Leningrad: Nauka, 1969:232. (In Russ.)
26. Andreeva V.M., Sdobnikova N.V. On soil algae in the steppe regions of the Baikal region. *Novosti sistematiki nizshikh rasteniy = News of taxonomy of lower plants*. Leningrad: Nauka, 1975;12:81–88. (In Russ.)
27. Zaletaev V.S. *Zhizn' v pustyne = Life in the desert*. Moscow: Mysl', 1976:270. (In Russ.)
28. Genkel' P.A., Pronina N.D. Physiology of anabiosis during drying in some algae, lichens and mosses. *Metody izucheniya i prakticheskogo ispol'zovaniya pochvennykh vodorosley = Methods for the study and practical use of soil algae*. Kirov, 1972:106–112. (In Russ.)
29. Gusev M.V. Comparative physiology of blue-green algae. *Uspekhi mikrobiologii = Advances in microbiology*. 1966;3:74–103. (In Russ.)
30. Bagautdinova Z.Z., Pivovarova Zh.F. Floristic characteristics of cyanobacteria and algae in the soils of the subzone of the southern taiga of Western Siberia (Novosibirsk region, Kolyvan region). *Materialy V Mezhdunarodnoy nauchnoy molodezhnoy shkoly po paleopochvovedeniyu = Proceedings of the 5th International scientific of youth school on paleosology*. Novosibirsk: Izdatel'skiy dom OOO «Okraina», 2016:5–6. (In Russ.)
31. Kinsht A.V., Pivovarova Zh.F. Primary succession on the rocks of the Tien Shan. *Ekologiya = Ecology*. 1985;(6):59–61. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Жанна Филипповна Пивоварова

доктор биологических наук, профессор
кафедры биологии и экологии,
Новосибирский государственный
педагогический университет (Россия,
г. Новосибирск, ул. Виллюйская, 28)

E-mail: pivovarova4117@mail.ru

Zhanna F. Pivovarova

Doctor of biological sciences, professor
of the sub-department of biology
and ecology, Novosibirsk State
Pedagogical University (28 Vilyuiskaya
street, Novosibirsk, Russia)

Анастасия Геннадьевна Благодатнова

кандидат биологических наук,
доцент кафедры биологии и экологии,
Новосибирский государственный
педагогический университет (Россия,
г. Новосибирск, ул. Виллойская, 28)

E-mail: ablagodatnova@yandex.ru

Anastasiya G. Blagodatnova

Candidate of biological sciences, associate
professor the sub-department of biology
and ecology, Novosibirsk State
Pedagogical University (28 Vilyuiskaya
street, Novosibirsk, Russia)

Зульфира Зиннуровна Багаутдинова

младший научный сотрудник,
Институт цитологии и генетики
СО РАН (Россия, г. Новосибирск,
просп. Академика Лаврентьева, 10)

E-mail: zulfir-a@yandex.ru

Zul'fira Z. Bagautdinova

Junior researcher, Institute of Cytology
and Genetics, Siberian Branch of the
Russian Academy of Sciences
(10 Akademika Lavrentyeva avenue,
Novosibirsk, Russia)

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.

Поступила в редакцию / Received 06.05.2022

Поступила после рецензирования и доработки / Revised 15.06.2022

Принята к публикации / Accepted 04.07.2022

МЕТОДИКА НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

RESEARCH METHODOLOGY

УДК 574.24
doi:10.21685/2307-9150-2022-2-8

Индекс адаптации растений к тяжелым металлам

Д. И. Башмаков

Национальный исследовательский Мордовский государственный
университет имени Н. П. Огарёва, Саранск, Россия

dimabashmakov@yandex.ru

Аннотация. *Актуальность и цели.* Информации об адапционном потенциале, устойчивости отдельных видов и экологических групп растений к тяжелым металлам (ТМ) крайне мало. Имеющиеся критерии оценки металлоустойчивости растений на техногенных территориях трудоемки или недостаточно объективны. Поэтому целью работы было разработать индекс адаптации растений, позволяющий оценить степень устойчивости отдельных видов, популяций, экологических групп растений к ТМ на основании интегрального отклика физиологических и биохимических параметров организма на конкретную дозу ТМ. *Материалы и методы.* Семена рудеральных видов из разных по степени загрязнения ТМ биотопов и культурных растений проращивали в факторостатируемых условиях на воде (контроль) или на средах, содержащих от 1 до 10 000 мкМ ионов Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} и Pb^{2+} . Спустя 7–14 сут опыта измеряли адаптивные параметры: всхожесть семян, длину осевых органов, площадь листьев, сырую и сухую массу и содержание воды в органах растений, жизнеспособность клеток, выход электролитов из клеток, интенсивность ПОЛ, скорость генерации супероксидного аниона, концентрацию общих перекисей и каротиноидов, активность АПО, каталазы и СОД. Опыты и анализы проводили не менее, чем в трех повторениях. Тесноту связи величин исследуемых индексов и концентраций ТМ в среде оценивали по таблице критических значений коэффициентов корреляции (r) Пирсона, рассчитанных в программе MS Excel. *Результаты и выводы.* Разработанный индекс адаптации, рассчитываемый как среднее геометрическое исследованных адапционных эффектов, более объективно (по сравнению с имеющимися тестами) отражает степень устойчивости растений к ТМ. Адаптационные эффекты могут быть определены по любым чувствительным к ТМ параметрам растений ($6 \leq n \leq 8$). В перспективе индекс адаптации можно использовать для определения степени адаптации растений к другим токсичным поллютантам в окружающей среде.

Ключевые слова: индекс адаптации, экологические группы растений, тяжелые металлы, шкала толерантности

Для цитирования: Башмаков Д. И. Индекс адаптации растений к тяжелым металлам // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 2. С. 84–94. doi:10.21685/2307-9150-2022-2-8

© Башмаков Д. И., 2022. Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 License / This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 License.

Plant adaptation index to heavy metals

D.I. Bashmakov

Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia

dimabashmakov@yandex.ru

Abstract. *Background.* There is very poorly information about the adaptive potential and resistance of plant species or their ecological groups to heavy metals (HMs). The available criteria for assessing the condition of plants and their populations in technogenic territories are laborious or insufficiently objective. Therefore, the aim of the research was to develop a plant adaptation index that allows assessing the degree of resistance of individual species, populations, and ecological groups of plants to HMs based on the integral response of physiological and biochemical parameters of the organism to a dose of the metal. *Materials and methods.* Seeds of ruderal species from biotopes with different degrees of HMs contamination and seeds of cultivated plants were germinated under controlled conditions on water (control) or on media containing from 1 to 10,000 μM of Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} or Pb^{2+} ions. After 7 and 14 days of the experiment, we measured adaptive parameters: seed germination, length of axial organs, leaf area, fresh and dry mass and water content in plant organs, cell viability, electrolyte leakage from cells, intensity of LPO and superoxide anion generation, concentration of total peroxides and carotenoids, APO, catalase and SOD activities. Experiments and analyses were carried out in at least three times. The relationship between the values of the studied indices and the concentration of HMs in the medium was evaluated according to the table of critical values of Pearson correlation coefficients (r) calculated in MS Excel. *Results and conclusions.* Compared to the available tests, the adaptation index (AI_{HM}) reflects more objectively the resistance of plants to HMs. AI_{HM} can be calculated as the geometric mean of the studied adaptation effects (AE, % to water control). AE can be determined by any plant parameters ($6 \leq n \leq 8$) sensitive to HMs. In perspective, AI_{HM} can be used to determine the degree of plants adaptation to other toxic pollutants in the environment.

Keywords: adaptation index, ecological groups of plants, heavy metals, tolerance scale

For citation: Bashmakov D.I. Plant adaptation index to heavy metals. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(2):84–94. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-2-8

Введение

Считается, что среди химических элементов тяжелые металлы (ТМ) являются наиболее токсичными [1]. В ходе эволюции возникает адаптация растений к среде обитания, которая предполагает перестройку строения и функций организмов, популяций или ценозов, позволяющую им сохранить гомеостаз и гомеорез в ответ на длительное воздействие неблагоприятных факторов окружающей среды [2, 3]. Имеются полевые и экспериментальные данные, свидетельствующие о способности ряда видов растений развивать устойчивость в условиях природного или антропогенного загрязнения почв ТМ [3–5].

Однако информации об адаптационном потенциале растений, устойчивости отдельных форм и видов растений к ТМ крайне мало. Также отсутствуют интегральные критерии оценки состояния растений и их популяций на техногенных территориях [5–7].

Одним из корректных способов оценки металлоустойчивости растений считается использование широкого диапазона концентраций ТМ [8]. В этом

случае реакцию растений на действие токсиканта можно описать с помощью аппроксимации дозовой зависимости нелинейными моделями [9], например, сигмоидальной кривой, для характеристики которой используют эффективные концентрации токсиканта (EC_x), угнетающие рост на 10, 50 и 90 % от исходного уровня [10, 11].

Как правило, при подобном тестировании используют лишь один измеряемый показатель: увеличение длины корня [12, 13] или толерантность клеток листьев, побегов и пыльцы [14–16]. Однако это не вполне объективно отражает степень устойчивости растений к ТМ, поскольку каждый физиологический процесс может иметь различный отклик на конкретную концентрацию ТМ. Кроме того, краткосрочные тесты иногда недостаточны для оценки толерантности растений к ТМ, поскольку выживаемость проростков не обеспечивает выживания при продолжительной вегетации на загрязненном ТМ субстрате и не гарантирует размножения растений [4].

Цель работы: разработать индекс адаптации растений, позволяющий оценить степень устойчивости отдельных видов, популяций, экологических групп растений к ТМ на основании интегрального отклика физиологических и биохимических параметров организма на конкретную дозу ТМ.

Материалы и методы

В ходе предварительных исследований согласно ГОСТ Р 53123–2008¹ заложены пробные площадки, располагающиеся в контрастных по степени загрязнения ТМ биотопах г. Саранска и его окрестностей. Отбор почвенных проб на площадках осуществляли методом «конверта» с глубины 0–10 см в середине вегетационного периода в соответствии с тем же ГОСТ. Валовое количество ТМ в почве определяли по ГОСТ 2642.3–2014² на атомно-абсорбционном спектрометре AA–7000 (Shimadzu, Япония). Исходя из принятых норм³, суммарное загрязнение по четырем металлам – ведущим загрязнителям почв составило в незагрязненном биотопе (опушка пригородного леса) 2,58 ОДК, а в загрязненном (старые иловые площадки городских очистных сооружений) – 17,7 ОДК.

На пробных площадках были отобраны семена растений, большая часть которых встречалась в обоих биотопах и принадлежащих разным экологическим группам и жизненным формам: *Acer negundo* L., *Amaranthus retroflexus* L., *Arctium tomentosum* Mill., *Arctium lappa* L., *Artemisia absinthium* L., *Artemisia vulgaris* L., *Betula pendula* Roth., *Bidens tripartita* L., *Chenopodium album* L. s. 1., *Calamagrostis epigejos* (L.) Roth., *Melilotus officinalis* (L.) Lam., *Taraxacum officinale* F. H. Wigg. s. 1.

Кроме того, в качестве объектов исследования были использованы семена и проростки культурных растений: *Cucumis sativus* L. (сорт Изыщный), *Zea mays* L. (сорт Царица), *Secale cereale* L. (сорт Радонь) *Triticum aestivum* L. (сорт Прохоровка), *Hordeum vulgare* L. (сорт Отра), *Beta vulgaris* L. (сорт

¹ ГОСТ Р 53123–2008 (ИСО 10381-5: 2005). Качество почвы. Отбор проб. Часть 5. Руководство по изучению городских и промышленных участков на предмет загрязнения почвы; введ. 2010-01-01.

² ГОСТ 2642.3–2014. Огнеупоры и огнеупорное сырье. Методы определения оксида кремния (IV). Взамен ГОСТ 2642.3–97; введ. 2016–01–01.

³ Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) тяжелых металлов и мышьяка в почвах (Дополнения №1 к перечню ПДК и ОДК № 6229-91); гигиенические нормативы.

Бордо 237), *Allium cepa* L. (сорт Штуттгартер Ризен), *Pelargonium zonale* L. (сорт Колорама), *Dahlia pinnata* Cav. (сорт Melody Dixie).

Семена проращивали в факторостатируемых условиях (фотопериод 16/8 ч (день/ночь), влажность воздуха ~ 70 %; освещенность люминесцентными лампами ~ 80 $\mu\text{M}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; температура 22–24 °С (для дикорастущих видов – 14–18 °С) в рулонной культуре [17] на воде (контроль) или на средах, содержащих от 1 мкМ/л до 10 мМ/л ионов ТМ (концентрации охватывают диапазон от дефицитных до сублетальных / летальных и подобраны с учетом загрязнения почв исследованных территорий). Использованы соли ТМ квалификации ч.д.а.: $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$; $\text{NiSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Спустя 7–14 суток опыта измеряли адаптивные физиологические и биохимические параметры: всхожесть семян – по ГОСТ 12038–84¹; длину подземных (главный корень) и надземных (побег) органов – анализируя отсканированные изображения в программе Curvometer v.1.4 [17]; площадь листьев – расчетно-математическим методом или с помощью анализа сканированных изображений в программе Scion Image for Windows [17]; сырую / сухую массу и содержание воды в органах растений – высушивание до постоянной массы при 95–105 °С [17]; жизнеспособность клеток – методом плазмолиза [18]; степень повреждения клеточных мембран – по выходу электролитов кондуктометрическим методом на кондуктометре ОК-102 («Radelkis», Венгрия) с последующим расчетом величины коэффициента повреждаемости (КП) – по О. А. Зауралов, А. С. Лукаткин [19]. Биохимические адаптационные параметры измеряли с помощью спектрофотометра UV-mini 1240 (Shimadzu, Япония): интенсивность перекисного окисления липидов – по накоплению малонового диальдегида в цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой при длине волны 532 нм с последующим расчетом содержания МДА по коэффициенту молярной экстинкции ($\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ (M}\cdot\text{cm)}^{-1}$) [20]; скорость генерации супероксидного аниона – по восстановлению адреналина в адренохром – при длине волны 480 нм, с последующим расчетом скорости генерации O_2^- по коэффициенту молярной экстинкции ($\epsilon = 4020 \text{ (M}\cdot\text{cm)}^{-1}$) [20]; содержание общих перекисей – ферритиоцианатным методом – при длине волны 480 нм [20]; содержание каротиноидов – по ГОСТ Р 54058–2010²; активность аскорбатпероксидазы – по снижению оптической плотности раствора за первые 30 с реакции с последующим расчетом по коэффициенту молярной экстинкции ($\epsilon = 2,8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) [20]; активность супероксиддисмутазы – по восстановлению нитросинего тетразолия супероксидным радикалом с образованием формазапов – при длине волны 540 нм [20]; активность каталазы (КАТ) – при длине волны 240 нм – по падению оптической плотности за минуту с последующим расчетом по коэффициенту молярной экстинкции ($\epsilon = 39,4 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) [20].

Все опыты и анализы проводили не менее, чем в трех повторениях. Приведение исходных данных к нормальному типу распределения и дескриптивный анализ полученных данных проводили в программе MS Excel (лиц. OfficeProPlus 2013 RUS OLP NL Acdmс №62526942). Достоверность разли-

¹ ГОСТ 12038–84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести (с Изменениями № 1, 2, с Поправкой). Взамен ГОСТ 12038-66; введ. 19.12.1984 № 4710.

² ГОСТ Р 54058–2010. Продукты пищевые функциональные. Метод определения каротиноидов. Издание официальное. Москва Стандартинформ 2011. Введен впервые 2012-01-01.

чий между вариантами оценивали по t -критерию Стьюдента при 5 % уровне значимости. Корреляционный анализ проводили в программе MS Excel. Тесноту связи измеренных показателей оценивали по таблице критических значений коэффициентов корреляции (r) Пирсона.

Результаты и обсуждение

Считается, что адаптация растений к воздействию ТМ связана с изменениями на уровне физиологических процессов [21]. Ростовые характеристики традиционно считают интегральным показателем адаптации растений к ТМ. Так, в классическом тесте для характеристики устойчивости к ТМ Д. Уилкинс использовал соотношение прироста корней растений в опыте и контроле за определенное время (например, за сутки), т.е. индекс толерантности рассчитывали по формуле: $WTI_{TM} = \frac{\Delta I_{\text{опыт}}}{\Delta I_{\text{контроль}}}$ [12]. В частности,

с помощью этих тестов W. H. O. Ernst показал более высокую металлоустойчивость популяций из загрязненных местообитаний по сравнению с фоновыми, используя концентрацию металла, при которой не наблюдается полного угнетения контрольных растений, но сильно ингибируется рост устойчивых [4]. Однако ростовые характеристики проявляются лишь спустя несколько дней после начала воздействия. А изменения окислительного статуса и активация антиоксидантной системы в интактных растениях происходят гораздо быстрее (иногда в первые десятки минут от начала воздействия ТМ).

Совокупность данных по повреждающему действию ТМ в растительном организме можно представить следующей схемой. Когда ТМ находятся в небольшом избытке, в растении начинают включаться механизмы избегания на разных уровнях организации – исключение, секвестрирование или компартментация. Если избыток ТМ достигает сублетальных концентраций, ТМ индуцируют окислительный стресс избыточным образованием активных форм кислорода (АФК), таких как супероксидный анион-радикал (O_2^-) [22]. Очевидно, что первичные эффекты ТМ связаны с генерацией АФК, происходящей на уровне клеток и их органелл. Они разрушают биомолекулы, что сильно нарушает метаболизм и в конечном счете приводит к ослаблению или остановке роста. Поэтому и морфологические, и метаболические биоиндикаторы должны быть включены в интегрированную систему оценки полной фитотоксичности металлов и адаптации растений к ТМ [23–25]. Таким образом, интегральную картину, объективно отражающую степень устойчивости растений к различным дозам ТМ, может дать расчет обобщенного индекса адаптации, который основан не на способности растений к металлоаккумуляции и не на росте корня, как предлагалось ранее.

Для оценки устойчивости растений к ТМ авторами разработана универсальная модификация WTI_{TM} – индекс адаптации ($ИА_{TM}$), рассчитываемый как среднее геометрическое всех исследованных адаптационных эффектов ($АЭ_i$, % к водному контролю) с учетом ошибки среднего геометрического (GSD):

$$ИА_{TM} = \left(\prod_{i=1}^n АЭ_i \right)^{1/n} \pm GSD .$$

Частные отклики (адаптационные эффекты) могут быть рассчитаны по любым чувствительным к ТМ параметрам растений (n). В наших исследованиях количество исследованных адаптационных эффектов по каждому виду варьировало от 3 до 18.

В работе мы оценивали эффективность применения двух индикаторов металлоустойчивости (WTI_{TM} и $ИА_{TM}$) по тесноте корреляции их значений у растений с соответствующими концентрациями ТМ в корнеобитаемой среде (табл. 1).

Таблица 1

Теснота связи значений индексов WTI_{TM} и $ИА_{TM}$ с концентрацией металлов [C_{TM}] в корнеобитаемой среде, оцененная по коэффициенту корреляции (r) Пирсона

Условия использования индексов		WTI_{TM}	$ИА_{TM}$
Культурные растения		-0,8901	-0,8826
Рудеральные виды		-0,7323	-0,8343
Класс растений	однодольные	-0,9160	-0,9286
	двудольные	-0,7884	-0,8233
Тип плодоношения	монокарпики	-0,7967	-0,8240
	поликарпики	-0,8307	-0,8526
Жизненные формы по К. Раункиеру (1934)	терофиты	-0,7228	-0,8152
	криптофиты	-0,8831	-0,9045
	гемикриптофиты	-0,9281	-0,9187
	хамефиты	-0,8448	-0,8776
	фанерофиты	-0,8453	-0,8719
ТМ	эссенциальные	Zn	-0,8009
		Ni	-0,7886
		Cu	-0,8447
	неэссенциальные	Pb	-0,7772
Продолжительность действия ТМ	7 сут.	-0,7724	-0,7823
	14 сут.	-0,8335	-0,9206
Степень загрязнения ТМ биотопа	незначительная	-0,5777	-0,7304
	значительная	-0,8706	-0,9742
Количество учитываемых параметров n при расчете индекса*	$3 \leq n \leq 6$	-0,9395	-0,9575
	$7 \leq n \leq 10$	-0,7157	-0,8068
	$11 \leq n \leq 14$	-0,9643	-0,8241
	$15 \leq n$	-0,9342	-0,8760

Примечание. * – расчет WTI_{TM} всегда проводили по единственному параметру – соотношению прироста корней растений в опыте и контроле; соответственно, значения для WTI_{TM} приведены по тем же растениям, у которых $ИА_{TM}$ вычисляли на основе обозначенного количества параметров n . Цвет внутри ячеек обозначает, что корреляция существенна при: □ – $p \leq 0,01$; □ – $p \leq 0,05$; □ – $p \leq 0,2$; □ – корреляция несущественна.

При анализе тесноты связи исследованных индексов с концентрацией ТМ в тестируемой среде показано, что индекс адаптации ($ИА_{TM}$) имеет преимущества относительно WTI_{TM} в следующих случаях:

- у культурных видов в сравнении с дикорастущими;

- у однодольных растений по сравнению с двудольными;
- у поликарпических видов по сравнению с монокарпиками;
- у различных жизненных форм растений (за исключением гемикриптофитов);
- при исследовании степени адаптации растений к эссенциальным металлам (для неэссенциального свинца оба индекса существенны на 80% уровне значимости);
- при исследовании растений, семена которых были собраны с загрязненных площадок, по сравнению с таковыми из незагрязненных местообитаний.
- при увеличении продолжительности экспозиции растений на растворах с ионами ТМ;
- при увеличении количества параметров (n), принимаемых во внимание при расчете IA_{TM} . Опытным путем установлено, что наилучшие результаты получаются в диапазоне $6 \leq n \leq 8$. Дальнейшее увеличение n нецелесообразно, поскольку не способствует повышению тесноты корреляции значений IA_{TM} и $[C_{TM}]$ и приводит к возрастанию трудоемкости индикационных исследований.

Значения IA_{TM} (с учетом GSD) можно эмпирически соотнести с градациями зон экологической толерантности растений следующим образом:

- $IA_{TM} \pm GSD > 100\%$ – витальная зона, очень высокая адаптация к ТМ;
- $IA_{TM} \pm GSD \approx 100\%$ – оптимальная зона, высокая (хорошая) адаптация к ТМ;
- $80\% < IA_{TM} \pm GSD < 100\%$ – субоптимальная зона, удовлетворительная адаптация к ТМ;
- $50\% < IA_{TM} \pm GSD < 80\%$ – пессимальная зона, низкая адаптация к ТМ;
- $20\% < IA_{TM} \pm GSD < 50\%$ – сублетальная зона, адаптация к ТМ очень низка;
- $IA_{TM} \pm GSD < 20\%$ – летальная зона (адаптация к ТМ отсутствует).

Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о целесообразности широкого применения разработанного индекса адаптации для оценки степени устойчивости растений к различным концентрациям ТМ, и, вероятно, к любым другим токсичным поллютантам в окружающей среде. Кроме того, данный индекс позволяет выявлять степень адаптации локальных популяций растений, относящихся к различным экологическим группам и формам роста к природному и антропогенному загрязнению почв эссенциальными и неэссенциальными ТМ. Для наиболее точного определения величины IA_{TM} необходимо, чтобы число определяемых адаптационных откликов исследуемых растений находилось в диапазоне от 6 до 8.

Список литературы

1. Edelstein M., Ben-Hur M. Heavy metals and metalloids: sources, risks and strategies to reduce their accumulation in horticultural crops // Scientia Horticulturae. 2018. Vol. 234. P. 431–444. doi:10.1016/j.scienta.2017.12.039

2. Безель В. С., Большаков В. Н., Воробейчик Е. Л. Популяционная экотоксикология. М. : Наука, 1994. 83 с.
3. Жуйкова Т. В. Реакция ценопопуляций и травянистых сообществ на химическое загрязнение среды : автореф. дис. ... докт. биол. наук : 03.00.16; 03. 00. 05. Екатеринбург, 2009. 40 с.
4. Ernst W. H. O. Evolution of metal tolerance in higher plants // Forest snow and landscape research. 2006. Vol. 80, № 3. P. 251–274.
5. Позолотина В. Н., Антонова Е. В., Шималина Н. С. Адаптация *Plantago major* L. к длительному радиационному и химическому воздействию // Экология. 2016. № 1. С. 3–13. doi:10.7868/S0367059716010121
6. Кротова Л. А., Чибис С. П. Эколого-генетическое влияние химических соединений на адаптацию растений // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 6. С. 250–257.
7. Zverev V., Kozlov M. V., Lama A. D. Fluctuating asymmetry of birch leaves did not increase with pollution and drought stress in a controlled experiment // Ecological Indicators. 2018. Vol. 84. P. 283–289. doi:10.1016/J.ECOLIND.2017.08.058
8. Дуля О. В., Микрюков В. С. Влияние методических факторов на результаты экотоксикологических экспериментов: мета-анализ // Экология: сквозь время и пространство : материалы конф. молодых ученых. Екатеринбург : Академкнига, 2011. С. 60–68.
9. Ritz C. Toward a unified approach to dose-response modeling in ecotoxicology // Environmental Toxicology and Chemistry. 2010. Vol. 29, № 1. P. 220–229. doi:10.1002/etc.7
10. Weltje L. Integrating evolutionary genetics and ecotoxicology: on the correspondence between reaction norms and concentration-response curves // Ecotoxicology. 2003. Vol. 12, № 6. P. 532–528. doi:10.1023/B:ECTX.0000003039.66653.DB
11. Дуля О. В., Микрюков В. С., Воробейчик Е. Л. Стратегии адаптации *Deschampsia caespitosa* и *Lychnis flos-cuculi* к загрязнению тяжелыми металлами: анализ на основе зависимости доза-эффект // Экология. 2013. № 4. С. 243–253. doi:10.7868/S0367059713040033
12. Wilkins D. S. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth // New Phytol. 1978. Vol. 80. P. 623–633. doi:10.1111/J.1469-8137.1978.TB01595.X
13. Macnair M. R., Smith S. E., Cumbes Q. J. Heritability and distribution of variation in degree of copper tolerance in *Mimulus guttatus* at Copperopolis, California // Heredity. 1993. Vol. 71, № 5. P. 445–455. doi:10.1038/hdy.1993.162
14. Gries B. Zellphysiologische Untersuchungen über die Zinkresistenz bei Galmeiformen und Normalformen von *Silene cucubalus* Wib // Flora B. 1966. Vol. 156. S. 271–290. doi:10.1007/BF01666540
15. Ruther F. Vergleichende physiologische Untersuchungen über die Resistenz von Schwermetallpflanzen // Protoplasma. 1967. Vol. 64. P. 400–425. doi:10.1007/BF01666540
16. Searcy K. B., Mulcahy D. C. Pollen selection and the gametic expression of metal tolerance in *Silene dioica* (Caryophyllaceae) and *Mimulus guttatus* (Scrophulariaceae) // American Journal of Botany. 1985. Vol. 72. P. 700–706. doi:10.1002/J.1537-2197.1985.TB08441.X
17. Лукаткин А. С., Башмаков Д. И., Шаркаева Э. Ш. [и др.] Большой практикум по ботанике, физиологии и экологии растений / под общ. ред. А. С. Лукаткина. Саранск : Изд-во Мордовского университета, 2015. 330 с.
18. Прозина М. Н. Микроскопическая техника. М. : Высшая школа, 1960. 198 с.
19. Зауралов О. А., Лукаткин А. С. Кинетика экзосмоса электролитов у теплолюбивых растений под действием пониженных температур // Физиология растений. 1985. Т. 32. С. 347–354.

20. Лукаткин А. С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск : Изд-во Мордовского университета, 2002. 208 с.
21. Казнина Н. М. Физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы устойчивости растений семейства Роасеae к тяжелым металлам : дис. ... д-ра биол. наук. Петрозаводск, 2016. 358 с.
22. Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., Van Breusegem F. Reactive oxygen gene network of plants // *Trends in Plant Science*. 2004. Vol. 9, № 10. P. 490–498. doi:10.1016/j.tplants.2004.08.009
23. Vassilev A., Lidon F., Ramalho J. C. [et al.]. Effects of excess Cu on growth and photosynthesis of barley plants. Implication with a screening test for Cu tolerance // *Journal of Central European Agriculture*. 2003. Vol. 4, № 3. P. 225–235.
24. Rozentsvet O. A., Nesterov V. N., Sinyutina N. F. The effect of copper ions on the lipid composition of subcellular membranes in *Hydrilla verticillata* // *Chemosphere*. 2012. Vol. 89, № 1. P. 108–113. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.04.034
25. Богданова Е. С., Розенцвет О. А. Изменение физиолого-биохимического состояния *Matteuccia struthiopteris* (L.) Todaro под действием солей тяжелых металлов // *Проблемы агрохимии и экологии*. 2013. № 3. С. 44–48.

References

1. Edelstein M., Ben-Hur M. Heavy metals and metalloids: sources, risks and strategies to reduce their accumulation in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*. 2018;234:431–444. doi:10.1016/j.scienta.2017.12.039
2. Bezel' V.S., Bol'shakov V.N., Vorobeychik E.L. *Populyatsionnaya ekotoksikologiya = Population ecotoxicology*. Moscow: Nauka, 1994:83. (In Russ.)
3. Zhuykova T.V. *Reaksiya tsenopopulyatsiy i travyanistykh soobshchestv na khimicheskoe zagryaznenie sredy = Response of cenopopulation and herbaceous communities to chemical pollution of the environment*. PhD abstract. Ekaterinburg, 2009:40. (In Russ.)
4. Ernst W.H.O. Evolution of metal tolerance in higher plants. *Forest snow and landscape research*. 2006;80(3):251–274.
5. Pozolotina V.N., Antonova E.V., Shimalina N.S. Adaptation of *Plantago major* L. to long-term radiation and chemical exposure. *Ekologiya = Ecology*. 2016;(1):3–13. doi:10.7868/S0367059716010121 (In Russ.)
6. Krotova L.A., Chibis S.P. Ecological and genetic influence of chemical compounds on plant adaptation. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern problems of science and education*. 2017;(6):250–257. (In Russ.)
7. Zverev V., Kozlov M.V., Lama A.D. Fluctuating asymmetry of birch leaves did not increase with pollution and drought stress in a controlled experiment. *Ecological Indicators*. 2018;84:283–289. doi:10.1016/J.ECOLIND.2017.08.058
8. Dulya O.V., Mikryukov V.S. The effect of methodological factors on the results of ecotoxicological experiments: a meta-analysis. *Ekologiya: skvoz' vremya i ras-stoyanie : materialy konf. molodykh uchenykh = Ecology: through time and distance : proceedings of Conference of young scientists*. Ekaterinburg: Akademkniga, 2011:60–68. (In Russ.)
9. Ritz C. Toward a unified approach to dose-response modeling in ecotoxicology. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2010;29(1):220–229. doi:10.1002/etc.7
10. Weltje L. Integrating evolutionary genetics and ecotoxicology: on the correspondence between reaction norms and concentration-response curves. *Ecotoxicology*. 2003;12(6):532–528. doi:10.1023/B:ECTX.0000003039.66653.DB
11. Dulya O.V., Mikryukov V.S., Vorobeychik E.L. Adaptation strategies for *Deschampsia caespithos* and *Lychnis floss roe* deer to heavy metal contamination: a dose-response analysis. *Ekologiya = Ecology*. 2013;(4):243–253. doi:10.7868/S0367059713040033 (In Russ.)

12. Wilkins D.S. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *New Phytol.* 1978;80:623–633. doi:10.1111/J.1469-8137.1978.TB01595.X
13. Macnair M.R., Smith S.E., Cumbes Q.J. Heritability and distribution of variation in degree of copper tolerance in *Mimulus guttatus* at Copperopolis, California. *Heredity.* 1993;71(5):445–455. doi:10.1038/hdy.1993.162
14. Gries B. Zellphysiologische Untersuchungen über die Zinkresistenz bei Galmeiformen und Normalformen von *Silene cucubalus* Wib. *Flora B.* 1966;156:271–290. doi:10.1007/BF01666540
15. Ruther F. Vergleichende physiologische Untersuchungen über die Resistenz von Schwermetallpflanzen. *Protoplasma.* 1967;64:400–425. doi:10.1007/BF01666540
16. Searcy K.B., Mulcahy D.C. Pollen selection and the gametic expression of metal tolerance in *Silene dioica* (Caryophyllaceae) and *Mimulus guttatus* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany.* 1985;72:700–706. doi:10.1002/J.1537-2197.1985.TB08441.X
17. Lukatkin A.S., Bashmakov D.I., Sharkaeva E.Sh. [et al.] *Bol'shoy praktikum po botanike, fiziologii i ekologii rasteniy = Big workshop on botany, physiology and ecology of plants.* Saransk: Izd-vo Mordovskogo universiteta, 2015:330. (In Russ.)
18. Prozina M.N. *Mikroskopicheskaya tekhnika = Microscopic technique.* Moscow: Vysshaya shkola, 1960:198. (In Russ.)
19. Zauralov O.A., Lukatkin A.S. Kinetics of exosmosis of electrolytes and heat-loving plants under the influence of low temperatures. *Fiziologiya rasteniy = Plant physiology.* 1985;32:347–354. (In Russ.)
20. Lukatkin A.S. *Kholodovoe povrezhdenie teplolyubivyykh rasteniy i okislitel'nyy stress = Cold damage to heat-loving plants and oxidative stress.* Saransk: Izd-vo Mordovskogo universiteta, 2002:208. (In Russ.)
21. Kaznina N.M. *Fiziologo-biokhimicheskie i molekulyarno-geneticheskie mekhanizmy ustoychivosti rasteniy semeystva Poaceae k tyazhelym metallam = Physiological-biochemical and molecular-genetic mechanisms of resistance of plants of the Poaceae family to heavy metals.* PhD dissertation. Petrozavodsk, 2016:358. (In Russ.)
22. Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., Van Breusegem F. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science.* 2004;9(10):490–498. doi:10.1016/j.tplants.2004.08.009
23. Vassilev A., Lidon F., Ramalho J.C. [et al.]. Effects of excess Cu on growth and photosynthesis of barley plants. Implication with a screening test for Cu tolerance. *Journal of Central European Agriculture.* 2003;4(3):225–235.
24. Rozentsvet O.A., Nesterov V.N., Sinyutina N.F. The effect of copper ions on the lipid composition of subcellular membranes in *Hydrilla verticillata*. *Chemosphere.* 2012;89(1):108–113. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.04.034
25. Bogdanova E.S., Rozentsvet O.A. Changes in the physiological and biochemical state of *Matteuccia struthiopteris* (L.) Todaro under the influence of salts of heavy metals. *Problemy agrokhimii i ekologii = Problems of agrochemistry and ecology.* 2013;(3):44–48. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Дмитрий Идрисович Башмаков

кандидат биологических наук, доцент,
доцент кафедры общей биологии
и экологии, Национальный
исследовательский Мордовский
государственный университет
имени Н. П. Огарёва (Россия, г. Саранск,
ул. Большевикская, 68)

Dmitriy I. Bashmakov

Candidate of biological sciences,
associate professor, associate professor
of the department of general biology
and ecology, Ogarev Mordovia
State University (68 Bolshevistskaya
street, Saransk, Russia)

E-mail: dimabashmakov@yandex.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.

Поступила в редакцию / Received 21.05.2022

Поступила после рецензирования и доработки / Revised 19.06.2022

Принята к публикации / Accepted 03.07.2022