

ISSN 1026-3470

Номер 2

Март - Апрель 2023

ИЗВЕСТИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ



www.sciencejournals.ru

Журнал публикует статьи теоретических и экспериментальных исследований по различным аспектам биологии



СОДЕРЖАНИЕ

Номер 2, 2023

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ЭВОЛЮЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ

Параллелизмы в видообразовании и внутривидовой диверсификации микроба чумы *Yersinia pestis*

В. В. Сунцов

115

БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ

Роль альбумина и альфа-фетопротеина в пренатальном онтогенезе глаза человека

И. Г. Панова, А. С. Татиколов

122

БИОХИМИЯ

Показатели липидного обмена у сеголеток атлантического лосося *Salmo salar*, в условиях аквакультуры в южном регионе РФ при разных режимах освещения и кормления

С. А. Мурзина, Д. С. Провоторов, В. П. Воронин, М. В. Кузнецова, А. Е. Курицын, Н. Н. Немова

134

МИКРОБИОЛОГИЯ

Физиолого-биохимическая характеристика и биотехнологический потенциал гидролитических галоалкалолентных бактерий содового шламоохранилища

Ю. Г. Максимова, А. В. Шилова, В. В. Егорова, В. А. Шетко, А. Ю. Максимов

149

БОТАНИКА

Бассейн р. Кава (Северная Охотия) как важная точка разнообразия водных макрофитов северной пацифики

А. А. Бобров, О. А. Мочалова, Е. В. Чемерис

160

ЗООЛОГИЯ

К изучению водяной полевки (*Arvicola amphibious*) на северо-западном пределе ареала

Э. В. Ивантер

172

ФИЗИОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

Половые различия возрастных изменений функциональной активности и экспрессии основных регуляторных белков ренин-ангиотензиновой системы в аорте и миокарде крыс

Л. М. Кожевникова, И. Ф. Суханова

186

ЭКОЛОГИЯ

Размерная структура (размерно-таксономические и размерно-трофические спектры) одноклеточного планктона гипертрофного водоема

М. В. Уманская, С. В. Быкова, Н. Г. Тарасова

198

Сосуществование конкурирующих видов обыкновенной куторы (*Neomys fodiens*) и обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus*) во флуктуирующей среде: коммуникабельность и пространственные взаимодействия в "сухом" местообитании

Н. А. Щипанов, М. В. Касаткин

211

Contents

No. 2, 2023

Theoretical and Evolutionary Biology

- Parallelism in Speciation and Intraspecific Diversification of the Plague Microbe *Yersinia pestis*
V. V. Suntsov 115
-

Developmental Biology

- Role of Albumin and Alpha-Fetoprotein in Prenatal Ontogenesis of the Human Eye
I. G. Panova and A. S. Tatikolov 122
-

Biochemistry

- Parameters of Lipid Metabolism in Underyearlings of Atlantic Salmon *Salmo salar* Reared under Different Regimes of Photoperiod and Feeding Modes in Aquaculture in the Southern Region of Russia
S. A. Murzina, D. S. Provotorov, V. P. Voronin, M. V. Kuznetsova, A. E. Kuritsyn, and N. N. Nemova 134
-

Microbiology

- Physiological and Biochemical Characteristics, and Biotechnological Potential of Hydrolytic Haloalkalitolerant Bacteria of Soda Sludge Storage
Yu. G. Maksimova, A. V. Shilova, V. V. Egorova, V. A. Shchetko, and A. Yu. Maksimov 149
-

Botany

- The Kava River Basin (Northern Okhotsk Area) as a Hotspot of Aquatic Macrophyte Diversity in Northern Pacific
A. A. Bobrov, O. A. Mochalova, and E. V. Chemeris 160
-

Zoology

- To the Study of a Water Vole (*Arvicola amphibius*) at the North-Western Area
E. V. Ivanter 172
-

Animal and Human Physiology

- Sex Differences in Age-Related Changes in Functional Activity and Expression of the Main Regulatory Proteins of the Renin-Angiotensin System in the Aorta and Myocardium of Rats
L. M. Kozhevnikova and I. F. Sukhanova 186
-

Ecology

- Unicellular Plankton Size Structure (Size-Taxonomic and Size-Trophic Spectra) in a Hypertrophic Urban Lake
M. V. Umanskaya, S. V. Bykova, and N. G. Tarasova 198
- Coexistence of the Water Shrew (*Neomys fodiens*) and the Common Shrew (*Sorex araneus*), the Competing Species, in a Fluctuating Environment: Sociability and Space Use in a "Dry" Habitat
N. A. Shchipanov and M. V. Kasatkin 211
-
-

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ
И ЭВОЛЮЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 576.851.45:616.98

ПАРАЛЛЕЛИЗМЫ В ВИДООБРАЗОВАНИИ И ВНУТРИВИДОВОЙ
ДИВЕРСИФИКАЦИИ МИКРОБА ЧУМЫ *Yersinia pestis*

© 2023 г. В. В. Сунцов®

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Ленинский просп., 33, Москва, 119071 Россия
®E-mail: vvsuntsov@rambler.ru

Поступила в редакцию 09.03.2022 г.

После доработки 05.04.2022 г.

Принята к публикации 05.04.2022 г.

Молекулярные филогении микроба чумы *Yersinia pestis* противоречат экологическим фактам и не интерпретируются в понятиях концепции адаптациогенеза. Одной из причин противоречий видится недооценка молекулярным подходом параллелизмов в процессах видообразования и внутривидовой диверсификации микроба чумы. Экологические данные свидетельствуют о параллельном тритоном (почти) одновременном видообразовании трех исходных геновариантов (популяций, подвидов) *Y. pestis* 2.ANT3, 3.ANT2 и 4.ANT1 в трех географических популяциях монгольского сурка (*Marmota sibirica*), которое в МГ-подходе принимают за мягкую политомию (“Big Bang”). Параллелизмы также имели место при формировании внутривидового разнообразия *Y. pestis*. Самостоятельность трех филогенетических линий и связанные с этим эволюционные параллелизмы в формировании внутривидового разнообразия *Y. pestis* в молекулярном подходе не принимаются во внимание. Перспектива создания реального филогенетического дерева *Y. pestis* состоит в творческом синтезе методологий двух подходов — молекулярного и экологического.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Marmota sibirica*, параллельная эволюция, геноварианты

DOI: 10.31857/S1026347023010122, **EDN:** BPNSYT

Формо-видообразование патогенных микроорганизмов составляет актуальную проблему современного здравоохранения. Наглядным подтверждением этого тезиса может служить протекающая в современном мире пандемия ковид-19. Ее истоки остаются неизвестными, что в значительной мере сдерживает разработку средств и методов контроля пандемии, лечения и профилактики инфекции и выявление ее предикторов. Апокалиптической болезнью, хорошо известной с давних времен, является чума, оставившая неизгладимые следы в человеческой истории. Но, несмотря на более чем столетнюю историю изучения возбудителя этой болезни — микроба *Yersinia pestis*, открытого А. Йерсенем в Гонконге в 1894 г., вопрос о его происхождении и мировой экспансии остается не вполне решенным.

Возбудитель чумы — уникальный бактериальный патоген. Среда его обитания — паразитарная система грызун/пищуха–блоха. Теплокровные млекопитающие являются хозяевами инфекции, блохи переносят возбудителя между хозяевами. В то же время по биохимическим, генетическим и молекулярным признакам микроб чумы включен в семейство *Enterobacteriaceae*, объединяющее бактериальных обитателей пищеварительного тракта

широкого круга животных, как позвоночных, так и беспозвоночных. У кишечных инфекций передача возбудителя от одного хозяина к другому осуществляется пищевым (алиментарным) способом. Микроб чумы — единственный вид в обширном семействе кишечных микробов, передающийся через укусы блох. То есть в этом семействе он уникален, что свидетельствует о каком-то особом эволюционном пути.

Yersinia pestis: ДВА ОТКРЫТИЯ

В последние два десятилетия в связи с бурным развитием молекулярно-генетических (МГ) технологий и их внедрением в эволюционную инфектологию реконструкция истории *Yersinia pestis* стала прерогативой МГ-подхода. Филогенетическую структуру выстраивают с помощью анализа нуклеотидных признаков-маркеров на основе, как правило, моделей нейтральной эволюции и с применением статистических методов и компьютерных технологий (Achtman *et al.*, 1999, 2004). Преобразование популяции (клона) предкового кишечного микроба в популяцию микроба чумы связывают с сальтационными генетическими процессами: горизонтальным переносом плазмид ви-

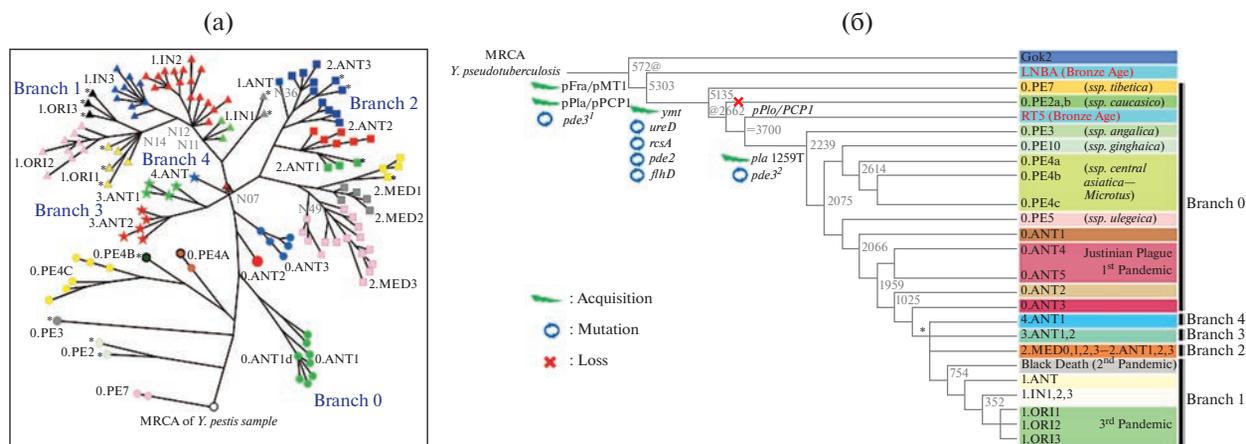


Рис. 1. Наиболее популярные филогенетические схемы *Y. pestis*, построенные анализом SNP маркеров по: Cui *et al.*, 2013 (a); по: Demeure *et al.*, 2019 (б). Значки на концах филогенетических ветвей означают геноварианты (популяции, подвиды) чумного микроба, циркулирующие в природных и антропогенных очагах мира. В корне филогенетического дерева размещена статистически охарактеризованная абстрактная предковая форма чумного микроба MRCA (most recent common ancestor). Деревья построены на основе модели дивергенции голофилетической (без параллелизмов) группы.

рулентности, генетических комплексов и отдельных генов от других микроорганизмов или из внешней среды, делециями и инактивациями генов, утративших функции в новой среде обитания, в меньшей мере с генетическими рекомбинациями (Achtman *et al.*, 1999, 2004; Zhou *et al.*, 2004).

Молекулярные технологии позволили сделать два важных вклада в решение проблемы происхождения и мировой экспансии микроба чумы. Во-первых, вопреки положению “классической” теории природной очаговости чумы о древности возбудителя (олигоцен—плиоцен), была доказана его эволюционная молодость. МГ методами показано, что дивергенция чумного микроба от предковой формы произошла в эволюционном масштабе времени недавно, не ранее 30 тыс. лет назад (Achtman *et al.*, 1999, 2004; Morelli *et al.*, 2010; Cui *et al.*, 2013). Более того, МГ-методы позволили оценить скорость эволюции отдельных филогенетических ветвей и создать стройные филогенетические деревья, ставшие современной иллюстрацией истории происхождения и эволюции чумного микроба (Cui *et al.*, 2013; Demeure *et al.*, 2019; Pisarenko *et al.*, 2021).

Во-вторых, выявлен прямой предок чумного микроба, им оказался убиквитарный психрофильный псевдотуберкулезный микроб *Yersinia pseudotuberculosis* 0:1b, а точнее возбудитель дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки (ДСЛ), широко распространенный в холодных районах северной и центральной Азии и на Дальнем Востоке (Fukushima *et al.*, 1998, 2001; Skurnik *et al.*, 2000). Это открытие позволило охарактеризовать корень молодого филогенетического дерева *Y. pestis*: стало ясно, что некая популяция (клон) возбудителя ДСЛ, обитающая в холодных районах Азии,

в недалеком историческом прошлом попала в какие-то уникальные условия, в которых прошло ее преобразование в популяцию микроба чумы. Возникла необходимость выявить эту стартовую анцестральную популяцию и условия, в которые она попала.

МГ-НОМЕНКЛАТУРА ВНУТРИВИДОВЫХ ФОРМ *Yersinia pestis*

Предложена специфическая номенклатура внутривидовых форм микроба чумы, удобная для конструирования МГ филогенетических схем, которая используется во многих лабораториях мира (Achtman *et al.*, 2004; Morelli *et al.*, 2010; Cui *et al.*, 2013). Популяции/геноварианты/подвиды микроба чумы, циркулирующие в природных очагах имеют цифровые и буквенные обозначения, например 0.PE2 (как считают в МГ-подходе — это один из более древних возбудителей, имеющий пониженную вирулентность, циркулирующий в популяциях обыкновенной полевки на Кавказе). Первая цифра (0—4) обозначает филогенетическую ветвь, ветвь 0 наиболее древняя. Аббревиатура не строго обозначает биохимические биоварианты Pestoides (PE), Antiqua (ANT), Mediaevalis (MED), Intermedium (IN), Orientalis (ORI). Последняя цифра иногда с добавлением буквы обозначает конкретный природный очаг (1—10) (рис. 1).

К сожалению, МГ-подход не дает возможности конкретизировать и подробно охарактеризовать исходную популяцию чумного микроба после ее дивергенции от возбудителя ДСЛ и генеалогические линии (интерноды) от анцестрального вида к локальным геновариантам/подвидам. В то же время понятно, что видообразование — популяционно-

генетический процесс: популяция предкового вида порождает популяции нового производного вида и интерноды должны представлять определенный геновариант. Статистическая методология (SNP-анализ) позволяет обозначить только безликую экологически не характеризующую абстрактную форму наиболее современного общего предка MRCA (most recent common ancestor) (Achtman *et al.*, 1999, 2004). “Популяцию” этой абстрактной формы принимают в качестве единого предка всего внутривидового разнообразия чумного микроба, как голофилетическую группу, адекватную МГ методологическим манипуляциям. Но на краеугольные вопросы где, когда, каким образом и при каких обстоятельствах произошло преобразование популяции возбудителя ДСЛ в “статистическую” популяцию MRCA МГ-подход ответа не дает. И, по-видимому, дать не может, так как видообразование – это популяционно-генетический адаптивный процесс, прерогативой изучения которого обладает прежде всего экология (в широком понимании).

ИСТОРИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ МГ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ СХЕМ

Как следует из МГ-логики, MRCA предпринял двухэтапную мировую экспансию в популяциях норковых грызунов (Rodentia) и пищух (Lagomorpha, Ochotona) (Achtman *et al.*, 2004; Cui *et al.*, 2013; Demeure *et al.*, 2019; Сунцов, 2021). Сначала от MRCA отделилась филогенетическая ветвь/кластер 0.РЕ, представленная биоваром Pestoides, циркулирующим в популяциях сибирского тушканчика (*Allactaga sibirica*), нескольких видов полевок (Microtina) и монгольской пищухи (*Ochotona pallasi pricei*) (рис. 1). Геноварианты/подвиды этого биовара обладают избирательной вирулентностью и слабо или не патогенны для сурков, сусликов, песчанок и человека. Ареал представителей ветви/кластера 0.РЕ охватил, как полагают, обширные пространства Азии от Маньчжурии и восточного Тибета на востоке до Предкавказья и Ближнего Востока на западе и от Забайкалья и северного Прикаспия на севере до юга Индостана.

Через тысячи лет после формирования первичного ареала геновариантов 0.РЕ вторая волна экспансии природных очагов чумы уже с высоко-вирулентным возбудителем началась из тьяншаньских популяций алтайского сурка (*Marmota baibacina*) накануне первой пандемии (чума “Юстиниана” в Европе и Средиземноморье, 6–8 века) и распространилась в пределах ареала “древней” “полевково/пищуховой” чумы. Основателем высоко-вирулентных геновариантов называют 0.РЕ5 – самого молодого геноварианта среди представителей биовара Pestoides, циркулирующего в географической популяции монгольской пищухи на Монгольском и Гобийском Алтае. По молекуляр-

ной структуре (CRISPR) он наиболее близок к высоковирулентным “сурочьим” геновариантам ветви 0.ANT (рис. 1б) (Riehm *et al.*, 2012; Demeure *et al.*, 2019). Природные события, которые обеспечили дальний “транзит” микроба чумы с Монголо-Гобийского Алтая из популяций монгольской пищухи в популяции алтайского сурка на Тянь-Шане и экологические процессы, которые привели к преобразованию геноварианта 0.РЕ5 в геноварианты линии 0.ANT в популяциях алтайского сурка накануне 1-й пандемии, МГ-подход оставляет без внимания. Двухэтапная экспансия и гостальная адаптация слабовирулентных и высоко-вирулентных возбудителей, согласно МГ-подходу, привела к внутривидовой диверсификации – возникновению многочисленных геновариантов (популяций, подвидов), сформировавшихся в Евразии в последние 1500–20 000 лет природные очаги различного ранга, от крупных полигостальных, занимающих обширные пространства мегаочагов до местных (элементарных) очагов, занимающих локальные урочища и биотопы.

Приведенный сценарий исторических событий, постулируемых МГ-подходом, не находит поддержки фактами и закономерностями, накопленными и установленными широким кругом релевантных естественных наук. Двухэтапная недавняя в историческом времени естественная экспансия чумного микроба по принципу “дальних транзитов” в границах одного и того же Евразийского ареала с точки зрения биологической (эпизоотологической) логики представляется совершенно невозможной: бесспорно, что эпизоотии в естественных условиях распространяются по принципу “масляного пятна” за счет внутривидовых, внутривидовых и межвидовых паразитарных контактов животных через укусы блох.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ИСТОРИИ *Yersinia pestis*

Два выше указанных открытия МГ (эволюционная молодость вида *Y. pestis* и его происхождение от возбудителя ДСЛ) позволили пересмотреть положения классической теории природной очаговости чумы и создать новый более достоверный непротиворечивый экологический (ЭКО) сценарий видообразования и мировой экспансии возбудителя (Сунцов, Сунцова, 2000, 2006; Сунцов 2020). Согласно ЭКО-сценарию, трилопное видообразование вида *Y. pestis* произошло (почти) одновременно в трех географических популяциях монгольского сурка (*Marmota sibirica*) под влиянием тривиальных физико-климатических факторов – нарастающей сухости и суровости климата в Центральной Азии во второй половине кайнозоя. Аридность климата вызвала формирование защитного поведения монгольского сурка, приведшего к накоплению псевдотуберкулезного микроба в его организ-

ме во время зимней спячки без проникновения в лимфо-миелоидный комплекс. Суровость климата в сартанское время, 22000–15000 лет назад, вызвала переход личинок сурочьей блохи *Oropsylla silantiewi* от детритофагии в подстиле гнезда к факультативной гематофагии на теле спящих сурков в холодное время года и, как следствие, заражение популяции монгольского сурка кишечной псевдотуберкулезной инфекцией неадаптивным механическим, травматическим (но не традиционным алиментарным!) способом. Таким образом, уникальный способ заражения монгольского сурка возбудителем ДСЛ привел к появлению уникального патогена.

ПАРАЛЛЕЛИЗМ ВИДООБРАЗОВАНИЯ

Yersinia pestis

Параллелизмы в природе распространены очень широко. Факт параллельного формирования сходных признаков у близкородственных форм известен еще со времен Дарвина (Медников, 1980). Толчок в развитии этого научного направления был сделан Н. Вавиловым (1935). Он установил закономерность, согласно которой многие виды характеризуются сходными и параллельными рядами (сериями) наследственной изменчивости. В проблеме видообразования и внутривидовой диверсификации микроба чумы понятие о параллелизме формирования сходных признаков у родственных форм/геновариантов специально не разрабатывалось, хотя некоторые авторы указывали на параллельное или конвергентное формирование некоторых внутривидовых форм (геновариантов, биоваров) (Achtman, 2004; Zhou *et al.*, 2004). Исследователи, занимающиеся МГ-реконструкциями филогенеза микроба чумы, основываются на эволюционной модели, предписывающей наличие единого корня и строгую дихотомию голофилетических групп. При этом группы, предположительно возникающие параллельно на основе гомоплазии, из филогенетических построений исключают как не соответствующие требованиям узкой монофилии – базовому требованию в МГ филогенетической методологии (Achtman *et al.*, 2004). Только монофилетические в узком смысле, т.е. голофилетические группы подлежат МГ-анализу для реконструкции филогенетического процесса *Y. pestis*.

Как мы показали (Сунцов, 2020, 2021), триггером видообразования *Y. pestis* послужило наступление максимального сартанского похолодания в Центральной Азии, которое одновременно охватило ареал монгольского сурка, включающего три географические популяции с обитающими в них подвидами *M. sibirica sibirica*, *M. sibirica caliginosa* и *M. sibirica ssp.* В трех географических популяциях сложились равные условия для травматического внедрения возбудителя ДСЛ в кровь спящих

сурков и запуска процесса адаптации возбудителя к организму нового хозяина по принципу “квантового” видообразования (Сунцов, 2018). Территориальная гетерогенность возбудителя ДСЛ, циркулирующего в географических популяциях монгольского сурка, и в некоторой степени различные биотические условия среды его обитания привели, по нашему мнению, к (почти) одновременному формированию трех различных геновариантов чумного микроба: 2.ANT3, 3.ANT2 и 4.ANT1 (рис. 2а) (Сунцов, 2020). В МГ-подходе одновременное образование этих геновариантов рассматривают как возникновение политомии (N07, “Big Bang”) (рис. 1б), вызванной неизвестными природными событиями накануне 2-й пандемии (“Черной смерти”, XIV–XVIII вв.).

ПАРАЛЛЕЛИЗМЫ ВНУТРИВИДОВОЙ ДИВЕРСИФИКАЦИИ *Yersinia pestis*

МГ филогенетический подход рассматривает чумоподобных возбудителей биовара *Pestoides* как наиболее древнюю группу, геноварианты которой возникли параллельно из абстрактной популяции MRCA (рис. 1) (Cui *et al.*, 2013; Кисличкина и др., 2019). MRCA после отделения от возбудителя ДСЛ или на Кавказе (Pisarenko *et al.*, 2021), или на Цинхайском плато Тибета (Cui *et al.*, 2013) широко распространился в Евразии. Затем по неизвестным причинам произошла инсуляризация древнего обширного ареала и образовались локальные природные очаги в популяциях сибирского тушканчика, полевок и монгольской пищухи. Экологическую характеристику этой ветви МГ-подход не дает. Согласно ЭКО-сценарию, территориальная экспансия трех исходных геновариантов 2.ANT3, 3.ANT2 и 4.ANT1 осуществлялась параллельными самостоятельными маршрутами (Сунцов, 2020), на которых происходила адаптация микроба к новым хозяевам.

Обширный вытянутый с юго-востока на северо-запад ареал монгольской пищухи совмещается с хангайской и хархира-монгун-тайгинской географическими популяциями монгольского сурка, в которых циркулируют два разных геноварианта микроба чумы: 3.ANT2 и 4.ANT1. В районах совместного обитания сурка и пищухи “сурочки” геноварианты перешли в популяцию монгольской пищухи и на дистальных концах ее ареала параллельно возникли очаги чумы с разными геновариантами: 0.PE5u (Гобийский Алтай) и 0.PE4a (Горный Алтай). В промежуточной зоне в Баян-Ульгейском аймаке Монголии на Монгольском Алтае от монгольской пищухи в местных очагах чумы выделяют оба геноварианта/подвида микроба (рис. 2б).

То же самое можно предположить относительно геновариантов 0.PE4m, циркулирующего в популяциях полевок Брандта на Хэнтэе и во Внут-

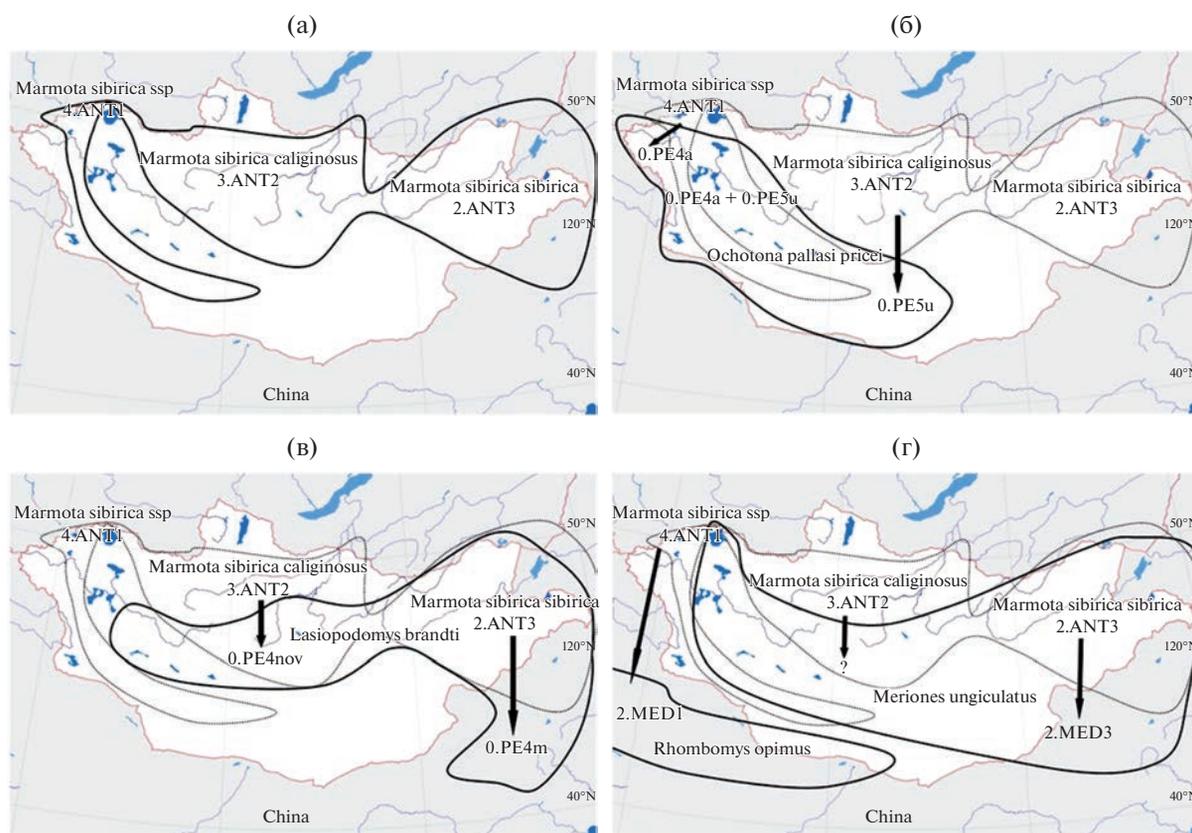


Рис. 2. Параллелизмы в видообразовании и внутривидовой диверсификации микроба *Yersinia pestis*. (а) — одновременное формирование трех геновариантов/популяций 2.ANT3, 3.ANT2 и 4.ANT1 чумного микроба в трех географических популяциях монгольского возбудителя ДСЛ, циркулирующих в популяциях сурка на Хэнтэе, Хангае и Хархира-Монгун-Тайгинском горном поднятии (по: Сунцов, 2020, 2021); (б) — проникновение “сурочьих” геновариантов микроба чумы 3.ANT2 и 4.ANT1 (здесь и далее показано стрелками) в географическую популяцию монгольской пищухи (*Ochotona pallasi pricei*) и параллельное формирование сурка (*Marmota sibirica caliginosus*, *M. sibirica sibirica*, *M. sibirica ssp.*) из различных популяций возбудителя ДСЛ, циркулирующих в популяциях сурка на Хэнтэе, Хангае и Хархира-Монгун-Тайгинском горном поднятии (по: Сунцов, 2020, 2021); (в) — параллельное проникновение сурочьих геновариантов микроба чумы 3.ANT2 и 2.ANT3 в различные части ареала полевки Брандта (*Lasiopodomys brandti*) и формирование очагов чумы с геновариантами 0.PE5u (улегейский подвид) и 0.PE4a (алтайский подвид); в промежуточной зоне в Баян-Ульгийском аймаке Монголии подвиды циркулируют в условиях симпатрии; (г) — параллельное проникновение сурочьих геновариантов микроба чумы 2.ANT3 и 4.ANT1 в популяции монгольской (*Meriones unguiculatus*) и большой (*Rhombomys opimus*) песчанок с последующим формированием геновариантов 2.MED3 и 2.MED1 во Внутренней Монголии и в Джунгарии, соответственно.

ренней Монголии (Китай), и нового, пока не описанного геноварианта 0.PE4nov, обнаруженного в популяциях полевки Брандта на Хангайском нагорье (Монголия) (Куклева и др., 2015; Платонов и др., 2015). Согласно экологической логике, анцестральной формой 0.PE4m был геновариант 2.ANT3, а геноварианта 0.PE4nov — 3.ANT2 (рис. 2в). Реальность существования геноварианта 0.PE4nov следует подтвердить МГ-методами.

Филогенетическая ветвь (кластер) 2.MED. В МГ-подходе принято считать, что возбудитель чумы биовара *Mediaevalis* формирует единую филогенетическую ветвь 2.MED, корневым более древним геновариантом которой является 2.MED0, циркулирующий в популяциях горного суслика (*Spermophilus musicus*) на Кавказе (Носов и др., 2016;

Pisarenko *et al.*, 2021). В процессе экспансии далеко на восток геновариант 2.MED0 дивергировал с образованием геновариантов 2.MED1, 2.MED2, 2.MED3 и 2.MED4, образовав, как полагают, голофилетическую группу 2.MED биовара *Mediaevalis*.

Согласно ЭКО-сценарию, биовар *Mediaevalis* и геноварианты группы 2.MED не составляют голофилетическую группу, но возникли параллельными путями из разных исходных “сурочьих” геновариантов 2.ANT3 и 4.ANT1 (рис. 2г). На западном маршруте экспансии геноварианта 4.ANT1 в популяциях большой песчанки (*Rhombomys opimus*) в Джунгарии сформировался геновариант 2.MED1, а на восточном маршруте на Хэнтэе и во Внутренней Монголии (Китай) в популяциях монгольской песчанки (*Meriones unguiculatus*)

сформировался геновариант 2.MED3 (Zhou *et al.*, 2004; Павлова и др., 2012; Zhang *et al.*, 2018; Сунцов, 2020).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

МГ-филогении *Y. pestis* выстраиваются на основе моделей нейтральной эволюции и статистических методов анализа и не интерпретируются в экологических терминах, тем самым выхолащивается их эволюционный смысл. Статистическое толкование молекулярной эволюции чумного микроба представляется крайне редуционистским, не отражающим естественные эволюционные события, МГ-реконструкции филогенеза чумного микроба противоречат очевидным экологическим фактам. Создание полноценных нарративов исторического развития возбудителя чумы в МГ-подходе невозможно. Но хотя МГ филогенетическое дерево отражает не реальную историю микроба, а является упрощенным “маркерным” филогенетическим конструктором, в нем все-таки можно усмотреть некоторые важные эволюционные события. Например, МГ дендрограмма хотя и не объясняет, но с очевидностью констатирует наличие политомии “Big Bang” и парафилетические отношения в ветви/кластере 0.PE. Достижения МГ-подхода, а именно два открытия — эволюционной молодости возбудителя чумы и его происхождения от возбудителя ДСЛ — позволили пересмотреть положения классической теории природной очаговости чумы и по-новому взглянуть на историю этого патогена. Понимание эволюционной молодости микроба чумы нацелило на поиск экологических факторов, которые ожидаемо сохранились и могут свидетельствовать о механизмах и принципах видообразовательного процесса. Такие факторы и принципы были обнаружены и установлены экологическими исследованиями. Экологические признаки оказались высокоинформативными для реконструкции истории чумы. Как следствие, помимо доминирующего МГ-подхода в филогенетике *Y. pestis* сформировался альтернативный ЭКО-подход, более наглядный и более достоверный. Сопоставление экологических и молекулярных реконструкций позволяет создать более совершенную эволюционную модель филогенеза микроба чумы, интегрирующую МГ и ЭКО методологии филогенетических построений. Можно надеяться, что создание и принятие на вооружение новой интеграционной эволюционной модели филогенеза чумного микроба, учитывающей наличие многочисленных параллелизмов, станет основой дальнейшего развития теории происхождения и мировой экспансии не только возбудителя чумы, но и многих других патогенов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вавилов Н.И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. М.—Л.: ОГИЗ-Сельхозгиз, 1935. 56 с.
- Кисличкина А.А., Платонов М.Е., Вагайская А.С., Богун А.Г. и др. Рациональная таксономия *Yersinia pestis* // Мол. генет., микробиол. вирусол. 2019. Т. 37. № 2. С. 76–82.
- Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Одинокоев Г.Н., Оглодин Е.Г., Носов Н.Ю. Анализ разнообразия и определение геновариантов штаммов возбудителя чумы из очагов Монголии // Генетика. 2015. Т. 51. № 3. С. 298–305.
- Медников Б.М. Закон гомологической изменчивости (К 60-летию со дня открытия Н.И. Вавиловым закона) М.: Знание, 1980. 64 с.
- Носов Н.Ю., Оглодин Е.Г., Краснов Я.М., Куклева Л.М., Шавина Н.Ю. и др. Филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis* средневекового биовара из природных очагов чумы Российской Федерации и сопредельных стран // Пробл. особо опасн. инфекций. 2016. № 2. С. 75–78.
- Павлова А.И., Ерошенко Г.А., Одинокоев Г.Н., Куклева Л.М., Шавина Н.Ю. и др. Анализ генетической изменчивости штаммов *Yersinia pestis* средневекового биовара из природных очагов чумы России и Монголии // Проблемы особо опасн. инф. 2012. № 114. С. 49–53.
- Платонов М.Е., Евсеева В.В., Ефременко Д.В., Афанасьев М.В., Вержущий Д.Б. и др. Внутривидовая принадлежность рамнозопозитивных штаммов *Yersinia pestis* из природных очагов чумы Монголии // Мол. генетика, микробиол. вирусол. 2015. № 1. С. 23–28.
- Сунцов В.В. “Квантовое” видообразование микроба чумы *Yersinia pestis* в гетероиммунной среде — популяциях гибернирующих сурков-тарбаганов (*Marmota sibirica*) // Сиб. экол. журн. 2018. № 4. С. 379–394.
- Сунцов В.В. Гостальный аспект территориальной экспансии микроба чумы *Yersinia pestis* из популяций монгольского сурка-тарбагана (*Marmota sibirica*) // Зоол. журн. 2020. Т. 99. № 11. С. 1307–1320.
- Сунцов В.В. Политопное видообразование микроба чумы *Yersinia pestis* как причина филогенетической трихомии в географических популяциях монгольского сурка-тарбагана (*Marmota sibirica*) // Журн. общей биол. 2021. Т. 82. № 6. С. 431–444.
- Сунцов В.В., Сунцова Н.И. Экологические аспекты эволюции микроба чумы *Yersinia pestis* и генезис природных очагов // Изв. РАН. Сер. биол. 2000. № 6. С. 645–657.
- Сунцов В.В., Сунцова Н.И. Чума. Происхождение и эволюция эпизоотической системы (экологические, географические и социальные аспекты). М.: КМК, 2006. 247 с.
- Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guiyoule A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis* // PNAS. 1999. V. 96. № 24. P. 14043–14048.
- Achtman M., Morelli G., Zhu P., Wirth T., Diehl I. *et al.* Microevolution and history of the plague bacillus, *Yersinia pestis* // PNAS. 2004. V. 101. № 51. P. 17837–17842.

- Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T. et al. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis* // PNAS. 2013. V. 110. № 2. P. 577–582.
- Demeure C.E., Dussurget O., Fiol G.M., Le Guern A.-S., Savin C., Pizarro-Cerda J. *Yersinia pestis* and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination, and diagnostics // Genes Immunity. 2019. V. 20. № 12. P. 1–14.
- Fukushima H., Gomyoda M., Hashimoto N., Takashima I., Shubin F.N. et al. Putative origin of *Yersinia pseudotuberculosis* in western and eastern countries. A comparison of restriction endonuclease analysis of virulence plasmids // Intern. J. Medical Microbiol. 1998. № 288. P. 93–102.
- Fukushima H., Matsuda Y., Seki R., Tsubokura M., Takeda N., et al. Geographical heterogeneity between Far Eastern and Western countries in prevalence of the virulence plasmid, the superantigen *Yersinia pseudotuberculosis*-derived mitogen, and the high-pathogenicity island among *Yersinia pseudotuberculosis* strains // J. Clinical Microbiol. 2001. № 10. P. 3541–3547.
- Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., et al. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity // Nature Genetics. 2010. V. 42. № 12. P. 1140–1145.
- Pisarenko S.V., Evchenko A. Yu., Kovalev D.A., Evchenko Y.M., Bobrysheva O.V. et al. *Yersinia pestis* strains isolated in natural plague foci of Caucasus and Transcaucasia in the context of the global evolution of species // Genomics. 2021. V. 113 P. 1952–1961.
- Riehm J.M., Vergnaud G., Kiefer D., Damdindorj T., Dashdavaa O. et al. *Yersinia pestis* Lineages in Mongolia // PLoS ONE. 2012. V. 7. № 2. E30624.
- Skurnik M., Peippo A., Erelva E. Characterization of the O-antigen gene cluster of *Yersinia pseudotuberculosis* and the cryptic O-antigen gene cluster of *Yersinia pestis* shows that the plague bacillus is most closely related to and has evolved from *Y.pseudotuberculosis* serotype O:1b // Mol. Microbiol. 2000. V. 37. № 2. P. 316–330.
- Zhang Y., Luo T., Yang C., Yue X., Guo R. et al. Phenotypic and molecular genetic characteristics of *Yersinia pestis* at an emerging natural plague focus, Junggar Basin, China // Am. J. Trop. Med. Hyg. 2018. V. 98. № 1. P. 231–237.
- Zhou D., Han Y., Song Y., Huang P., Yang R. Comparative and evolutionary genomics of *Yersinia pestis* // Microbes and Inf. 2004. № 6. P. 1226–1234.

Parallelism in Speciation and Intraspecific Diversification of the Plague Microbe *Yersinia pestis*

V. V. Suntsov[#]

Severtsov Institute of Problems of Ecology and Evolution, Moscow, Russia

[#]*e-mail: vvsuntsov@rambler.ru*

Modern “molecular genetic (MG) phylogenies” of the plague microbe *Yersinia pestis*, built on models of neutral evolution using statistical methods of phylogenetic analysis, contradict numerous obvious environmental (ECO) patterns and are not consistent with the concept of adaptatiogenesis. The reason for the discrepancy between MG and ECO phylogenies is seen in the underestimation by the MG approach of parallelisms in the processes of speciation and intraspecific diversification of the plague microbe. ECO methods showed the parallel tritope (almost) simultaneous speciation of three primary genovariants (populations, subspecies) *Y. pestis* 2.ANT3, 3.ANT2 and 4.ANT1 in three geographical populations of the Mongolian marmot (*Marmota sibirica*), which in the MG approach is mistaken for polytomy (“Big Bang”), caused by unknown natural phenomena on the eve of the first pandemic (Justinian’s plague, 6th–8th centuries AD). The discrepancy between MG and ECO interpretations of the evolution of intraspecifically-derived phylogenetic sub-branches 0.PE and 2.MED is also associated with parallel evolutionary processes in independent lines, based on genovariants 2.ANT3, 3.ANT2 and 4.ANT1. Independence of these phylogenetic lines and associated with them parallelisms of sub-branches 0.PE and 2.MED are not taken into account in the MG approach. The prospect of creating a real phylogenetic tree for *Y. pestis* depends on a creative synthesis of the two approaches – MG and ECO.

Keywords: Yersinia pestis, Yersinia pseudotuberculosis, Marmota sibirica, parallel evolution, genovariants

УДК 591.

РОЛЬ АЛЬБУМИНА И АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА В ПРЕНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА

© 2023 г. И. Г. Панова*., @, А. С. Татиколов**

*НП Международный научно-практический центр пролиферации тканей,
ул. Пречистенка, 14/19, Москва, 119034 Россия

**Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, ул. Косыгина, 4, Москва, 119334 Россия

@E-mail: pinag@mail.ru

Поступила в редакцию 11.12.2021 г.

После доработки 28.01.2022 г.

Принята к публикации 28.01.2022 г.

В стекловидном теле глаза плодов человека присутствуют сывороточный альбумин (СА) и альфа-фетопротеин (АФП), который в норме характерен для эмбрионов и плодов человека. Во втором триместре оба белка находятся в стекловидном теле в концентрации, сравнимой с концентрацией в сыворотке крови, после чего их содержание резко снижается. В настоящем аналитическом обзоре с учетом биологических свойств СА и АФП обсуждается роль этих белков в процессах роста и дифференцировки структур развивающегося глаза.

Ключевые слова: глаз человека, пренатальное развитие, стекловидное тело, альбумин, альфа-фетопротеин, белки-переносчики, антиоксиданты, нейропротекторы, онкотическое давление

DOI: 10.31857/S1026347022700093, EDN: HJSFZC

Важность стекловидного тела для нормально-функционирования глаза явилась поводом для написания данного обзора.

Стекловидное тело, расположенное между хрусталиком и сетчаткой, составляет ~4/5 от объема глаза. Оно представляет собой прозрачную, бесцветную, высокогидратированную (приблизительно 99% воды) гелеобразную структуру. В норме у взрослых стекловидное тело полностью лишено кровеносных сосудов. Единственными клетками стекловидного тела являются гиалоциты (Hogan *et al.*, 1971; Balazs *et al.*, 1980; Bishop, 2000; Bishop *et al.*, 2002; Le Goff, Bishop, 2008).

Стекловидное тело играет важную роль в структурной организации и функциональной активности глаза: обеспечивает сохранение формы и тонуса глазного яблока, амортизирует механические удары, регулирует внутриглазное давление, поддерживает нормальный гомеостаз сетчатки и хрусталика, и обладает антиангиогенными свойствами (Hogan *et al.*, 1971; Jacobson *et al.*, 1985; Luty *et al.*, 1993).

Основными компонентами стекловидного тела являются коллаген II типа, гиалуроновая кислота, гликозаминогликаны, протеогликаны, растворимые белки, ферменты, аминокислоты, цитокины (Bishop *et al.*, 2002; Le Goff, Bishop, 2008). На протяжении всего онтогенеза стекловидное тело претерпевает изменения состава и структу-

ры, связанные как с нормальным развитием до и после рождения, так и с различными глазными и системными заболеваниями. В связи с этим знание биохимических изменений в стекловидном теле поможет обеспечить лучшее понимание патофизиологических процессов, которые имеют место при витреоретинопатиях, макулярных дегенерациях, катарактах, глаукоме, ретинопатии недоношенных, врожденных аномалиях глаза. Все больше внимания уделяется исследованию протеома стекловидного тела, как в норме, так и при различных заболеваниях и возрастных изменениях глаз, что является важной задачей не только для понимания природы и течения заболеваний глаз, но и для разработки терапевтических подходов для их лечения (Yamane *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2004; Grus *et al.*, 2007; Angi *et al.*, 2012; Murthy *et al.*, 2014; Yee *et al.*, 2015; Mandal *et al.*, 2015).

Несомненный интерес стекловидное тело представляет в раннем пренатальном развитии человека, когда происходят значительные изменения на морфологическом и биохимическом уровнях. Развитие стекловидного тела глаза человека включает ряд последовательных периодов. На протяжении первого периода с конца 3-й—начала 4-й недели и до конца 6-й недели формируется первичное стекловидное тело. Характерным признаком этого периода является формирование в пределах стекловидного тела гиалоидных сосудов, к кото-

рым относятся главная гиалоидная артерия (*arteria hyaloidea*), ее разветвления в полости первичного стекловидного тела (*vasa hyaloidea propria*), сосуды задней (*tunica vasculosa lentis posterior*) и передней (*tunica vasculosa lentis anterior*) сосудистой сумки хрусталика. Эти сосуды необходимы для дыхания, питания и созревания внутренних частей развивающегося глаза (хрусталика, сетчатки, стекловидного тела). Выполнив свое назначение, они постепенно подвергаются обратному развитию. Второй период связан с развитием вторичного (бессосудистого) стекловидного тела между сетчаткой и первичным стекловидным телом и осуществляется в период с конца 6-й недели (это совпадает с закрытием глазной зародышевой щели) и до конца 12-й недели. После 10-й недели начинаются процессы регрессии гиалоидных сосудов, в результате чего к 28-й неделе формируется прозрачная гелеобразная структура стекловидного тела, практически лишенная кровеносных сосудов (Mann, 1949; Sebag, 1989, 2005; Bremer, Rasquin, 1998; Bishop, 2000; Saint-Geniez, Amore, 2004; Sebag, Yee, 2007).

С самых ранних стадий пренатального развития происходит remodelирование матрикса стекловидного тела. С возрастом эмбрионов и плодов человека показана смена коллагенов: до 8-й недели в стекловидном теле определяется коллаген типа III; начиная с 8-й недели и на всех последующих сроках у плодов и после рождения — коллаген типа II, который является основным на протяжении всей жизни человека (Azuma *et al.*, 1998). Гиалурионовую кислоту авторы анализировали с 5-й недели эмбрионального развития и показали ее присутствие в стекловидном теле (Azuma *et al.*, 1998). Гиалурионовая кислота является основным составляющим компонентом гликозаминогликанов, присутствующих в стекловидном теле на протяжении жизни человека (Azuma *et al.*, 1998; Bremer, Rasquin, 1998). На стадиях с 6-й по 40-ю неделю беременности у человека в стекловидном теле развивающегося глаза транзиторно присутствуют также сульфатированные гликозаминогликаны: с 6-й по 39-ю неделю хондроитин-6-сульфатпротеогликан и с 12-й по 39-ю неделю хондроитин-4-сульфатпротеогликан. Начиная с 40-й недели беременности и после рождения, по крайней мере, до 2-х лет, они более не обнаруживаются (Azuma *et al.*, 1998).

Сравнительный анализ протеомного состава стекловидного тела у плодов человека с 14-й по 20-ю недели гестации проводился с целью выявления изменения состава стекловидного тела в связи с регрессией гиалоидных сосудов и развитием вторичного стекловидного тела. В этот период было идентифицировано 1217 белков, многие из которых играют важную роль в регрессии гиалоидных сосудов и remodelировании внеклеточного матрикса. Это белки-регуляторы ангио-

генеза (PEDF, cofilin-1), белки клеточной адгезии (cadherins, dystroglycan), белки-регуляторы апоптоза (cytochrome C) (Yee *et al.*, 2015). В стекловидном теле у плодов человека также было обнаружено присутствие основных белков сыворотки крови — сывороточного альбумина (СА) и альфа-фетопротеина (АФП) (Панова, Татиколов, 2011; Панова и др., 2010). Несмотря на то, что биологические функции этих белков в организме достаточно хорошо изучены (и продолжают изучаться), мало известно о роли этих белков в пренатальном развитии глаза человека. В настоящем обзоре мы акцентировали внимание на присутствии СА и АФП в стекловидном теле глаза человека в пренатальном развитии, их динамике в сравнении с сывороткой крови, а также на их биологических функциях, важных для развития глаза.

СЫВОРОТОЧНЫЙ АЛЬБУМИН И АФП У ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА

В то время как СА является главным компонентом сыворотки крови, АФП в значимых количествах присутствует только в эмбриональном и плодном развитии. У взрослого человека АФП в сыворотке крови наблюдается лишь в следовых количествах. Повышение концентрации АФП у взрослого человека свидетельствует об онкологическом заболевании (Abelev, 1971; Tomasi, 1977; Deutsch, 1991). В отличие от АФП, СА является основным белком организма на протяжении всего онтогенеза человека (Adinolfi *et al.*, 1975; Peters, 1996; Christiansen *et al.*, 2000).

АФП синтезируется у эмбрионов и плодов человека клетками висцеральной энтодермы желточного мешка и печени. После атрофии желточного мешка основным источником этого белка является печень. Имеются также сведения о том, что АФП на низком уровне в пренатальном развитии человека синтезируется клетками желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы, мезонефроса (Gitlin *et al.*, 1972; Ruoslahti, Seppala, 1979; Naval *et al.*, 1992; Jones *et al.*, 2001; Elmaouhoub *et al.*, 2007; Trojan, Uriel, 1982). СА у человека также начинает синтезироваться на ранних стадиях беременности в желточном мешке и зачатке печени (Jauniaux *et al.*, 1994). Во втором триместре и далее на протяжении всей жизни человека СА вырабатывается печенью (Naval *et al.*, 1992).

Поступая в кровеносное русло плода, СА и АФП переносятся к развивающимся органам и тканям. Кроме того, АФП проникает через плаценту в циркуляторное русло матери, и уровень АФП в сыворотке крови беременных женщин служит для диагностики некоторых нарушений в развитии плода. Повышенный уровень АФП в материнской крови может свидетельствовать о дефектах развития нервной трубки у плода, в то время как пониженный уровень характерен для

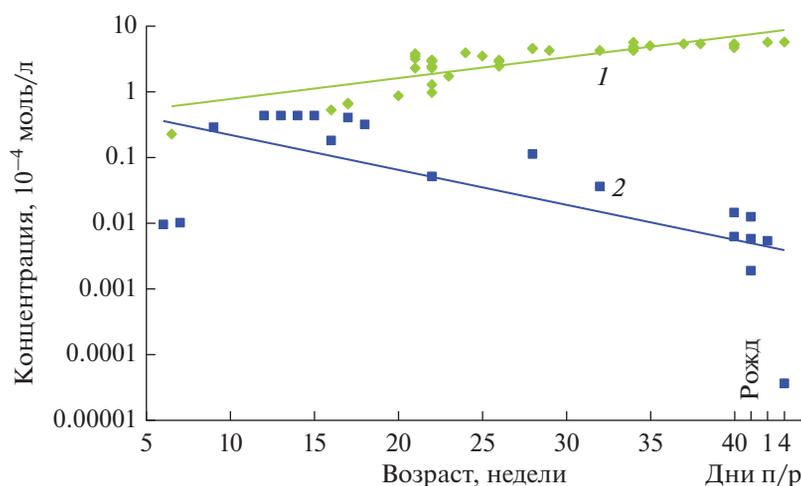


Рис. 1. Значения концентраций СА (1) и АФП (2) в сыворотке крови плодов человека, взятые из работ разных авторов (Nayak, Mital, 1977; Yachnin, 1978; Kim, Yang, 1987; Seller, 1990; Christiansen *et al.*, 2000; Coakley *et al.*, 2005).

синдрома Дауна (Seller, 1990; Szajkowski *et al.*, 2006). АФП обладает иммуномодулирующими и иммунорегуляторными свойствами и защищает развивающийся плод от материнской иммунологической атаки (Adinolfi *et al.*, 1975; Tomasi, 1977). Кроме сыворотки крови, присутствие АФП было показано и в других биологических средах плодов человека: цереброспинальной жидкости (Smith *et al.*, 1971; Jamieson, Shaw, 1975; Christiansen *et al.*, 2000), желчи, меконии (Smith *et al.*, 1971), амниотической жидкости (Wathen *et al.*, 1993; Adinolfi *et al.*, 1975), стекловидном теле (Панова и др., 2010; Панова, Татиколов, 2011). В стекловидном теле в пренатальном развитии человека было также показано присутствие СА (Panova *et al.*, 2007; Панова, Татиколов, 2011; Панова и др., 2016).

ИЗМЕНЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ СА И АФП В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СТЕКЛОВИДНОМ ТЕЛЕ ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА В РАННЕМ ПРЕНАТАЛЬНОМ РАЗВИТИИ

Динамика концентрации СА и АФП в сыворотке крови плодов человека, адаптированная по данным из разных источников литературы, представлена на рис. 1 (Nayak, Mital, 1977; Yachnin, 1978; Kim, Yang, 1987; Seller, 1990; Christiansen *et al.*, 2000; Coakley *et al.*, 2005). До 19-й недели пренатального развития концентрации СА и АФП (рис. 1, 1, 2) в сыворотке крови плодов человека находятся приблизительно на одинаковом уровне, а затем концентрация АФП начинает снижаться (рис. 1, 2), а СА повышаться (рис. 1, 1). Оба белка в сыворотке крови к рождению достигают уровня концентраций близких к концентрациям взрослого человека.

В стекловидном теле концентрации СА (рис. 2, 1) и АФП (рис. 2, 2) уменьшаются с возрастом плода

(Панова и др., 2007, 2010, 2016, 2018; Панова, Татиколов, 2011). Сравнение показало, что уровень концентрации СА и АФП в стекловидном теле приблизительно до 23–24-й недели соответствует уровню концентрации этих белков в сыворотке крови (рис. 3а, 3б), и затем концентрация обоих белков снижается. Снижение концентрации СА в стекловидном теле происходит на фоне повышения его концентрации в сыворотке крови, а АФП — на фоне снижения концентрации этого белка в сыворотке крови (рис. 3а, 3б).

В сетчатке и хрусталике, между которыми расположено стекловидное тело, также было показано присутствие СА и АФП, концентрация которых ниже по сравнению со стекловидным телом, что отражено на рисунке (рис. 4а, 4б). Результаты ПЦР-анализа показали, что мРНК к СА и АФП, детектируемые в печени, в сетчатке и хрусталике не обнаруживаются (Панова и др., 2016, 2018). Это указывает на то, что СА и АФП в процессе развития не синтезируются клетками сетчатки и хрусталика, а захватываются ими, что согласуется с данными, полученными на экспериментальных животных (мышьях, цыплятах, обезьянах) (Schacher, Torand-Allerand, 1982; Uriel *et al.*, 1983; Hajeri-Germond *et al.*, 1991).

Два основных белка, циркулирующие в крови плодов человека — СА и АФП, присутствуют в стекловидном теле, сетчатке и хрусталике. Важность этих белков для развития глаза вытекает из их биологических свойств, чему посвящен следующий раздел.

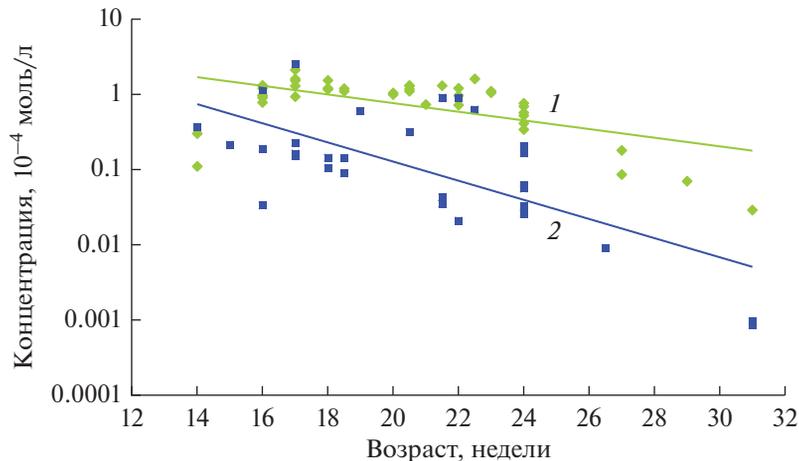


Рис. 2. Концентрации СА (1) и АФП (2) в стекловидном теле глаза плодов человека с 14 по 31 неделю (из: Панова и др., 2007, 2010; Панова, Татиколов, 2011).

ФУНКЦИИ СА И АФП, ВАЖНЫЕ ДЛЯ РАННЕГО ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА

СА и АФП имеют сходную структуру и ряд сходных функций: они создают онкотическое давление циркулирующей плазмы крови (Peters, 1996; Sitar, 2013), являются основными белками-переносчиками в организме (Berde *et al.*, 1979; van Houwelingen *et al.*, 1993; Peters, 1996; Copado *et al.*, 1999; Haggarty, 2002; Fanali *et al.*, 2012) и обладают антиоксидантными свойствами (Roche *et al.*, 2008; Taverna *et al.*, 2013; Sitar, 2013; Choi *et al.*, 2014).

Онкотическое давление. СА и АФП — главные белки, определяющие онкотическое давление и объем плазмы циркулирующей крови и жидких сред организма развивающегося плода (Peters, 1996; Hankins, 2006; Sitar, 2013). СА и АФП обладают свойством связывать воду и таким образом вносят вклад в онкотическое и соответственно комплексное коллоидно-осмотическое давление в стекловидном теле, по аналогии с сывороткой крови (Cagianut, Wunderly, 1953).

Для эмбриологов, изучавших ранние стадии развития глаза, стекловидное тело представляло интерес, главным образом, в качестве источника зародышевого внутриглазного давления — мощного эпигенетического фактора, определяющего общий рост глаза и нормальный морфогенез всех его частей. В отсутствие необходимого натяжения оболочек развивающегося глаза (при экспериментальном снятии внутриглазного давления или при незакрытии глазной зародышевой щели) сетчатка отслаивается и ложится в виде складок, нарушается развитие структур переднего комплекса глаза (Mann, 1949; Coulombre, 1956, 1957; Coulombre, Herrmann, 1965; Строева, 1971; Stroeва, Panova, 1983).

Высокая концентрация СА и АФП в стекловидном теле в раннем пренатальном развитии глаза человека вносит свой вклад в создание внутриглазного давления, коррелирует с увеличением объема стекловидного тела (Beeb *et al.*, 1986; Панова и др., 2007) и развитием структур глаза (Mann, 1949; Coulombre, 1956; 1957; Coulombre, Herrmann, 1965; Stroeва, Panova, 1983).

СА и АФП — белки-переносчики. СА и АФП являются главными белками-переносчиками в организме (Berde *et al.*, 1979; Peyrol *et al.*, 1977; van Houwelingen *et al.*, 1993; Peters, 1996; Copado *et al.*, 1999; Haggarty, 2002). Они связывают и транспортируют множество молекул, таких как билирубин, жирные кислоты, каротиноиды, гормоны, аминокислоты, тяжелые металлы, лекарства и т.д. к органам-мишеням. Способность связывать токсические метаболиты указывает на важность этих белков для сохранения органов и тканей развивающегося плода. Доставка необходимых веществ к органам и тканям, осуществление депонирования многочисленных эндогенных и экзогенных компонентов в системе циркуляции крови и в тканях, стабилизация рН плазмы крови определяют важность СА и АФП для нормального развития и гомеостаза развивающегося организма (Hsia *et al.*, 1980; Peters, 1996; Mizejewski, 2001, 2004; Fanali *et al.*, 2012).

Оба белка обладают высоким сродством к полиненасыщенным жирным кислотам (ПНЖК). Так как клетки эмбрионов и плодов человека не способны синтезировать ПНЖК, основной функцией СА и АФП в этот период является транспортировка ПНЖК через плаценту от матери к плоду (Peyrol *et al.*, 1977; Berde *et al.*, 1979; Hsia *et al.*, 1980; van Houwelingen *et al.*, 1993). Эти белки доставляют ПНЖК в ткани-мишени плода и, соответственно, в развивающийся глаз, что необходимо

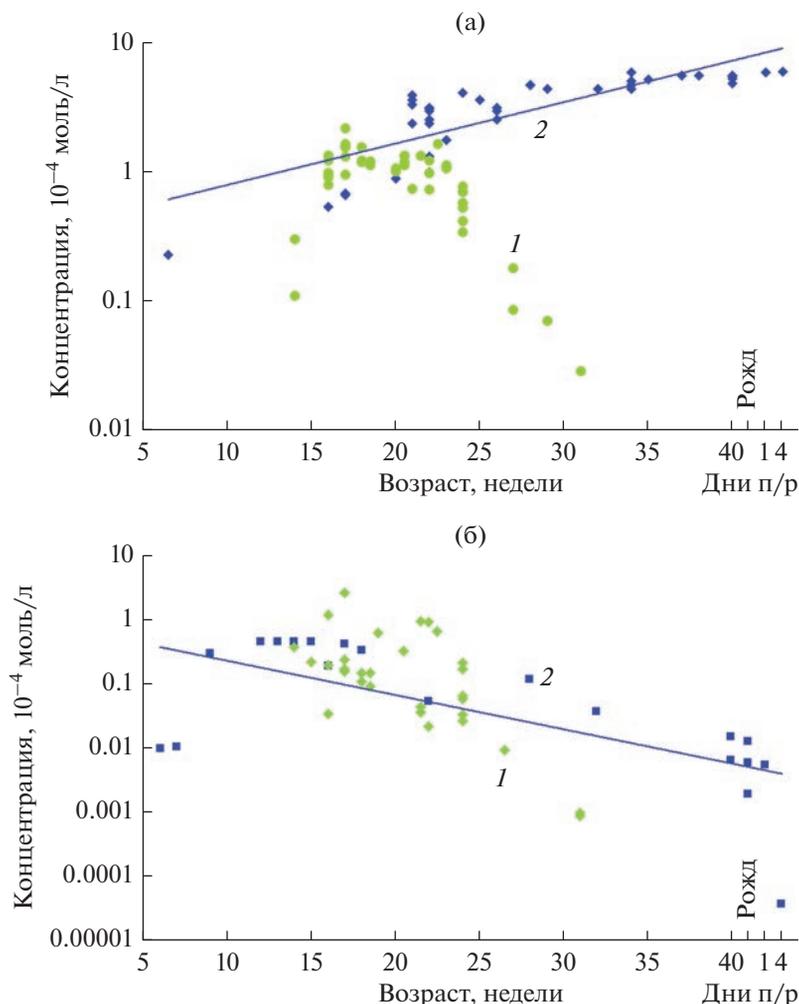


Рис. 3. Сравнение концентраций СА (а) и АФП (б) в стекловидном теле глаза (1) с концентрациями в сыворотке крови (2) плодов человека (из: Панова и др., 2007, 2010; Панова, Татиколов, 2011; см. рис. 1).

для построения клеточных мембран, роста нейронов и аксонов в сетчатке, а также волокон хрусталика (Anel *et al.*, 1989; van Houwelingen *et al.*, 1993; Sorado *et al.*, 1999; Haggarty, 2002). Следует учесть, что важнейшим свойством АФП является его высокое сродство к ПНЖК (гораздо выше, чем у СА) (Lazarevich, 2000).

На клеточных мембранах эмбриональных тканей были обнаружены рецепторы к АФП, которые участвуют в транспорте ПНЖК внутрь клеток. Развивающиеся сетчатка и мозг млекопитающих и птиц показывают строгую иммунопозитивную реакцию на АФП, и эти ткани являются структурами с высоким содержанием ПНЖК (Tinoco *et al.*, 1976; Uriel *et al.*, 1983). Таким образом, обнаруженная высокая концентрация АФП в стекловидном теле, сетчатке и хрусталике у плодов человека во втором триместре согласуется с представлением об участии АФП в дифференцировке нейронов сет-

чатки, формировании наружных сегментов фоторецепторов и волокон хрусталика.

Не менее важным является способность СА и АФП участвовать в транспортировке каротиноидов и билирубина. Было показано, что в определенные возрастные периоды пренатального развития стекловидное тело плодов человека имеет желтоватый цвет (Яковлева и др., 2007). Предположение, что эта желтизна могла бы быть обусловлена присутствием пигментов желтого цвета, проверялась на присутствие каротиноидов и билирубина.

В отличие от взрослого человека, где в стекловидном теле каротиноиды полностью отсутствуют, в стекловидном теле у плодов человека с применением методов спектроскопии, ВЭЖХ и масс-спектрометрии был обнаружен лютеин, с максимальной концентрацией на 16–17-й неделях (Яковлева и др., 2007; Панова и др., 2007; Panova *et al.*, 2017). Но уже после 30-й недели, как и у взрослого человека,

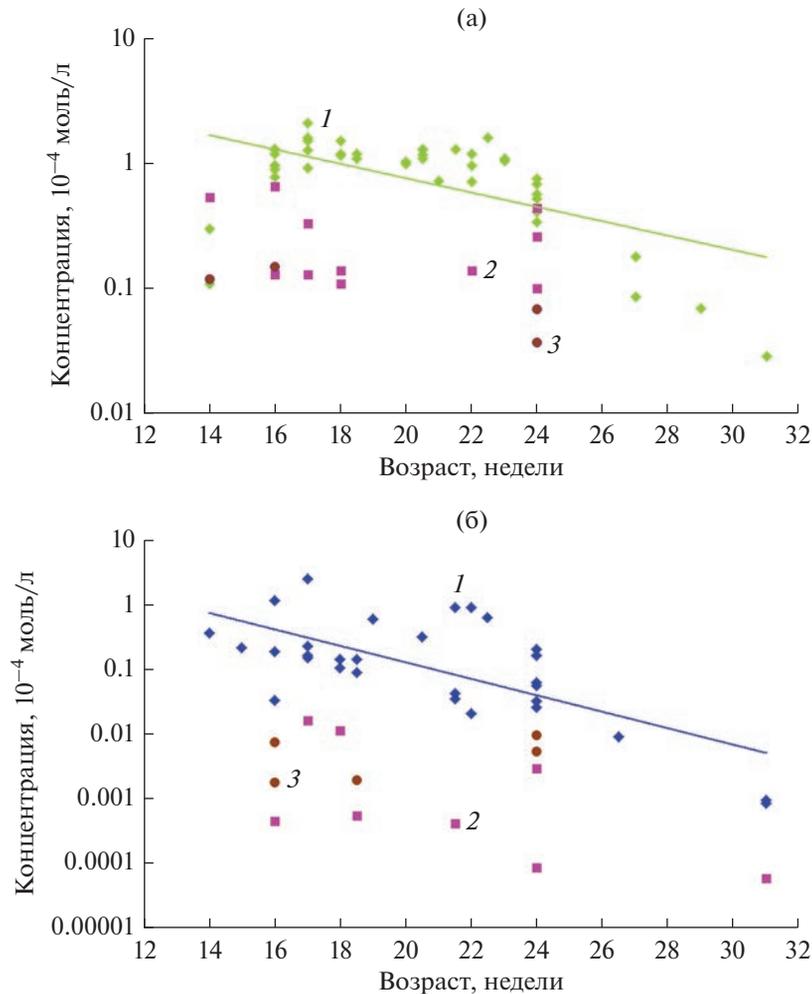


Рис. 4. Сравнение концентраций СА (а) и АФП (б) в стекловидном теле (1), хрусталике (2) и сетчатке (3) глаза плодов человека (из: Панова и др., 2007, 2010, 2016, 2018; Панова, Татиколов, 2011).

лютеин в стекловидном теле не обнаруживался. Таким образом, у человека в пренатальном развитии лютеин входит в состав стекловидного тела в качестве транзитной молекулы (Панова и др., 2007). Согласно данным Боне, на 17–20-й неделях каротиноиды были обнаружены в сетчатке в области формирующейся макулы (Bone *et al.*, 1988), и этот период совпадает с периодом максимальной концентрации лютеина в стекловидном теле (Яковлева и др., 2007; Панова и др., 2007). Таким образом, стекловидное тело может быть дополнительным источником лютеина, необходимого для раннего морфогенеза макулы.

Известно, что каротиноиды в организме у человека не синтезируются, а поступают с пищей, и плоды получают их через плаценту от матери (Weale, 2007). Показано, что каротиноиды связываются с СА плода и переносятся к тканям-мишеням в виде водорастворимого комплекса “альбумин-каротиноиды” (Sabah *et al.*, 2005; Bhosale,

Bernstein, 2007). АФП также является белком-переносчиком для каротиноидов (Peters, 1996).

В стекловидном теле у плодов человека наряду с СА и АФП показано присутствие билирубина (Панова и др., 2020). Как известно, свободный билирубин токсичен и в сыворотке крови плода циркулирует в связанном с СА и АФП состоянии (Aoyagi *et al.*, 1979; Hirano *et al.*, 1984; Vitek, Ostrow, 2009). Концентрация билирубина с 17-й по 19-ю неделю гестации составила в среднем 8.67 мкмоль/л, а с 20-й по 31-ю неделю снизилась в 6.3 раза и в среднем составила 1.37 мкмоль/л. (Панова и др., 2020).

На грызунах была показана способность АФП связывать и транспортировать эстрогены (Uriel *et al.*, 1973; Moldogazieva *et al.*, 2017). У человека показана связь эстрогенов с СА и бета-глобулином (Adinolfi *et al.*, 1975).

Антиоксидантные свойства. Одним из механизмов для корректировки развития глаза является

система антиоксидантной защиты. Дисбаланс между продукцией и деградацией свободных радикалов приводит к окислительному стрессу, при этом сверхэкспрессия свободных радикалов является повреждающим фактором для клеток, приводящим к нарушению процессов пролиферации, повреждению липидов, белков, нуклеиновых кислот и т.д. (Sies *et al.*, 2017). Важнейшим свойством СА и АФП является их антиоксидантная активность (Roche *et al.*, 2008; Taverna *et al.*, 2013; Sitar, 2013; Choi *et al.*, 2014).

Непрямая антиоксидантная активность СА связана с его способностью связываться с высокой степенью аффинности с молекулой билирубина вблизи Lys240 (Jacobsen, 1978). Было показано, что альбумин, связанный с билирубином, действует как ингибитор перекисного окисления белков и липидов (Stocker *et al.*, 1987; Neuzil, Stocker, 1993).

В стекловидном теле СА и АФП и связанный с ними лютеин, обладая антиоксидантными свойствами, эффективно обеспечивают защиту сетчатки (особенно это важно для развивающейся макулы) и хрусталика, а также самого стекловидного тела, от окислительного стресса (Панова и др., 2007; Яковлева и др., 2007; Панова, Татиколов, 2011).

В экспериментах было показано, что в период фетального развития АФП демонстрирует синергетическую антиоксидантную активность в присутствии эстрадиола (Choi *et al.*, 2014).

Раннее пренатальное развитие глаза характеризуется такими важными событиями как пролиферация и дифференцировка клеток сетчатки, апоптоз ганглиозных клеток сетчатки, процесс регрессии гиалоидных сосудов, а также формирование сосудов сетчатки, пролиферация клеток хрусталика и формирование волокон хрусталика. Все эти процессы, как правило, сопровождаются образованием свободных радикалов, активных форм кислорода, что может создавать угрозу перекисного окисления липидов. Присутствие СА, АФП и других антиоксидантов, обладающих свойствами тушителей свободных радикалов, защищает от угрозы перекисного окисления липидов в этих тканях.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ СА И АФП В РАННЕМ РАЗВИТИИ НЕЙРОНОВ МОЗГА И СЕТЧАТКИ

Обнаружение АФП в цереброспинальной жидкости (Jamieson, Shaw, 1975), стекловидном теле, сетчатке и хрусталике (Панова и др., 2011, 2018) и наличие специфических рецепторов в нейронах спинного и головного мозга, показанное на эмбрионах некоторых позвоночных животных (Vidal, 1983; Uriel *et al.*, 1983), свидетельствует о важной роли АФП в развитии центральной нервной системы и сетчатки. Применение иммуноперокси-

дазного мечения с антителами против АФП показало его присутствие в нейронах различных отделов развивающегося мозга у эмбрионов мышей, крыс и кур и локализация этого белка во внутреннем ядерном (нейробластическом) слое сетчатки 9-недельного плода обезьяны-бабуина (Uriel *et al.*, 1983). В условиях культивирования нейронов сетчатки эмбрионов кур, путем добавления АФП в среду культивирования, было показано, что дифференцирующиеся нейроны и ганглиозные клетки захватывают АФП (Hajeri-Germond *et al.*, 1991). Эти данные на животных позволили заключить, что внутриклеточное присутствие АФП является следствием его захвата нейронами, а не внутриклеточного синтеза (Uriel *et al.*, 1983; Hajeri-Germond *et al.*, 1991). Так, на развивающемся мозге мышей было показано, что mRNA к АФП и СА не детектируется в нейронах мозга, что исключает синтез этих белков нейронами мозга (Schacher, Torand-Allerand, 1982). У плодов человека в сетчатке и хрусталике присутствуют и СА, и АФП, но mRNA к этим белкам не детектировалось, в то время как в клетках печени (контроль) присутствовали mRNA к СА и АФП (Панова и др., 2016; 2018). Наличие СА и АФП в клетках центральной нервной системы и во внутреннем нейробластическом слое сетчатки у позвоночных животных объясняют их участием в дифференцировке нейронов (Schacher, Torand-Allerand, 1982; Uriel *et al.*, 1983). Присутствие СА и АФП в стекловидном теле, которое тесно граничит с внутренней поверхностью сетчатки на всем ее протяжении, вероятно, необходимо для дифференцировки ганглиозных клеток.

СА отводится роль биологически активной молекулы, участвующей в регуляции пролиферации клеток развивающейся сетчатки (Yang *et al.*, 2009). СА оказывает нейротрофическое действие на клетки нейронов и глии (Prajarati *et al.*, 2011). На крысах было показано, что СА и АФП контролируют развитие эмбрионального мозга через регуляцию синтеза олеиновой кислоты астроцитами. Оба белка участвуют в росте аксонов, миграции нейронов и астроцитов, участвуют в построении синапсов, при этом АФП модулирует действие СА (García-García *et al.*, 2015).

Имеются данные, свидетельствующие о наличии ряда общих свойств у АФП и полипептидных факторов роста. Показано, что АФП способен модулировать активность ростовых факторов, и этот эффект может осуществляться путем воздействия на различные этапы каскадного механизма передачи сигналов путем связывания факторов роста с мембранными рецепторами (Mizejewski, 2001; Moldogazieva *et al.*, 2017). На мышах и крысах показано, что АФП с высокой степенью аффинности связывается с эстрогенами и, таким образом, участвует в регуляции половой дифференцировки мозга (Uriel *et al.*, 1972; Aussel *et al.*, 1973). Спо-

способность АФП связывать эстрогены позволяет предположить, что он также защищает развивающийся мозг от влияния материнских эстрогенов (Moldogazieva *et al.*, 2017). Вместе с тем, эстрогены необходимы для запуска программы морфогенеза тканей в критические периоды развития. Они регулируют экспрессию тканевых факторов роста и их рецепторов, что необходимо для коммуникации между специализированными клетками развивающихся тканей (van der Burg *et al.*, 1999; Bondesson *et al.*, 2015).

Таким образом, во втором триместре гестации происходят наиболее важные ростовые и дифференцировочные процессы в развитии структур глаза человека. Максимальная концентрация СА и АФП в этот период развития свидетельствует о важном участии этих белков в процессах роста и дифференцировки развивающихся тканей глаза, оказании нейропротекторного действия на развивающиеся клетки нейронов и глии и одновременно в их антиоксидантной защите.

Проанализированная в данном обзоре динамика СА и АФП в циркуляторном русле и тканях глаза плодов человека в свете многообразия их функций определяет важную роль этих белков для развивающихся тканей глаза в пренатальном развитии человека. Кроме того, их способность связывать различные молекулы с последующей транспортировкой может послужить основой новой стратегии адресной доставки необходимых лекарственных препаратов для фетальной глазной терапии.

Финансирование. Работа частично выполнена А.С. Татиколовым в рамках раздела ГЗ ИБХФ РАН (№ 001201253314)

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что какой-либо конфликт интересов отсутствует.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Панова И.Г., Татиколов А.С., Сухих Г.Т. Корреляция между содержанием альбумина и каротиноидов в стекловидном теле глаза человека в пренатальном развитии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2007. Т. 144. № 11. С. 522–525.
- Panova I.G., Tatikolov A.S., Sukhikh G.T. Correlation between the content of albumin and carotenoids in human vitreous body during prenatal development. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2007. V. 144. № 5. P. 681–683.
- Панова И.Г., Татиколов А.С., Полтавцева Р.А., Сухих Г.Т. Альфа-фетопротеин в стекловидном теле глаза плодов человека // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010. Т. 150. № 10. С. 391–393.
- Panova I.G., Tatikolov A.S., Poltavtseva R.A., Sukhikh G.T. α -Fetoprotein in human fetal vitreous body // Bull. Exp. Biol. Med. 2011. V. 150. № 4. P. 420–421. <https://doi.org/10.1007/s10517-011-1157-7>
- Панова И.Г., Татиколов А.С. Исследование содержания альфа-фетопротеина и сывороточного альбумина в стекловидном теле глаза плодов человека // Известия РАН. Сер. биологическая. 2011. № 2. С. 235–239.
- Panova I.G., Tatikolov A.S. Investigation of the content of alpha-fetoprotein and serum albumin in the vitreous body of the eye of human embryos // Biol. Bull. 2011. V. 38. № 2. P. 191–194. <https://doi.org/10.1134/S1062359011020105>
- Панова И.Г., Татиколов А.С., Смирнова Ю.А., Полтавцева Р.А., Сухих Г.Т. Альбумин в стекловидном теле, сетчатке и хрусталике глаза плодов человека // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016. Т. 162. № 11. С. 578–580.
- Panova I.G., Tatikolov A.S., Smirnova Yu.A., Poltavtseva R.A., Sukhikh G.T. Albumin in the vitreous body, retina and lens of human fetal eye // Bull. Exper. Biol. Med. 2017. V. 162. № 11. P. 629–631.
- Панова И.Г., Беззубенко Ю.В., Татиколов А.С., Полтавцева Р.А., Иванец Т.Ю., Сухих Г.Т. Альфа-фетопротеин в сетчатке и хрусталике глаза человека на ранних стадиях пренатального развития // Журн. Эвол.Биох.Физ. 2018. Т. 54. № 2. С. 111–114.
- Panova I.G., Bezzenko Yu.V., Tatikolov A.S., Poltavtseva R.A., Ivanets T.Yu., Sukhikh G.T. Alpha-fetoprotein in retina and lens of the human eye at early stages of prenatal development // J. Evol. Biochem. Physiol. 2018. V. 54. № 2. P. 119–122. <https://doi.org/10.1134/S0022093018020047>
- Панова И.Г., Сухова Ю.В., Татиколов А.С., Иванец Т.Ю. Билирубин в стекловидном теле глаза плодов человека // Бюл. Экспер.Биол. Мед. 2020. Т. 170. № 7. С. 118–120.
- Panova I.G., Sukhova Y.V., Tatikolov A.S., Ivanets T.Yu. Bilirubin in the vitreous body of the eye of human fetuses // Bull. Exp. Biol. Med. 2020. V. 170. № 1. P. 98–100.
- Строева О.Г. Морфогенез и врожденные аномалии глаза млекопитающих. М.: Наука, 1971. 244 с.
- Яковлева М.А., Панова И.Г., Фельдман Т.Б., Зак П.П., Татиколов А.С., Сухих Г.Т., Островский М.А. Обнаружение каротиноидов в стекловидном теле глаза человека в пренатальном развитии // Онтогенез. 2007. Т. 38. № 5. С. 380–385.
- Yakovleva M.A., Panova I.G., Fel'dman T.B., Zak P.P., Tatikolov A.S., Sukhikh G.T., Ostrovsky M.A. Finding of carotenoids in the vitreous body of human eye during prenatal development // Russ. J. Dev. Biol. 2007. V. 38. P. 317–321. <https://doi.org/10.1134/S1062360407050062>
- Abelev G.I. Alpha-fetoprotein in ontogenesis and its association with malignant tumors // Adv. Cancer Res. 1971. V. 14. P. 295–358.
- Adinolfi A., Adinolfi M., Lessof M.H. Alpha-fetoprotein during development and in disease // J. Med. Genetics. 1975. V. 12. P. 138–151.
- Anel A., Calvo M., Naval J., Iturralde M., Alava M.A., Piñeiro A. Interaction of rat α -fetoprotein and albumin with polyunsaturated and other fatty acids: determination of ap-

- parent association constants // *FEBS Letters*. 1989. V. 250. № 1. P. 22–24.
- Angi M., Kalirai H., Coupland S.E., Damato B.E., Semeraro F., Romano M.R.* Proteomic Analyses of the Vitreous Humour // *Mediators of Inflammation*. 2012. V. 2012. Article ID 148039. 7 p.
<https://doi.org/10.1155/2012/148039>
- Aoyagi Y., Ikenaka T., Ichida F.* a-Fetoprotein as a carrier protein in plasma and its bilirubin-binding ability // *Cancer Res*. 1979. V. 39. P. 3571–3574.
- Aussel C., Uriel J., Mercier-Bodard C.* Rat alpha-fetoprotein: isolation, characterization and estrogen-binding properties // *Biochimie*. 1973. V. 55. № 11. P. 1431–1437.
- Azuma N., Tajima S., Konomi H., Hida T., Akiya S., Uemura Y.* Glycosaminoglycan and collagen distribution in the developing human vitreous // *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol*. 1998. V. 236. P. 679–687.
- Balazs E.A., Toth L.Z., Ozanics V.* Cytological studies on the developing vitreous as related to the hyaloid vessel system // *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol*. 1980. V. 213. № 2. P. 71–85.
- Beebe D.C., Latker C.H., Jebens H.A., Johnson M.C., Feagans D.E., Feinberg R.N.* Transport and steady-state concentration of plasma proteins in the vitreous humor of the chicken embryo: implications for the mechanism of eye growth during early development // *Dev. Biol*. 1986. V. 114. № 2. P. 361–368.
[https://doi.org/10.1016/0012-1606\(86\)90200-9](https://doi.org/10.1016/0012-1606(86)90200-9)
- Berde C.B., Nagai M., Deutsch H.F.* Human α -fetoprotein. Fluorescence studies on binding and proximity relationships for fatty acids and bilirubin // *J. Biological Chemistry*. 1979. V. 254. № 24. P. 12609–12614.
- Bhosale P., Bernstein P.S.* Vertebrate and invertebrate carotenoid-binding proteins // *Arch. Biochem. Biophys*. 2007. V. 458. P. 121–127.
- Bishop P.N.* Structural macromolecules and supramolecular organisation of the vitreous gel // *Prog. Retin. Eye Res*. 2000. V. 19. P. 323–344.
- Bishop P.N., Takanosu M., Le Goff M., Mayne R.* The role of the posterior ciliary body in the biosynthesis of vitreous humour // *Eye*. 2002. V. 16. P. 454–460.
- Bondesson M., Hao R., Lin C.-Y., Williams C., Gustafsson J.-A.* Estrogen receptor signaling during vertebrate development // *Biochim. Biophys. Acta*. 2015. V. 1849. № 2. P. 142–151.
<https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.06.005>
- Bone R.A., Landrum J.T., Fernandez L., Tarsis S.L.* Analysis of the macular pigment by HPLC: retinal distribution and age study // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 1988. V. 29. № 6. P. 843–849.
- Bremer F.M., Rasquin F.* Histochemical localization of hyaluronic acid in vitreous during embryonic development // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 1998. V. 39. P. 2466–2469.
- Cagianut B., Wunderly C.* Protein studies on the human vitreous body // *Brit. J. Ophthalmol*. 1953. V. 37. P. 229–233.
- Christiansen M., Høgdall C.K., Høgdall E.V.S.* Alpha-fetoprotein in human fetal cerebrospinal fluid // *Clinica Chimica Acta*. 2000. V. 291. P. 35–41.
- Choi H.Y., Kim S.W., Kim B., Lee H.N., Kim S.J., Song M., Kim S., Kim J., Kim Y.B., Kim J.H., Cho S.G.* Alpha-fetoprotein, identified as a novel marker for the antioxidant effect of placental extract, exhibits synergistic antioxidant activity in the presence of estradiol // *PLoS One*. 2014. V. 9. № 6. e99421.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099421>
- Coakley J., Kellie S.J., Nath C.* Interpretation of alpha-fetoprotein concentrations in cerebrospinal fluid of infants // *Ann. Clin. Biochem*. 2005. V. 42. P. 24–29.
<https://doi.org/10.1258/0004563053026763>
- Copado M.A., Ruiz-Gutierrez V., Rodriguez-Burgos A.* Fatty acids and squalene carried by alpha fetoprotein, and fetal and adult serum albumin from chicken. Comparison with these from mammals // *J. Protein Chem*. 1999. V. 18. № 4. P. 413–424.
- Coulombre A.J.* The role of intraocular pressure in the development of the chick eye. I. Control of eye size // *J. Exp. Zool*. 1956. V. 133. № 2. P. 211–225.
- Coulombre A.J.* The role of intraocular pressure in the development of the chick eye. II. Control of corneal size // *Arch. Ophthalmol*. 1957. V. 57. P. 250–253.
- Coulombre A.J., Herrmann H.* Lens development. III. Relationship between the growth of the lens and the growth of the outer eye coat // *Exp. Eye Res*. 1965. V. 4. P. 302–311.
- Deutsch H.F.* Chemistry and biology of alpha-fetoprotein // *Adv. Cancer Res*. 1991. V. 56. P. 253–312.
- Elmaouhoub A., Dudas J., Ramadori G.* Kinetics of albumin- and alpha-fetoprotein-production during rat liver development // *Histochem. Cell Biol*. 2007. V. 128. P. 431–443.
- Fanali G., di Masi A., Trezza V., Marino M., Fasano M., Ascenzi P.* Human serum albumin: from bench to bedside // *Molecular Aspects of Medicine*. 2012. V. 33. P. 209–290.
- García-García A.G., Polo-Hernández E., Tabernero A., Medina J.M.* Alpha-fetoprotein (AFP) modulates the effect of serum albumin on brain development by restraining the neurotrophic effect of oleic acid // *Brain Research*. 2015. V. 1624. P. 45–58.
- Gitlin D., Perricelli A., Gitlin G.M.* Synthesis of α -fetoprotein by liver, yolk sac and gastrointestinal tract of the human conceptus // *Cancer Res*. 1972. V. 32. P. 979–982.
- Grus F.H., Joachim S.C., Pfeiffer N.* Proteomics in ocular fluids // *Proteomics Clin. Appl*. 2007. V. 1. P. 876–888.
<https://doi.org/10.1002/prca.200700105>
- Haggarty P.* Placental regulation of fatty acid delivery and its effect on fetal growth—A Review // *Placenta*. 23 Suppl. A. *Trophoblast Res*. 2002. V. 6. P. S28–S38.
- Hajeri-Germond M., Trojan J., Uriel J.* Alpha-fetoprotein uptake by differentiating neuroretinal structures of the chick embryo // *Dev. Neurosci*. 1991. V. 13. № 3. P. 164–170.

- Hankins J.* The role of albumin in fluid and electrolyte balance // *J. Infusion Nursing*. 2006. V. 29. № 5. P. 260–265.
- Hirano K., Watanabe Y., Adachi T., Sugiura M.* Carrier proteins in human fetal serum: Bilirubin-binding abilities of albumin, alpha-fetoprotein and ligandin // *Chem. Pharm. Bul.* 1984. V. 32. P. 708–715.
<https://doi.org/10.1248/cpb.32.708>
- Hogan V.J., Alvarado J.A., Weddel J.E.* Histology of the human eye. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1971. 687 p.
- Hsia J.C., Er J.S., Tan C.T., Estes T., Ruoslahti E.* α -Fetoprotein binding specificity for arachidonate, bilirubin, docosahexaenoate, and palmitate: a spin label study // *J. Biol. Chem.* 1980. V. 255. P. 4224–4227.
- Jacobsen C.* Lysine residue 240 of human serum albumin is involved in high-affinity binding of bilirubin // *Biochem. J.* 1978. V. 171. P. 453–459.
- Jacobson B., Dorfman T., Basu P.K., Hasany S.M.* Inhibition of vascular endothelial cell growth and trypsin activity by vitreous // *Exp. Eye Res.* 1985. V. 41. P. 581–595.
- Jamieson P.N., Shaw D.G.* Levels of albumin, α -fetoprotein, and IgG in human fetal cerebrospinal fluid // *Arch. Dis. Child.* 1975. V. 50. P. 484–485.
- Jauniaux E., Gulbis B., Jurkovic D., Campbell S., Collins W.P., Ooms H.A.* Relationship between protein concentrations in embryological fluids and maternal serum and yolk sac size during human early pregnancy // *Hum. Reprod.* 1994. V. 9. № 1. P. 161–166.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.hum-rep.a138308>
- Jones E.A., Clement-Jones M., James O.F.W., Wilson D.I.* Differences between human and mouse alpha-fetoprotein expression during early development // *J. Anat.* 2001. V. 198. P. 555–559.
<https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2001.19850555.x>
- Kim C.K., Yang H.Y.* Alpha-fetoprotein values in maternal serum and amniotic fluid for prenatal screening of genetic disorders // *Yonsei Medical J.* 1987. V. 28. P. 218–227.
<https://doi.org/10.3349/ymj.1987.28.3.218>
- Lazarevich N.L.* Molecular mechanisms of alpha-fetoprotein gene expression // *Biochemistry*. 2000. V. 65. № 1. P. 117–133.
- Le Goff M.M., Bishop P.N.* Adult vitreous structure and postnatal changes // *Eye*. 2008. V. 22. P. 1214–1222.
<https://doi.org/10.1038/eye.2008.21>
- Lutty G.A., Merges C., Threlkeld A.B., Crone S., McLeod D.S.* Heterogeneity in localization of isoforms of TGF- β in human retina, vitreous, and choroids // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1993. V. 34. № 3. P. 477–487.
- Mandal N., Lewis G.P., Fisher S.K., Heegaard S., Prause J.U., la Cour M., Vorum H., Honoré B.* Proteomic analysis of the vitreous following experimental retinal detachment in rabbits // *J. Ophthalmol.* 2015. V. 2015, Article ID 583040, 9 p.
<https://doi.org/10.1155/2015/583040>
- Mann I.* The development of the human eye. London: Brit. Med. Assoc., 1949. 313 p.
- Mizejewski G.J.* Alpha-fetoprotein structure and function: relevance to isoforms, epitopes, and conformational variants // *Exp. Biol. Med.* 2001. V. 226. № 5. P. 377–408.
<https://doi.org/10.1177/153537020122600503>
- Mizejewski G.J.* Biological roles of alpha-fetoprotein during pregnancy and perinatal development // *Experimental Biology and Medicine*. 2004. V. 229. P. 439–463.
- Moldogazieva N.T., Shaitan K.V., Antonov M.Yu., Mokhsoev I.V., Levitsova O.V., Terentiev A.A.* Human EGF-derived direct and reverse short linear motifs: conformational dynamics insight into the receptor-binding residues // *J. Biomol. Struct. Dynamics*. Taylor & Francis, 2017. P. 1–20.
<https://doi.org/10.1080/07391102.2017.1321502>
- Murthy K.R., Goel R., Subbannayya Y., Jacob H.K., Murthy P.R., Manda S.S., Patil A.H., Sharma R., Sahasrabudhe N.A., Parashar A., Nair B.G., Krishna V., Prasad T.K., Gowda H., Pandey A.* Proteomic analysis of human vitreous humor // *Clinical Proteomics*. 2014. V. 11. P. 29.
<http://doi.org/clinicalproteomicsjournal.com/content/11/1/29>
- Nayak N.C., Mital I.* The dynamics of α -fetoprotein and albumin synthesis in human and rat liver during normal ontogeny // *Am. J. Pathol.* 1977. V. 86. P. 359–374.
- Naval J., Calvo M., Laborda J., Dubouch P., Frain M., Sala-Trepal J.M., Uriel J.* Expression of mRNAs for alpha-fetoprotein (AFP) and albumin and incorporation of AFP and docosahexaenoic acid in baboon fetuses // *J. Biochem.* 1992. V. 111. № 5. P. 649–654.
- Neuzil J., Stocker R.* Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin // *FEBS Lett.* 1993. V. 331. P. 281–284.
- Panova I.G., Sharova N.P., Dmitrieva S.B., Poltavtseva R.A., Sukhikh G.N., Tatikolov A.S.* The use of a cyanine dye as a probe for albumin and collagen in the extracellular matrix // *Anal. Biochem.* 2007. V. 361. № 2. P. 183–189.
- Panova I.G., Yakovleva M.A., Tatikolov A.S., Kononikhin A.S., Feldman T.B., Poltavtseva R.A., Nikolaev E.N., Sukhikh G.T., Ostrovsky M.A.* Lutein and its oxidized forms in eye structures throughout prenatal human development // *Exper. Eye Research*. 2017. V. 160. P. 31–37.
- Peyrol S., Grimaud J.-A., Pirson Y., Chayviall J.A., Touillon C., Lambert B.* Ultrastructural immunoenzymatic study of α -fetoprotein-producing cells in the human fetal liver // *J. Histochem. Cytochem.* 1977. V. 25. № 6. P. 432–438.
- Peters Jr. T.* All about albumin: biochemistry, genetics, and medical application. N.Y.: Acad. Press, 1996. 432 p.
- Prajapati K.D., Sharma S.S., Roy N.* Current perspectives on potential role of albumin in neuroprotection // *Rev. Neurosci.* 2011. V. 22. № 3. P. 355–363.
- Roche M., Rondeau P., Singh N.R., Tarnus E., Bourdon E.* The antioxidant properties of serum albumin // *FEBS Lett.* 2008. V. 582. P. 1783–1787.
- Ruoslahti E., Seppala M.* α -Fetoprotein in cancer and fetal development // *Adv. Cancer Res.* 1979. V. 29. P. 275–346.

- Sabah J., McConkey E., Welti R., Albin K., Takemoto L.J.* Role of albumin as a fatty acid carrier for biosynthesis of lens lipids // *Exp. Eye Res.* 2005. V. 80. P. 31–36.
- Saint-Geniez M., D'Amore P.A.* Development and pathology of the hyaloid, choroidal and retinal vasculature // *Int. J. Dev. Biol.* 2004. V. 48. P. 1045–1058.
- Schachter B.S., Toran-Allerand C.D.* Intraneuronal alpha-fetoprotein and albumin are not synthesized locally in developing brain // *Brain Res.* 1982. V. 281. № 1. P. 93–98.
[https://doi.org/10.1016/0165-3806\(82\)90116-x](https://doi.org/10.1016/0165-3806(82)90116-x)
- Sebag J.* Embryology of the vitreous. In: *Sebag J. The Vitreous: Structure, Function, and Pathobiology.* N.Y.: Springer-Verlag, 1989. P. 7–14.
- Sebag J.* Molecular biology of pharmacologic vitreolysis // *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* 2005. V. 103. P. 473–494.
- Sebag J., Yee K.M.P.* Vitreous: from biochemistry to clinical relevance. In: *Tasman W, Jaeger EA*, eds. *Duane's Foundations of Clinical Ophthalmology.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. P. 1–67.
- Seller M.J.* Alphafetoprotein in midtrimester Down's syndrome fetal serum // *J. Med. Genet.* 1990. V. 27. P. 240–243.
- Sies H., Berndt C., Jones D.P.* Oxidative stress // *Annu. Rev. Biochem.* 2017. V. 86. P. 715–748.
<https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>
- Sitar M.E., Aydin S., Cakatay U.* Human serum albumin and its relation with oxidative stress // *Clin. Lab.* 2013. V. 59. P. 945–952.
- Smith J.A., Francis T.I., Edington G.M., Williams A.O.* Human alpha-fetoprotein in body fluids // *Brit. J. Cancer.* 1971. V. 25. № 2. P. 337–342.
- Stocker R., Glazer A.N., Ames B.N.* Antioxidant activity of albumin-bound bilirubin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987. V. 84. P. 5918–5922.
- Stroeva O.G., Panova I.G.* Retinal pigment epithelium: pattern of proliferative activity and its regulation by intraocular pressure in postnatal rats // *J. Embryol. Exp. Morph.* 1983. V. 75. P. 271–291.
- Szajkowski T.P., Chodirker B.N., McDonald K.M., Evans J.A.* Maternal serum alpha-fetoprotein levels in fetal hydrocephalus: a retrospective population based study // *BMC Pregnancy and Childbirth.* 2006. V. 6. P. 23.
- Taverna M., Marie A.L., Mira J.P., Guidet B.* Specific antioxidant properties of human serum albumin // *Annals Intensive Care.* 2013. V. 3. P. 4.
- Tinoco J., Babcock R., Hincenberg I., Medwadowski B., Miljanich P., Williams M.A.* Linoleic acid deficiency // *Lipids.* 1976. V. 14. P. 166–173.
- Tomasi T.B.* Structure and function of alpha-fetoprotein // *Annu. Rev. Med.* 1977. V. 28. P. 453–465.
- Trojan J., Uriel J.* Immunocytochemical localization of alpha-fetoprotein (AFP) and serum albumin (ALB) in ecto-, meso- and endodermal tissue derivatives of the developing rat // *Oncodev. Biol. Med.* 1982. V. 3. P. 13–22.
- Uriel J., de Nechaud B., Dupiers M.* Estrogen-binding properties of rat, mouse and man fetospecific serum proteins. Demonstration by immuno-autoradiographic methods // *Biophys. Biochim. Res. Commun.* 1972. V. 46. № 3. P. 1175–1180.
- Uriel J., Aussel C., Bouillon D., de Nechaud B.* Localization of rat liver alpha-fetoprotein by cell affinity labeling with tritiated oestrogens // *Nature New Biol.* 1973. V. 244. P. 190–192.
- Uriel J., Trojan J., Moro R., Pineiro A.* Intracellular uptake of α -fetoprotein: a marker of neural differentiation // *Ann. N.Y. Academy of Sciences.* 1983. V. 417. P. 321–329.
- van Houwelingen A. C., Puls J., Hornstra G.* Fetal essential fatty acid (EFA) status during early human development: relationship with maternal EFA status // *Am. J. Clin. Nutr.* 1993. V. 57. P. 814S.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/57.5.814S>
- van der Burg B., Sonneveld E., Lemmen J.G., van der Saag P.T.* Morphogenetic action of retinoids and estrogens // *Int. J. Dev. Biol.* 1999. V. 43. P. 735–743.
- Vidal R.M.* Selective localization of alpha-fetoprotein and serum albumin within the sensory ganglia cells of developing chicken // *Neuroscience Letters.* 1983. V. 41. P. 253–257.
- Vitek L., Ostrow J.D.* Bilirubin chemistry and metabolism; harmful and protective aspects // *Curr. Pharm. Design.* 2009. V. 15. P. 2869–2883.
- Wathen N.C., Campbell D.J., Kitau M.J., Char T.* Alphafetoprotein levels in amniotic fluid from 8 to 18 weeks of pregnancy // *Brit. J. Obstetrics and Gynaecology.* 1993. V. 100. P. 380–382.
- Weale R.A.* Guest editorial: notes on the macular pigment // *Ophthalm. Physiol. Opt.* 2007. V. 27. P. 1–10.
- Wu C.W., Sauter J.L., Johnson P.K., Chen C.-D., Olsen T.W.* Identification and localization of major soluble vitreous proteins in human ocular tissue // *Am. J. Ophthalmol.* 2004. V. 137. P. 655–661.
- Yachnin S.* The clinical significance of human alpha-fetoprotein // *Ann. Clin. Lab. Sci.* 1978. V. 8. P. 84–90.
- Yamane K., Minamoto A., Yamashita H., Takamura H., Miyamoto-Myoken Y., Yoshizato K., Nabetani T., Tsugita A., Mishima H.K.* Proteome analysis of human vitreous proteins // *Molecular Cellular Proteomics.* 2003. № 2. P. 1177–1187.
<https://doi.org/10.1074/mcp.M300038-MCP200>
- Yang J., Klassen H., Pries M., Wang W., Nissen M.H.* Vitreous humor and albumin augment the proliferation of cultured retinal precursor cells // *J. Neurosci. Res.* 2009. V. 87. № 2. P. 495–502.
- Yee K.M.P., Feener E.P., Madigan M., Jackson N.J., Gao B.-B., Ross-Cisneros F.N., Provis J., Aiello L.P., Sadun A.A., Sebag J.* Proteomic analysis of embryonic and young human vitreous // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2015. V. 56. P. 7036–7042.
<https://doi.org/10.1167/iovs.15-16809>

Role of Albumin and Alpha-Fetoprotein in Prenatal Ontogenesis of the Human Eye

I. G. Panova^{1, #} and A. S. Tatikolov²

¹ International Scientific and Practical Center of Tissue Proliferation, ul. Prechistenka, 14/19, Moscow, 119034 Russia

² Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, 11 Moscow, 119334 Russia

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

The vitreous body of the eye of human fetuses contains serum albumin (SA) and alpha-fetoprotein (AFP), which is normally characteristic of human embryos and fetuses. In the second trimester, both proteins are found in the vitreous at a concentration comparable to that in blood serum, after which their content decreases sharply. In this analytical review, taking into account the biological properties of SA and AFP, the role of these proteins in the processes of growth and differentiation of the structures of the developing eye is discussed.

Keywords: human eye, prenatal development, vitreous body, albumin, alpha-fetoprotein, carrier proteins, antioxidants, neuroprotectors, oncotic pressure

УДК 597.552.511:577.115:591.543.1

ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У СЕГОЛЕТОК АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ *Salmo salar*, В УСЛОВИЯХ АКВАКУЛЬТУРЫ В ЮЖНОМ РЕГИОНЕ РФ ПРИ РАЗНЫХ РЕЖИМАХ ОСВЕЩЕНИЯ И КОРМЛЕНИЯ

© 2023 г. С. А. Мурзина*,[@], Д. С. Провоторов*, В. П. Воронин*, М. В. Кузнецова*, А. Е. Курицын*, Н. Н. Немова*

*Институт биологии – обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ “Карельский научный центр Российской академии наук”, ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910 Россия

[@]E-mail: murzina.svetlana@gmail.com

Поступила в редакцию 29.08.2022 г.

После доработки 13.10.2022 г.

Принята к публикации 14.10.2022 г.

Проведено сравнительное исследование липидного и жирнокислотного состава у сеголеток атлантического лосося, выращиваемых при естественном и непрерывном освещении в товарной аквакультуре в летне-осенний период в Северной Осетии-Алании. В изменениях основных показателей липидного обмена у сеголеток лосося от сентября к ноябрю обнаружена устойчивая тенденция, направленная на подготовку молоди к смолтификации. Установлено изменение ключевых жирнокислотных показателей: увеличение содержания ПНЖК за счет (n-3) ПНЖК, а в них ЖК “морского” типа – 22:6(n-3), высокие значения соотношений (n-3)/(n-6)ПНЖК, 18:3(n-3)/18:2(n-6)б 22:6(n-3)/18:3(n-3). Показано, что стимулирующий подготовку к смолтификации сеголеток атлантического лосося, выращиваемых в условиях аквакультуры эффект совокупного и устойчивого действия фотопериода и кормления достигается при их сочетании в круглосуточном режиме в летне-осенний период.

Ключевые слова: липиды, фотопериод, атлантический лосось, товарное лососеводство

DOI: 10.31857/S1026347022700081, **EDN:** HAUNDM

Жизненный цикл атлантического лосося, *Salmo salar*, включает “морской” и “речной” периоды: взрослая особь нагуливается в море, а на нерест мигрирует в реки, поднимаясь также в их притоки. Один из важных этапов развития лососевых, связанных с подготовкой молоди к морской среде обитания – смолтификация, которая сопровождается сложными физиолого-биохимическими, морфологическими и поведенческими изменениями (Казаков, Веселов, 1998; Павлов и др., 2001; McCormick, 1993, 1995; Olsvi *et al.*, 2005; Stefansson *et al.*, 2008; Björnsson *et al.*, 2011; Strand *et al.*, 2018). Несмотря на многочисленные исследования смолтификации, ряд важных аспектов этого процесса у молоди атлантического лосося, связанных с выяснением метаболических изменений физиолого-биохимических процессов, их адаптивного значения и видоспецифичности, остаются недостаточно раскрытыми. Было показано, что наряду с температурой и трофической важной экологическим фактором, влияющим на трансформацию пестряток атлантического лосося в смолтов, является фотопериод (в частности, увеличение длины светового дня весной) (Duston, Saunders,

1992; Thrush *et al.*, 1994; Duncan *et al.*, 1998). Установлено, что применение различных режимов регулирования естественного фотопериода может оказывать влияние не только на перестройку физиологии при смолтификации, но и на рост молоди атлантического лосося (Björnsson *et al.*, 1989, 2011; Handeland, Stefansson, 2001; Chi *et al.*, 2019), а также других лососевых рыб при искусственном выращивании (Mason *et al.*, 1992). В условиях аквакультуры это позволяет раньше переносить рыб в соленую воду, что снижает финансовые затраты и ресурсное обеспечение содержания молоди в пресной воде.

К настоящему времени имеется немало работ о влиянии спектрального состава и интенсивности света, смены световых режимов на процессы роста и развития разных видов рыб от личинки до половозрелой особи (Fjelldal *et al.*, 2011; Good *et al.*, 2016; Wei *et al.*, 2019). Положительное действие переменного фотопериода (искусственное и естественное освещение) – высокая скорость роста и выживаемость – обсуждаются в работах, проведенных на молоди форели, белого толстолобика, карпа (Власов и др., 2013). Различные аспекты

влияния световых режимов на рост и развитие лососевых, в частности, на формирование и рост скелетных мышц, в условиях Европейского Севера, проанализированы в одном из наших обзоров (Шульгина и др., 2021).

Известно, что миграционное поведение молоди лососевых рыб обусловлено различными механизмами, в том числе биохимическими, и важную роль в обеспечении структурного и энергетического гомеостаза организма выполняют липиды, изменение содержания которых можно рассматривать в качестве одного из биохимических индикаторов подготовки к миграции. Одними из наиболее метаболически активных компонентов липидов являются жирные кислоты (ЖК), которые относительно быстро включаются в адаптивные (или преадаптивные) реакции организма в ответ на изменение условий среды (Sheridan, 1989; Tocher *et al.*, 2000; Hochachka, Somero, 2002; Tocher, 2002 Arts *et al.*, 2009; Kamalam *et al.*, 2013). Следует отметить, что работ (Saunders, Henderson, 1988; Wedemeyer *et al.*, 1980; Sheridan, 1989; Rowe *et al.*, 1991; Duston, Saunders, 1995), посвященных влиянию изменения продолжительности светового дня на липидный и жирнокислотный состав тканей и органов, метаболизм липидов у молоди атлантического лосося в условиях аквакультуры, крайне мало. Ранее, в наших исследованиях (Немова и др., 2019, 2020; Nemova *et al.*, 2020) на молоди атлантического лосося, выращиваемой в условиях северных широт (Выгский рыболовный завод, бассейн Белого моря), была показана индикаторная роль изменений липидного статуса (отдельных липидных классов, ЖК и их соотношений) у молоди, рост и развитие которой проходили в бассейнах с подключением дополнительного (искусственного) освещения. Причем, наиболее заметный и достоверно значимый эффект был показан для молоди лосося, выращиваемой в бассейнах с непрерывным световым режимом (24LD) в летне-осенний сезон. Впервые были получены данные, указывающие на регуляцию процессов биосинтеза полиненасыщенных жирных кислот в части синтеза и расходования физиологически значимых и эссенциальных кислот в ряду “20:5(n-3), эйкозапентаеновая кислота → 22:5n-3, докозапентаеновая”, коррелирующие с сочетанным действием постоянного освещения и составом корма. При анализе показателей липидного метаболизма молоди лосося был обнаружен сдвиг в сторону преобладания энергетических липидов и их активного участия в метаболических процессах, направленных на поддержание более высоких темпов роста рыб.

В настоящей работе исследовано влияние постоянного искусственного освещения (24LD) в стандартной технологии выращивания молоди атлантического лосося в условиях, характерных для южного региона (Северная Осетия-Алания), где температура подземных вод, питающих бас-

сейны, меняется в зависимости от времени года в диапазоне от 8 до 18°C без выраженного зимнего периода, что позволяет рыбе питаться и расти круглый год. Обсуждаются первые результаты сравнительного исследования липидного и жирнокислотного состава у сеголеток атлантического лосося, выращиваемых при естественном и непрерывном освещении в товарной аквакультуре в летне-осенний период. В эксперименте по изучению влияния факторов среды на рост и развитие молоди лосося наряду с фотопериодом был исследован эффект суточного режима кормления.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование влияния фотопериода на рост и развитие сеголеток (0+) атлантического лосося (выклев 10 марта–15 марта 2022 г.) проводили на предприятии ООО “Остров аквакультура” (Республика Северная Осетия-Алания). В августе сеголеток (средней массой 2.3 г) пересаживали в выростные лотки размером 4 × 1.2 м, объемом 2.5–2.7 м³, в количестве 4900 особей/лоток. Для стимуляции эндогенных механизмов, влияющих на ростовые процессы, во все бассейны с сеголетками (после перехода на экзогенное питание) было установлено непрерывное освещение (24LD). Кормление проводили в круглосуточном режиме каждые два часа. Данные условия круглосуточного освещения и кормления рассматривали в качестве контроля.

С начала сентября сеголеток, разделили на три группы по 2 лотка (при средней массе рыб 2.9 г в каждом лотке) и стали содержать в следующих (экспериментальных) условиях: группа № 1 (контроль) – режим освещения постоянный (24LD), кормление круглосуточное (КК); группа № 2 (опыт № 1) – естественное освещение (ЕстLD), кормление проводится в светлое время суток (с 06:00 до 18:00 в сентябре, с 08:00 до 18:00 в октябре, с 08:00 до 17:00 в ноябре), через каждые два часа (КД); группа № 3 (опыт № 2) – режим освещения постоянный (24LD), кормление проводится только в светлое время суток как у рыб из группы № 2 (КД). Взвешивание рыб проводили на предприятии 2 раза в месяц при трех повторных взвешиваниях по 50–100 особей вместе.

Лотки с круглосуточным освещением были оборудованы светодиодными осветителями LED (36W, 6500K), размещенными перпендикулярно над лотками в три линии с расстоянием ~1 м (включали с наступлением темноты). Лотки с естественным освещением накрывали щитками с непрозрачной пленкой после наступления темноты. Освещение над поверхностью воды при освещении лампами в темное время суток составляло 450–650 lx (для контроля и опыта № 2). Условия летнего освещения: 8000 lx – в сентябре и октябре, 5500 lx – в ноябре, в пасмурную погоду – 500 lx. Профилактические меры и уход за бассейнами

проводились согласно возрастным потребностям рыб и их состояния.

Использовали коммерческий корм марки: Scretting Nutra HP™ (Италия) с 6 по 29 сентября и “BioMar Inicio+901” (Дания) с 23 сентября по 15 ноября (фракция 1 и 1.5 в зависимости от веса рыб), оба корма схожи по составу и пищевой ценности; расчет корма проводили согласно нормам возрастной группы и с учетом биомассы.

Вода в лотки поступала в объеме 2.7–3 л/с на лоток со скважины, обеспечивая постоянную температуру – 12.5°C. Содержание кислорода в лотках 10.3–10.5 мг утром с постепенным снижением до 8.5–8.2 мг вечером (замеры проводились утром в 07:00 и вечером в 19:00). Отход за весь период исследования составил 24, 33 и 19% особей в контроле (24LD, КК), опыте № 1 (ЕстLD, КД) и опыте № 2 (24LD, КД) соответственно.

Для исследования отбирали сеголеток лосося 6 сентября (стартовая дата забора материала), 6 октября и 9 ноября; из каждой группы было взято до 15 особей из лотка.

Экстракцию липидов из отобранных образцов (сеголеток целиком) молоди лосося проводили по методу Фолча (Folch *et al.*, 1957) и Кейтс (1975). Затем липиды концентрировали с помощью роторно-вакуумной установки Hei-VAP Advantage HL/G3 (“Heidolph”, Германия). Выделенные суммарные липиды и обезжиренный остаток (включающий белки, углеводы, нуклеиновые кислоты, аминокислоты и микроэлементы) сушили до постоянной массы. Содержание общих липидов в образцах представлено в виде % сухого вещества. Массовую долю жира (ГОСТ 7636–85) сеголетков

рассчитывали по формуле: $X = \frac{(m1 - m2) \times 100}{m}$,

где m – масса исследуемого образца (г), $m1$ – масса колбы с липидом (г), $m2$ – масса пустой колбы (г).

Качественное и количественное определение отдельных липидных классов осуществляли при помощи метода высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ). Фракционирование общих липидов (ОЛ) проводили на пластинках на стеклянной основе – НРТLC Silicagel 60 F₂₅₄ Premium Purity (“Merck”, Германия). Нанесение экстракта липидов осуществлял с помощью полуавтоматического аппликатора Linomat 5 (“Camag”, Швейцария) микрошприцом на 100 мкл штриховым методом. В качестве элюента, а также раствора для насыщения хроматографической камеры ADC2 (CAMAG, Швейцария), использовали систему растворителей гексан-диэтиловый эфир-уксусная кислота (32 : 8 : 0.8 по объему) (Olsen, Henderson, 1989). Насыщение хроматографической камеры проводили в течение 20 мин с одновременным контролем влажности (10 мин), после чего проводили насыщение пластины (20 мин). Дистанция подвижной фазы составляла 80 мм (Rf

конечная = 80 мм), сушка пластины осуществляли в течение 5 мин. Проявление липидных пятен проводили в растворе медного купороса (CuSO₄) с ортофосфорной кислотой (H₃PO₄) и нагреванием пластины до 160°C в течение 15 мин (Hellwig, 2008). Качественное и количественное определение липидных компонентов было выполнено в камере денситометра TLC Scanner 4 (“Camag”, Швейцария) на дейтериевой лампе при длине волны 350 нм в режиме адсорбции (Hellwig, 2008). Идентификацию липидных классов проводили по референтным стандартам соответствующих компонентов (“Sigma-Aldrich”, США) с учетом соответствия значений Rf. В составе общих липидов анализировали: общие фосфолипиды (ФЛ), триацилглицерины (ТАГ), диацилглицерины (ДАГ), моноацилглицерины (МАГ), холестерин (ХС), эфиры холестерина (ЭХС), свободные жирные кислоты (СЖК), воска.

Жирнокислотный состав ОЛ оценивали индивидуально (у каждой особи) по содержанию отдельных жирных кислот и их соотношений. Для анализа жирнокислотного состава ОЛ проводили метанализ ЖК общих липидов. Разделение метиловых эфиров ЖК выполняли на газовом хроматографе “Кристалл 5000.2” (ЗАО “Хроматэк”, Россия) с капиллярными колонками Zebtron ZB-FFAP (“Phenomenex”, США), используя в качестве внутреннего стандарта бегеновую кислоту (22:0) (“Sigma Aldrich”, США). Хроматограммы обрабатывали с помощью компьютерной программы “Хроматэк Аналитик” (ЗАО “Хроматэк”). В качестве стандартов метиловых эфиров ЖК использовали наборы Supelco 37 Component FAME Mix, Bacterial acid methyl ester (BAME) mix, PUFA No. 1 (ЭSupelco”, США).

Исследования были выполнены на базе лаборатории экологической биохимии и с использованием оборудования Центра коллективного пользования ФИЦ “Карельский научный центр РАН”.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием языка программирования “R” (v. 3.6.1.) в среде разработки “RStudio” с применением дополнительных пакетов: “readxl” (v. 1.3.1), “tidyverse” (v. 1.3.0), “pheatmap” (v. 1.0.12), “cowplot” (v. 1.1.1). Для оценки зависимости содержания ОЛ от массы тела и зависимость массовой доли жира (ГОСТ 7636–85) от массы тела в сезонной динамике использовали модель линейной регрессии с группировкой по типу экспериментального освещения (Кабаков, 2016; Брюс, Брюс, 2020). Для описания количественного содержания индивидуальных липидных классов и суммарных семейств жирных кислот были рассчитаны параметры описательной статистики (среднее арифметическое и ошибка среднего арифметического) с группировкой по месяцам и типу экспериментального освещения. Полученные резуль-

таты были визуализированы в виде гистограмм. Для описания количественного состава жирных кислот ОЛ были рассчитаны средние значения для каждой группы и представлены в формате тепловой карты. Насыщенность цвета (от синего до красного) на данном графике указывает на изменение количества (% суммы ЖК) отдельной ЖК в группе. Индекс качества липидов тела (flesh lipid quality, FLQ) представлен в формате диаграмм размаха.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

За весь период исследования средний прирост массы на группу составил 14.1 ± 0.1 , 12.2 ± 0.2 , 13.1 ± 0.2 г у рыб из контроля и опытных вариантов, соответственно. При этом количество использованного корма составило 61.87, 60.62 и 67.73 кг (в среднем на группу) для контроля (24LD, КК), опыта № 1 (ЕстLD, КД) и опыта № 2 (24LD, КД).

У сеголеток из трех исследованных вариантов (контроль, опыт № 1 и опыт № 2) за период с сентября по ноябрь содержание ОЛ было в пределах 23.3–32% сухого вещества (массовая доля жира составляла 6.6–8.5% сырой массы). Показана общая сезонная динамика снижения ОЛ у рыб во всех вариантах. При этом содержание ОЛ у сеголеток в сентябре и октябре во всех исследованных вариантах не различалось, но было достоверно ниже у рыб в ноябре: 31, 31 и 23.8% сухого вещества – у рыб из контрольной группы, 30, 30 и 23% – у рыб из опыта № 1 и 32, 30 и 26% – у рыб из опыта № 2.

Липидный профиль сеголеток лосося во всех исследованных вариантах в период эксперимента с сентября по ноябрь характеризовался доминированием энергетических липидов в форме ТАГ – от 15.3 до 18.7% сухого вещества, затем следовали структурные липиды в форме ФЛ – от 1.7 до 3.5% и ХС – от 2.2 до 3.7%, универсальные СЖК были в пределах от 1.4 до 2.1%, ЭХС – от 0.6% до 1.3% и воска – от 0.6 до 1.3%, сигнальные ДАГ составляли от 0.7 до 1.12% сухого вещества и МАГ – от 0.2 до 0.3% сухого вещества (рис. 1).

Отметим, что достоверных различий в содержании исследованных липидных классов у рыб всех вариантов эксперимента – контроль и опыт – в сентябре не обнаружено.

Показано достоверное снижение содержания восков, ДАГ, СЖК, ХС, ФЛ у сеголеток в контроле и двух опытных вариантах в ноябре по сравнению с таковым в сентябре и октябре. Несмотря на то, что содержание ТАГ снижаются у сеголеток в трех вариантах с сентября по ноябрь, эти изменения незначительны и не являются достоверными. Содержание МАГ у молоди лосося во всех вариантах эксперимента в ноябре достоверно ниже по сравнению с таковым у сеголеток в сентябре. Зна-

чение соотношения ХС/ФЛ у сеголеток достоверно выше в ноябре при содержании в контроле и опыте № 1 (недостоверное повышение соотношения для рыб опыта № 2) по сравнению с таковым в сентябре и октябре: 1.2 и 1.3 – в контроле и опыте № 1 в ноябре vs 1.1 и 1.1 – в сентябре, 1.0 и 1.1 – в октябре. Значение соотношения доминирующих энергетических липидов к структурным – ТАГ/ФЛ – у рыб из контроля и двух опытных вариантов были достоверно выше такового у сеголеток в сентябре и октябре (8.4 – в контроле, 8.6 – опыт № 1, 8.7 – опыт № 2 в ноябре vs 5.4, 5.6, 4.8 и 5.3, 5.6, 6.0 – в сентябре и октябре соответственно).

В жирнокислотном профиле ОЛ рыб эксперимента доминировали мононенасыщенные ЖК (МНЖК), при этом в ноябре их содержание было наибольшим и практически равным у рыб в контрольном и опытных вариантах (43% от суммы ЖК – контроль и 44% – оба опытных варианта) (рисунок 2). Отметим, что содержание МНЖК у рыб в сентябре составило 36% как в контрольном, так и опытных вариантах, в октябре их содержание повысилось: 37% – контроль, 40 и 41.2% – опыт № 1 и опыт № 2, при этом у рыб в контроле достоверно ниже, чем в обоих опытных вариантах (в октябре). Установлено достоверное повышение содержания МНЖК у сеголеток в трех исследованных вариантах (контроль, опыт № 1 и опыт № 2) с сентября по ноябрь (рис. 2).

Среди МНЖК основную долю составляла олеиновая кислота, 18:1(n-9), содержание которой у рыб контрольного варианта не различалось в сентябре и октябре – 19.3 и 19.8% от суммы ЖК, однако достоверно повышалось до 22.6% в ноябре. У сеголеток опытных вариантов эксперимента обнаружено достоверное ежемесячное повышение содержания этой кислоты (19.6 и 19.2% от суммы ЖК у рыб в опыте № 1 и опыте № 2 в сентябре, 23.2 и 22.6% в октябре, 22.8 и 23.5% в ноябре) (рис. 3).

Значимое количественное содержание у исследуемых сеголеток в ходе эксперимента установлено для пальмитоолеиновой кислоты, 16:1(n-7), (от 4.2 до 5% с от суммы ЖК), 18:1(n-7) – от 2.8 до 3.3%, а также для ЖК, имеющих пищевое происхождение (поступающих с кормом), “морских” МНЖК, цитолеиновой кислоты, 22:1(n-11), и эйкозеновой кислоты, 20:1(n-9). Содержание обеих кислот было в пределах от 3 до 5.4% и оно отличалось достоверным трендом к повышению их %-го количества у сеголеток из всех экспериментальных вариантов в ноябре по сравнению с таковым в сентябре и октябре (достоверные отличия в эти месяцы не установлены). Содержание других кислот МНЖК ряда составляло ниже 1% (рис. 3).

Содержание насыщенных жирных кислот (НЖК) у сеголеток в период эксперимента (сентябрь–ноябрь) было в пределах 24.4–35.5% от

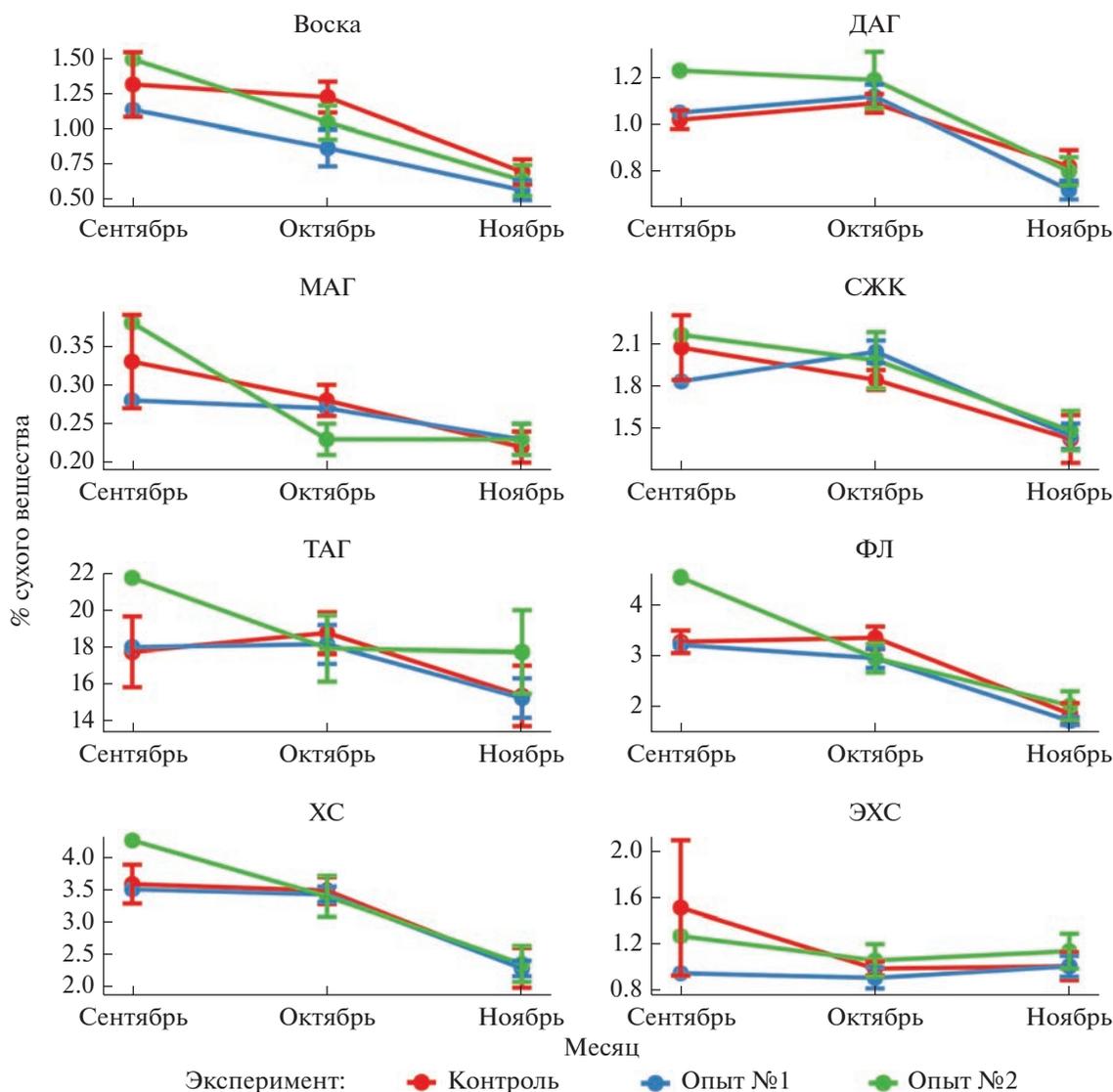


Рис. 1. Динамика липидных классов (% сухого вещества) у сеголеток атлантического лосося в контрольном и опытных вариантах в период с сентября по ноябрь. ФЛ – общие фосфолипиды, ТАГ – триацилглицерины, ДАГ – диацилглицерины, МАГ – моноацилглицерины, ХС – холестерин, ЭХС – эфиры холестерина, СЖК – свободные жирные кислоты.

суммы ЖК с доминированием пальмитиновой кислоты, 16:0, (в пределах 15.2–17.1% суммы ЖК). При этом отмечено значимое снижение количества НЖК у сеголеток в ходе эксперимента во всех исследованных вариантах с сентября по ноябрь (рис. 2). В ноябре у сеголеток в контрольном и опытных вариантах содержание 16:0 ЖК достоверно ниже, чем таковое в начале эксперимента, в сентябре. Отметим, что только для рыб опытных вариантов показано увеличение 16:0 в октябре по сравнению с таковым в сентябре, для рыб контрольного варианта количество этой кислоты в данные месяцы не изменялось. Остальные НЖК характеризовались следующим содержанием и динамикой у сеголеток: стеариновая кислота,

18:0, составляла от 3.3 до 5.4%, арахидоновая кислота, 20:0, в пределах от 1.2 до 10.2%, лигноцереновая кислота, 24:0, – от 1.2 до 0.3%, для всех ЖК установлено последовательное сезонное снижение содержания у рыб всех вариантов эксперимента.

Суммарные ПНЖК у сеголеток в начале эксперимента, в сентябре, составляли 29% в контрольном варианте, 28.6 и 26.7% – в опытных вариантах, в октябре их количество достоверно не изменилось – 28.5%, но достоверно повысилось в двух опытных вариантах – 32.5 и 31.3% соответственно, в ноябре содержание ПНЖК достоверно возросло у рыб во всех вариантах эксперимента – 32.6% (контроль), 30.7 и 31% (опыт №1 и опыт

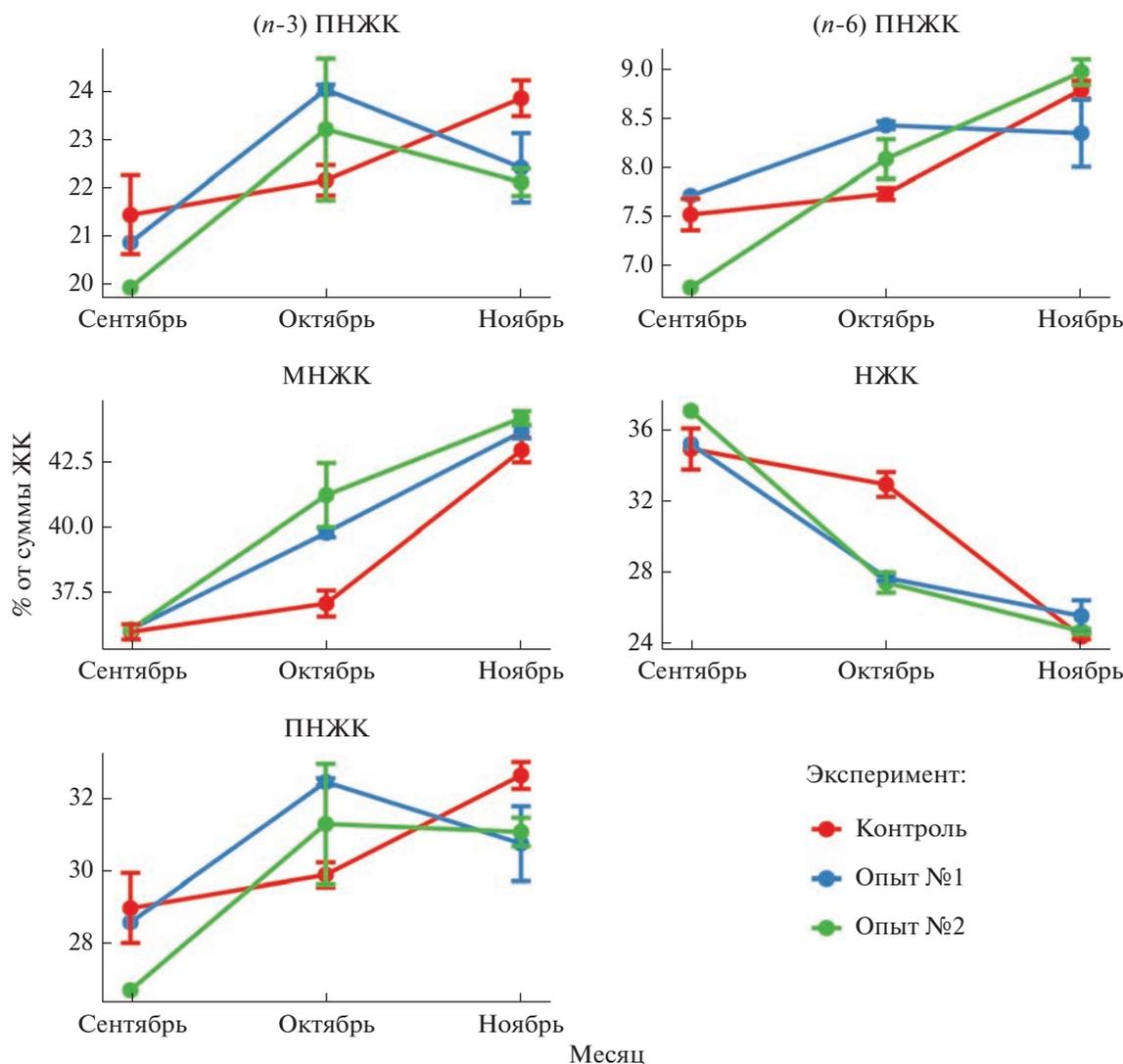


Рис. 2. Динамика основных классов жирных кислот (% суммы ЖК) у сеголеток атлантического лосося в контрольном и опытных вариантах в период с сентября по ноябрь. НЖК – насыщенные жирные кислоты, МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты, ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты, в которых (n-3) ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты (n-3) семейства, (n-6) ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты (n-6) семейства.

№ 2) (рис. 2). Тренд к повышению содержания суммарных ПНЖК обеспечивается за счет доминирующего семейства n-3ПНЖК, которое у сеголеток было в пределах 20–24% суммы ЖК. Среди n-3ПНЖК преобладали докозагексаеновая кислота, 22:6(n-3), и эйкозопентаеновая кислота, 20:5(n-3) – от 12.1 до 14.1 и от 3.8 до 4.5% соответственно. Отмечено, что у сеголеток всех исследованных вариантов происходило повышение содержания 22:6(n-3) уже в октябре по сравнению с сентябрем, затем в ноябре количество этой кислоты продолжает увеличиваться у рыб контрольного варианта, а у сеголеток опытных вариантов незначительно (достоверно только для рыб из опыта № 1) снижается по сравнению с октябрём. Отметим, что еще одна минорная ЖК, преимуще-

ственно “морского” пищевого происхождения – стеариноновая ЖК, 18:4(n-3), обнаруживала тренд к увеличению содержания у сеголеток всех исследованных вариантов в сезонном аспекте (рис. 3).

Другое семейство ПНЖК – n-6ПНЖК в количественном содержании значительно уступало n-3ПНЖК и характеризовалось слабым трендом к накоплению у сеголеток контрольных и опытных вариантов в период с сентября по ноябрь: 7.5% – в сентябре, 7.7% – в октябре, 8.8% – в ноябре (достоверно выше по сравнению двумя предыдущими месяцами) у рыб в контроле; 7.7% и 6.7% – в сентябре, 8.4 и 8.1% – в октябре (достоверно выше по сравнению с сентябрем), 8.4 и 9% – в ноябре (достоверно выше по сравнению с ок-

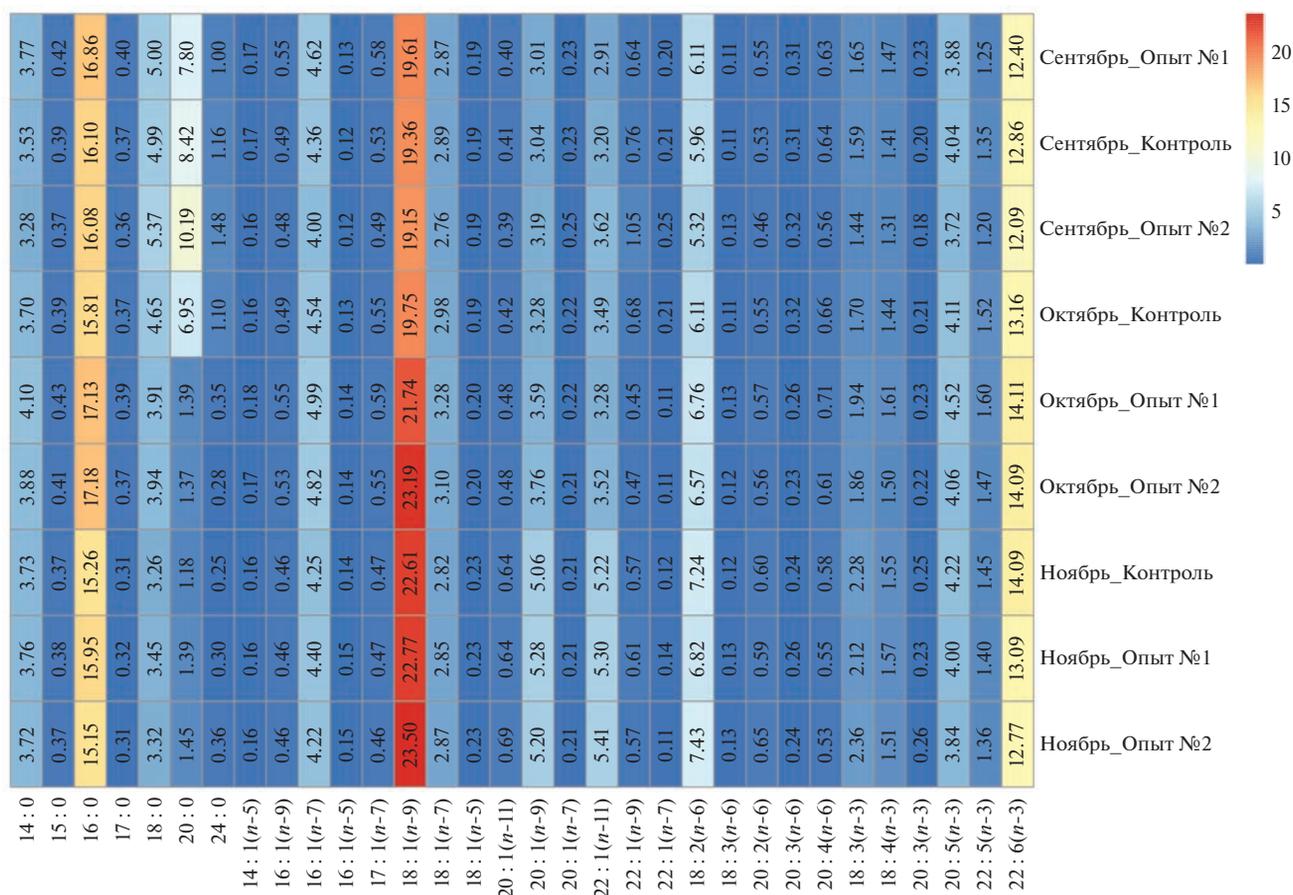


Рис. 3. Тепловая карта содержания и динамики отдельных жирных кислот (% суммы ЖК) у сеголеток атлантического лосося в контрольном и опытных вариантах в период с сентября по ноябрь.

тябрем для опыта № 2) у сеголеток в опыте № 1 и опыте № 2. При этом аккумуляция n -6ПНЖК происходила за счет исходной ЖК этого семейства – линолевой кислоты, $18:2(n-6)$, в то время как содержание потенциального продукта биосинтеза из $18:2(n-6)$ – арахидоновой кислоты, $20:4(n-6)$, в организме рыб не изменялось во всех вариантах эксперимента в исследуемый период и по количеству не достигало даже 1% (рис. 3).

В ходе эксперимента изменялись значения соотношений ключевых метаболических индексов: $16:0/18:1(n-9)$ – показывает эффективность обмена липидов, позволяет оценивать эффективность биосинтеза МНЖК из НЖК, $20:4(n-6)/18:2(n-6)$ – обозначает соотношение продукта биосинтеза из предшественника в ходе последовательных реакций n -6ПНЖК или эффективность конвертации “ $18:2(n-6) \rightarrow 20:4(n-6)$ ”, $22:6(n-3)/18:3(n-3)$ – показывает соотношение продукта биосинтеза из предшественника в ходе последовательных реакций n -3ПНЖК или эффективность конвертации “ $18:3(n-3) \rightarrow 22:(n-3)$ ” (рис. 4).

Так, соотношение $16:0/18:1(n-9)$, $(n-3)/(n-6)$ ПНЖК, $20:5(n-3)/18:3(n-3)$, $20:4(n-6)/18:2(n-6)$

снижалось у рыб всех экспериментальных вариантов к ноябрю, а индексы $18:3(n-3)/18:2(n-6)$, $22:6(n-3)/20:5(n-3)$ у сеголеток повышалось.

Индекс качества липидов тела (flesh lipid quality, FLQ) у сеголеток контрольного варианта был достоверно выше по сравнению с таковым в сентябре и октябре (в эти месяцы отличия недостоверны) (рис. 5), в том числе по сравнению с таковым у рыб опытных вариантов.

Напротив, индекс качества липидов тела у сеголеток опытных вариантов резко увеличивается в октябре по сравнению с сентябрем, а затем снижается в ноябре, но остается выше, чем в сентябре (все изменения достоверны). Значения индекса у рыб опытных вариантов в ноябре соотносятся с таковым у сеголеток из контрольного варианта в октябре (рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Показатели липидного обмена наряду с другими биохимическими характеристиками являются устойчивыми и генетически детерминированными совокупными индикаторами перехода к смол-

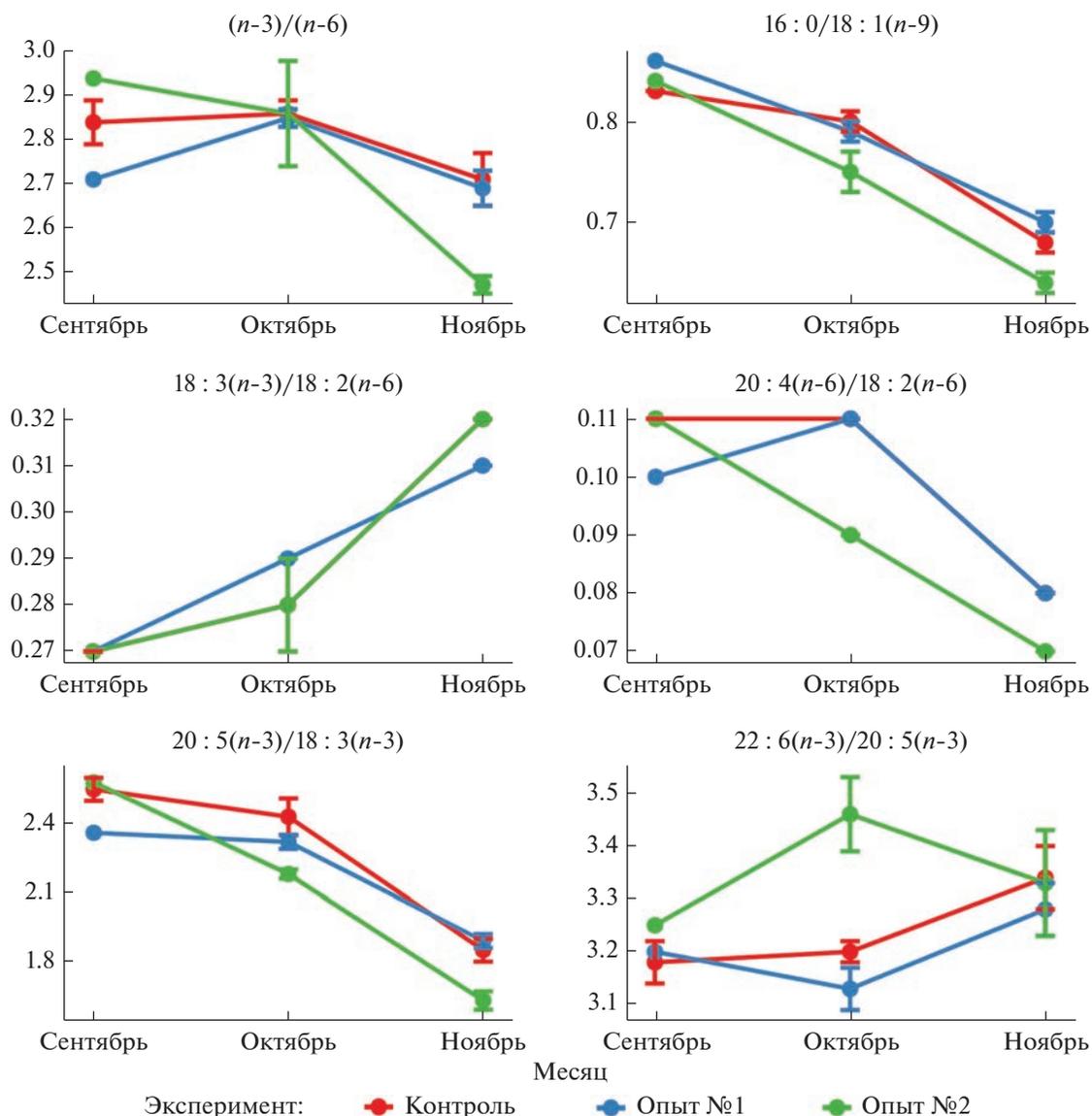


Рис. 4. Динамика ключевых метаболических индексов у сеголеток атлантического лосося в контрольном и опытных вариантах в период с сентября по ноябрь.

тификации у атлантического лосося в естественных условиях и аквакультуре (Немова и др., 2020, 2021; Нефедова и др., 2020). Именно манипуляции с фотопериодом позволяют стимулировать трансформацию “сеголеток-смолт” и добиться сокращения периода выращивания молоди в пресной воде, получить смолтов в возрасте 0+, т.н. “смолты 0+”. Известно, что в естественных условиях смолтификация наступает у молоди лосося в возрасте 1+ и 2+, а в условиях Европейского Севера этот переход может откладываться вплоть до 4+ и 5+ возраста (Павлов и др., 2008; Нефедова и др., 2018; Пеккова и др., 2018). Кроме того, координирование сроков смолтификации и получение вне сезонных смолтов, представляет существенный интерес для лососеводства в части увеличения объе-

мов производства. Атлантический лосось благодаря органолептическим, качественным и полезным для здоровья человека свойствам является одной из самых востребованных и популярных объектов аквакультуры. Обеспечение внутреннего рынка качественной, разнообразной и безопасной рыбной продукцией лососевых видов рыб является одним из приоритетов Стратегии развития рыбохозяйственного комплекса Российской Федерации до 2030 г., где отдельно представлен комплексный проект “Лососеводство” (Стратегия развития рыбохозяйственного ..., 2019).

В нашем исследовании показана подготовка молоди к смолтификации в норме и в условиях постоянного освещения и разного суточного кормления, выявлена специфика липидного ста-

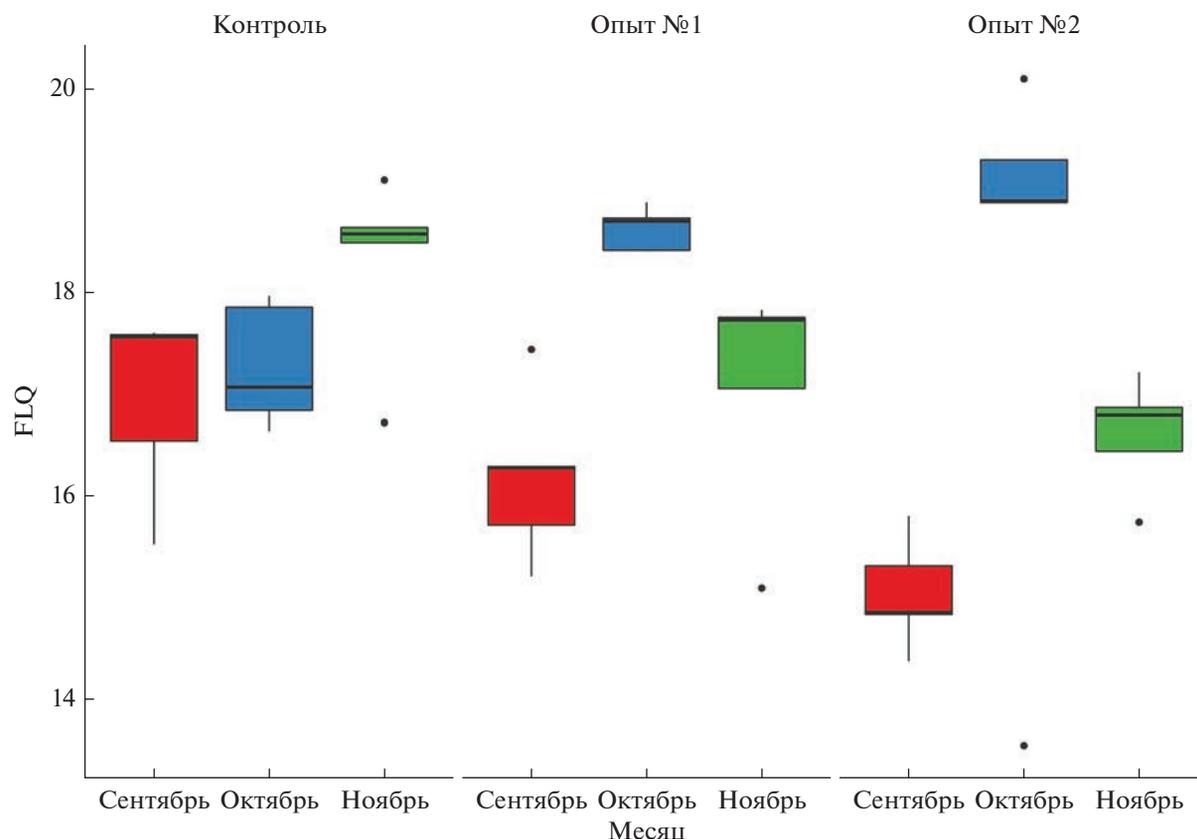


Рис. 5. Сезонное изменение индекса качества липидов тела (FLQ) у сеголеток атлантического лосося в контрольном и опытных вариантах в период с сентября по ноябрь.

туса, связанная с формированием пре-смолов от сентября к ноябрю при выращивании во всех вариантах эксперимента (контроль и опыт). Индикатором липидного статуса является снижение количества общих липидов у рыб в ноябре. Известно (Sheridan, 1989), что в процессе смолтификации у лососевых рыб происходит снижение запасов липидов преимущественно за счет ТАГ, при этом повышается активность липаз, что приводит к усилению липолиза и снижению скорости липогенеза. Мы обнаружили недостоверное снижение ТАГ у рыб во всех исследованных вариантах в период с сентября по ноябрь. Однако значение соотношения энергетических липидов к структурным – ТАГ/ФЛ, которое является наиболее показательным в отношении направления и активности процессов энергетического и пластического обменов, достоверно ниже у сеголеток контрольного варианта (24LD, КК), что указывает на усиление энергетического обмена и на участие именно запасных липидов в поддержании энергетических потребностей организма в этот период, в том числе на прирост массы. Кроме того, количественные изменения (снижение) значения основных структурных липидов – ХС и ФЛ, а также их соотношения установлены для сеголеток из контрольного и

опытного (№ 1) вариантов. Эти изменения связаны с модификацией биомембран, вызванной усилением активности физиологических функций организма (роста, активности движения, развития плавников, подготовки к изменению окраски) и рассматривается как индикатор смолтификации, что было показано нами ранее при изучении трансформации “парр-смолт” у атлантического лосося в естественной среде обитания (Немова и др., 2020).

Отмечено, что в сентябре и октябре достоверных отличий в содержании ОЛ и основных липидных классов (кроме МАГ) у рыб из всех исследованных вариантов не обнаружено. Схожий результат был получен нами и ранее (Немова и др., 2020, 2021) при исследовании влияния круглосуточного освещения на рост и смолтификацию сеголеток атлантического лосося, выращиваемого в северном регионе РФ в условиях Выгского рыбзавода (Белое море). Можно предположить, что в первый месяц развития у молоди лосося возникает короткий период “напряженности” организма, некая универсальная реакция (преадаптация) молоди на амплитуду и продолжительность действия исследуемых факторов среды (освещение и кормление), их соответствие физиологическому оптимуму ор-

ганизма, не зависящие от условий эксперимента. К октябрю наблюдается недостоверное снижение липидных классов во всех исследованных вариантах за исключением содержания ТАГ и МАГ у сеголеток опыта № 2, последнее указывает на мобилизацию энергетических липидов для обеспечения ряда метаболических процессов, участвующих в подготовке организма к смолтификации (Sheridan, 1989; Немова и др., 2020, 2021). Недостоверное снижение ОЛ и основных липидных классов с сентября по октябрь у молоди атлантического лосося во всех исследованных вариантах указывает на компенсаторные вариации липидов, лежащих в пределах толерантности возрастной группы, и отсутствие стрессового состояния у рыб, на уровне липидного обмена, в ответ на действие экспериментальных вариантов действия факторов среды.

Жирные кислоты сравнительно быстро могут включаться в адаптивные реакции организма в ответ на изменение условий среды, участвуя в энергетических и физиологических процессах клетки, в регуляции биохимических реакций. Содержание и состав именно ПНЖК и МНЖК в липидах рыб в значительной степени определяется рационом и режимом питания, а также способностью самого организма модифицировать их применительно к условиям роста и развития, влиянию внешних факторов. У подавляющего большинства рыб, как и у других живых организмов, ритмы питания и физиологической активности, в основном, определяются циклом освещения (Vjörnsson *et al.*, 2011).

Ранее (Мурзина, 2019; Нефедова и др., 2018, 2020; Немова и др., 2019; Воронин и др., 2021; Nemova *et al.*, 2020) была показана значимость количественных и качественных вариаций ЖК и их соотношений у молоди атлантического лосося в качестве биохимических индикаторов степени готовности молоди лосося к смолтификации в аквакультуре в сроки сопоставимые с природными популяциями. Изменение жирнокислотного спектра рыб в сторону увеличения содержания ПНЖК за счет (n-3)ПНЖК, а в них преимущественно ЖК “морского” типа – 22:6(n-3), высокие значения соотношений (n-3)/(n-6)ПНЖК, 18:3(n-3)/18:2 (n-6)22:6 (n-3)/18:3(n-3), снижение НЖК на фоне повышения общей ненасыщенности липидов за счет МНЖК и ПНЖК, рост индекса 16:0/18:1(n-9), характеризующего интенсивность метаболизма, являются самыми значимыми совокупными характеристиками подготовки к смолтификации. Следует отметить, что в данном исследовании только для сеголеток, содержащихся в условиях 24LD, КК показаны четкие и устойчивые тренды к “подготовке” липидного метаболизма и его модификации с “пресноводного” типа на “морской”, за исключением индекса 16:0/18:1(n-9) и снижения МНЖК (как правило, за счет) в период

с сентября по ноябрь. Отсутствие снижения данных показателей, скорее всего, связано с тем, что в ноябре мы наблюдаем именно подготовительный, но четко выраженный, этап перестройки метаболизма сеголеток лосося к смене места обитания: к переходу с пресноводного на морской образ жизни, что обеспечивает полноценную адаптацию рыб к новым условиям. Отметим, что качественный и количественный состав (n-3) и (n-6) атлантического лосося отличается от другого вида лососевых – кумжи (*S. trutta*): у лосося ЖК-профиль выражен в сторону (n-3) ПНЖК метаболического пути, что демонстрирует видоспецифичность липидного метаболизма ПНЖК у разных видов лососевых (Мурзина, 2019). Кроме того, известные метаболические различия смолтов лосося и кумжи объясняют тот факт, что после ската в море лосось сразу идет в море, т.е. рыбы подготовлены к освоению новой среды, а кумжа продолжает какое-то время находится в эстуариях рек – медленно адаптируясь к новой среде. Эти важные метаболические, физиологические и поведенческие характеристики вида следует учитывать в биотехнике выращивания лососевых рыб, в том числе при варьировании и манипуляциях с ключевыми факторами среды, такими как температура, фотопериод и трофика. Обратим внимание, что индекс “качества липидов” (FLQ), в основу которого заложено содержание физиологически значимых и эссенциальных ЖК – 20:5(n-3) и 22:6(n-3), у сеголеток, выращенных в условиях 24LD, КК, повышается и его наибольшее значение наблюдается в ноябре, что определяет качество рыбной продукции. Повышение содержания эссенциальной 22:6(n-3) ЖК в организме у сеголеток, содержащихся в условиях 24LD, КК, связано не только с ее поступлением с кормом, о чем свидетельствует и накопление других “морских” ЖК пищевого происхождения – 20:1(n-9) и 22:1(n-11). Эти жирные кислоты входят в состав высококачественных кормов, при производстве которых используется первосортное морское сырье. Известно, что только отдельные виды морского зоопланктона синтезируют эти физиологически значимые и незаменимые для организма рыб ЖК (Graeve *et al.*, 1994). Второй причиной увеличения количества 22:6(n-3) ЖК у сеголеток является стимулирование фотопериодом активности системы ферментов элонгации/десатурации при конвертации (n-3) ПНЖК в цепи “18:3(n-3) → 20:5(n-3) → 22:5(n-3) → 22:6(n-3)”, в частности по пути “20:5(n-3) → 22:5(n-3) → 22:6(n-3)”: содержание 20:5(n-3) ЖК снижено по сравнению с 22:6(n-3), количество промежуточной в синтезе 22:5(n-3) ЖК достигает 1.5% (при сниженных или ответствующих реакциях конвертации ее количество ниже 0.5%). Схожий результат показан для сеголеток, содержащихся в условиях опыта № 1, Ест. LD, КД. Известно, что у сеголеток атлантического лосося

способность к конвертации ($n-3$) ПНЖК, активность фермента дельта-десатуразы, особенно выражена и может управляться такими факторами как фотопериод. Обратим внимание, что у сеголеток, содержащихся при условиях 24LD, КК и 24LD, КД, по всей видимости, заблокирован метаболический путь синтеза ($n-6$)ПНЖК, на что указывает повышение количества 18:2 ($n-6$), основополагающей ($n-6$)ПНЖК, которая поступает с кормом, и константное содержание 20:4($n-6$), конечного продукта биосинтеза (конвертации) ($n-6$) ПНЖК, на всем протяжении эксперимента.

Известно, что эссенциальные ПНЖК – 20:4($n-6$), 20:5($n-3$), 22:6($n-3$) являются основоположниками крупных семейств биологически активных веществ или медиаторов липидной природы, таких как простагландины, тромбоксаны, лейкотриены (из 20:4($n-6$)); резолвины Е серии (из 20:5($n-3$)) и протектины, резолвины D серии, марезин (из 22:6 ($n-3$)), которые вызывают различные физиологические эффекты в организме и регулируют множество процессов, таких, например, как мышечный рост, реакции иммунитета, нейромедиаторную и гормональную функции. Известно, что в условиях аквакультуры, регуляция скорости роста радужной форели осуществляется за счет обогащения корма и/или подбора нужного рациона с 22:6($n-3$) ЖК. Рост рыб, получавших 22:6($n-3$) или 20:5($n-3$) ЖК был интенсивнее, чем рост рыб, получавших такое же кол-во 18:3($n-3$) ЖК. Таким образом, биологическая ценность 22:6($n-3$) и 20:5($n-3$) ЖК выше, чем 18:3($n-3$) ЖК, что и стимулирует рост рыб (Takeuchi, Watanabe, 1977; Coutteau et al., 1997). Для роста и развития радужной форели достаточно присутствия в рационе одной из эссенциальных кислот – 18:3($n-3$) или ее производных – 22:6($n-3$) или 20:5($n-3$) (Watanabe et al., 1975; Yu et al., 1979). Отсутствие этих ЖК в кормовом рационе рыб неизбежно приводит к замедлению их роста и низкой эффективности использования поступающей пищи. Показано, что пищевые ($n-3$)ПНЖК стимулируют рост и выживаемость молоди атлантического лосося (Ruyter et al., 2000), а также участвуют в надлежащем целостном морфологическом развитии тканей и реализации их функциональных характеристик (Vou et al., 2017). Так, нормальная структура тканей кишечника формируется и поддерживается при достаточном поступлении 22:6($n-3$), а содержание 22:6($n-3$) и 20:5($n-3$) в количестве 2% снижает симптомы дефицита таковых, улучшая состояние рыб (Vou et al., 2017). Более того, благоприятный эффект на ростовые процессы оказывают также невысокие дозы 22:6($n-3$) или 20:5($n-3$) в корме, при этом соответствующая доза 18:3($n-3$) ЖК демонстрирует отсутствие действия.

Следует отметить, что у сеголеток из опыта № 1 и опыта № 2 обнаружено достоверное и резкое повышение некоторых индикаторов смолтифика-

ции – содержания ПНЖК за счет ($n-3$)ПНЖК, снижение МНЖК и НЖК в октябре по сравнению с сентябрем, но затем к ноябрю эти показатели (ПНЖК) заметно и достоверно снижаются (кроме НЖК) по сравнению с рыбами контрольной группы. Вероятно, известный аддитивный, но сепаратный механизм действия кормления (поступления и эффективности усвоения пищи) и стимуляции фотопериодом для стимулирования трансформации молоди лосося в смолтов (Striberny et al., 2021) у сеголеток при заданных нами условиях в опыте (ЕстLD, КД и 24LD, КД) имеет неустойчивый эффект по сравнению с рыбами из контрольного варианта (24LD, КК).

Мы обнаружили значительное количество пальмитолеиновой ЖК, 16:1($n-7$), содержание которой увеличивалось у сеголеток всех исследованных вариантов в октябре по сравнению с таковым в сентябре, затем снижалось в ноябре; изменения количества этой ЖК незначительные, но достоверно значимые. Известно, что 16:1($n-7$) является основным компонентом липокина, гормона липидной природы, продуцируемого адипоцитами (жировой тканью), который повышает чувствительность клеток к инсулину (особенно в мышцах) и замедляет аккумуляцию липидов в печени, кроме того, это вещество участвует в серии синхронных процессов, подавляющих воспаление. Более того, 16:1($n-7$) ЖК является необходимым (безусловным) участником в модификациях Wnt белков, сигнальных белков, которые участвуют в процессах метаболизма глицеролипидов (Resh, 2016, 2021; Mann, Fuller, 2022). Известно, что Wnt белки – это центральные медиаторы процессов эмбрионального развития, роста и развития тканей у рыб (Lu et al., 2011; Sutton et al., 2021), а также развития костной ткани и формирования костного остова (Chen et al., 2018).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования специфики липидного и жирнокислотного статуса молоди лосося, развивающейся в аквакультуре в условиях круглосуточного освещения и кормления (с учетом возраста и биомассы особей в садках), связанной с формированием пре-смолтов от сентября к ноябрю (летне-осенний период), свидетельствуют о подготовке молоди к смолтификации. Показано, что в первый месяц (сентябрь) эксперимента у молоди лосося не выявлены существенные изменения показателей липидного обмена, которые, по-видимому, соответствуют физиологическому оптимуму организма на данном этапе развития. При этом можно полагать, что обнаруженное незначительное снижение ОЛ и основных липидных классов с сентября по октябрь у молоди атлантического лосося во всех исследованных вариантах указывает на компенсаторные вариации липидов,

лежащих в пределах толерантности возрастной группы, и отсутствие стрессового состояния у рыб, на уровне липидного обмена, в ответ на действие экспериментальных вариантов действия факторов среды. Жирнокислотный спектр по мере роста и развития рыб характеризуется изменением ключевых ЖК-факторов: увеличением содержания ПНЖК за счет (n-3)ПНЖК, а в них ЖК “морского” типа – 22:6(n-3), высокими значениями соотношений (n-3) (n-6)ПНЖК, 18:3(n-3)/18:2(n-6) 22:6(n-3)/18:3(n-3). Снижение НЖК на фоне повышения общей ненасыщенности липидов за счет МНЖК и ПНЖК показано только для сеголеток, содержащихся в условиях 24LD, КК в период с сентября по ноябрь. Повышение количества ключевой эссенциальной ПНЖК – 22:6(n-3) ЖК у сеголеток, содержащихся при данном режиме, связано не только с аккумуляцией за счет питания, но и является результатом стимулирования фотопериодом активности системы ферментов элонгации/десатурации при конвертации (n-3) ПНЖК на что указывают повышенные количества промежуточной в этом синтезе 22:5(n-3) ЖК. Такой же результат показан для сеголеток, содержащихся в условиях опыта № 1. Индекс “качества а липидов” (FLQ), в основу которого заложено содержание физиологически значимых и эссенциальных ЖК – 20:5(n-3) и 22:6(n-3), у сеголеток, выращенных в условиях 24LD, КК, повышается (в наибольшей степени к ноябрю), что определяет качество рыбной продукции.

Результаты проведенного эксперимента позволяют сделать заключение, что стимулирующий подготовку к смолтификации сеголеток атлантического лосося, выращиваемых в условиях аквакультуры, эффект совокупного и устойчивого действия фотопериода и кормления достигается при их сочетании в круглосуточном режиме в летне-осенний период.

Таким образом, изучение биохимических механизмов влияния дополнительного искусственного освещения на процессы роста и раннего развития лососевых рыб в аквакультуре необходимо для выявления закономерностей замедленного или ускоренного роста, а также наступления периода смолтификации, что представляет несомненный интерес не только для решения общих вопросов биологии индивидуального развития организмов, но и для выявления особенностей биохимических адаптаций развития лососевых рыб в разных географических и климатических регионах РФ.

Финансирование. Работа проведена при финансовой поддержке проекта РНФ (19-14-00081-П).

Соблюдение этических стандартов. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы использования животных в экспериментах и условия ухода за ними были соблюдены.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о вкладе авторов. С.А. Мурзина, М.В. Кузнецова, Н.Н. Немова – обсуждение результатов исследования, подготовка публикации; Д.С. Провоторов – проведение анализа липидов и жирных кислот молоди рыб; В.П. Воронин – сбор биологического материала в ходе экспедиции, статистический анализ; А.Е. Курицын – постановка и ведение эксперимента, обсуждение результатов исследования, подготовка публикации.

Благодарности. Авторы выражают благодарность главному рыбоводу предприятия М. Горбуну за курирование эксперимента, проведение необходимых рыбо-хозяйственных мероприятий, сбор биоматериала, компетентные консультации и рекомендации в ходе реализации исследования. Также авторы выражают благодарность за научно-техническую поддержку проведения аналитических работ с использованием газовой хроматографии главному инженеру электронику К.Г. Даниловой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Брюс П., Брюс Э. Практическая статистика для специалистов Data Science. СПб.: БХВ-Петербург, 2020. 304 с.
- Власов В.А., Маслова Н.И., Пономарев С.В., Боканева Ю.М. Влияние света на рост и развитие рыб // Вестник АГТУ. Сер. Рыбное хозяйство. 2013. № 2. С. 24–34.
- Воронин В.П., Мурзина С.А., Нефедова З.А., Пеккоева С.Н., Руоколайнен Т.Р., Ручьев М.А., Немова Н.Н. Сравнительно-видовая характеристика липидов и их динамика в процессе эмбрионального и раннего постэмбрионального развития атлантического лосося (*Salmo salar* L.) и кумжи (*Salmo trutta* L.) // Онтогенез. 2021. Т. 52. № 2. С. 108–119.
- Кабаков Р.И. R в действии: Анализ и визуализация данных в программе. М.: ДМК Пресс, 2016. 580 с.
- Казакон Р.В., Веселов А.Е. Атлантический лосось // Популяционный фонд атлантического лосося России. СПб.: Наука, 1998. С. 383–395.
- Кейтс М. Техника липидологии: выделение, анализ и идентификация липидов. М.: Мир, 1975. 322 с.
- Мурзина С.А. Роль липидов и их жирнокислотных компонентов в эколого-биохимических адаптациях рыб северных морей: Дис. докт. биол. наук. М.: ИПЭЭ РАН, 2019. 376 с.
- Немова Н.Н., Мурзина С.А., Лысенко Л.А., Мещерякова О.В., Чурова М.В., Канцеров Н.П., Нефедова З.А., Крупнова М.Ю., Пеккоева С.Н., Руоколайнен Т.Р., Веселов А.Е., Ефремов Д.А. Эколого-биохимический статус атлантического лосося *Salmo salar* L. и кумжи *Salmo trutta* L. в раннем развитии // Журн. Общ. биол. 2019. Т. 80. № 3. С. 175–186.
- Немова Н.Н., Нефедова З.А., Пеккоева С.Н., Воронин В.П., Руоколайнен Т.Р., Мурзина С.А. Влияние фотопериода на липидный спектр молоди атлантического

- лосося *Salmo salar* L. // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2020. Т. 106. № 5. С. 622–630.
- Немова Н.Н., Нефедова З.А., Мурзина С.А., Пеккоева С.Н., Воронин В.П., Руоколайнен Т.Р. Влияние фотопериода на липидный профиль сеголеток (0+) атлантического лосося *Salmo salar* L. при заводских условиях выращивания // Онтогенез. 2021. Т. 52. № 2. С. 129–136.
- Немова Н.Н., Нефедова З.А., Мурзина С.А., Пеккоева С.Н., Воронин В.П., Руоколайнен Т.Р. Влияние фотопериода на липидный профиль сеголеток (0+) атлантического лосося *Salmo salar* L. при заводских условиях выращивания // Онтогенез. 2021. Т. 52. № 2. С. 129–136.
- Нефедова З.А., Мурзина С.А., Пеккоева С.Н., Воронин В.П., Немова Н.Н. Сравнительная характеристика жирнокислотного состава липидов заводской и дикой молоди атлантического лосося *Salmo salar* L. // Сиб. экол. журн. 2020. Т. 27. № 2. С. 197–204.
- Нефедова З.А., Мурзина С.А., Пеккоева С.Н., Немова Н.Н. Сравнительная характеристика жирнокислотного профиля смолтов кумжи *Salmo trutta* L. и атлантического лосося *Salmo salar* L. в период смолтификации (река Индера, бассейн Белого моря) // Изв. Росс. Ак. Наук. Сер. биол. 2018. № 2. С. 144–149.
- Павлов Д.С., Савваитова К.А. К проблеме соотношения анадромии и резидентности у лососевых рыб (Salmonidae) // Вопр. ихтиол. 2008. Т. 48. № 6. С. 810–824.
- Павлов Д.С., Савваитова К.А., Кузицин К.В., Груздева М.А., Павлов С.Д., Медников Б.М., Максимов С.В. Тихоокеанские благородные лососи и форели Азии. М.: Науч. мир, 2001. 200 с.
- Пеккоева С.Н., Мурзина С.А., Нефедова З.А., Руоколайнен Т.Р., Веселов А.Е., Немова Н.Н. Сравнительная характеристика липидного статуса разновозрастной молоди атлантического лосося *Salmo salar* L. реки Варзуга (Кольский полуостров) // Тр. КарНЦ РАН. 2018. № 12. С. 51–64.
- Стратегия развития рыбохозяйственного комплекса Российской Федерации на период до 2030 года. Распоряжение от 26 ноября 2019 г. № 2798-р Министерство сельского хозяйства Российской Федерации.
- Шульгина Н.С., Чурова М.В., Немова Н.Н. Влияние фотопериода на рост и развитие лососевых Salmonidae северных широт // Журн. Общ. Биол. 2021. Т. 82. № 1. С. 68–80.
- Arts M.T., Brett M.T., Kainz M.J. Lipids in aquatic ecosystems. N.Y.: Springer, 2009. 377 p.
- Björnsson B.T., Stefansson S.O., McCormick S.D. Environmental endocrinology of salmon smoltification // Gen. Comp. Endocrinol. 2011. V. 170. P. 290–298.
- Björnsson B.Th., Young G., Lin R.J., Deftos L.J., Bern H.A. Smoltification and seawater adaptation of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*: plasma calcitonin levels, calcium regulation and osmoregulation // Gen. Comp. Endocrinol. 1989. V. 74. P. 346–354.
- Bou M., Berge G.M., Baeverfjord G., Sigholt T., Ostbye T.-K., Romarheim O.H., Hatlen B., Leeuwis R., Venegas C., Ruyter B. Requirements of n-3 very long-chain PUFA in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effects of different dietary levels of EPA and DHA on fish performance and tissue composition and integrity // Br. J. Nutr. 2017. V. 11. P. 30–47.
- Chen T., Li J., Córdova L.A. et al. A WNT protein therapeutic improves the bone-forming capacity of autografts from aged animals // Sci. Rep. 2018. V. 8. P. 119.
- Chi L., Li X., Liu Q., Liu Y. Photoperiod may regulate growth via leptin receptor A1 in the hypothalamus and saccus vasculosus of Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Anim. Cells Syst. 2019. V. 23. Iss. 3. P. 200–208.
- Coutteau P., Geurden I., Camara M.R., Bergot P., Sorgeloos P. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture // Aquaculture. 1997. V. 155. P. 149–164.
- Duncan N.J., Auchinachie N., Robertson D., Murray R., Brodage N. Growth, maturation and survival of out-of-season 0+ and 1+ Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts // Aquaculture. 1998. V. 168. P. 325–339.
- Duston J., Saunders R.L. Advancing smolting to autumn in age 0+ Atlantic salmon by photoperiod, and long-term performance in sea water // Aquaculture. 1995. V. 135. № 4. P. 295–309.
- Duston J., Saunders R.L. Effect of 6-, 12-, and 18-month photoperiod cycles on smolting and sexual maturation in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1992. V. 49. P. 2273–2280.
- Fjelldal P.G., Hansen T., Huang T.S. Continuous light and elevated temperature can trigger maturation both during and immediately after smoltification in male Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Aquaculture. 2011. V. 321(1–2). P. 93–100.
- Folch J., Lees M., Sloan-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids animal tissue (for brain, liver and muscle) // J. Biol. Chem. 1957. V. 226. P. 497–509.
- Good C., Weber G.M., May T., Davidson J., Summerfelt S. Reduced photoperiod (18 h light vs. 24 h light) during first-year rearing associated with increased early male maturation in Atlantic salmon *Salmo salar* cultured in a freshwater recirculation aquaculture system // Aquac. Res. 2016. V. 47(9). P. 3023–3027.
- Graeve M., Kattner G., Hagen W. Diet-induced changes in the fatty acid composition of Arctic herbivorous copepods: experimental evidence of trophic markers // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 1994. V. 182. P. 97–110.
- Handeland S.O., Stefansson S.O. Photoperiod control and influence of body size on off-season parr-smolt transformation and post-smolt growth // Aquaculture. 2001. V. 192. P. 291–307.
- Hellwig J. Defining parameters for a reproducible TLC-separation of phospholipids using ADC 2. Diploma thesis, University of Applied Sciences Northwestern Switzerland (FHNW), 2008.

- Hochachka P.W., Somero G.N.* Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution. N.Y.: Oxford University Press, 2002. 466 p.
- Kamalam B.S., Médale F., Larroquet L., Corraze G., Panserat S.* Metabolism and fatty acid profile in fat and lean rainbow trout lines fed with vegetable oil: effect of carbohydrates // *PLoS One*. 2013. V. 8(10). P. e76570.
- Lu F.-I., Thisse C., Thisse B.* Identification and mechanism of regulation of the zebrafish dorsal determinant // *PNAS*. 2011. V. 108. Iss. 28. P. 15876–15880.
- Main A., Fuller W.* Protein S-palmitoylation: advances and challenges in studying a therapeutically important lipid modification // *FEBS J*. 2022. V. 289. P. 861–882.
- Mason E.G., Gallant R.K., Wood L.* Productivity enhancement of rainbow trout using photoperiod manipulation // *Bull. Aquac. Assoc. Can.* 1992. V. 91. P. 44–46.
- McCormick S.D.* Hormonal control of gill Na⁺, K⁺-ATPase and chloride cell function // *Cellular and Molecular Approaches to Fish Ionic Regulation* / Eds. Wood C.M., Shuttleworth T.J. San Diego: Academic Press, 1995. P. 285–315.
- McCormick S.D.* Methods for nonlethal gill biopsy and measurement of Na⁺, K⁺-ATPase activity // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1993. V. 50. P. 656–658.
- Nemova N.N., Nefedova Z.A., Pekkoeva S.N., Voronin V.P., Shulgina N.S., Churova M.V., Murzina S.A.* The Effect of the Photoperiod on the Fatty Acid Profile and Weight in Hatchery-Reared Underyearlings and Yearlings of Atlantic Salmon *Salmo salar* L // *Biomolecules*. 2020. V. 10. № 6. P. 845.
- Olsen R.E., Henderson R.J.* The rapid analysis of neutral and polar marine lipids using double development HPTLC and scanning densitometry // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1989. V. 129. P. 189–197.
- Olsvi P.A., Kristensen T., Waagbo R., Rosseland B.O., Tollefsen K.E., Baeverfjord G., Berntssen M.H.* mRNA expression of antioxidant enzymes (SOD, CAT and GSH-Px) and lipid peroxidative stress in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*) exposed to hyperoxic water during smoltification // *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 2005. V. 141(3). P. 314–323.
- Resh M.D.* Lipid modification of proteins // *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes* / Eds Ridgway N.D., McLeod R.S. Amsterdam: Elsevier, 2016. P. 391–414.
- Resh M.D.* Open Biology: overview for special issue on dynamics of protein fatty acylation // *Open Biol.* 2021. V. 11. 210228.
- Rowe D.K., Thorpe J.E., Shanks A.M.* Role of fat stores in the maturation of male Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1991. V. 48. P. 405–413.
- Ruyter B., Røsjø C., Einen O., Thomassen M.S.* Essential fatty acids in Atlantic salmon: effect of increasing dietary doses of n-6 to n-3 fatty acids on growth, survival and fatty acid composition of liver, blood and carcass // *Aquac. Nutr.* 2000. V. 5. P. 119–127.
- Saunders R.L., Henderson E.B.* Effects of constant day length on sexual maturation and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1988. V. 45. P. 60–64.
- Sheridan M.A.* Alterations in lipid metabolism accompanying smoltification and seawater adaptation of salmonid fish // *Aquaculture*. 1989. V. 82(1–4). P. 191–204.
- Stefansson S.O., Björnsson B.Th., Ebbesson L.O.E., McCormick S.D.* Smoltification // *Fish Larval Physiology* / Eds Finn R.N., Kapoor B.G. Enfield: Science Publishers, 2008. P. 639–681.
- Strand J.E.T., Hazlerigg D., Jorgensen E.H.* Photoperiod revisited: is there a critical day length for triggering a complete parr-smolt transformation in Atlantic salmon *Salmo salar*? // *J. Fish Biol.* 2018. V. 93. № 3. P. 440–448.
- Striberny A., Lauritzen D.E., Fuentes J., Campinho M.A., Gaetano P., Duarte V., Hazlerigg D.G., Jorgensen E.H.* More than one way to smoltify a salmon? Effects of dietary and light treatment on smolt development and seawater growth performance in Atlantic salmon // *Aquaculture*. 2021. V. 532. 736044.
- Sutton G., Kelsh R.N., Scholpp S.* Review: The role of Wnt/ β -Catenin signaling in neural crest development in zebrafish // *Front. Cell Dev. Biol.* 2021. V. 9. 782445.
- Takeuchi T., Watanabe T.* Requirement of carp for essential fatty acids // *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 1977. V. 43. P. 541–551.
- Thrush M.A., Duncan N.J., Bromage N.R.* The use of photoperiod in the production of out-of-season Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts // *Aquaculture*. 1994. V. 121. P. 29–44.
- Tocher D.R., Bell J.G., Dick J.R. et al.* Polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation and the effects of dietary linseed and rapeseed oils // *Fish Physiology and Biochemistry*. 2000. V. 23. № 1. P. 59–73.
- Tocher D.R., Fonseca-Madrigal J., Bell J.G., Dick J.R., Henderson R.J., Sargent J.R.* Effect of diets containing linseed oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes in Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Fish Physiol. Biochem.* 2002. V. 26. P. 157–170.
- Watanabe T., Takeuchi T., Ogina C.* Effect of dietary methyl linoleate and linolenate on growth of carp // *II. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 1975. V. 41. P. 263–269.
- Wedemeyer G.A., Saunders R.L., Clarke W.C.* Environmental factors affecting smoltification and early marine survival of anadromous salmonids // *Mar. Fish. Rev.* 1980. V. 42. P. 1–14.
- Wei H., Cai W.J., Liu H.K., Han D., Zhu X.M., Yang Y.X., Jin J.Y., Xie S.Q.* Effects of photoperiod on growth, lipid metabolism and oxidative stress of juvenile gibel carp (*Carassius auratus*) // *J. Photochem. Photobiol. B*. 2019. V. 198. 111552.
- Yu T.C., Sinnhuber R., Hendricks J.D.* Reproduction and survival of rainbow trout (*Salmo gairdner* L) fed linolenic acid as the only source of essential fatty acids // *Lipids*. 1979. V. 14. P. 572–575.

Parameters of Lipid Metabolism in Underyearlings of Atlantic Salmon *Salmo salar* Reared under Different Regimes of Photoperiod and Feeding Modes in Aquaculture in the Southern Region of Russia

**S. A. Murzina^{1, #}, D. S. Provotorov¹, V. P. Voronin¹, M. V. Kuznetsova¹,
A. E. Kuritsyn¹, and N. N. Nemova¹**

¹ *Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the RAS, Pushkinskaya st., 11, Petrozavodsk, 185910 Russia*

[#] *e-mail: murzina.svetlana@gmail.com*

A comparative study of the lipid and fatty acid composition of Atlantic salmon underyearlings reared under natural and continuous light in commercial aquaculture in the summer-autumn period in North Ossetia-Alania was carried out. A stable change in the main indicators of lipid metabolism in salmon underyearlings from September to November was found, aimed at preparing juveniles for smoltification. A change in key fatty acid indicators was detected: an increase in the content of PUFAs due to (n-3) PUFAs, and the “marine” type of PUFA – 22:6 (n-3), high values of the ratios (n-3)(n-6) PUFA, 18:3(n-3)/18:2 (n-6), 22:6(n-3)/18:3(n-3). It has been shown the stimulating effect of the combined and stable action of the continuous photoperiod and feeding in the summer-autumn period on the preparation for smoltification of Atlantic salmon fingerlings grown under aquaculture conditions.

Keywords: lipids, photoperiod, Atlantic salmon, commercial aquaculture

УДК 579.66

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ГАЛОАЛКАЛОТОЛЕРАНТНЫХ БАКТЕРИЙ СОДОВОГО ШЛАМОХРАНИЛИЩА

© 2023 г. Ю. Г. Максимова*, **, @, А. В. Шилова*, В. В. Егорова*,
В. А. Щетко***, А. Ю. Максимов*, **

*Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН –

филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, ул. Голева, 13, Пермь, 614081 Россия

**Пермский государственный национальный исследовательский университет, Букирева, 15, Пермь, 614990 Россия

***Государственное научное учреждение Институт микробиологии НАН, Купревича, 2, Минск, 220141 Беларусь

@E-mail: maks@iegm.ru

Поступила в редакцию 26.01.2022 г.

После доработки 31.08.2022 г.

Принята к публикации 01.09.2022 г.

Изучены особенности проявления гидролитической активности галоалкалотолерантных бактерий *Pseudomonas peli* 3-Т, *Microbacterium kitamiense* 16-ДБ и *Bacillus aequororis* 5-ДБ, выделенных из грунта территории содового шламохранилища и содового осадка действующего шламонакопителя АО “Березниковский содовый завод” (Пермский край, Россия). Показано, что максимальные активности внеклеточных липаз и амилаз трех исследованных бактерий проявлялись при рН 11 и высокой концентрации хлорида натрия (50–200 г/л). Культивирование *P. peli* 3-Т на минеральной среде с 0.5%-ным глицерином (источник углерода) и 0.03%-ной мочевины (источник азота) позволяет получить биомассу (6.9 г/л) и активность внеклеточной (1.26 Ед/л) и ассоциированной с клетками липазы (3.02 Ед/мг сухих клеток) с высоким экономическим коэффициентом потребления субстрата (138%). Показана эффективность иммобилизации клеток *P. peli* 3-Т и *B. aequororis* 5-ДБ для использования в биотрансформации липидов и крахмала. Клетки *P. peli* 3-Т, иммобилизованные адсорбцией на каолине и включением в структуру гелей альгината бария и агарозы, сохраняли от 40.4 до 63.8% от активности липазы клеток в суспензии. Иммобилизованные адсорбцией на каолине клетки *B. aequororis* 5-ДБ сохраняли 42.5% липазной и 90.7% амилазной активности по сравнению с исходными. При этом активности исследованных ферментов *P. peli* 3-Т и *B. aequororis* 5-ДБ сохранялись в течение 6-ти последовательных реакций. Амилазная активность иммобилизованных клеток *M. kitamiense* 16-ДБ при адсорбции на каолине и хитозане снижалась до 2.7–3.5% от исходной и полностью ингибировалась при иммобилизации включением в гели альгината бария или агарозы.

Ключевые слова: амилаза, липаза, культивирование, иммобилизация бактериальных клеток, галотолерантные бактерии, алкалотолерантные бактерии

DOI: 10.31857/S1026347022700068, **EDN:** HANYNK

Одними из востребованных ферментов для пищевой, химической, фармацевтической, целлюлозно-бумажной промышленности и кормопроизводства являются липазы (триацил-глицеролацилгидролазы, Е.С.3.1.1.3), катализирующие расщепление сложноэфирной связи в триглицеридах, а также способные осуществлять реакцию переэтерификации – обмена структурных элементов в молекулах сложных эфиров (Безбородов, Загустина, 2014). Липазы разных организмов (животные, растения, микроорганизмы: микромицеты, бактерии) активны при разном диапазоне рН, температуры и минерализации среды. Липазы микро-

организмов, устойчивые в щелочной среде, могут быть перспективны для производства моющих средств, органического синтеза, пищевой и фармацевтической промышленности (Fujinami, Fujisawa, 2010; Sarethy *et al.*, 2011). Ферменты, стабильные в среде с высоким содержанием соли, обычно активны также в органических и водно-органических смесях (Kumar *et al.*, 2012; DasSarma, DasSarma, 2015), поэтому устойчивые к высокой минерализации среды липазы могут применяться для переэтерификации жирных кислот в биотехнологическом производстве биодизельного топлива, протекающем в присутствии органических растворителей.

Высокая специфичность липаз позволяет свести к минимуму негативные побочные реакции, связанные с образованием солей жирных кислот, по сравнению с аналогичным процессом промышленного органического синтеза (Vajaj *et al.*, 2010).

Использование липаз в качестве биокатализаторов в промышленных масштабах имеет свои недостатки: их выделение и очистка экономически затратны, а фермент в растворе не может быть использован многократно (López-Fernández *et al.*, 2021). Липазы, ассоциированные с клетками, более стабильны. Увеличить стабильность такого фермента, а также обеспечить его многократное применение можно иммобилизацией (ограничением подвижности) целых клеток продуцирующих его микроорганизмов (Zaitsev *et al.*, 2019). Микробные клетки в иммобилизованном состоянии защищены от неблагоприятных воздействий внешней среды, в результате чего они могут эффективно трансформировать субстрат в течение более длительного времени и при более высокой концентрации, а также в более широком диапазоне pH, относительно свободных клеток (Eş *et al.*, 2015), поэтому использование иммобилизованных микробных клеток в биотехнологических процессах повышает их эффективность (Максимов и др., 2007).

Амилазы (КФ 3.2.1.1) – ферменты класса гидролаз, катализирующие гидролиз крахмала с образованием декстринов или глюкоолигосахаридов. Они составляют около 25% ферментов, получаемых в производственных масштабах, используются преимущественно в пищевой промышленности (в хлебопечении, для осветления фруктовых соков), обработке бумаги и текстиля. Амилазы галоалкалофильных микроорганизмов сохраняют активность в диапазоне pH 8–11, перспективны для применения в производстве моющих средств, способны повысить эффективность процессов разжижения крахмала при промышленном использовании (Sarethy *et al.*, 2011).

В экстремальных условиях среды природного или антропогенного происхождения могут развиваться микроорганизмы с уникальными свойствами (Gupta *et al.*, 2014). В щелочной и высокоминерализованной среде микроорганизмы продуцируют внеклеточные ферменты (Fujinami, Fujisawa, 2010; Sarethy *et al.*, 2011), которые представляют интерес для биотехнологического применения в условиях высокого pH и низкой активности воды.

В связи с вышеизложенным, поиск новых продуцентов амилаз и липаз среди микроорганизмов, обитающих в щелочных высокоминерализованных биотопах, представляется перспективным для производства моющих средств, кормов для сельскохозяйственных животных, в переработке отходов.

Цель работы сфокусирована на изучении условий культивирования и иммобилизации клеток

галоалкалотолерантных штаммов *Pseudomonas peli* 3-Т – продуцента липазы, *Microbacterium kitamiense* 16-ДБ – продуцента амилазы и *Bacillus aequororis* 5-ДБ – продуцента липазы и амилазы, выделенных из грунта содового производства и содового осадка.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Бактериальные штаммы, условия культивирования и ростовые характеристики. Из грунта восстанавливаемых после эксплуатации территорий содового шламохранилища АО “Березниковский содовый завод” (г. Березники, Пермский край, Россия) были ранее выделены микроорганизмы *P. peli* 3-Т (GenBank MT860703) – продуцент липазы, *B. aequororis* 5-ДБ (GenBank MT875306) – продуцент липазы и амилазы. Из содового осадка был выделен *M. kitamiense* 16-ДБ (GenBank MT872083) – продуцент амилазы (Шилова и др., 2021).

Культуры исследуемых микроорганизмов выращивали на минеральной среде Пфеннига (г/л): KH_2PO_4 , 0.3; MgCl_2 , 0.3, CaCl_2 , 0.03; дрожжевой экстракт, 0.5; раствор микроэлементов по Липперту–Витману (1 мл). Источники азота (N): мочевины, хлорид аммония или нитрат аммония, 0.03%. Для проявления липазной активности этих бактерий использовали источники углерода (C): глицерин (чда, Россия), твин-20 (“Ferak”, Германия), твин-80 (“Ferak”, Германия), оливковое масло (“Global Village”, Испания) или подсолнечное масло (“Altero”, Россия), 1%. Для проявления амилазной активности использовали источник C: крахмал растворимый (ЗАО “ННПЦ ГИП”, Россия), 1%.

Все культуры выращивали в конических колбах (250 мл), в которые вносили 100 мл среды, инокулировали суспензией микроорганизмов (0.5 мл, $\text{ОП}_{540} = 1.0$) и инкубировали на роторной качалке (115 об./мин, 25°C, 8 сут.) Бактериальный рост оценивали по изменению ОП_{540} среды на фотоэлектрориметре КФК-3, ширина кюветы 1 см (Россия). Полученную суспензию клеток центрифугировали (14 000 g, 10 мин), осадок высушивали (50°C, 48 ч) и взвешивали. Затем строили калибровочную кривую зависимости ОП_{540} суспензии от веса клеток (г/л).

Удельную скорость роста (μ , ч⁻¹) рассчитывали по формуле:

$$\mu = 1/\text{ОП}_0 (\Delta\text{ОП}/\Delta t), \quad (1)$$

где ОП_0 – оптическая плотность при λ 540 нм в момент времени t_0 ; $\Delta\text{ОП}$ – изменение оптической плотности культуральной среды при λ 540 нм за время Δt , ч.

Сухую биомассу клеток (X) определяли по разности ее максимальной и начальной величин

$$X = X_{\max} - X_0, \text{ г/л}, \quad (2)$$

где X_0 – биомасса в начальное время, X_{\max} – максимальная биомасса по окончании культивирования.

Экономический коэффициент потребления субстрата (Y , %) определяли по формуле:

$$Y = X/C \times 100, \quad (3)$$

где X – биомасса после инкубирования, г/л; C – масса потребленного субстрата, г/л.

Определение активности липазы бактериальных штаммов. Липазную активность бактерий определяли биохимической реакцией с p -нитрофениллауратом, который под действием липазы рас-

щеплялся с образованием окрашенного продукта p -нитрофенола (Bulow, Mosbach, 1987).

Суспензию клеток (4 мл) центрифугировали (4500 g, 20 мин), отделяли супернатант, осадок 2–3 раза промывали фосфатным буфером (4 мл, pH 8) и ресуспендировали в 4 мл этого же буфера. Затем вносили 50 мкл p -нитрофениллаурата (10 мМ) и инкубировали 1 ч при 25°C. Активность липазы определяли по приросту оптической плотности при λ 405 нм (спектрофотометр Ultraspec 3000 “GE Healthcare”, США).

Удельную активность липазы (E) рассчитывали по формуле:

$$E = \text{ОП}_{405} \times 10^6 / (18.3 \times 10^3 lt), \text{ (мкмоль мин}^{-1} \text{ л}^{-1}\text{)}, \quad (4)$$

где ОП_{405} – оптическая плотность при λ 405; 10^6 – коэффициент пересчета моль в мкмоль; 18.3×10^3 – коэффициент молярной экстинкции p -нитрофенола, $\text{л} \cdot \text{см}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1}$; l – толщина кюветы, см; t – время инкубации пробы, мин.

Удельную липазную активность выражали в мкмоль продукта реакции, образующегося в минуту (E_d) на литр среды культивирования ($E_d/\text{л}$) или на мг сухих клеток ($E_d/\text{мг}$).

Определение активности амилазы бактериальных штаммов. Активность амилазы оценивали с помощью коммерческого набора реактивов Альфа-Амилаза-Ольвекс ООО “Ольвекс Диагностикум” (Россия). Реакция основана на гидролизе синтетического субстрата этилиден- p -нитрофенилмальтогептазиды с образованием нитрофенилмальтозидов, которые подвергаются дальнейшему расщеплению альфа-глюкозидазой до глюкозы и окрашенного продукта p -нитрофенола. Суспензию клеток бактерий разделяли на осадок и супернатант. Осадок промывали фосфатным буфером (4 мл, pH 8) 2–3 раза и ресуспендировали в 4 мл того же буфера. Реакцию проводили в плоскодонном 96-луночном полистироловом планшете. К 100 мкл образца добавляли 100 мкл реагента коммерческого набора, содержащего NEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота) – буферную основу, pH 8, раствор хлористого магния и натрия, α -глюкозидазу, холат натрия, азид натрия и субстрат 4,6-этилиден(G7)- p -нитрофенил-(G1)- α , D-мальтогептозид. Активность фермента определяли по изменению оптической плотности среды при λ 405 нм, измеряемой на планшетном ридере Infinite M1000 “Tecan” (Швейцария) пятикратно с интервалом в 1 мин. Активность амилазы рассчитывали по формуле (4).

Влияние pH и концентрации хлорида натрия на липазную и амилазную активность бактерий. Культуру *P. peli* 3-Т выращивали на среде с 1%-ным твином-80, *M. kitamiense* 16-ДБ – с 1%-ным крахмалом растворимым, *Bacillus aequororis* 5-ДБ – с 1%-ным крахмалом растворимым для индукции амилазной активности или 1%-ным твином-80 – липазной активности. Исследовали влияние разных концентраций NaCl (0.5, 5, 50, 100, 200 г/л) и pH (6, 8, 9, 11) на рост *P. peli* 3-Т, *M. kitamiense* 16-ДБ и *B. aequororis* 5-ДБ. После культивирования биомассу бактерий отделяли от культуральной среды центрифугированием (20 мин, 4500 g) и определяли внеклеточную и ассоциированную с клетками липазную и амилазную активность.

Иммобилизация бактериальных клеток методом адсорбции на неорганическом (каолин) и органическом (хитозан) носителях. Суспензию клеток *P. peli* 3-Т, *M. kitamiense* 16-ДБ и *B. aequororis* 5-ДБ центрифугировали (4500 g, 20 мин), надосадочную жидкость удаляли, осадок ресуспендировали в фосфатном буфере (pH 8), центрифугировали повторно при указанном режиме и осадок промывали. Затем определяли ОП_{540} суспензии клеток на фотоэлектроколориметре КФК-3 (Россия).

Суспензию клеток в фосфатном буфере смешивали с каолином (“Merck”, Германия) в соотношении 10 мл суспензии/0.5 г каолина и инкубировали 60 мин на шейкере (115 об./мин, 25°C). Затем эту суспензию фильтровали через бумажный фильтр “красная лента” (ООО “Мелиор XXI”, Россия) и определили ОП_{540} фильтрата. Осадок на фильтре промывали буферным раствором и определяли ОП_{540} промывного раствора.

Массу адгезированных (иммобилизованных) на каолине клеток ($M_{\text{кл}}$, мг) определяли по формуле:

$$M_{\text{кл}} = CV (\text{ОП}_{\text{исх}} - \text{ОП}_{\text{фильтр}} - \text{ОП}_{\text{смыв}}) / \text{ОП}_{\text{исх}}, \quad (5)$$

Таблица 1. Рост (+) бактериальных штаммов на среде Пфеннига с разными источниками углерода

Углерод, 0.1%	<i>P. peli</i> 3-Т	<i>M. kitamiense</i> 16-ДБ	<i>B. aequororis</i> 5-ДБ
Глюкоза	+	+	—
Дульцит	—	+	—
Инозит	+	+	+
Ксилоза	—	+	—
Лактоза	—	+	—
Мальтоза	—	+	+
Маннит	+	+	—
Сахароза	+	+	—
Сорбит	+	+	—
Сукцинат	+	+	+
Цитрат	+	+	—

где C — концентрация клеток в суспензии до адгезии, мг/мл, V — объем суспензии, из которой адгезировали клетки, мл; $ОП_{исх}$ — оптическая плотность суспензии клеток до адгезии; $ОП_{фильтр}$ — оптическая плотность фильтрата; $ОП_{смыв}$ — оптическая плотность промывного раствора.

Величину адсорбции A (мг сухих кл./г носителя) определили по формуле:

$$A = M_{кл} \times 1000/m, \quad (6)$$

где m — масса носителя, мг.

Для иммобилизации клеток на хитозане (“Sigma”, Япония) получали гранулы: готовили 2%-ный раствор хитозана в 2%-ной уксусной кислоте и накапывали с помощью шприца объемом 5 мл в 1 М раствор КОН, инкубировали при комнатной температуре в течение 4 ч, в результате получали отвердевшие гранулы геля хитозана. Полученные гранулы промывали 0.01 М калий-фосфатным буфером, рН 7.2 ± 0.2 до нейтральной реакции промывного раствора и затем активировали инкубацией с равным объемом 2.5%-ного глутарового альдегида 12 ч. Трижды промывали гранулы фосфатным буфером, объем которого в 2 раза превышал таковой альдегида. Затем к гранулам неактивированного и активированного глутаровым альдегидом хитозана добавляли суспензию клеток, и помещали на 4 ч в холодильник. Массу адгезированных клеток на хитозане определяли, как описано выше.

Иммобилизация бактериальных клеток *P. peli* 3-Т и *M. kitamiense* 16-ДБ методом включения в структуру геля альгината и агарозы. Суспензию бактерии смешивали со стерильным раствором 2%-ного альгината натрия (“Fluka”, Швейцария), отношение 1 : 2), а затем полученную смесь набирали в шприц и выдавливали в охлажденный 0.1 М раствор хлорида бария. Полученные таким способом

гранулы альгината бария диаметром 2 мм, содержащие клетки бактерий, ресуспендировали в свежем растворе $BaCl_2$, выдерживали 24 ч при $4-6^\circ C$ и отмывали дистиллированной водой.

Суспензию бактериальных клеток в 0.01 М калий-фосфатным буфере (рН 7.2 ± 0.2) смешивали с 4%-ным раствором агарозы (“Хеликон”, Россия) в соотношении 1 : 3 (при $40-45^\circ C$). Полученную смесь разливали в чашки Петри (слой 2 мм) и после ее застывания нарезали скальпелем на квадраты (2×2 мм).

У полученных таким образом иммобилизованных в альгинате и агарозе клеток определяли ферментативную активность.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение характеристики роста галоалкало-толерантных штаммов. Рост *P. peli* 3-Т, *M. kitamiense* 16-ДБ и *B. aequororis* 5-ДБ оценивали на среде с различными источниками С (табл. 1). Показано, что *M. kitamiense* 16-ДБ способен расти на всех 11-ти источниках С, *P. peli* 3-Т — на глюкозе, инозите, манните, сахарозе, сорбите, сукцинате, цитрате, а *B. aequororis* 5-ДБ — только на инозите, мальтозе и сукцинате.

Динамика роста *P. peli* 3-Т на среде с различными источниками С (глицерин, твин-20, подсолнечное и оливковое масло) и N (мочевина, хлорид и нитрат аммония) показана на рис. 1. Эти соединения С способны индуцировать липазную активность.

Установлено, что глицерин является лучшим источником С для накопления биомассы *P. peli* 3-Т ($ОП_{540} = 1.6 \pm 0.4$). Эти псевдомонады утилизировали также твин-20, подсолнечное и оливковое масло (в сочетании с источниками N), однако с внесением мочевины рост был наибольшим, а время адаптации к этим источникам С практически не выявлено. Следует отметить, что рост этой культуры на растительных маслах характеризовался агрегацией ее клеток, что приводило, в свою очередь, к снижению оптической плотности жидкой среды. Кроме того, на среде с растительными маслами отмечен меньший выход ее биомассы, что связано, очевидно, с их гидрофобностью и меньшей доступностью растительных масел для клеток.

Определено накопление биомассы *P. peli* 3-Т, активность внеклеточной и ассоциированной с клетками липазы, эффективность использования субстрата и удельная скорость роста в логарифмической фазе (табл. 2). Удельная скорость роста *P. peli* 3-Т была наибольшей в среде с глицерином (1%) и нитратом аммония (0.03%), однако этот источник N ингибировал активность внеклеточной липазы и в дальнейших экспериментах не использовался.

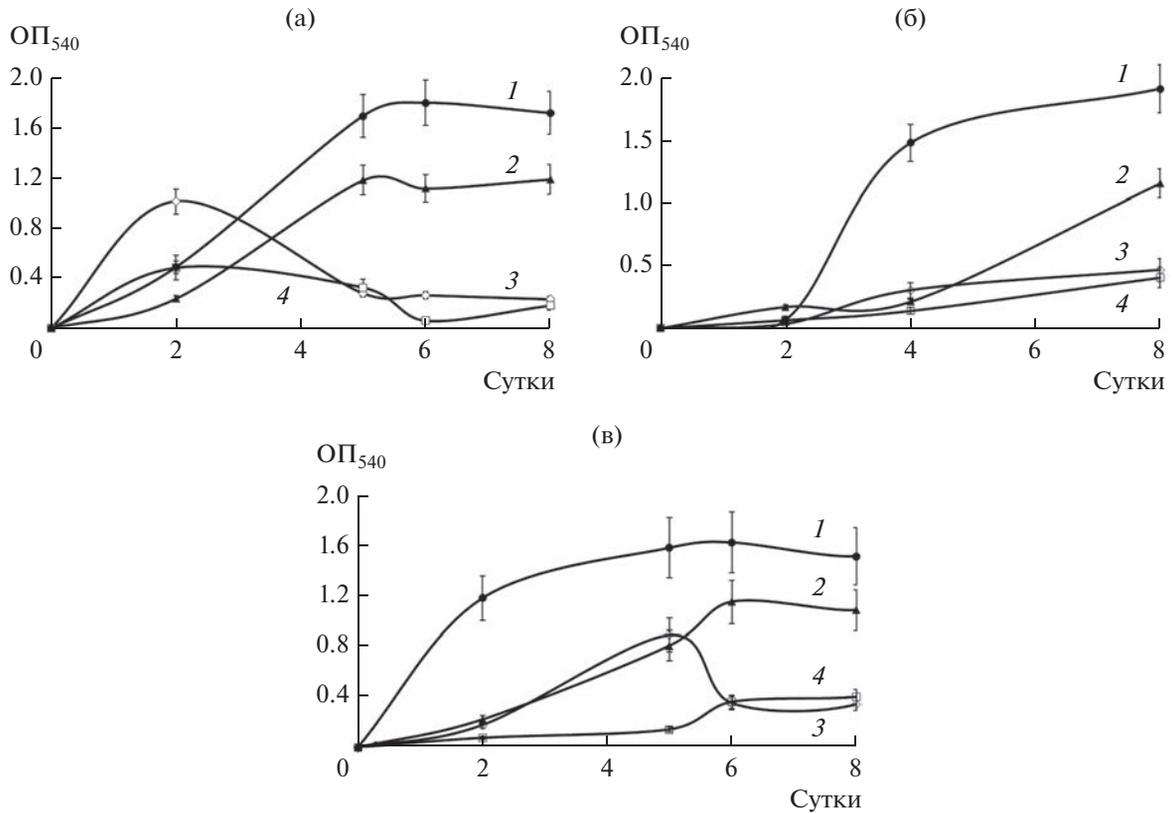


Рис. 1. Рост *P. peli* 3-Т на среде с разными источниками углерода: 1 – глицерином, 2 – твин-20, 3 – подсолнечным маслом, 4 – оливковым маслом и азота: а – мочевиной, б – нитратом аммония, в – хлоридом аммония. ОП₅₄₀ – оптическая плотность при λ 540 нм.

Наибольший выход биомассы *P. peli* 3-Т (9.1–10.5 г/л) был получен на среде с глицерином (1%), большой – с глицерином (0.5%). Также высокие значения этого показателя наблюдались при росте на твине-20 и подсолнечном масле (с мочевиной). Следовательно, наиболее эффективно используемым углеродным субстратом для *P. peli* 3-Т оказался глицерин (0.5–1%), кроме того, этот вариант эксперимента характеризовался и высоким экономическим коэффициентом потребления.

Установлено, что внесение мочевины (источник N) и глицерина (источник C) в питательную среду способствует увеличению липазной активности *P. peli* 3-Т. Активность липазы в надосадочной жидкости среды с глицерином (0.5%) и мочевиной достигала 1.26 Ед/л, а с другими источниками C и N – не превышала 0.6 Ед/л. Внесение твин-20 в среду не вызывало увеличения внеклеточной липазной активности *P. peli* 3-Т.

Ассоциированная с клетками липазная активность *P. peli* 3-Т при росте с мочевиной и глицерином (0.5 и 1%) достигала 3.02 и 1.81 Ед/мг соответственно, с другими источниками C и N не превышала 1.26 Ед/мг. Растительные масла не способствовали увеличению активности ассоциированной с клетками липазы для этого штамма.

Таким образом установлено, что мочевина и глицерин как источники N и C способствуют увеличению как внеклеточной, так и ассоциированной с клетками липазной активности *P. peli* 3-Т. Активность липазы, ассоциированной с его клетками, с твин-20 достигает 0.5–0.8 Ед/мг. В то же время растительные масла в присутствии мочевины индуцировали только внеклеточную липазу, а твин-20 – преимущественно ассоциированную с клетками. Такой факт можно объяснить гидрофобностью растительных масел: их липиды не способны проникать через клеточные мембраны (они являются субстратом только для внеклеточных липаз). Однако твин-20, как амфифильный субстрат, способен проникать в периплазматическое пространство клеток и, тем самым, становится доступным для ассоциированных с клетками липаз.

Полученные результаты свидетельствуют об индуцибельном характере экспрессии липазы у *P. peli* 3-Т, что соотносится с данными литературы для других микроорганизмов (Zhang *et al.*, 2003; Grbavčić *et al.*, 2007; Шеламова, Тырсин, 2012).

В итоге, для получения наибольшей биомассы культуры *P. peli* 3-Т, обладающей липазной активностью, предложена среда Пфеннига с добавле-

Таблица 2. Биомасса *P. peli* 3-Т в среде Пфеннига с разными источниками С и N, липазная активность (ЛА), удельная скорость роста в логарифмической фазе (μ) и экономический коэффициент потребления субстрата (Y)

С, %	N, 0.03%	Биомасса сухая, г/л	ЛА, *Ед/л (**Ед/мг)	μ , ч ⁻¹	Y, %
Глицерин, 1	(NH ₂) ₂ CO	9.3	0.6 (1.81)	0.03	93
	NH ₄ Cl	9.1	0 (1.26)	0.04	91
	NH ₄ NO ₃	10.5	0.001 (1.13)	0.41	105
Глицерин, 0.5	(NH ₂) ₂ CO	6.9	1.26 (3.02)	0.08	138
Твин-20, 1	(NH ₂) ₂ CO	6.4	0.06 (0.5)	0.04	64
	NH ₄ Cl	6.1	0.1 (0.6)	0.04	61
	NH ₄ NO ₃	6.3	0.0009 (0.8)	0.04	63
Подсолнечное масло, 1	(NH ₂) ₂ CO	8.9	0.6 (0.003)	0.1	89
	NH ₄ Cl	4.1	0 (0.007)	0.04	41
	NH ₄ NO ₃	2.5	0.13 (0.09)	0.005	25
Оливковое масло, 1	(NH ₂) ₂ CO	1.1	0.23 (0.2)	0.0003	10
	NH ₄ Cl	2.8	0.14 (0.004)	0.06	28
	NH ₄ NO ₃	2.2	0.01 (0.004)	0.02	22

Примечание. * Активность внеклеточной липазы, ** Активность липазы, ассоциированной с клеточной поверхностью.

нием глицерина (источник С, 0.5%) и мочевины (источник N, 0.3 г/л).

Влияние pH и концентрации хлорида натрия в среде культивирования на липазную и амилазную активность *P. peli* 3-Т, *M. kitamiense* 16-ДБ и *V. aquororis* 5-ДБ. Поскольку изучаемые штаммы бактерий были изолированы из щелочной среды с высокой концентрацией хлорида натрия, то мы изучили их гидролитическую активность в зависимости от этих факторов. Наибольшая активность внеклеточной липазы *P. peli* 3-Т оказалась при pH 11 и 100 г/л NaCl, а наименьшая – при pH 6. Наибольшая активность ассоциированной с клетками липазы выявлена при pH 8 и 0.5–100 г/л

NaCl (рис. 2). Высокий уровень внеклеточной липазной активности *P. peli* 3-Т проявлялся в исследованном диапазоне pH (8–11). Изменение концентрации NaCl (от 0.5 до 200 г/л) влияло незначительно на активность внеклеточной липазы при изученном диапазоне pH.

Следует отметить, что активность ассоциированной с клетками липазы, была высокой и при pH 6.0, что свидетельствует о сохранности этого фермента в периплазматическом пространстве. При pH 11 и высокой концентрации NaCl (50–200 г/л) активность ассоциированной с клетками липазы достигала 1.0–1.4 Ед/мг сух. веса клеток, а с 0.5 и 5 г/л NaCl – не превышала 0.3 Ед/мг.

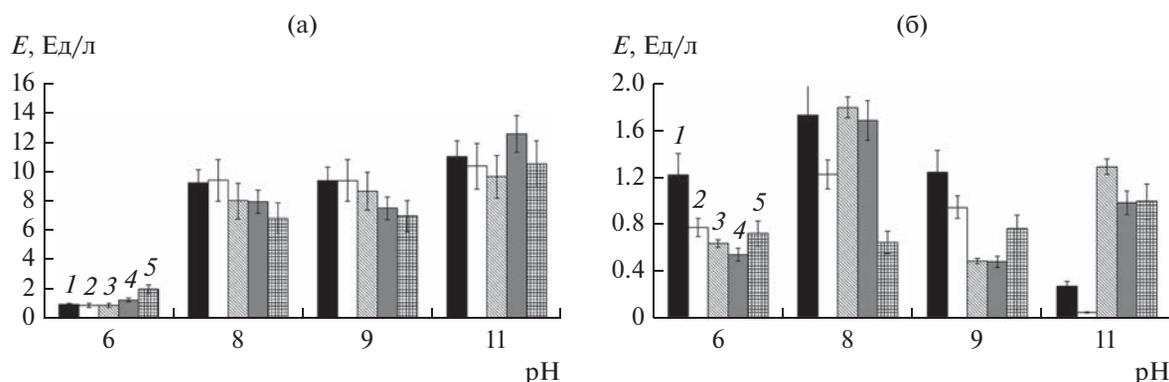


Рис. 2. Влияние pH и концентрации NaCl (1 – 0,5, 2 – 5, 3 – 50, 4 – 100, 5 – 200 г/л) на липазную активность *P. peli* 3-Т: (а) – внеклеточная, (б) – ассоциированная с клеточной поверхностью.

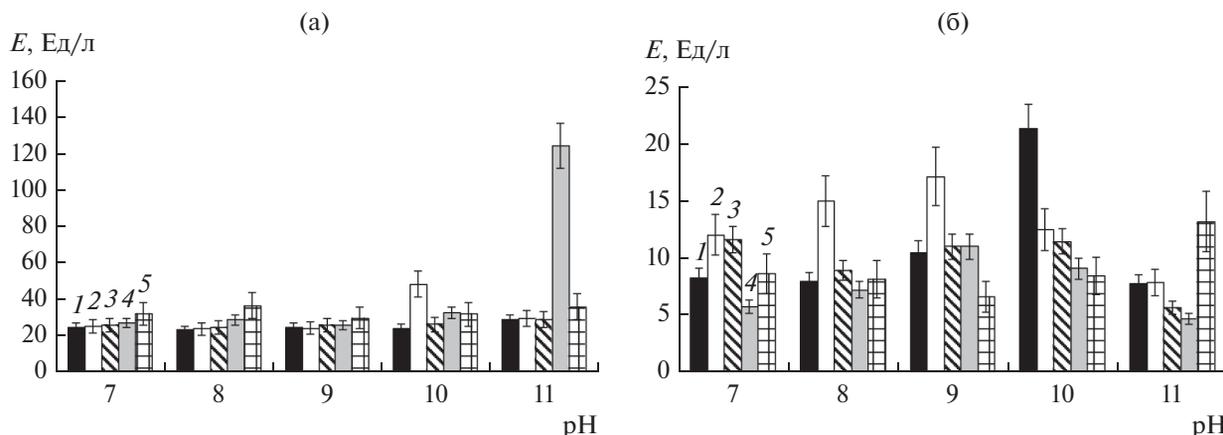


Рис. 3. Влияние pH и концентрации NaCl (1 – 0.5, 2 – 5, 3 – 50, 4 – 100, 5 – 200 г/л) на амилазную активность *M. kitamiense* 16-ДБ (а) – внеклеточная, (б) – ассоциированная с клеточной поверхностью.

Установлено, что у *M. kitamiense* 16-ДБ активность внеклеточной амилазы практически не изменялась при варьировании концентрации хлорида натрия от 0.5 до 200 г/л и pH от 7 до 11, а максимум ее активности наблюдался при pH 11 и 100 г/л соли. При этом ассоциированная с клетками амилазная активность этого штамма была максимальной при pH 10 и 0.5 г/л NaCl (рис. 3).

Штамм *B. aequororis* 5-ДБ, как упомянуто выше, обладает амилазной и липазной активностью. Показано, что *B. aequororis* 5-ДБ характеризуется высокой активностью этих внеклеточных ферментов в щелочном диапазоне pH (максимум при pH 11). В среде с pH 11 активность ферментов была выше с большим содержанием соли (50 г/л), (рис. 4). При этом ассоциированная с клетками липазная активность этого штамма была наибольшей при pH 10 и 0.5 г/л NaCl, а ассоциированная с клетками амилазная активность – при pH 9 и 0.5 г/л соли.

Показано, что наибольшая активность внеклеточных липаз и амилаз трех исследованных бактерий, выявлена при pH 11 и высокой концентрации NaCl (50–200 г/л). Очевидно, что высокое значение pH и содержание NaCl в среде для роста алкалофильных и алкалотолерантных прокариотов является благоприятным. Известно, что высокая концентрация катионов Na обеспечивает поддержание электрохимического градиента протонов в сильнощелочной среде за счет работы антипортера Na^+/H^+ (Kgulwich *et al.*, 2011). Это энергетически выгодное состояние клетки может обеспечить усиление метаболических процессов, в том числе и экспрессии генов гидролитических ферментов.

Иммобилизация клеток *P. peli* 3-Т, *M. kitamiense* 16-ДБ и *B. aequororis* 5-ДБ методом адсорбции. В биотехнологии часто возникает необходимость в иммобилизации клеток микроорганизмов. Известно, что иммобилизация клеток дает возмож-

ность многократного использования такого биокатализатора и осуществления непрерывных процессов. Адсорбция и адгезия микробных клеток на разных носителях обычно предпочтительны, поскольку не вызывают ингибирования их ферментативной активности или массообмена. Так, если липаза или амилаза ассоциированы с клеточной поверхностью или находятся в периплазматическом пространстве клетки, целесообразно иммобилизовать микробные клетки. Большинство проведенных ранее исследований по данному направлению посвящено иммобилизации клеток грибов с липазной активностью на гранулах полиуретана, полистирола, губчатых материалах естественного и искусственного происхождения (Oda *et al.*, 2005; Hama *et al.*, 2007; Tamalampudi *et al.*, 2008; Koda *et al.*, 2010; Arumugam, Ponnusami, 2014; Ferrarezi *et al.*, 2014; Surendhiran *et al.*, 2014; Amoah *et al.*, 2016; Guldhe *et al.*, 2016; Rakchai *et al.*,

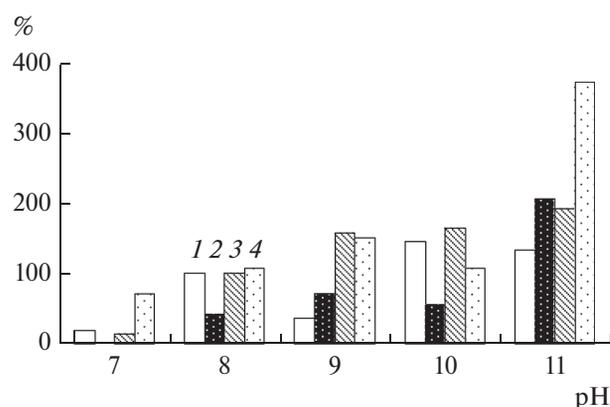


Рис. 4. Липазная (1, 2) и амилазная (3, 4) активность (% от таковой при pH 7 и 0.5 г/л NaCl) в супернатанте культуры *Bacillus aequororis* 5-ДБ при различных pH и концентрациях NaCl: 0.5 (1, 3) и 50 г/л (2, 4).

Таблица 3. Характеристика иммобилизованных клеток *P. peli* 3-Т, *M. kitamiense* 16-ДБ и *B. aequororis* 5-ДБ на разных носителях

Носитель/способ иммобилизации	Масса адсорбированных клеток, мг/г	Активность, Ед/мг	Активность после иммобилизации, %
<i>P. peli</i> 3-Т (исходная суспензия 2.17 г/л)			
Липазная активность (0.930 ± 0.251 Ед/мг)			
Каолин/адсорбция	42.6 ± 5.2	0.376 ± 0.058	40.4
Альгинат бария/включение в гель	—	0.446 ± 0.072	47.9
Агароза / включение в гель	—	0.590 ± 0.300	63.8
<i>M. kitamiense</i> 16-ДБ (исходная суспензия 3.23 г/л)			
Амилазная активность (3.445 ± 0.713 Ед/мг)			
Каолин/адсорбция	57.84 ± 2.98	0.096 ± 0.023	2.8
Неактивированный хитозан/адсорбция	7.97 ± 1.97	0.098 ± 0.015	2.8
Активированный хитозан/ковалентная сшивка	6.23 ± 1.11	0.122 ± 0.072	3.5
<i>B. aequororis</i> 5-ДБ (исходная суспензия 1.95 г/л)			
Липазная активность (20.765 ± 1.232 Ед/мг)			
Каолин/адсорбция	46.71 ± 3.45	8.819 ± 0.189	42.5
Амилазная активность (12.386 ± 0.272 Ед/мг)			
Каолин/адсорбция	46.71 ± 3.45	11.233 ± 0.19	90.7

2016). Культуру продуцента, как правило, выращивают вместе с материалом носителя, в результате чего происходит самоиммобилизация – прораствание гиф гриба в пористом материале. Такие биокатализаторы использовали в основном в процессах получения биодизельного топлива. В ряде работ показано, что иммобилизованные клетки продуцировали липазу во внешнюю среду (Taskin *et al.*, 2016). Есть и примеры иммобилизации клеток бактерий *Bacillus subtilis* (Oliveira *et al.*, 2019) и *Ralstonia pickettii* в геле агары, альгината и полиакриламида (Nemachander *et al.*, 2001).

В настоящем исследовании проводили иммобилизацию *P. peli* 3-Т и *M. kitamiense* 16-ДБ методами адсорбции на каолине и определяли ассоциированную с клетками ферментативную активность. Установлено, что при адсорбции *P. peli* 3-Т на каолине сохранялось 40.4% исходной липазной активности (табл. 3). Адсорбированные на каолине клетки *B. aequororis* 5-ДБ сохраняли 42.5% липазной и 90.7% амилазной активности. При этом наблюдалась значительная стабилизация активности этих ферментов. Кроме того, активность сохранялась для 6-ти повторных реакций трансформации субстрата (не менее 74% от исходной).

При адсорбции *M. kitamiense* 16-ДБ на каолине амилазная активность значительно снижалась и составляла лишь 2.8%. Такое снижение наблюда-

ли при адсорбции клеток этой бактерии на активированном и неактивированном хитозане (2.8 и 3.5% соответственно). Амилаза актинобактерии *M. kitamiense* 16-ДБ локализована не внутри клеток и не в периплазматическом пространстве, как у грамотрицательных бактерий, а ассоциирована с поверхностью, а также не защищена полисахаридной капсулой, как у бацилл, поэтому наблюдаемое снижение активности иммобилизованных клеток может быть обусловлено контактом с мелкодисперсным носителем (табл. 3).

Иммобилизация клеток *P. peli* 3-Т и *M. kitamiense* 16-ДБ методом включения в структуру гелей альгината бария и агарозы. При включении клеток *P. peli* 3-Т в структуру геля альгината бария и агарозы наблюдался высокий уровень сохранения активности липазы: 47.9 и 63.8% соответственно (табл. 3). Клетки в структуре альгината бария сохраняли ферментативную активность на протяжении ряда циклов использования, так за 6 циклов сохранялось 65.2% активности от таковой первого цикла. Стабильность полученного нами биокатализатора при повторных циклах трансформации субстрата была выше таковой, известной в литературе: клетки *Ralstonia pickettii* с липазной активностью использовали только 3 раза с потерей 10% активности в каждом цикле (Nemachander *et al.*, 2001).

Крахмал является высокомолекулярным полимерным субстратом, который не проникает в клетки, поэтому амилазы гидролизуют его во внеклеточной среде. Много исследований посвящено иммобилизации выделенных амилаз (Аккава *et al.*, 2012; Mageswari *et al.*, 2012; Verma, Raghav, 2021). В научной литературе есть также сведения об иммобилизации клеток дрожжей для получения амилазы в процессе их культивирования. Так, клетки *Saccharomycopsis fibuligera* A11-с были включены в структуру геля поливинилового спирта (Gen *et al.*, 2014), а клетки *Saccharomyces cerevisiae* иммобилизованы на бактериальной целлюлозе (Khanpanuek *et al.*, 2022). У культуры *M. kitamiense* 16-ДБ большая часть амилазной активности ассоциирована с клетками, поэтому в нашей работе были иммобилизованы бактериальные клетки с активностью амилазы.

Показано, что иммобилизация *M. kitamiense* 16-ДБ в структуре гелей агарозы и альгината барьера приводит к полному ингибированию амилазной активности. Ингибирование ферментативной активности амилазы может быть связано с диффузионными затруднениями при конверсии сложного полимерного субстрата иммобилизованными клетками.

Из полученных данных можно заключить, что иммобилизованные клетки *P. peli* 3-Т и *B. aequororis* 5-ДБ сохраняют значительную часть липазной и/или амилазной активности и могут эффективно использоваться для гидролиза соответствующих субстратов.

* * *

Таким образом, была изучена активность внеклеточных гидролаз (липаза, амилаза) трех алкалолентерантных штаммов (*P. peli* 3-Т, *B. aequororis* 5-ДБ, *M. kitamiense* 16-ДБ) в условиях повышенного значения pH и содержания хлорида натрия. Наибольшая активность липазы (*P. peli* 3-Т и *B. aequororis* 5-ДБ) и амилазы (*M. kitamiense* 16-ДБ и *B. aequororis* 5-ДБ) выявлена при сочетании высокого значения pH (11) и содержания NaCl (50–200 г/л) в среде. Показано, что клетки *P. peli* 3-Т, иммобилизованные на каолине, в геле альгината барьера и агарозы, сохраняли 40–64% исходной активности липазы; *B. aequororis* 5-ДБ (каолин) – 42% липазы и 91% амилазы; *M. kitamiense* 16-ДБ (каолин, хитозан) – 3–4% амилазы. Галоалкалолентерантные бактерии, выделенные из высокоминерализованной щелочной среды антропогенного происхождения (содового шламоохранилища), могут быть перспективными продуцентами ферментов для производства моющих средств, переработки биогенного сырья, отходов пищевой промышленности и сельского хозяйства.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Правительства Пермского края в рамках научного проекта № С-26/507, идентификация штаммов выполнена в рамках темы “Поиск и селекция новых перспективных микроорганизмов для целей биотехнологии. Создание иммунохимических диагностических систем”, номер государственной регистрации НИОКТР 122010800029-1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Безбородов А.М., Загустина Н.А. Липазы в реакциях катализа в органическом синтезе (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2014. Т. 50. № 4. С. 347–373.
- Максимов А.Ю., Максимова Ю.Г., Кузнецова М.В., Олонцев В.Ф., Демаков В.А. Иммобилизация на углеродных сорбентах клеток штамма *Rhodococcus ruber* gt1, обладающего нитрилгидратазной активностью // Прикладная биохимия и микробиология. Т.43. № 2. 2007. С. 193–198.
- Шеламова С.А., Тырсин Ю.А. Индукция биосинтеза липаз микромицетом. Вестник ОГУ. 2012. № 1(137). С. 172–176.
- Шилова А.В., Максимов А.Ю., Максимова Ю.Г. Выделение и идентификация алкалолентерантных бактерий с гидролитической активностью из содового шламоохранилища // Микробиология. 2021. Т. 90. № 2. С. 155–165.
- Akkaya B., Yenidunya A.F., Akkaya R. Production and immobilization of a novel thermoalkalophilic extracellular amylase from bacilli isolate // Int. J. Biol. Macromol. 2012. V. 50. P. 991–995.
- Amoah J., Ho S.-H., Hama S., Yoshida A., Nakanishi A., Hasunuma T., Ogino C., Kondo A. Converting oils high in phospholipids to biodiesel using immobilized *Aspergillus oryzae* whole-cell biocatalysts expressing *Fusarium heterosporum* lipase // Biochem. Eng. J. 2016. V. 105. P. 10–15.
- Arumugam A., Ponnusami V. Biodiesel production from *Calliphylum inophyllum* oil using lipase producing *Rhizopus oryzae* cells immobilized within reticulated foams // Renewable Energy. 2014. V. 64. P. 276–282.
- Bajaj A., Lohan P., Jha P.N., Mehrotra R. Biodiesel production through lipase catalyzed transesterification: An overview // J. Mol. Catal. B: Enzym. 2010. V. 62. P. 9–14.
- Bulow L., Mosbach K. The expression in *E. coli* of a polymeric gene coding for an esterase mimic catalyzing the hydrolysis of p-nitrophenyl esters // FEBS Lett. 1987. V. 210. P. 147–152.
- DasSarma S., DasSarma P. Halophiles and their enzymes: Negativity put to good use // Curr. Opin. Microbiol. 2015. V. 25. P. 120–126.
- Eş I., Vieira J.D.G., Amaral A.C. Principles, techniques, and applications of biocatalyst immobilization for industrial application // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2015. V. 99. P. 2065–2082.

- Ferrarezi A.L., Ohe T.H.K., Borges J.P., Brito R.R., Siqueira M.R., Vendramini P.H., Quilles Jr.J.C., Nunes C. da C.C., Bonilla-Rodriguez G.O., Boscolo M., Da-Silva R., Gomes E.* Production and characterization of lipases and immobilization of whole cell of the thermophilic *Thermomucor indicae seudaticae* N31 for transesterification reaction // *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 2014. V. 107. P. 106–113.
- Fujinami S., Fujisawa M.* Industrial applications of alkaliphiles and their enzymes – past, present and future // *Environ. Technol.* 2010. V. 31(8–9). P. 845–856.
- Gen Q., Wang Q., Chi Z.-M.* Direct conversion of cassava starch into single cell oil by co-cultures of the oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides* and immobilized amylase-producing yeast *Saccharomycopsis fibuligera* // *Renewable Energy.* 2014. V. 62. P. 522–526.
- Grbavčić S.Ž., Dimitrijević–Branković S.I., Bezbradica D.I., Šiler–Marinković S.S., Knežević Z.D.* Effect of fermentation conditions on lipase production by *Candida utilis* // *J. Serb. Chem. Soc.* 2007. V. 72(8–9). P. 757–765.
- Guldhe A., Singh P., Kumari S., Rawat I., Permaul K., Bux F.* Biodiesel synthesis from microalgae using immobilized *Aspergillus niger* whole cell lipase biocatalyst // *Renewable Energy.* 2016. V. 85. P. 1002–1010.
- Gupta G.N., Srivastava S., Khare S.K., Prakash V.* Extremophiles: an overview of microorganism from extreme environment // *Int. J. Agriculture, Environment & Biotechnol.* 2014. V. 7(2). P. 371–380.
- Hama S., Yamaji H., Fukumizu T., Numata T., Tamalampudi S., Kondo A., Noda H., Fukuda H.* Biodiesel-fuel production in a packed-bed reactor using lipase-producing *Rhizopus oryzae* cells immobilized within biomass support particles // *Biochem. Eng. J.* 2007. V. 34. P. 273–278.
- Hemachander C., Bose N., Puvanakrishnan R.* Whole cell immobilization of *Ralstonia pickettii* for lipase production // *Process Biochem.* 2001. V. 36. P. 629–633.
- Khanpanuek S., Lunprom S., Reungsang A., Salakkam A.* Repeated-batch simultaneous saccharification and fermentation of cassava pulp for ethanol production using amylases and *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on bacterial cellulose // *Biochem. Eng. J.* 2022. V. 177. 108258.
- Koda R., Numata T., Hama S., Tamalampudi S., Nakashima K., Tanaka T., Ogino C., Fukuda H., Kondo A.* Ethanolysis of rapeseed oil to produce biodiesel fuel catalyzed by *Fusarium heterosporum* lipase-expressing fungus immobilized whole-cell biocatalysts // *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 2010. V. 66. P. 101–104.
- Krulwich T.A., Liu J., Morino M., Fujisawa M., Ito M., Hicks D.B.* Adaptive mechanisms of extreme alkaliphiles / In book: *Extremophiles Handbook*. Ed. K. Horikoshi. Springer, 2011. P. 119–139.
- Kumar S., Karan R., Kapoor S., Singh S.P., Khare S.K.* Screening and isolation of halophilic bacteria producing industrially important enzymes // *Brazil. J. Microbiol.* 2012. V. 43(4). P. 1595–1603.
- López-Fernández J., Benaiges M.D., Valero F.* Second- and third-generation biodiesel production with immobilised recombinant *Rhizopus oryzae* lipase: Influence of the support, substrate acidity and bioprocess scale-up // *Biores. Technol.* 2021. V. 334. 125233
- Mageswari A., Subramanian P., Chandrasekaran S., Sivasanmugam K., Babu S., Gothandam K.M.* Optimization and immobilization of amylase obtained from halotolerant bacteria isolated from solar salterns // *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 2012. V. 10. P. 201–208.
- Oda M., Kaieda M., Hama S., Yamaji H., Kondo A., Izumoto E., Fukuda H.* Facilitatory effect of immobilized lipase-producing *Rhizopus oryzae* cells on acyl migration in biodiesel-fuel production // *Biochem. Eng. J.* 2005. V. 23. P. 45–51.
- Oliveira A.F., Bastos R.G., de la Torre L.G.* *Bacillus subtilis* immobilization in alginate microfluidic-based micro-particles aiming to improve lipase productivity // *Biochem. Eng. J.* 2019. V. 143. P. 110–120.
- Rakchai N., H-Kittikun A., Zimmermann W.* The production of immobilized whole-cell lipase from *Aspergillus niger* ST57 and the enhancement of the synthesis of fatty acid methyl esters using a two-step reaction // *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 2016. V. 133. S128–S136.
- Sarethy I.P., Saxena Y., Kapoor A., Sharma M., Sharma S.K., Gupta V., Gupta S.* Alkaliphilic bacteria: applications in industrial biotechnology // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2011. V. 38. P. 769–790.
- Surendhiran D., Vijay M., Sirajunnisa A.R.* Biodiesel production from marine microalga *Chlorella salina* using whole cell yeast immobilized on sugarcane bagasse // *J. Environ. Chem. Eng.* 2014. V. 2(3). P. 1294–1300.
- Tamalampudi S., Talukder M.R., Hama S., Numata T., Kondo A., Fukuda H.* Enzymatic production of biodiesel from *Jatropha* oil: A comparative study of immobilized-whole cell and commercial lipases as a biocatalyst // *Biochem. Eng. J.* 2008. V. 39. P. 185–189.
- Taskin M., Ucar M.H., Unver Y., Kara A.A., Ozdemir M., Ortucu S.* Lipase production with free and immobilized cells of cold-adapted yeast *Rhodotorula glutinis* HL25 // *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2016. V. 8. P. 97–103.
- Verma N.K., Raghav N.* Comparative study of covalent and hydrophobic interactions for α -amylase immobilization on cellulose derivatives // *Int. J. Biol. Macromol.* 2021. V. 174. P. 134–143.
- Zaitsev S.Yu., Savina A.A., Zaitsev I.S.* Biochemical aspects of lipase immobilization at polysaccharides for biotechnology // *Adv. Colloid Interface Sci.* 2019. V. 272. 102016.
- Zhang L.Y., Wei D.Z., Tong W.Y.* Effective inducers for lipase production by *Candida rugosa* // *Ann. Microbiol.* 2003. V. 53(4). P. 499–504.

Physiological and Biochemical Characteristics, and Biotechnological Potential of Hydrolitic Haloalkalitolerant Bacteria of Soda Sludge Storage

Yu. G. Maksimova^{1, 2, #}, A. V. Shilova¹, V. V. Egorova¹, V. A. Shchetko³, and A. Yu. Maksimov^{1, 2}

¹ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Golev str., 13, Perm, 614081 Russia

² Perm State University, Bukirev str., 15, Perm, 614990 Russia

³ Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences, Kuprevich str., 2, Minsk, 220141 Belarus

#e-mail: maks@iegm.ru

Peculiarities of manifestation of hydrolytic activity of haloalkalitolerant bacteria *Pseudomonas peli* 3-T, *Microbacterium kitamiense* 16-DB, and *Bacillus aequororis* 5-DB, isolated from the soil of the territory of the soda sludge storage and the soda sludge of the functioning sludge reservoir of Berezniki Soda Plant (Perm Territory, Russia) were studied. It was shown that the maximum activity of extracellular lipases and amylases of the three studied bacteria were manifested at pH 11 and a high concentration of sodium chloride (50–200 g/L). Cultivation of *P. peli* 3-T on a mineral medium with 0.5% glycerol (source of carbon) and 0.03% urea (source of nitrogen) makes it possible to obtain biomass (6.9 g/L) and activity of extracellular lipase (1.26 U/L) and lipase associated with cells (3.02 U/mg dry cells) with a high economic ratio of substrate consumption (138%). The efficiency of immobilization of *P. peli* 3-T and *B. aequororis* 5-DB cells for use in lipid and starch biotransformation was shown. *P. peli* 3-T cells immobilized by adsorption on kaolin and incorporated into the structure of barium alginate and agarose gels retained from 40.4 to 63.8% of the cell lipase activity in suspension. *B. aequororis* 5-DB cells immobilized by adsorption on kaolin retained 42.5% of lipase and 90.7% of amylase activity as compared to the initial ones. At the same time, the activities of the *P. peli* 3-T and *B. aequororis* 5-DB enzymes were preserved during 6 consecutive reactions. The amylase activity of immobilized *M. kitamiense* 16-DB cells by adsorption on kaolin and chitosan decreased to 2.7–3.5% of the initial value and was completely inhibited upon immobilization by cell's entrapment into barium alginate gels or agarose gels.

Keywords: amylase, lipase, cultivation, immobilization of bacterial cells, halotolerant bacteria, alkalitolerant bacteria

УДК 581.9(571.65)

БАССЕЙН Р. КАВА (СЕВЕРНАЯ ОХОТИЯ) КАК ВАЖНЕЙШАЯ ТОЧКА РАЗНООБРАЗИЯ ВОДНЫХ МАКРОФИТОВ СЕВЕРНОЙ ПАЦИФИКИ

© 2023 г. А. А. Бобров*, **, @, О. А. Мочалова***, Е. В. Чемерис*

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, пос. Борок,
Некоузский р-н, Ярославская обл., 152742 Россия

**Тюменский государственный университет, AquaBioSafe, ул. Ленина, 25, Тюмень, 625003 Россия

***Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, ул. Портовая, 18, Магадан, 685000 Россия

@E-mail: lsd@ibiw.yaroslavl.ru

Поступила в редакцию 09.02.2022 г.

После доработки 03.06.2022 г.

Принята к публикации 07.06.2022 г.

Водные макрофиты бассейна р. Кава представлены 4 видами макророс и 51 видом и 4 гибридами сосудистых растений. Флора Магаданской обл. дополнена 3 видами и 3 гибридами: *Aegagropis moravica*, *Equisetum arvense* × *E. scirpoides*, *Elatine* aff. *triandra* vel *americana*, *Potamogeton* × *vepsicus*, *Spartanium chlorocarpum* и *S. chlorocarpum* × *S. gramineum*. Почти все виды водных сосудистых растений, охраняемых в Магаданской обл. (10 из 11), сконцентрированы и обильны в бассейне Кавы, 3 “краснокнижных” вида в Хабаровском крае обнаружены также в ее бассейне и с высоким обилием. По флористическому разнообразию водные объекты группируются по сходству экологических условий, а не по их географическому расположению. Практически все разнообразие водных макрофитов сосредоточено в озерах. Наибольшим богатством и концентрацией редких таксонов здесь выделяется озеро-речная система р. Чукча, которая сильнее изолирована от холодных морских ветров. Богатая водная флора и растительность в бассейне Кавы сформировалась и поддерживается благодаря особым благоприятным микроклиматическим условиям закрытой долины крупной реки, существованию многочисленных водных объектов разного возраста и генезиса с широким варьированием гидрологических и гидрохимических параметров, возможности перемещения зачатков водных растений по развитой озеро-речной сети. Уникальная озеро-речная система Кавы требует повышенного внимания и охраны.

Ключевые слова: биоразнообразие, гибриды, новые таксоны, редкие виды, реки и озера

DOI: 10.31857/S1026347022700032, EDN: HADBJC

Река Кава (в нижнем течении после слияния с р. Челомджа называется р. Тауй) — одна из крупных рек бассейна Охотского моря (рис. 1). На большем своем протяжении русло и долина реки расположены параллельно морскому побережью на северо-востоке Хабаровского края и юго-западе Магаданской обл., представляя собой естественный экологический коридор в этой части Охотии. Обширная озеро-речная система р. Кава — место транзитных остановок мигрирующих вдоль восточно-палеарктической трассы водоплавающих птиц, а также гнездования множества видов, в том числе редких (Андреев, 2001, 2013). Поэтому в бассейне Кавы в Хабаровском крае расположен природный заказник краевого значения “Кава”, площадью 6077 км², а в Магаданской обл. левобережье реки входит в состав Кава-Челомджинского участка государственного заповедника “Магаданский”, площадью 6244 км², а значительная часть правобережья, включая озеро-

речную систему р. Чукча, в областной комплексный заказник “Кавинская долина”, площадью 2553 км². Кроме того, вся эта территория включена в перечень особо ценных водно-болотных угодий России и имеет международный статус (Андреев, 2001).

Флора долины р. Кава (Тауй) в пределах Магаданской обл. впервые была изучена А.П. Хохряковым (1987), опубликовавшим сведения о находках 35 новых и редких в регионе видов, из которых значимая часть (23) — это водные и прибрежно-водные растения, а чуть меньше половины из них (14) — новые находки видов, которые ранее были неизвестны для Прибрежно-Охотского флористического района. Позднее эти результаты были учтены в очерке по флоре и растительности заповедника (Беркутенко и др., 1989). Начиная с 2002 г., полевые исследования флоры и растительности в бассейне Кавы периодически проводились О.А. Мочаловой. Особое внимание было уделено изучению



Рис. 1. Район исследований. Водные объекты: 1 – р. Кава, 2 – оз. Сборное, 3 – оз. Лебязжье, 4 – оз. Нам, 5 – малые озера левобережья р. Кава, 6 – оз. Островки, 7 – р. Чукча, 8 – оз. Чукча, 9 – оз. Малая Чукча, 10 – оз. Безымянка, 11 – оз. Затон, 12 – малые озера по р. Чукча, 13 – оз. Кутана. Полигоны очерчивают системы малых озер 5 и 12.

водных сосудистых растений междуречья рек Халкинджа и Невта в 2003 г., правым притокам р. Челомджа, расположенных в левобережной части водосбора р. Кава, и р. Чукча в 2016 г. Частично эти данные были использованы при составлении конспекта флоры заповедника (Мочалова и др., 2011), также были опубликованы основные флористические находки сосудистых р. Чукча (Мочалова, Бобров, 2017) и харовых водорослей исследованного бассейна (Chemeris *et al.*, 2020). Полученные предварительные сведения показали, что водная флора (макроводоросли и сосудистые растения) бассейна Кавы отличается высоким разнообразием и уникальностью.

Обычно виды южного распространения могут продвигаться по долинам рек, текущих в меридиональном направлении, далеко на север (Кожевников, 1996; Фащевский, 2007; Бобров, Мочалова, 2017; Chemeris *et al.*, 2020), но поскольку р. Кава протекает в широтном направлении с запада на восток, актуально изучение разнообразия водных макрофитов, закономерностей их распространения и особенностей условий обитания в ее долине, а также причин неожиданно высокого разнообразия и его специфики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Целенаправленное изучение водных макрофитов (макроводоросли и сосудистые растения) в бассейне Кавы было проведено летом 2017 г. О.А. Мочаловой в оз. Сборное и участках долины реки, расположенных ниже по течению (Хабаровский край), а в 2018 и 2021 гг. А.А. Бобровым и О.А. Мочаловой в среднем и нижнем течении р. Кава и по ее левому притоку р. Чукча (Магаданской обл.). Водные макрофиты собирались в руслах, в протоках, в основных озерах пойменно-долинного комплекса.

Кроме того, были учтены неопубликованные данные О.А. Мочаловой за предшествующие годы (с 2003 до 2016 г.) и материалы гербарных коллекций MAG и IBIW. Идентификация некоторых сложных таксонов проведена не только по морфологическим и анатомическим признакам, но и с использованием молекулярных маркеров (по аналогии: Voedecker *et al.*, 2010; Bobrov *et al.*, 2018). Семейства сосудистых растений расположены по системе, ранее использованной нами (Бобров, Мочалова, 2017; Бобров и др., 2021б), подчиненных таксонов – по алфавиту. Типы ареалов (широтные и долготные группы) ориентированы на работы Юрцева с соавт. (Юрцев и др., 2010). Виды, объем которых в настоящий момент для авторов до конца не понятен, приняты в широком смысле с вклю-

чением географических и экологических рас (табл. S1).

Исследованные водные объекта в анализе рассматриваются отдельно, за исключением 2 групп мелких озер размером менее 0.01 км², расположенных рядом друг с другом в одном ландшафте (рис. 1, табл. S1). Данные о распространении и встречаемости видов для конкретных водоемов или их групп приводятся на основании оригинальных и опубликованных данных. Встречаемость вида (таксона) оценивали по 3-балльной шкале: редко (1) – таксон обнаружен на 1–3 (<30%) участках или группах водных объектов; изредка (2) – на 4–8 (30–60%) группах; часто (3) – отмечен более чем на 9 (>60%) группах. В водных объектах с помощью портативного многопараметрового анализатора Hanna HI 98129 измеряли основные характеристики водной среды (температура, общая минерализация, pH) (табл. S1), визуально оценивали режим обводнения, грунты, характер нарушений. Статистическая обработка данных (кластерный анализ) была проведена в программе Statistica 7.0. Гербарные материалы хранятся в гербариях IBiW и MAG, часть дублетов передана в MW.

Природные условия. Река Кава имеет длину 378 км, протекает по озерно-аллювиальной Кавинской равнине средне-четвертичного возраста. Она расположена на Кавинско-Тауйской неотектонической впадине, заполненной слабо фильтрующимися песчано-галечниковыми отложениями мощностью до 1000 м, вследствие чего сильно заболочена (Север Дальнего Востока, 1970).

Кавинская равнина простирается с запада на восток на 120 км и на 40–60 км с юга на север. В центральной части этой впадины располагается обширная аллювиальная терраса с глубокой термокарстовой переработкой, наиболее выраженная на левобережье р. Кава. В нее врезаны термокарстовые западины с системой мелководных, разнообразных по форме и размерам озер, а основная поверхность расчленена на пологие, плоские увалы высотой 10–15 м. В моренных флювиогляциальных комплексах, распространенных на правобережье р. Кава в бассейнах рек Кавинка и Чукча, выражены моренные гряды высотой 50–70 м, сложенные валунниками с супесями и суглинками, перекрытыми современными торфяно-суглинистыми отложениями. Здесь обильны преимущественно подпорные озера, заполняющие впадины различной глубины (Егорова, 2015). С севера, востока и запада равнина обрамлена горными массивами высотой 600–1200 м. На юге участок отделен от акватории Охотского моря горами Чуткавар – узким краем с отметками 900–1000 м. В юго-восточной части эти горы понижаются, уступая просторство низкому безлесному перешейку шириной ~10 км, который соединяет Кавинскую долину с побережьем залива Шельтинга (Андреев, 2001). Несмотря на до-

статочно южное расположение (59° с.ш.), здесь господствует субарктический морской климат – зима долгая, весна растянутая, лето умеренно холодное, так как отчетливо проявляется охлаждающее влияние моря (Север Дальнего Востока, 1970; Агроэкологический атлас, 2008). Однако невысокий горный хребет, отделяющий долину от побережья, оказывает заметное тепляющее воздействие на климат долины (Хохряков, 1987). Специфика района исследования – в повсеместном распространении многолетних мерзлотных пород и термокарстовых проявлений, в том числе и в долине Кавы (Кулаков, 1973; Егорова, 2015), что определяет характер и особенности гидрографической сети – преобладание и широкое распространение термокарстовых озер.

Река Кава на большей части своего течения имеет равнинный характер и сильно меандрирует, и только в самых верховьях, на небольшом участке, где она прорезает Хеинджанский хребет, – горный. Годовой ход уровня воды характеризуется высокими весенними паводками и внезапными летне-осенними подъемами уровня воды. Зимой сохраняются многочисленные полыньи. Галечные аллювиальные косы и острова, типичные для рек региона, распространены на ограниченных участках верхнего и среднего течения. В нижнем и на большей части среднего течения основные грунты песчаные, песчано-илистые, приречные террасы сложены также песком, многочисленны периодически обсыхающие пляжи и косы. Из-за отсутствия аллювиальной галечной островной поймы, характерной для рек Северной Охотии, пойменные тополево-чозениево-ивовые леса представлены только в верхнем течении. Вместо них вдоль русла реки узкой полосой (от 10 до 100 м) тянутся лиственнично-березовые и лиственничные леса, которые сменяются при удалении от русла обширными заболоченными закустаренными осоково-вейниковыми кочкарниками со спиреей (Хохряков, 1987; Андреев, 2001).

В долине Кавы множество озер разного возраста и происхождения. Особенно многочисленны они в нижнем и среднем течении, где река дренирует древнюю средне-четвертичную водноледниковую равнину. Большинство озер по размерной классификации (Мякишева, 2009) – это озера (площадь 0.001–0.01 км²) и малые озера (1–10 км²) (табл. S1). В Хабаровском крае долинные озера относятся к малым, в том числе и самое крупное из них оз. Сборное. В южной части Кавинской равнины в 20 км от моря расположено среднее оз. Чукча – один из самых крупных долинных водоемов Магаданской обл. Заметными размерами также выделяются озера Лебяжье, Малая Чукча, Безымянка, Нам и некоторые др. (табл. S1).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разнообразие водных растений. В бассейне р. Кава обнаружено 4 вида зеленых нитчатых и харовых макроводорослей из 2 родов и 2 семейств и 51 вид и 4 гибрида водных сосудистых растений из 31 рода и 25 семейств (табл. S1). Такое разнообразие водных сосудистых одно из самых высоких в Магаданской обл. – примерно 2/3 всех водных региона, и уступает лишь более протяженной долине Колымы (~1000 км), где найдено 59 видов и 3 гибрида (Бобров, Мочалова, 2017).

Наибольшее число таксонов отмечено в семействах Potamogetonaceae (8 видов и 2 гибрида), Ranunculaceae (5 видов), Poaceae (4 вида), Turfgrassaceae (3 вида и 1 гибрид). Большинство родов представлены 1–2 таксонами (табл. S1), исключение составляют среди харовых *Nitella* (3 вида), среди сосудистых *Potamogeton* (8 видов и 2 гибрида), *Ranunculus* (4 вида), *Sparganium* (3 вида и 1 гибрид), *Eleocharis*, *Myriophyllum* и *Utricularia* (по 3 вида). Гибриды составляют 7.3% от общего разнообразия сосудистых, что чуть ниже показателя для долины р. Колыма – 9.2% (Бобров, Мочалова, 2017) и восточной Чукотки – 9.1% (Бобров и др., 2021б).

В экологическом спектре все макроводоросли – гидрофиты. Среди сосудистых растений преобладают облигатно-водные растения (гидрофиты, гигрогидрофиты, гидрогидрофиты) – 48 таксонов (87%), остальные 7 (13%) представлены растениями избыточно увлажненных береговых местообитаний (гидрофиты). Среди собственно водных растений наиболее разнообразны гидрофиты (растения, постоянно погруженные в воду) – 29 таксонов (53%), более чем в 2 раза меньше группа гидрогидрофитов (растений прибрежной зоны) – 13 таксонов (23%) и всего 6 таксонов (11%) представлены гигрогидрофиты (воздушно-водные растения, побеги которых частично погружены в воду). Такой спектр в целом характерен для региональных водных флор, формирующихся в водных объектах со слабо выраженным переходом между водными и береговыми экотопами, что ограничивает участие гидрофитов, а также в условиях активного ветро-волнового воздействия и резкого переменного уровня воды, позволяя занимать растениям глубоководные экотопы или затишные прибрежные (Бобров, Мочалова, 2017; Бобров и др., 2021б).

Соотношение географических элементов также достаточно традиционно для региона (Бобров, Мочалова, 2017; Бобров и др., 2021б). Макроводоросли – широко распространенные виды (плюризональные, плюрирегиональные). У сосудистых растений среди широтных групп преобладают плюризональные (19, или 35%) и арктобореальные (17, или 31%) виды, меньший вклад вносят арктические (4) и бореальные (11). В долготной группе наиболее значимы голарктические элементы (31, или 56%), менее евразийские (7) и плюрирегио-

нальные (6), среди последних 4 биполярных, региональную специфику подчеркивают виды восточноазиатского (3), азиатско-североамериканского (2), азиатского (1), восточноазиатско-тихоокеанского (1) распространения. Кроме того, отмечены 4 безареальных гибрида.

По встречаемости все найденные макроводоросли (4 вида) редки. Среди сосудистых встречаются редко 13 таксонов (24%), изредка – 22 (40%), часто – 20 (36%). Характер встречаемости среди последних близок с водными флорами Колымы (Бобров, Мочалова, 2017) и восточной Чукотки (Бобров и др., 2021б).

По типам водных объектов наибольшее разнообразие водных макрофитов представлено в озерах – 57 таксонов (4 таксона макроводорослей и 53 сосудистых) (~97% от общего разнообразия), тогда как в реках зарегистрировано всего 29 (27 и 2) (53%). Разнообразие отдельных водных объектов заметно варьирует: максимальное число видов и гибридов сосредоточено в малых озерах по р. Чукча (46: 1 вид макроводорослей и 45 таксонов сосудистых) и левобережью р. Кава (40: только сосудистые), а наименьшее – в русле р. Чукча (12: 1 вид макроводорослей и 11 таксонов сосудистых).

Уникальна озерно-речная система р. Чукча (правый приток первого порядка р. Кава), включающая собственно реку, озера Чукча, Малая Чукча, Безымянка, Затон и другие многочисленные малые озера в долине реки, связанные с рекой протоками (рис. S1). Она, при своей небольшой протяженности (~20 км без учета меандров, но более 40 км с их учетом) и занимаемой площади (~20% от всего исследованного участка), представляет собой настоящую “горячая точка” разнообразия водных макрофитов, так как здесь сосредоточено 57 таксонов (4 вида макроводорослей и 53 таксона сосудистых), это почти 97% таксонов, отмеченных для всего исследованного участка долины р. Кава (табл. S1), протяженностью более 170 км и площадью более 700 км². При этом основной вклад в разнообразие (46 таксонов, или 81%) приходится на малые долинные озера по р. Чукча (водные объекты 12).

Ряд таксонов избирательны по отношению к определенному типу местообитаний. Исключительно в русловых экотопах р. Кава найдены 2 рдста: *Potamogeton maackianus* и *P. × vepsicus*. Только в долинных озерах, большинство из которых малые, отмечены 28 таксонов (2 макроводорослей, 26 сосудистых), среди них *Aegagropilopsis moravica*, *Nitella opaca*, *Elatine orthosperma*, *Isoetes asiatica*, *Myriophyllum ussuriense*, *Nuphar pumila*, *Nymphaea tetragona*, *Subularia aquatica* и др. Остальные 29 видов (2 и 27) встречаются вне зависимости от типа местообитаний.

Пространственное распределение разнообразия макрофитов. В результате кластерного анализа

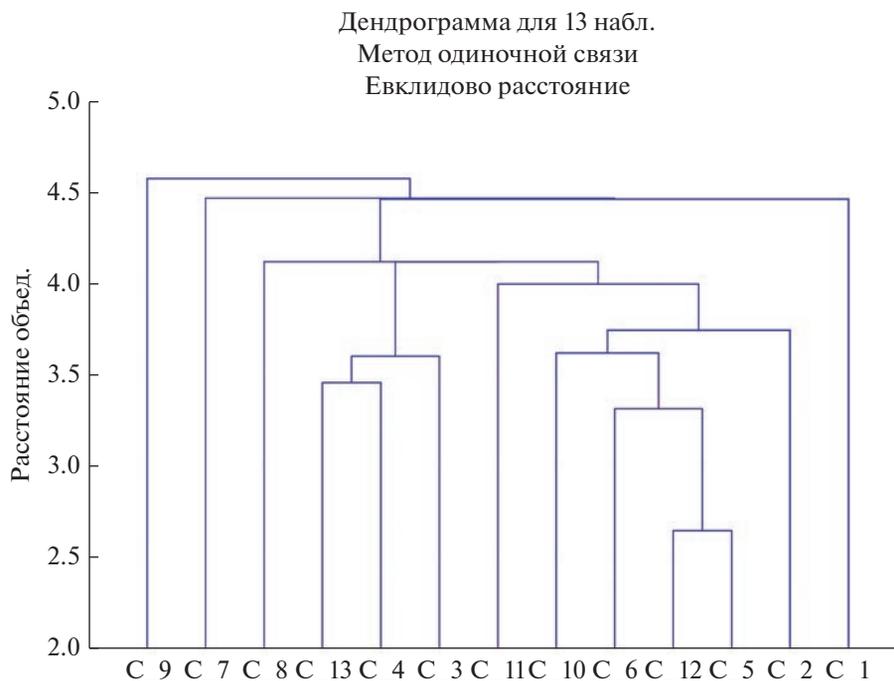


Рис. 2. Дендрограмма взаимных связей флористического разнообразия водных объектов бассейна р. Кава, построена методом одиночной связи (ближайшего соседа), Евклидово расстояние на основе матрицы видового состава. Водные объекты (C_1–C_13): 1 – р. Кава, 2 – оз. Сборное, 3 – оз. Лебяжье, 4 – оз. Нам, 5 – малые озера левобережья р. Кава, 6 – оз. Островки, 7 – р. Чукча, 8 – оз. Чукча, 9 – оз. Малая Чукча, 10 – оз. Безымянка, 11 – оз. Затон, 12 – малые озера по р. Чукча, 13 – оз. Кутана.

флористического разнообразия (сходство по методу ближнего соседа) водных объектов (рис. 2) выделились кластеры речных и озерных местообитаний: хорошо обособлены флоры русел рек Кава и Чукча (C_1, C_7) и озерные флоры (C_2–C_6, C_8, C_9–C_13). Среди озер наибольшей оригинальностью видового состава выделяется Малая Чукча (C_9) и Чукча (C_8), где обитают не встреченные в других озерах макроводоросли. Интересно, что озера распределились по двум кластерам, в которые вошли водоемы, достаточно удаленные друг от друга географически и относящиеся к разным размерным классам. Так, в одном кластере находится и оз. Сборное (C_2), имеющее самое южное расположение, и заметно меньшие по размеру озера бассейна р. Чукча: Безымянка (C_10) и Затон (C_11), находящиеся более чем в 40 и 50 км к северо-востоку от него. Ожидается, что в одной группе оказались малые озера, расположенные в левобережной части долины р. Кава (C_5) и малые озера долины р. Чукча (C_12), которые выделяются самыми высокими показателями видового разнообразия, однако здесь же находится и оз. Островки (C_6), самое богатое по числу видов озеро. Другая группа включает оз. Лебяжье (C_3), оз. Нам (C_4) в долине р. Кава и маленькое проточное оз. Кутана (C_13) в системе одноименного притока р. Челомджа, расположенного за невысокой грядой к северу от основ-

ной части Кавинской равнины. Это относительно крупные термокарстовые озера, причем Лебяжье и Кутана имеют сходные значения pH, но заметно отличаются размерами (табл. S1) и удалены друг от друга примерно на 60 км, а близкие по размеру Лебяжье и Нам располагаются в 20 км друг от друга, но в последнем более низкий pH воды.

Таким образом, кластеризации флористического разнообразия водных объектов показала сходство водотоков и водоемов по экологическим условиям, а не по их географическому расположению, которое очевидно нивелируется микроклиматическими особенностями долины. В целом, высокое флористическое разнообразие водных объектов долины р. Кава сформировалось и поддерживается благодаря особым благоприятным микроклиматическим условиям закрытой долины крупной реки, существованию многочисленных водоемов разного возраста и генезиса с широким варьированием гидрологических и гидрохимических параметров, возможности перемещения зачатков водных растений по развитой озерно-речной сети (табл. S1).

Новые таксоны и трактовки. *Aegagropilopsis moravica* — Магаданская обл., Ольский р-н, 78 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, оз. Малая Чукча, мелководье, 59.544762° с.ш., 147.329580° в.д., 23.07.2018, АБ, ОМ. Молекулярный анализ (Voedeker и др., неопубл.) образцов шаровидной кладофоры из

бассейна Кавы, отнесенной ранее по морфологическим признакам к *Aegagropila linnaei* Kütz. (Красная книга, 2019а), показал их принадлежность к другому редкому таксону, ранее не известному в регионе. Этот вид на оз. Малая Чукча в массе произрастает в виде довольно крупных шаров и хлопьев, а также прикрепленных к дну дерновинок (рис. S2). Остальные сборы шаровидных кладофор в Магаданской обл. (Мочалова и др., 2014; Красная книга, 2019а) достоверно принадлежат *Aegagropila linnaei*. *Aegagropilopsis moravica* также заслуживает включения в новое издание региональной Красной книги.

Equisetum arvense × *E. scirpoides* – Магаданская обл., Ольский р-н, 76 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, оз. Чукча, юго-восточный берег, 22.07.2018, 59.512166° с.ш., 147.393275° в.д., АБ, ОМ. Небольшой и сильно разветвленный хвощ с тонкими лежащими побегами, сочетающий признаки родительских видов. Побеги до 20–30 см дл., до 0.9–1.1 мм шир., с 5–6 отчетливыми ребрами, к верхушке 3–4 ребрами (промежуточные признаки), без центральной полости (признак *E. scirpoides*), но с большими периферическими 4–6 полостями, занимающими 2/3 диаметра стебля (признак *E. scirpoides*, но с влиянием *E. arvense*); боковые веточки неразветвленные, отходят в нижних 2/3 длины стебля, на поперечном срезе с 3–4 отчетливыми ребрами, без центральной полости (признаки *E. arvense*); на основном побеге первые членики боковых веточек в 2–3 раза длиннее прилегающей коронки листочков (признак *E. arvense*); число зубцов в коронке листочков на основном побеге 5–6 (промежуточный признак), они треугольные, острые, черноватые или черные со слабо заметной светлой каймой (промежуточный признак), на веточках зубцов 3–4, они вытянутые, острые или притупленные, зеленые, чернеющие или черные, без каймы (промежуточный признак) (рис. S3). Рос по берегу озера на сыром песке, в местообитании характерном для *E. arvense*, *E. scirpoides* присутствовал рядом по сырым местам берегового вала. Таксон ранее не известен.

Elatine aff. *triandra* vel *americana* – Магаданская обл., Ольский р-н, 78 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, оз. Малая Чукча, мелководье, 59.544762° с.ш., 147.329580° в.д., 23.07.2018, АБ, ОМ; там же, 67 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, левый берег р. Чукча, оз. Затон, мелководье, 59.604233° с.ш., 147.493971° в.д., 24.07.2018 (и 12.09.2021), АБ, ОМ; там же, 68 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, левый берег р. Чукча, озеро к ю. от оз. Затон, мелководье, 59.595006° с.ш., 147.488554° в.д., 25.07.2018 (и 12.09.2021), АБ, ОМ. При тщательном морфологическом и молекулярном изучении сборов *Elatine* в системе Кавы обнаружено 2 вида этого рода (рис. S4). В дополнение к ранее приведенному *E. orthosperma* (Мочалова, Бобров, 2017; Красная книга, 2019а) с характерными 4 лепестками и 8 тычинками, удлиненными семе-

нами со сглаженной скульптурой найден вид с 3 лепестками и тычинками, укороченными семенами с более рельефной скульптурой, который может быть отнесен к группе *E. triandra*. В озере к югу от оз. Затон растет только последний вид, а вот в озерах Малая Чукча и Затон оба вида вместе. Обнаруженный вид в достаточном обилии произрастает на мелководьях, по урезу воды, на обсыхающих местах, на илисто-песчаных грунтах. По морфологическим признакам кавинские растения соответствуют и *E. triandra*, и *E. americana* (Цвелев, 1987), имея промежуточные размерные признаки. В тоже время наши молекулярные данные (Иванова и др., неопубл.) свидетельствуют об его аллополиплоидной природе, но с несколько иной комбинацией исходных видов, чем у *E. americana* (Razifard *et al.*, 2017). Ранее в Магаданской обл. ни *E. triandra*, ни *E. americana* не указывались, первый известен в Приамурье и Приморье, второй – по 2 сборам с восточного побережья Камчатки (Цвелев, 1987; Якубов, Чернягина, 2004). Очевидно, что трехтычинковые виды *Elatine* на российском Дальнем Востоке требуют внимательного изучения.

Potamogeton × *vepsicus* (*P. natans* × *P. praelongus*) – Магаданская обл., Ольский р-н, 68 км к з. от пос. Талон, р. Кава, стремнина, 59.707665° с.ш., 147.455545° в.д., 25.07.2018, АБ, ОМ; там же, 34 км к з. от пос. Талон, р. Кава, стремнина, 59.786452° с.ш., 148.040851° в.д., 11.09.2021, АБ, ОМ. Молекулярные и морфологические данные позволили идентифицировать этот рдест как гибрид *P. natans* и *P. praelongus* (Бобров и др., неопубл.). До сих пор этот гибрид в Магаданской обл. известен не был, хотя недавно был обнаружен на Дальнем Востоке (Курилы), в дополнение к немногочисленным местонахождениям в Европе (Volkova *et al.*, 2020). Однако кавинский гибрид отличается от всех ранее известных клонов менее развитыми плавающими листьями, большим числом погруженных лентовидных листьев и более выраженными белесыми прилистниками – признаками, уклоняющимися к *P. praelongus* (рис. S5). Молекулярные данные также показывают, что у кавинского гибрида в качестве материнского вида выступает *P. praelongus* (идентичные хлоропластные маркеры), а у всех остальных ранее известных клонов – *P. natans*. Гибрид в массе произрастает по руслу р. Кава от р. Икримун в Хабаровском крае (59.641389° с.ш., 147.131111° в.д.) до устья р. Омылен в Магаданской обл. (59.770278° с.ш., 148.180556° в.д.), на участках с относительно быстрым течением (стремнинах), на глубинах 1–2 м и песчаных грунтах. Местами формирует мощные русловые заросли до 100–200 м длины, 20–30 м ширины и почти 100% проективным покрытием. Это таксон многократно собирался и ранее, начиная с указания А. П. Хохрякова (1987: 40) “*P. digynus* Wall. ex Hook. f. (или очень на него похожий) с длинными (20 см и бо-

лее) черешками плавающих и погруженных листьев, отличающийся от обычного *P. tenuifolius* овально-ромбическими резко переходящими в черешок пластинками". Позже эти растения отнесли к морфологически сходному гибриду *P. × sparganiiifolius* Laest. ex Fries (*P. gramineus* × *P. nantans*) (Мочалова, 2008; Флора, 2010).

Sparganium chlorocarpum (*S. rothertii* Tzvel., *S. angustifolium* auct. non Michx. p.p., *S. emersum* auct. non Rehm. p.p.) — Магаданская обл., Ольский р-н, 69 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, устье р. Чукча, мелководье, 59.657450° с.ш., 147.453351° в.д., 21.07.2018, АБ, ОМ; и др. Поскольку этот вид сочетает морфологические признаки *S. angustifolium* и *S. emersum*, занимая как бы промежуточное положение, то его ранее относили к одному из них (Мочалова, 2009; Флора, 2010). Однако, кроме морфологических признаков, этот вид надежно отличается и по молекулярным данным (Бобров и др., 2021a) и заслуживает признания как самостоятельный. Он был описан Цвелевым (1984) как *S. rothertii* из бассейна Амура. Но ранее такие же растения были описаны в Северной Америке из штата Айова как *S. chlorocarpum* (Rydberg, 1909: 8, тип NY!). Самый обычный вид ежеголовника в системе Кавы и похоже в целом вдоль Охотского побережья Магаданской обл. Растет по берегам озер, озерков, в руслах рек, в последних образует подводную форму с лентовидными листьями, которая в обилии представлена на участках с заметным течением (рис. S6).

S. chlorocarpum × *S. gramineum* — Магаданская обл., Ольский р-н, 75 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, оз. Чукча, северный берег, мелководье, 59.552097° с.ш., 147.383605° в.д., 22.07.2018, АБ, ОМ; там же, 79 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, оз. Безымянка, мелководье, 59.501034° с.ш., 147.347472° в.д., 22.07.2018, АБ, ОМ; там же, 77 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, оз. Чукча, южный берег, у падения р. Кременец, 59.510312° с.ш., 147.378426° в.д., 22.07.2018, АБ, ОМ; там же, 77 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, расширение протоки из оз. Малая Чукча, северо-восточный берег, 59.545610° с.ш., 147.353929° в.д., 23.07.2018, АБ, ОМ; 78 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, оз. Малая Чукча, мелководье, 59.544762° с.ш., 147.329580° в.д., 23.07.2018, АБ, ОМ. Гибридные растения с длинными узкими лентовидными листьями, но слабо трехгранными в сечении с уплощенным нижним углом, с разветвленными соцветиями с небольшим числом сближенных мужских головок и пазушных женских головок. Молекулярные данные также отчетливо показывают гибридное происхождение этих растений (Бобров и др., неопубл.), где материнским видом выступает *S. gramineum*. Во всех озерах представлен этот гибрид, вместо ожидаемого озерного *S. gramineum*, он образует обширные заросли почти по всему периметру вдоль берега на глубинах до 1–1.5 м и илисто-песчаных грунтах (рис. S7).

Редкие и охраняемые виды. Из 11 видов водных сосудистых растений, включенных в Красную книгу Магаданской обл. (2019a), 10 встречается в бассейне Кавы, причем большинство видов представлены многочисленными и достаточно обильными популяциями. В Хабаровском крае только 3 вида из региональной Красной книги (2019б) обнаружены в бассейне Кавы, которые также достаточно обильны в местонахождениях.

В бассейне Кавы сосредоточено более половины местонахождений *Calla palustris* в Магаданской обл., за пределами исследованного бассейна в области известно только 6 его точек. Кроме того, в бассейне Кавы этот вид нередок и в Хабаровском крае (Красная книга, 2019б). Встречается с невысоким обилием в старично-термокарстовых и термокарстовых озерах.

Ceratophyllum demersum в бассейне Кавы был нами найден в оз. Малая Чукча (Магаданская обл., Ольский р-н, 78 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, оз. Малая Чукча, мелководье, 59.544762° с.ш., 147.329580° в.д., 23.07.2018, АБ, ОМ) в дополнение к ранее известному единственному сбору Хохрякова из озера в 18 км выше устья р. Омылен (Хохряков, 1985, 1987). В Магаданской обл. встречается еще только в 2 точках по Колыме (Красная книга, 2019a). Произрастает в оз. Малая Чукча на глубине до 1 м и торфянисто-песчаном грунте.

Elatine orthosperma в бассейне Кавы встречен в пяти озерах: Магаданская обл., Ольский р-н, левый берег р. Кава, оз. Лебяжье, около вытекающего ручья, 59°39'37.23" с.ш., 147°13'18.97" в.д., 02.07.2017, ОМ; там же, 75 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, оз. Чукча, северный берег, мелководье, 59.552097° с.ш., 147.383605° в.д., 22.07.2018, АБ, ОМ; там же, 78 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, оз. Малая Чукча, мелководье, 59.544762° с.ш., 147.329580° в.д., 23.07.2018, АБ, ОМ; там же, 67 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, правый берег р. Чукча, озеро, 59.585204° с.ш., 147.514895° в.д., 23.07.2018, АБ, ОМ; там же, 67 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, левый берег р. Чукча, оз. Затон, мелководье, 59.604233° с.ш., 147.493971° в.д., 19.07.2016, ОМ (и 24.07.2018, 12.09.2021, АБ, ОМ). За пределами бассейна Кавы этот вид в Магаданской обл. известен еще только в одной точке в бассейне Колымы (Красная книга, 2019a). В озерах Малая Чукча и Затон *E. orthosperma* рос вместе со вторым видом *E. aff. triandra vel americana*. Вид в достаточном обилии произрастает на мелководьях, по урзу воды, на обсыхающих местах, на илисто-песчаных грунтах.

Isoëtes asiatica в междуречье рек Кава и Челомджа и на правобережье р. Кава известен из более чем 10 местонахождений (озера Лебяжье, Нам, Островки, Чукча, Малая Чукча, Безымянка, Затон и в других более мелких озерах), что составляет более половины всех указаний этого вида в Магаданской обл. (Красная книга, 2019a). Также рас-

пространен в бассейне Кавы и в Хабаровском крае – в оз. Сборное (Охотский р-н, верховья р. Кава, оз. Сборное, на северном берегу, 59.512086° с.ш., 146.563725° в.д., 30.06.2017, ОМ). Для Хабаровского края это новое местонахождение “краснокнижного” вида в дополнение к единственному ранее известному (Красная книга, 2019б). Произрастает отдельными растениями и разреженными группами в составе сообществ миниатюрных трав (*Eleocharis acicularis*, *Callitriche* spp., *Elatine* spp., *Subularia aquatica* и др.) на глубинах до 1 м и песчаных, илесто-песчаных или торфянисто-песчаных грунтах.

Myriophyllum ussuriense произрастает по восточному берегу оз. Затон (Магаданская обл., Ольский р-н, 67 км к з.-ю.-з. от пос. Талон, левый берег р. Чукча, оз. Затон, мелководье, 59.604233° с.ш., 147.493971° в.д., 19.07.2016, ОМ (и 24.07.2018, 12.09.2021, АБ, ОМ)) на мелководье, по урезу воды и обсыхающих участках берега, на илесто-песчаном и илистом грунте. Популяция многочисленная, в хорошем состоянии (рис. S8). В Магаданской обл. этот “краснокнижный” вид известен только еще в одном месте (Красная книга, 2019а).

Nymphaea tetragona охраняется в Магаданской обл. (Красная книга, 2019а), наибольшее число местонахождений сосредоточено в долине Колымы и в бассейне Кавы. В бассейне Кавы чаще произрастает по термокарстовым озерам в Кава-Челомджинском междуречье, а также в некоторых крупных озерах (Лебяжье, Нам, Островки), формируя немногочисленные разреженные популяции.

Nuphar pumila также охраняемый вид в Магаданской обл. (Красная книга, 2019а) с концентрацией местонахождений в долине Колымы и бассейне Кавы. Однако в бассейне Кавы кубышка распространена шире и более обильна, чем кувшинка, встречаясь в старичных и термокарстовых озерах. Распространен в бассейне Кавы и в Хабаровском крае (Охотский р-н, правый берег р. Кава, озеро на террасе, 59.64319° с.ш., 147.08084° в.д., 01.07.2017, ОМ; там же, среднее течение р. Кава напротив устья р. Икримун, большое термокарстовое озеро, 59.64289° с.ш., 147.12573° в.д., 03.07.2017, ОМ), где это новое местонахождение “краснокнижного” вида в дополнение к единственному ранее известному с Кавы (Красная книга, 2019б).

Potamogeton maackianus охраняется в Магаданской обл. (Красная книга, 2019а), где встречается только в р. Кава. Вид произрастает по руслу реки на протяжении более чем 115 км от р. Последняя в Хабаровском крае (59.665556° с.ш., 146.916389° в.д.) до р. Омьлен в Магаданской обл. (59.770278° с.ш., 148.180556° в.д.), в притоках отсутствует. Наибольшие заросли этого рдеста располагаются на участках с относительно быстрым течением (стремнинах), на глубинах 0.5–1 м и песчаных грунтах, однако вид произрастает и на местах с замедлен-

ным течением около кос и вдоль берегов с илисто-песчаными грунтами. В р. Кава вид встречается на северном пределе распространения, более северные точки известны только в центральной Якутии (Бобров и др., 2017).

Sagittaria natans – редкий в Магаданской обл. вид (Красная книга, 2019а). Примерно треть всех его местонахождений приходится на бассейн Кавы. Здесь *S. natans* регулярно встречается по всей озерно-речной системе, обширные заросли формирует в старопойменных озерах и в некоторых заливах крупных озер, изредка растет по старицам и термокарстовым озерам.

Subularia aquatica в бассейне Кавы встречается по олиготрофным озерам в системе р. Чукча (озера Чукча, Малая Чукча, Безымянка, Затон и 2 безымянных озера по рекам Чукча и Нырок). Это почти половина всех местонахождений этого охраняемого вида в Магаданской обл. (Красная книга, 2019а). Произрастает разреженными группами в составе сообществ миниатюрных трав (*Eleocharis acicularis*, *Callitriche* spp., *Elatine* spp., *Isoetes asiatica* и др.) от уреза воды до глубин 0.5 м, на песчаных, илесто-песчаных или торфянисто-песчаных грунтах.

Torreyochloa natans охраняется в Хабаровском крае (Красная книга, 2019б). В бассейне Кавы в Хабаровском крае найден в оз. Сборное (Охотский р-н, верховья р. Кава, оз. Сборное, в массе по всему озеру на мелководьях, 59.519694° с.ш., 146.569461° в.д., 30.06.2017, ОМ) и 2 более мелких озерах (там же, старичное озеро в уроч. Заток, 59.65483° с.ш., 146.79611° в.д., 01.07.2017, ОМ; там же, среднее течение р. Кава напротив устья р. Икримун, большое термокарстовое озеро, 59.64289° с.ш., 147.12573° в.д., 03.07.2017, ОМ). Для региона это новые и самые северные местонахождения “краснокнижного” вида (Красная книга, 2019б). В оз. Сборное заросли *T. natans* покрывают около половины водного зеркала, образуя полупогруженные сплавины, также вид распространен по мочажинам на заболоченных берегах вокруг озера. В целом вид изредка встречается на мелководьях от уреза воды до глубин 0.5–0.8 м и сплавиных пойменных и долинных озер на всем протяжении р. Кава от оз. Сборное до места впадения р. Челомджа. В Магаданской обл. вид достаточно редок, но распространен в пределах бассейна р. Кава и в целом вдоль побережья.

Кроме включенных в региональные Красные книги, в бассейне р. Кава встречаются и другие очень редкие в Охотии таксоны сосудистых растений: *Lemna trisulca*, *Persicaria amphibia*, *Sparganium gramineum* (Флора, 2010), *Potamogeton × nitens* (*P. gramineus* × *P. perfoliatus*) (Бобров, Мочалова, 2013) и харовых водорослей – *Nitella wahlbergiana* (Chemeris *et al.*, 2020).

Особенности растительного покрова водных объектов долины р. Кава. Река Кава — одна из немногих крупных рек на северном побережье Охотского моря по руслу и в долинных водоемах которой водные криптогамные и сосудистые растения формируют заросли. В большинстве других рек, а также в водораздельных водоемах этой территории водные растения встречаются единично или формируют разреженные, незначительные по площади пятна. По руслу р. Кава ниже р. Икримун повсеместно растут *Potamogeton gramineus* и *P. perfoliatus*, реже встречаются *P. alpinus*, *P. maackianus*, *P. × vepsicus* и *Sparganium chlorocarpum* (рис. S9). При этом выше по течению (до места впадения р. Осиновка) эти растения встречаются заметно реже. На всем протяжении реки по затонам и связанным с руслом короткими протоками старицам часто и с высоким обилием встречаются *Callitriche palustris*, *Myriophyllum sibiricum*, *Potamogeton alpinus*, *P. perfoliatus*, *Utricularia macrorhiza*, по периодически заливаемым песчано-илистым, песчаным косам и мелководьям нередко произрастают *Deschampsia borealis*, *Eleocharis acicularis*, *E. palustris*, *Ranunculus reptans*.

В долинах Кавы, Чукчи, Халкинджи и др. рек в удаленных от русла до 1 км старичных и старично-термокарстовых озерах с разной степенью термокарстовой переработки чаще всего встречаются *Myriophyllum sibiricum*, *Nuphar pumila*, *Potamogeton gramineus*, *P. perfoliatus*, *Sagittaria natans*, *Sparganium chlorocarpum*, *Utricularia macrorhiza*, *Calla palustris*, *Cicuta virosa*, *Hippuris vulgaris*. На мелководьях таких озер, на илисто-торфянистых грунтах произрастают *Alopecurus aequalis*, *Deschampsia borealis*, *Eleocharis palustris*, *Equisetum fluviatile*, *Torreyochloa natans*.

Особым богатством водной флоры характеризуются мелководные (до 1–1.5 м глубины) проточные старичные озера, разрастающиеся в результате термокарстового разрушения берегов, соединенные с рекой протоками — “висками”. Для таких водоемов характерны обширные мелководья, которые могут подвергаться дальнейшей термокарстовой переработке и зарастать сплавиными. Яркий пример такого озера — оз. Затон на р. Чукча. При незначительной площади водного зеркала (всего 0.65 км²), число найденных здесь видов (32) сопоставимо с более крупными озерами. В дополнение к характерным зарослям *Nuphar pumila*, *Potamogeton perfoliatus*, *Sagittaria natans* на глубине, на обширных периодически обсыхающих мелководьях обильны широко распространённые *Eleocharis acicularis*, *Callitriche palustris*, *Ranunculus gmelinii*, *R. reptans*, *R. trichophyllus* и др., а также редкие макроводоросль *Nitella wahlbergiana*, сосудистые *Isoëtes asiatica*, *Elatine* spp., *Myriophyllum ussuriense*, *Subularia aquatica* (рис. S10).

На обширной заболоченной Кавинской равнине обильны разнообразные по форме и размерам термокарстовые озера. На полигональных болотах, расположенных между руч. Темный и р. Икримун, удаленных от русла р. Кава более чем на 1–2 км, а также по р. Кутана обычны мочажины и небольшие (от нескольких десятков до сотен кв. метров) мелководные (до 1 м) озера с изрезанной береговой линией, резким свалом и торфяными грунтами, по которым растут *Potamogeton berchtoldii*, *Sparganium hyperboreum*, *Utricularia intermedia*, *U. minor*, *Hippuris vulgaris*, а также *Menyanthes trifoliata*, *Ranunculus pallasii* и некоторые болотные травы.

Ниже по течению для этого типа водоемов характерны большие глубины (до 2–3 м), здесь уже произрастают *Myriophyllum verticillatum*, *Nuphar pumila*, *Nymphaea tetragona*, *Potamogeton alpinus*, *P. natans*, *Sparganium chlorocarpum*, *S. hyperboreum*, *Sagittaria natans*, *Utricularia macrorhiza* и др. В озерах с пологими мелководными участками с торфянисто-песчаным грунтом обычны *Callitriche palustris*, *Eleocharis acicularis*, *E. palustris*, *Ranunculus reptans*, реже *Isoëtes asiatica*, *Subularia aquatica*. По берегам развиты обширные осоково-сфагновые сплавины с *Arctophila fulva*, *Calla palustris*, *Cicuta virosa*, *Menyanthes trifoliata*, *Naumburgia thyrsofolia* и целым рядом болотных трав.

Самые большие термокарстовые озера на исследованном участке долины р. Кава имеют площадь 2–2.6 км² и расположены на расстоянии в несколько км от основного русла или от русел ее притоков. В Хабаровском крае одно из самых крупных оз. Сборное, расположенное в верхнем течении реки в 4 км от моря и отделенное от него хребтами, обрывающимися к морю, так что основной водосбор с этих хребтов стекает в озеро. Озеро мелководное, средние глубины 1–2 м, дно илистое, очень вязкое, с сильно изрезанной береговой линией и обширными, более 0.5 км ширины, сплавиными. В нем найдено 26 видов макрофитов. Более 80% поверхности заросло водными макрофитами, среди которых преобладает образующая сплавины *Torreyochloa natans* (50%). В “окнах” свободной воды обычны *Potamogeton gramineus*, *P. perfoliatus*, *Sagittaria natans*. На мелководье в устьях ручьев в восточной части озера отмечены редкие *Isoëtes asiatica*, *Ranunculus trichophyllus*, *Alopecurus aequalis*. Современные размеры водоема — результат значительного снижения (более 1 м) уровня воды, давно ушедшей по короткому ручью в р. Кава. Площадь озера 2.5 км², что примерно в 2 раза меньше исходной, если считать ее в пределах выраженного берегового вала. Вследствие небольших глубин вода быстро прогревается, к концу июня (2017 г.) была зафиксирована температура 12–14°C, тогда как в большинстве озер в

окрестностях она составляла около 8°C, что явно активизировало зарастание озера макрофитами.

В Магаданской обл. интересно большое термокарстовое олиготрофное оз. Нам, которое отделено от русла Кавы невысокой грядой сопок. В нем встречено 20 видов растений. Озеро сильно зарастает вдоль берегов *Arctophila fulva*, в окнах этих зарослей встречается *Nymphaea tetragona*, под самым берегом идут фрагменты сообществ миниатюрных трав (*Eleocharis acicularis*, *Isoetes asiatica* и др.). В центральной части распространены пятна *Sparganium chlorocarpum*. А по берегам сплавинного типа произрастают *Calla palustris*, *Cicuta virosa*, *Comarum palustre*, *Equisetum fluviatile*, *Menyanthes trifoliata*, *Naumburgia thyrsofolia* и др.

Самое крупное озеро в бассейне Кавы — оз. Чукча. Оно проточное, питающееся талыми и дождевыми водами, расположено в западине водно-ледникового происхождения, его площадь 13.5 км² (5.5 × 3.5 км), дно илисто-песчаное, наибольшая глубина 3.7 м (Андреев, 2001). Вода к концу лета прогревается до 17–22°C. Из-за сильных ветров с морского побережья нередко бывает сильное волнение. В озере встречается 31 вид сосудистых растений. На глубинах до 1.5–2 м обильны *Potamogeton gramineus*, *P. perfoliatus*, *Sparganium chlorocarpum* × *S. gramineum*, есть отдельные пятна *Nuphar pumila*, на глубинах до 1 м преобладает *Sagittaria natans* с ковром из *Eleocharis acicularis*, *Callitriche* spp., *Isoetes asiatica*, *Subularia aquatica* и др. Вдоль берега обычны пятна и полосы *Arctophila fulva*, *Comarum palustre*, *Equisetum fluviatile*, *Hippuris vulgaris*, *Naumburgia thyrsofolia*.

Короткими протоками оз. Чукча связано с озерами меньшего размера: Малая Чукча и Безымянка, волнение в которых значительно слабее, т.к. они более защищены от ветров, благодаря окружающим увалам, покрытым лиственничниками. Оз. Малая Чукча (28 видов макрофитов) сильно зарастает, но примерно теми же видами что и оз. Чукча, на глубине среди доминантов добавляется *Potamogeton natans*, а в прибрежье обильны редкие макрородосли *Aegagropilopsis moravica*, *Niella wahlbergiana* и сосудистые *Ceratophyllum demersum*, *Elatine* spp., *Lemna trisulca* и др. В оз. Безымянка (26 видов макрофитов) также наблюдается сильное зарастание, на глубине к доминантам добавляется *Persicaria amphibia* и *Potamogeton praelongus* (рис. S11).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разнообразие водных макрофитов бассейна р. Кава составляет 59 таксонов (55 видов и 4 гибрида). Оно одно из самых высоких в Магаданской обл., сосудистые (51 вид и 4 гибрида) составляют примерно 2/3 всех водных региона, и уступает лишь долине Колымы. Преобладают облигатно

водные растения, что характерно для региональных водных флор в целом. В географическом плане более половины видов северного тяготения и довольно значительно участие видов восточного тяготения, что отражает особенности положения, климата и самих водных объектов бассейна Кавы.

Впервые для флоры Магаданской обл. приводятся 3 вида и 2 гибрида — это редкая шаровидная кладофора *Aegagropilopsis moravica*, сосудистые *Equisetum arvense* × *E. scirpoides*, *Elatine* aff. *triandra* vel *americana*, *Potamogeton* × *vepsicus*, *Sparganium chlorocarpum* и *S. chlorocarpum* × *S. gramineum*.

Почти все виды водных сосудистых растений охраняемых в Магаданской обл. (10 из 11), сконцентрированы и обильны в бассейне Кавы. Только 3 “краснокнижных” вида в Хабаровском крае обнаружены в ее бассейне, они также нередки.

По флористическому разнообразию водные объекты группируются по сходству экологических условий, а не по их географическому расположению. Практически все разнообразие водных макрофитов сосредоточено в озерах, больше всего таксонов отмечено в малых озерах по рекам Кава и Чукча. В целом в бассейне Кавы богатством и концентрацией редких таксонов выделяется озерно-речная система р. Чукча, которая наиболее изолирована от холодных морских ветров.

Богатая водная флора и растительность с концентрацией редких таксонов в бассейне Кавы сформировалась и поддерживается благодаря благоприятным микроклиматическим условиям закрытой долины крупной реки, существованию многочисленных водных объектов разного возраста и генезиса с широким варьированием гидрологических и гидрохимических параметров, возможности перемещения зачатков водных растений по развитой озерно-речной сети.

Озерно-речная система Кавы — это уникальный природный комплекс, который требует повышенного внимания и охраны, особенно в свете климатических изменений (потепление, деградация многолетней мерзлоты) и усиливающегося воздействия человека (добыча полезных ископаемых, рыболовство, охота).

К статье прилагаются дополнительные материалы: таблица S1, рисунки S1–S11, которые публикуются только в электронном формате на сайтах журнала <https://link.springer.com> и <https://www.elibrary.ru>.

Благодарности. Авторы благодарны за всестороннюю помощь во время исследований А.В. Андрееву, Е.А. Дубинину, А.В. Кондратьеву (ИБПС ДВО РАН), сотрудникам заповедника “Магаданский”: В.В. Бехтееву, В.А. Биденко, Е.Ф. Ругуш.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты 19-04-01090-а, 19-05-00133-а), экспедиционного гранта ДВО РАН 17-1-1-014, правительства Тюменской области по проекту Западно-Сибирского межрегионального

научно-образовательного центра № 89-ДОН (2) и в рамках госзадания (темы № 121051100099-5 (ИБВВ РАН), АААА-А17-117122590002-0 (ИБПС ДВО РАН)).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их болезни, вредители и сорные растения: Климат / Ред. А.Н. Афонин, С.Л. Грин, Н.И. Дзюбенко, А.Н. Фролов. 2008. http://doi.org/agroatlas.ru/ru/content/Climatic_maps/index.html (Дата обращения 20.02.2021).
- Андреев А.В. Водно-болотные угодья России. Т. 4. Водно-болотные угодья Северо-Востока России М.: Wetlands International, 2001. 296 с.
- Андреев А.В. Эталоны природы Охотско-Колымского края. Магадан: СВНЦ ДВО РАН, 2013. 322 с.
- Беркутенко А.Н., Докучаева В.Б., Полежаев А.Н. Флора и растительность заповедника “Магаданский”. Вып. 1. Североохотская часть: Препринт. Магадан, 1989. 57 с.
- Бобров А.А., Мочалова О.А. Заметки о водных сосудистых растениях Магаданской области // Бот. журн. 2013. Т. 98. № 10. С. 1287–1299.
- Бобров А.А., Мочалова О.А. Водные сосудистые растения долины Колымы: разнообразие, распространение, условия обитания // Бот. журн. 2017. Т. 102. № 10. С. 1347–1378. <https://doi.org/10.1134/S0006813617100015>
- Бобров А.А., Филиппова В.А., Николин Е.Г., Чемерис Е.В. Новые для флоры Якутии *Elodea canadensis*, *Hydrilla verticillata* (Hydrocharitaceae) и *Potamogeton maackianus* (Potamogetonaceae) // Бот. журн. 2017. Т. 102. № 2. С. 222–231. <https://doi.org/10.1134/S0006813617020077>
- Бобров А.А., Волкова П.А., Иванова М.О., Тихомиров Н.П. Дополнения к списку водных сосудистых растений острова Сахалин // Бот. журн. 2021а. Т. 106. № 9. С. 902–907. <https://doi.org/10.31857/S0006813621090039>
- Бобров А.А., Мочалова О.А., Чемерис Е.В. Водные сосудистые растения национального парка “Берингия” (Восточная Чукотка) // Бот. журн. 2021б. Т. 106. № 1. С. 81–99. <https://doi.org/10.31857/S0006813621010026>
- Егорова Г.Н. Ландшафты заповедника Магаданский (Ямский и Кава-Челомджинский участки) // Научные исследования в заповеднике Магаданский. М.: Научное обозрение, 2015. С. 7–36.
- Кожевников Ю.П. Растительный покров Северной Азии в исторической перспективе. СПб: Мир и семья-95, 1996. 393 с.
- Красная книга Магаданской области. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных, растений и грибов. Магадан: Охотник, 2019а. 356 с.
- Красная книга Хабаровского края: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений, грибов и животных: официальное издание. Воронеж: Мир, 2019б. 604 с.
- Кулаков А.П. Четвертичные береговые линии Охотского и Японского морей. Новосибирск: Наука, 1973. 188 с.
- Мочалова О.А. О находке *Potamogeton strictifolius* и *Potamogeton* × *sparganiiifolius* (Potamogetonaceae) на северо-востоке Азии // Бот. журн. 2008. Т. 93. № 10. С. 1602–1604.
- Мочалова О.А. Род *Sparganium* (Sparganiaceae) в Магаданской области // Бот. журн. 2009. Т. 94. № 8. С. 1235–1241.
- Мочалова О.А., Хорева М.Г., Лысенко Д.С., Беркутенко А.Н., Андриянова Е.А. Сосудистые растения // Растительный и животный мир заповедника “Магаданский”. Магадан: СВНЦ ДВО РАН, 2011. С. 55–69. Приложение 3. С. 208–226.
- Мочалова О.А., Чемерис Е.В., Бобров А.А. Материалы по флоре водных макрофитов оз. Чистое (Магаданская обл.) // Вестник ДВО РАН. 2014. № 3. С. 20–26.
- Мочалова О.А., Бобров А.А. К водной флоре Магаданской области // Бот. журн. 2017. Т. 102. № 11. С. 1556–1560. <https://doi.org/10.1134/S0006813617110060>
- Мякишева Н.В. Многокритериальная классификация озер. СПб: РГГМУ, 2009. 160 с.
- Север Дальнего Востока. Природные условия и природные ресурсы СССР. М.: Наука, 1970. 448 с.
- Щацевский Б.В. Экологическое значение пойм в речных экосистемах // Уч. Зап. РГГУ. 2007. № 5. С. 118–129.
- Флора и растительность Магаданской области (конспект сосудистых растений и очерк растительности). Магадан: ИБПС ДВО РАН, 2010. 364 с.
- Хохряков А.П. Флора Магаданской области. М.: Наука, 1985. 395 с.
- Хохряков А.П. Флористические особенности долины р. Кава (Северная Охотия) // Экология, распространение и жизненные формы растений Магаданской области: Сб. науч. тр. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1987. С. 38–44.
- Цвелев Н.Н. Заметки о некоторых гидрофильных растениях флоры СССР // Нов. сист. высш. раст. 1984. Т. 21. С. 232–242.
- Цвелев Н.Н. Род 1. Повойничек – *Elatine* L. В кн.: Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Т. 2. Л.: Наука, 1987. С. 91–93.
- Юрцев Б.А., Королева Т.М., Петровский В.В., Полозова Т.Г., Жукова П.Г., Катенин А.Е. Конспект флоры Чукотской тундры. СПб.: ВВМ, 2010. 627 с.
- Якубов В.В., Чернягина О.А. Каталог флоры Камчатки (сосудистые растения). Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, 2004. 165 с.
- Bobrov A.A., Chemeris E.V., Filippova V.A., Maltseva S.Yu. European pondweed in East Siberia: evidence of *Potamogeton ruttilus* (Potamogetonaceae) in Yakutia (Asian Russia) with evaluation of current distribution and conservation status // Phytotaxa. 2018. V. 333. № 1. P. 58–72. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.333.1.4>
- Boedeker C., Eggert A., Immers A., Wakana I. Biogeography of *Aegagropila linnaei* (Cladophorophyceae, Chlorophyta): a widespread freshwater alga with low effective dispersal potential shows a glacial imprint in its distribu-

- tion // J. Biogeogr. 2010. V. 37. № 8. P. 1491–1503.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02309.x>
- Chemeris E.V., Romanov R.E., Kopyrina L.I., Filippova V.A., Mochalova O.A., Efimov D.Yu., Bobrov A.A. How charophytes (Streptophyta, Charales) survive in severe conditions of the permafrost area in Far North-East Asia // Limnologica. 2020. V. 83. 125784.
<https://doi.org/10.1016/j.limno.2020.125784>
- Razifard H., Les D.H., Tucker G.C. Reticulate evolution in *Elatine* L. (Elatinaceae), a predominantly autogamous genus of aquatic plants // Syst. Bot. 2017. V. 42. № 1. P. 87–95.
<http://doi.org/bioone.org/doi/full/10.1600/03636-4417X694610>
- Rydberg P.A. 1. *Sparganium* L. // North American Flora. N.Y.: N.Y. Bot. Gard., 1909. V. 17. Pt. 1. P. 5–10.
- Volkova P.A., Ivanova M.O., Dadykin I.A., Tikhomirov N.P., Grigoryan M.Yu., Kopylov-Guskov Yu.O., Bobrov A.A. Unexpected burst of new data on vascular plants flora for the Lesser Kuril Ridge and the whole Kuril archipelago // J. Asia-Pac. Biodivers. 2020. V. 13. № 4. P. 738–744.
<https://doi.org/10.1016/j.japb.2020.06.014>

The Kava River Basin (Northern Okhotsk Area) as a Hotspot of Aquatic Macrophyte Diversity in Northern Pacific

A. A. Bobrov^{1, 2, #}, O. A. Mochalova³, and E. V. Chemeris¹

¹ Papanin Institute for biology of inland waters RAS, Nekouz Distr., Borok, Yaroslavl Reg., 152742 Russia

² Tyumen State University, AquaBioSafe, Lenina Str., 25, Tyumen, 625003 Russia

³ Institute of the biological problems of the North FEB RAS, Portovaya Str., 18, Magadan, 685000 Russia

[#]e-mail: lsd@ibiw.yaroslavl.ru

Aquatic macrophytes of the Kava River basin in northern Okhotsk area are represented by 4 species of macroalgae and 51 species and 4 hybrids of vascular plants. Flora of the Magadan Region was completed by 3 species and 3 hybrids: *Aegagropilopsis moravica*, *Equisetum arvense* × *E. scirpoides*, *Elatine* aff. *triandra* vel *americana*, *Potamogeton* × *vepsicus*, *Sparganium chlorocarpum* and *S. chlorocarpum* × *S. gramineum*. Almost all species of aquatic vascular plants protected in the Magadan Region (10 out of 11) are concentrated and abundant in the Kava River basin, 3 “red listed” species in the Khabarovsk Territory were also found in its basin and with a high abundance. Basing on floristic diversity, water bodies are grouped according to the similarity of environmental conditions, and not according to their geographical location. Almost all diversity of aquatic macrophytes is concentrated in lakes. The lake-river system of the Chukcha River, one of the major tributary of the Kava River, is distinguished here by the greatest diversity and concentration of rare taxa, because it is the most isolated from the cold sea winds. Rich aquatic flora and vegetation in the Kava River basin had emerged and are now sustained due to the special favorable microclimatic conditions of the closed valley of a large river, the existence of numerous water bodies of different ages and genesis with a wide variation in hydrological and hydrochemical parameters, the possibility of moving the propagules of aquatic plants along a well-developed lake-river network. The unique lake-river system of the Kava River requires increased attention and protection.

Keywords: biodiversity, hybrids, new taxa, rare species, rivers and lakes

УДК 599.323.5

К ИЗУЧЕНИЮ ВОДЯНОЙ ПОЛЕВКИ (*Arvicola amphibious*) НА СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ ПРЕДЕЛЕ АРЕАЛА

© 2023 г. Э. В. Ивантер*, **, @

*Петрозаводский государственный университет, просп. Ленина, 33, Петрозаводск, 185910 Россия

**Карельский научный центр РАН, Пушкинская ул., 11, Петрозаводск, 185035 Россия

@E-mail: Ivanter@petsu.ru

Поступила в редакцию 18.02.2022 г.

После доработки 06.08.2022 г.

Принята к публикации 08.08.2022 г.

На основе многолетних экспедиционных и стационарных исследований на таежном Северо-Западе России (1958–2018 гг.) охарактеризованы численность, биотопическое размещение, питание, размножение, пространственная и экологическая структура популяции и динамика численности водяной полевки, в том числе связанные с ее обитанием у северо-западных границ ареала. В европейской части ареала, особенно вблизи северо-западных границ, водяная полевка становится все более узким стенотопом с отчетливым проявлением синантропизма, и, в частности, усиленным тяготением к огородам и приусадебным участкам. В репродукции участвуют взрослые и молодые полевки ранних весенне-летних выводков, принося за сезон до двух выводков, в среднем, из 6.5 ± 0.37 детенышей (зимовавшие) и 5.7 ± 0.41 (сеголетки). Численность колеблется по годам в значительных пределах под влиянием резких изменений гидрологического режима водоемов

Ключевые слова: периферия ареала, прибылые, взрослые, интенсивность размножения, плодовитость, динамика численности

DOI: 10.31857/S1026347022700044, **EDN:** HAFIRN

Представленная статья посвящена обобщенному анализу собственных (1958–2018 гг.) и литературных данных о распространении, численности и биологии водяной полевки (*Arvicola amphibious*) на северо-западной периферии ареала. Распространена она в Евразии чрезвычайно широко – от лесотундры до пустынных степей включительно. Это типичный обитатель побережий водоемов: в поймах больших и малых рек, ручьев и озер различного типа, где она образует в основном линейные поселения, а также на обширных заболоченных пространствах водоразделов и междуречий северной части Евразии, где типичны диффузные поселения (Карасева и др., 2008). На территории бывшего СССР – от балтийского до черноморского побережья, Закавказья, северного Прикаспия и южного Прибалхашья до Алае-Саянской горной страны, Забайкалья и Восточного Приалданья (Громов, Ербаева, 1995). Водяная полевка повсюду предпочитает берега рек, озера различных типов, верховые и пойменные болота; селится на сплавинах, лугах, среди кустарниковых зарослей и в болотистом мелколесье. При этом осенью водяная полевка переселяется с берегов рек и озер на луга или огороды и в течение всего холодного времени года ведет подземный образ жизни, роая глубокие и сложные норы, нанося при этом

существенный ущерб в основном огородным культурам. Полевка изучена неравномерно. В Сибири, особенно в Западной ее исследовали достаточно полно (Зверев, Пономарев, 1930; Шварц и др. 1957; Максимов, 1959, 1966; Максимов, Андрусевич, 1959; Пантелеев, 1968; Ермаков, 1972, 1984, Соломонов, 1980; Евсиков и др., 1991, 1997; Рогов, 1999; Назарова, Проскурняк, 2017, и мн. др.), тогда как в европейской части ареала фрагментарно и эпизодически (Жарков, Теплов, 1931; Тупикова, Швецов, 1956; Доброхотов, Неронов, 1965; Соловьев, 1994). Представленная статья призвана хотя бы частично восполнить этот пробел.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал собирали в процессе специальных учетов численности зверьков на ловушко-линиях, составленных из капканчиков (отработано 6900 капкано-суток) и четырех 30-метровых ловчих канавок с врытыми вровень с их дном тремя металлическими конусовидными цилиндрами (980 канавко-суток). Всего на линиях ловушек было добыто 124 водяные полевки, а ловчими канавками – 334. Кроме того, в соответствии с рекомендациями Пантелеева и др., (2001), применяли визуальный учет зверьков по отверстиям

Таблица 1. Учеты численности водяной полевки в заповеднике “Кивач” (побережье р. Суны)

Годы учетов	Учеты ловушко-линиями			Учеты ловчими канавками		
	число лов-сут.	число добытых зверьков	на 100 лов-сут	число кан-сут.	число добытых зверьков	на 10 кан-сут
1959	2120	43	2.00	310	102	3.28
1960	1800	36	2.00	330	78	2.36
2013	2980	45	1.51	340	134	4.52
Итого	6900	124	1.80	980	334	3.41

нор, погрызам и кормовым столикам. Этот учет проводили на береговой полосе шириной 1 м, а единицей учета служило число учетных объектов в расчете на 1 км берега.

Возраст пойманных зверьков определяли по морфологическим особенностям черепа, а генеративное состояние животных оценивали при вскрытии в соответствии с указаниями Карасевой и др. (2008). Лактацию фиксировали по состоянию молочных желез и сосков. Питание анализировали по учетам поедей на кормовых столиках и содержанию желудков, а также экспериментально – на основе опытов, проведенных на животных, содержащихся в неволе.

Статистический анализ материала (расчет средних, статистических ошибок, коэффициента вариации, хи-квадрата, достоверности различий, показателя асимметрии, величины и значимости корреляций и др.) производили по общепринятым методикам (Ивантер, 1979; Ивантер, Коросов, 1992, 2003).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Распространение и численность. В европейской части ареала, особенно близ северо-западных границ, водяная полевка становится все более узким стенотопом с отчетливым проявлением синантропизма (Громов, Ербаева, 1995).

Согласно данным Пантелеева (1968), территорию рассматриваемого региона населяет карело-финская географическая популяция этого вида, для которой характерны единство условий существования и сравнительно низкий общий уровень численности, несмотря на обилие здесь озер и болот. Это связано с ограниченной емкостью угдий из-за их относительной малокормности и неблагоприятного гидрологического режима. Все же и в Карелии водяная полевка достигает местами довольно высокой численности. Так, в заповеднике “Кивач” на реках Ниве и Сандалке и по Чечкиному ручью, впадающему в Мунозеро, в процессе учетов 1958–1960 гг., мы насчитывали до 20 жилых нор и до 30 кормовых столиков этого зверька на 1 км береговой линии, а в период с 2009 по 2011 гг. там же эти показатели составили

соответственно 27 нор и 42 кормовых столика. Высокая численность водяной полевки (5–15 жилых нор и 10–20 кормовых столиков на 1 км берега) отмечена также на ряде водоемов Пудожского района (рр. Водла, Гакукса, Летняя и Сума, озера Сюзикозеро, Ведлозеро, Колодозеро и Муромозеро, Ершовский ручей), Медвежьегорского (р. Кумса и Йемена, оз. Семчезеро), Олонецкого (р. Олонка и Тумакса, оз. Сюскоярви), Муезерского (оз. Уну-созеро, р. Тумба и Сидра), Прионежского (озера Паросозеро и Машезеро, р. Шопша и Лососинка), Сегежского (Лисья губа Сегозера) и Калевальского (озера Нюк и Кимасозеро, рр. Ногеукс и Черная) районов. С меньшей плотностью (обычно до 3 жилых нор и до 5 кормовых столиков на 1 км берега) населяет этот вид водоемы Лоухского, Беломорского, Кемского и Суоярвского районов.

Вполне показательны и проведенные нами в 1959–1960 и 2013 гг. специальные количественные учеты водяных полевков ловушко-линиями и ловчими канавками на побережье р. Суны (заповедник “Кивач”). Согласно полученными данным (табл. 1), средние за эти годы показатели численности зверьков составили там соответственно 1.80 экз. на 100 лов.-сут и 3.41 на 10 кан.-суток.

Биотопическое размещение, особенности норения и участки обитания. Обитающие на таежном Северо-Западе России водяные полевки относятся в основном к разным типам т. н. пойменных популяций, различающихся между собой, прежде всего, степенью связи вида с водной средой (Пантелеев и др., 2001). В течение всего лета они достаточно тесно связаны с различными по характеру и размерам водоемами и заселяют речные поймы, верховые и пойменные болота, прибрежные участки небольших речек и ручьев, берега мелководных губ различного типа озер, заросшие водно-болотной растительностью, мелиоративные каналы по окраинам болот, заболоченные осоковые кочкарники, сырые пойменные луга и т.п. Полевки селятся на сплавинах, среди кустарниковых зарослей, в болотистом мелколесье по берегам лесных ручьев и речек, на полях и огородах, расположенных вблизи водоемов. Все это – постоянные весенне-летние местообитания зверьков, где они живут вплоть до периода расселения молодняка.

Ближе к осени, обычно начиная с конца июля, водяные полевки в массе покидают летние убежища и перебираются на более сухие участки — прилегающие к водоемам и болотам луга, огороды и залежи. Здесь они перезимовывают, а весной (обычно в мае) вновь возвращаются к водоемам. На местах, где летние и зимние станции находятся по соседству друг с другом (например, сенокосные луга по берегам р. Суны и Сандалки в заповеднике “Кивач”), сезонные кочевки растягиваются на продолжительное время и не принимают массового характера. Напротив, в районах, где эти станции разобщены, наблюдается хорошо выраженное массовое передвижение зверьков (озера Нюк и Унусозеро, рр. Тумба, Кумса, Нива, Черная и др.). На берегах водоемов, не замерзающих зимой (например, на ручье, впадающем в Мунозеро), водяные полевки живут иногда круглый год и сезонных перемещений у них не наблюдается. Полевки реже живут небольшими разрозненными группами, но чаще образуют либо ленточные, либо (реже) сплошные мозаично расположенные поселения.

Почти половину года полевки проводят в русловой части водоема и только в конце—начале октября выселяются на возвышенные участки пойменного берега, не удаляясь от русла более 20–30 м, выкапывая здесь сложную систему ходов, в основном, подземных, запасая вегетативные части пойменных растений. Низинные луга надпойменных террас обитаемы в течение всего года. Только весной во время затопления их тальми водами зверьки смещаются ближе к лесу, к менее подтопленным кустарникам.

В культурном ландшафте, вблизи деревень и дачных участков с огородами, поселения полевок отличаются даже большей устойчивостью, чем в естественных местообитаниях. Зверьки здесь смещаются к кустарникам, где под их корнями устраивают зимние норы, запасая в них картофель, морковь или корневища сорных растений, спрессовывая их в боковых отнорках в виде “колбасок” по их диаметру. По сообщению Соловьева (1994), ему не раз приходилось находить в таких местах до двух ведер запасенных грызунами на зиму клубней картофеля.

Во время кочевок водяные полевки встречаются во всех биотопах, в том числе и в лесных участках, расположенных на значительном удалении от воды. Однако лесные станции представляют для них лишь миграционные пути, постоянно они здесь не живут.

Круглый год полевки обычно обитают в норах, вырытых по берегам водоемов, близ самой воды, но в теплое время года, особенно при резких подъемах воды, в наземных и надземных гнездах, размещенных в кочках, образованных корневыми частями водно-болотных растений: осок, ро-

гозов и тростника. Постоянные норы обычно неглубокие, кормовые же ходы прокладываются на большей глубине — до 1 м, а иногда и глубже. Роющая деятельность наиболее активна в осенне-зимний период, когда большую часть времени зверьки проводят в неглубоких подземных убежищах и в различных естественных укрытиях, а также во время массового расселения молодняка. Обследованные нами береговые норы водяных полевок располагались, как правило, на глубине 10–20 см от поверхности земли, но в отдельных случаях (например, на некоторых участках в пойме р. Сандалки) значительно глубже (до 50–60 см). Обычно они представляли собой несложную систему подземных галерей с главным ходом, открываемым чаще всего выше уровня воды, реже — под водой. Помимо главного, магистрального, хода в норе почти всегда имеется 2–4 (редко больше) дополнительных хода, часто с отдельным выходом наружу. Все они обязательно соединены между собой и с главным ходом. Вся система подземных галерей лежит обычно в одной плоскости, в большей или меньшей степени наклоненной к воде. Однако там, где водоемы характеризуются резкими колебаниями уровня воды, полевки строят многоэтажные жилища с 2–4 гнездовыми камерами, сооруженными на разной высоте. Иногда встречаются и колониальные поселения (например, в устье р. Сандалки, на р. Ниве, на озерах Сюськоярви и Семчезеро), где по сути дела нет отдельных нор: весь берег изрыт магистральными и соединительными ходами, которыми зверьки пользуются сообща. Число выходных отверстий зависит от характера берега и типа поселения.

Каждая нора имеет 1–3 гнездовые камеры, расположенные на глубине 5–20 см. В них находятся гнезда, сделанные из травы. Размеры гнездовых камер (их измерено 15): высота 12–18, длина 15–34, ширина 14–20 см. Число выходных отверстий зависит от характера берега и типа поселения. На Чечкином болоте (заповедник “Кивач”) мы нашли наземное гнездо водяной полевки, устроенное в зарослях голубики, багульника и других трав на вершине кочки.

Встречается в Карелии и другой тип норения этих зверьков — длинные подземные ходы, открытые горизонтально на сенокосных лугах и огородах с частыми выходами на поверхность. Это т. н. зимовочные норы — основной осенне-зимний тип убежища, но иногда водяные полевки живут в них и летом. Для нор водяной полевки характерны похожие на кротовые поверхностные земляные выбросы, а после зимы — образующиеся под снегом своеобразные земляные “колбаски”.

Множество исследователей измеряли и описывали индивидуальные участки водяной полевки в разных точках ее ареала (Громов, 2008). Однако, знакомясь с этими материалами, нельзя не заме-

тить, что эта характеристика чрезвычайно изменчива и связана с множеством факторов: пол, возраст, размеры животного, участие в размножении, географическая точка, время года, характер местообитания и т.д. Тем не менее наличие индивидуального участка представляется для водяной полевки весьма характерной и достаточно важной видовой особенностью.

Как показывают и наши наблюдения в природе, и эксперименты на площадках животоотлова, большинство взрослых особей этого грызуна занимают до конца сезона размножения относительно постоянные индивидуальные участки обитания. С помощью мечения и повторных отловов установлено, что участки обитания самок, длина которых в ленточных поселениях достигает 80 м, почти не перекрываются. Напротив, более крупные индивидуальные участки самцов, длина которых варьирует от 20 до 310 м, перекрываются в значительной степени. Индивидуальный участок каждого взрослого самца накладывается на участки нескольких самок (максимально — до восьми). Вследствие зарастания водоема, а также по мере его высыхания в летний период, конфигурация участков обитания может меняться. При этом и обособленность индивидуальных участков самок и агрегированность участков самцов, каждый из которых обычно перекрывает участки двух—трех других особей того же пола, не вызывает сомнений.

Исследования, проведенные с помощью радиотелеметрии, показали, что в ленточных поселениях оседлые зверьки перемещаются вдоль узкой прибрежной полосы шириной не более 1–2 м, при этом площадь индивидуального участка, оцененная на основе радиотелеметрических данных, оказалась на 13% больше, чем при оценке методом повторных отловов (Stoddart, 1971; Рогов, 1999).

В некоторых биотопах, например, на болотах, ленточные поселения преобразуются в диффузные, особенно в годы высокой численности. Характерной особенностью диффузных поселений является совместное использование пространства несколькими взрослыми особями (Пантелеев и др., 2001).

Расположение участков обитания взрослых особей регулярно меняется, поскольку они время от времени перемещаются вдоль береговой линии водоемов на значительное расстояние. Частота перемещений составляет 8% от общей численности популяции в сутки (Рогов, 1999) Таким образом, периоды оседлости взрослых особей относительно кратковременны. Регулярная же смена участков обитания объясняется, по-видимому, относительно быстро меняющимися условиями существования этого вида вблизи водоемов.

В апреле—мае внутри ленточных поселений обособляются более мелкие репродуктивные группировки, объединяющие от двух до десяти зверьков. В этот период происходит относительное укрепление социальных связей между самцами и самками, вследствие чего образуются “квази-моногамные” пары (Плюснин, Евсиков, 1983; Громов, 2008). Позднее у беременных и кормящих самок проявляется более отчетливое территориальное поведение, они становятся агрессивными по отношению к самцам, из-за чего часть последних откочевывает. В результате число взрослых особей в репродуктивных группировках уменьшается, а границы между группировками становятся менее четкими. В дальнейшем подвижность самцов увеличивается в еще большей степени.

Суточная активность и перемещения. Суточная активность водяной полевки, как и у большинства мелких грызунов (Громов, 2008), круглосуточная и полифазная. Тем не менее как показали наблюдения за мечеными животными у их нор и на индивидуальных участках, ее отличает наличие характерных подъемов и спадов. Абсолютный минимум активности приходится обычно на сумерки и ночь, а максимально длительный и высокий подъем — на утренние часы. При этом наибольшую часть активной деятельности эти полевки тратят на кормежку около нор. По оценке Громовой (2008), средняя продолжительность вне норовой активности составляла у этих зверьков 30 мин. В то же время конкретный ход суточной активности, ее периодичность и продолжительность фаз, длительность пауз и т.д., — все это зависит от возраста зверьков, сезона года и даже от географических особенностей популяции. И хотя изучение изменений активности зверьков в зависимости от возраста представляет определенную методическую сложность, тем не менее многое в этом отношении удалось выяснить. В частности, при всем сходстве соответствующих хронограмм, у молодых самцов было выявлено хорошо заметное повышение активности в утренние часы, у взрослых же в это время наблюдается отчетливый ее спад (Ердаков, 1984). Кроме того, у молодых полевок подъемы активности в течение суток происходят чаще, т.е. полифазность их ритма больше, чем у взрослых.

Более точные результаты дало нам количественное сравнение активности взрослых и молодых зверьков по распределению в течение суток: если средняя часовая активность у разных возрастных групп самцов на этих материалах статистически неразличима, то интенсивность активности в светлое время суток у молодых самцов оказалась достоверно больше, чем у взрослых ($t = 3.3$, $P = 0.99$). Основное различие, видимо, состоит в том, что молодые самцы активнее взрослых днем, но пассивнее ночью.

Гораздо отчетливее и более понятны в плане вызывающих их физиологических причин сезонные изменения активности. Так, у водяных полевок показана строгая монофазная цикличность с периодом около года в активности половых желез (Ивантер, 2018): максимальная их активность у половозрелых животных отмечена с марта по октябрь, а минимальная — в декабре—январе. Кроме того, рассматривая сезонные изменения в организме водяных полевок, Г.А. Кондрашкин и Л.И. Кузнецова (1959) нашли “хорошо проявляющуюся годовую цикличность уровня потребления кислорода при “критической точке”, а также общего числа лейкоцитов в крови животных” (цит. по Зудовой, 2014). Таким образом, имеется и вполне очевидная физиологическая основа для сезонных изменений в деятельности водяных полевок.

Сезонная изменчивость суточной активности у них проявляется в сокращении ее бюджета и уменьшении интенсивности активного состояния в светлое время суток к осени. Осенью же амплитуда колебаний суточной активности у этих зверьков чаще всего снижается, а сама активность становится более ночной.

Интересное экспериментальное изучение суточной активности водяных полевок в республике Коми, содержащихся в открытых вольерах вблизи водоема, а также в клетках, с помощью актографов провел профессор Сыктывкарского университета В.А. Соловьев (1994). При круглосуточных экспериментах в вольерах им проводился подробный хронометраж кормовой и двигательной активности животных. Исследования начались в конце июня и закончились в первой декаде июля. Анализируя полученные данные, автор прежде всего констатирует значительную лабильность активности водяных полевок. Не было замечено изменений активности в зависимости от температурного фактора, и только дождь синхронизировал активность всех подопытных животных — все они уходили в укрытия. Наблюдения показали, что водяной полевке свойствен полифазный тип активности. Периоды кормления, продолжающиеся от 1–3 до 5 мин, чередовались с периодами двигательной активности, длительность которых нередко достигала 15 мин. Средняя продолжительность кормовой и двигательной активности в течение суток составила 418 мин, или 29%. В среднем зверьки треть суток активны, а две трети отдыхают.

Согласно цитируемому автору, соотношение форм активности неодинаково у разных возрастных групп. У молодых зверьков двигательная активность относительно выше, чем кормовая: на прием корма зверек затрачивает в сутки 68, а на движение — 262 мин, соотношение — 20.6 : 79.4%. Перезимовавшие полевки кормятся дольше, чем движутся. Из 580 мин. на принятие корма тратится 303, а на движение — 277 мин., соотношение — 52.2 :

47.8%. В целом, по соотношению активности и отдыха ювенильные особи менее подвижны. Их общая активность составила 22.9% от времени суток, тогда как у перезимовавших — 40.2%. Беременные самки оказались менее активными, чем самцы, а прием пищи у них составлял 61% от общей активности животного. Если сравнить этот показатель с аналогичными у ювенильных особей, то окажется, что кормовая активность беременных перезимовавших самок в 4.5 раза выше. Связано это, по всей видимости, с большим абсолютным количеством потребляемого корма перезимовавшими полевками, имеющими значительно большую массу тела.

Четкой приуроченности отдельных фаз активности и отдыха к восходу или заходу солнца В.А. Соловьеву обнаружить не удалось. Возможно, в условиях белых ночей световой режим не столь жестко определяет суточную ритмику полевок. У семи зверьков, находившихся под наблюдением, отмечалось от 5 до 11 смен фазовых циклов, чаще всего — от 5 до 6. Продолжительность фаз колебалась от 10 мин до 7 ч 15 мин, при этом продолжительность отдыха была от 40 мин до 5 ч 40 мин. В течение суток пики активности распределялись равномерно. Однако в ночное время наступает полоса подъемов пиков активности, которая начинается с 21 ч, продолжаясь с перерывами всю ночь. При этом фазы отдыха значительно уменьшаются. Любопытно, что беременные перезимовавшие самки чаще, чем другие, переходят от активности к покою. У них наблюдается до 11 циклов в течение суток. При этом продолжительность периодов активности резко сокращается, поэтому большую часть времени беременная самка проводит в укрытии. Тем не менее зверьки этой группы съедают наибольшее количество корма.

Общеизвестно, что водяной полевке свойственны приуроченные к определенному времени массовые сезонные перемещения (кочевки), называемые нередко миграциями. Наиболее отчетливые из них — весенняя, в результате которой зверьки перемещаются к воде: на берега рек, озер, к болотам; и осенняя, когда животные перемещаются на поля, залежи, занимают возвышения рельефа. Эти масштабные перекочевки особенно характерны для вида и не раз описывались в литературе (Зверев, Пономарев, 1930; Пантелеев, 1968; Stoddart, 1971, и др.).

Так, согласно данным литературы (Максимов, Ермаков, 1985), в Новосибирской области миграции и заселение зверьками луго-полевых стадий обычно начинается со второй половины июля. Это начало большой осенней миграции — ухода от воды, выхода из болот. Существенным фактором здесь служит необходимость питаться под снегом в течение зимы, а болота для подснежной и поземной зимовки не годятся. В окрестностях

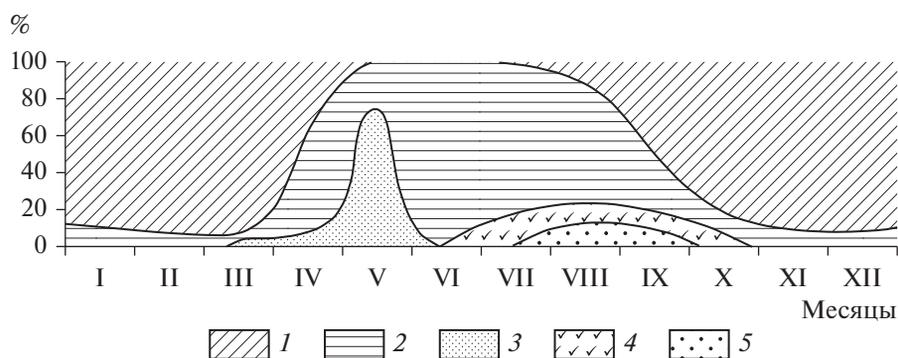


Рис. 1. Типы корма водяной полевки в разные сезоны (по: Ивантер, 1975). 1 – корневича, 2 – зеленые части растений, 3 – древесно-кустарниковые корма, 4 – бесхлорофильные побеги, 5 – ягоды.

Центральной Барабы миграция водяных полевок ежегодно фиксируется в первой декаде августа. При этом между основными миграциями грызунов – осенней и весенней, – существует большое число перемещений зверьков по территории, иногда на значительные расстояния. По материалам П.А. Пантелеева и др., (2001), в Барабе перемещения самцов и самок водяных полевок на площадке живоловок не превышала 60–80 м. При расселении молодых животных этот автор приводит данные о поимке зверьков в 2.5 км от места мечения. На осенних поселениях большинство водяных полевок не отходят от своей норы более чем на 10 м, но случаются и более дальние переходы (в основном самцов) – на 80–120 м.

В общем в зависимости от мотивации, можно выделить передвижения водяных полевок не менее четырех типов. Первый включает постоянные перемещения вблизи норы: дистанция переходов здесь редко превышает 10 м. Второй тип – такие же передвижения по всему индивидуальному участку, дистанция их достигает 600 м. Третий тип передвижений – далекие расселение зверьков; дистанции отмечены до 2.6 км. Четвертый тип перемещений – это регулярные, но только по сезонам смены местообитаний. Последние могут иметь любые расстояния от 10 м, когда водяные полевки устраивают свои зимовочные норы на лугу, рядом с болотом, из которого они вышли, но могут передвигаться до 2–3 км, когда места размножения отделены большими непригодными для зимовки территориями.

Питание. В вегетационный период основу питания водяной полевки составляют различные виды в основном гидрофильных (водно-болотных и прибрежных) травянистых растений тех биотопов, в которых она обитает (рис. 1). Как показало изучение остатков поеденных водяной полевкой растений на 153 кормовых столиках, питание этого вида в Карелии существенно не отличается от уже описанного для большинства других областей ареала (Пантелеев и др., 2001). Ее пища со-

стоит преимущественно из водно-болотной растительности, главным образом, осоки (57.3%), хвощей (38.5%), вахты (27.7%), тростника (12.6%), кубышки (9.9%), кувшинки (8.5%) и некоторых других, причем в отличие от ондатры, водяные полевки редко сгрызают растение под водой и поедают преимущественно его надводные части. В летние корма полевок входят также многие другие виды растений: клевера, таволга, одуванчик, подорожник, осот, лютики, борец, сныть, различные злаки. Они обнаружены на 60.6% исследованных кормовых столиках. Осенью важным компонентом рациона становится также выращиваемый на возделываемых полях и огородах картофель, запасы которого в норах грызунов достигают 10 кг и более.

Некоторый интерес представляет опыт кормления молодой водяной полевки в условиях неволи, поставленный нами в заповеднике “Кивач” летом 1961 г. Поскольку аналогичный эксперимент М.Я. Марвина (1959) касался выяснения поедаемости главным образом гидрофильных растений, мы, чтобы избежать повторения, пытались изучить потребление в основном лишь сухолюбивой растительности и корнеплодов. В результате удалось установить, что самыми предпочитаемыми видами корма из луговых и полевых растений являются злаки (душистый колосок, полевица, ежа сборная, овсяница красная, тимофеевка, мятлик), некоторые бобовые (клевера, чина луговая, мышиный горошек) и сочное луговое разнотравье (щавель, поповник, тысячелистник, манжетка, таволга); из корнеплодов (скармливали морковь, картофель, свеклу, репу и брюкву) наиболее охотно поедался картофель.

Исследованиями В.А. Соловьева (1994) установлено, что в условиях республики Коми водяная полевка поедает более 50 видов водно-болотных и прибрежных травянистых растений. В весенне-летний период грызуны переключаются на питание надземными частями растений, отдавая предпочтение сочным приземным частям. В этот

период на кормовых столиках обычно встречаются остатки различных видов осок. Чаще всего это пузырчатка, осока стройная, осока лисья. Они составляют основу питания. Наблюдая это, не трудно заметить, что в пищу употребляется однообразный корм, несмотря на широкий выбор кормовых объектов. При вскрытии желудков отловленных зверьков обнаружены три фракции растительной кашицеобразной массы, которые отличались по цвету: белая, светло-зеленая и темно-зеленая. Белая представляла картофель, потребляемый в качестве приманки в конусах, с помощью которых производился отлов, светло-зеленая — остаток переработанных влагилищных, а темно-зеленая — верхушечных частей растений. Никаких остатков животной пищи в желудках водяной полевки обнаружено не было.

Вместе с тем в условиях проведенных опытов был выявлен широкий спектр кормовых растений, причем с явным предпочтением осокам, как правило, удаленным от воды на значительное расстояние. Семи подопытным полевым в течение нескольких дней предлагалось 25 видов растений в различных сочетаниях в виде букетиков. Полевки активнее поедали сочные луговые растения, особенно молодые побеги заячьей капусты. Чаще съедали таволгу вязолистную, все вегетативные части горошка заборного, чины весенней, листья и молодые побеги иван-чая узколистного. Менее охотно, но достаточно хорошо поедали хвощ лесной, листья клевера лугового, у которого съедобными оказались все наземные части; различные виды осок, камыш лесной. У камыша и осок охотно съедались влагилищные части. Не менее часто зверьки ели листья водокраса лягушачьего, листья и стебли вахты трехлистной. Белокрыльник болотный, зверобой четырехгранный, шавель кислотный и подорожник средний поедались незначительно, и совсем плохо — черноголовка обыкновенная, валериана аптечная, пижма обыкновенная, подмаренник мягкий, шавель кислый.

В зимний период и в самом начале вегетации (конец мая—первая половина июня), по наблюдениям на северо-востоке Европейской части России (Бобрецов, 2004), водяная полевка особенно охотно поедает подземные части растений — корневища борца северного, чемерицы Лобеля, вейника пурпурного и др. С этой целью она выгрызает в земле специальные кормовые ходы, скусывает растения и затаскивает их под землю, где и кормится ими. В это время в их норах иногда находили фрагменты корневищ общим весом до 2 кг. По данным ряда авторов инстинкт запасаения кормов в осенне-зимний период — довольно обычное явление для этого вида на севере Европейской части и Сибири (Жарков, Теплов, 1931; Формозов, 1948; Максимов, Андрусевич, 1959; Соломонов, 1980 и др.).

В небольшом количестве потребляют эти полевки и животный корм. В июне на кормовых столиках в поселениях этих зверьков, расположенных в подгольцовых лугах Печеро-Ильчского заповедника, неоднократно находили кучки недоеденных наземных моллюсков (Бобрецов, 2004). По мнению П.А. Пантелеева (2001), необходимость в животной пище возникает у зверьков чаще всего весной для утоления белкового голода.

Размножение и структура популяции. Согласно данным литературы (Пантелеев и др., 2001), водяная полевка способна вступать в размножение в возрасте 40 дней. Однако, по нашим данным, полученным в Карелии, у животных, родившихся в конце лета—начале осени, половое созревание задерживается нередко до весны, и зрелость наступает лишь в возрасте 7–8 мес. и более в зависимости от экологических условий.

Возрастное половое созревание летом в год своего рождения раньше наступает у самок. Молодые самцы половозрелыми становятся позже, примерно на 7–10 дней. По данным Я. Пеликана (Pelikan, 1972), половая активность молодых самок наступает при массе тела от 40 до 60 г, молодых самцов — от 60 до 89 г; популяция достигает 50%-ной зрелости среди числа молодых, когда средний вес тела самок достигает 76 г, а самцов — 88 г.

Половая зрелость у перезимовавших зверьков, по нашим наблюдениям, наступает раньше у самок. При этом начало полового созревания связано с фотопериодом и сопровождается ускорением роста животных (Евсиков и др., 1991). Кроме того установлено, что срок полового созревания самок-сеголеток зависит от фазы популяционного цикла численности (Пантелеев и др., 2001; Назарова, Проскурняк, 2017). На подъеме численности, по сравнению с пиком и спадом, самки становятся половозрелыми при меньшем весе тела и вступают в размножение в более ранние календарные сроки.

Срок беременности, установленный в лабораторных условиях, равен 22 дням, по сведениям же Г. Рейхштейна (Handbuch, 1982) — 20–23 дням, в среднем 21.6 ($n = 23$), а по данным Н.В. Тупиковой (Тупикова, Швецов, 1956) — 21 дню.

Сезон размножения от начала попадания первых беременных самок весной до последних только что разродившихся самок осенью длится 4–6 месяцев, в зависимости от состояния популяции и погодно-фенологических условий года. Таким образом, в принципе, водяную полевку следует считать сезонно размножающимся видом. При этом от продолжительности сезона размножения зависит и число пометов в году.

Первое спаривание зимовавших водяных полевок проходит в Карелии в начале мая. Семенники добытых в это время самцов имели в длину

Таблица 2. Состояние половой системы и участие в размножении самцов и самок водяной полевки в Карелии

Месяц	Число исследованных зверьков	Характеристика половой системы			Доля самцов со сперматогенезом, % от общего числа	Число самок			
		длина семенника, мм	длина семенных пузырьков, мм	Вес двух семенников, г		беременных	кормящих	рожавших	без следов размножения
Взрослые (зимовавшие)									
Май	15	17.4(15.6–20.1)	18.9(9–24.5)	2.0(1.1–2.8)	100	4	1	–	–
Июнь	15	16.8(10.5–18.7)	18.2(8–28.4)	2.1(0.6–2.6)	89	3	3	–	–
Июль	21	16.7(11–19.6)	18.0(9.5–25.0)	2.3(0.6–2.6)	100	4	2	2	1
Август	5	12.8(9.8–15.9)	10.3(8–13.1)	1.4(0.2–2.1)	67	1	–	1	–
Сентябрь	10	13.0(4.8–15.1)	12.3(10–13.6)	0.7(0.3–1.5)	40	–	–	3	–
Прибылые (сеголетки) ранних выводков									
Июнь	12	13.5(3.5–14.9)	7.5(3.7–10.2)	1.0(0.8–1.3)	82	–	–	–	6
Июль	28	9.3(3.6–17)	10.1(2–23)	0.6(0.05–2.6)	58	2	2	1	5
Август	47	6.1(4.1–15.9)	7.1(2.5–16)	0.2(0.05–1.1)	27	4	2	4	13
Сентябрь	12	7.3(4.1–15)	3.2(2–9.8)	0.4(0.03–1.4)	17	–	–	3	3
Прибылые (сеголетки) поздних выводков									
Июль–сентябрь	82	4.7(3.5–8.6)	3.0(2–4.5)	0.08(0.04–0.2)	0	–	–	–	40

16–21 мм, семенные пузырьки – 9–25 мм, вес двух семенников – 1.7–2.8 г; сперматогенез обнаружен у всех исследованных самцов (табл. 2). Все самки, пойманные во второй половине мая, были беременны (80%) или уже кормили выводок (20%). В июне эмбрионы найдены у половины взрослых самок, остальные были лактирующими. Иногда беременность и лактация у них совпадают. В первой декаде июня (самая ранняя дата 8.06.1951) отловлены первые молодые зверьки весом 33–75 г, но в массе они появляются во второй половине этого месяца. Беременные и лактирующие зимовавшие самки попадались до конца августа (в июле 44% беременные и 22% кормящие, в августе 50% беременные). Эти данные, а также тот факт, что молодые зверьки приблизительно одного и того же возраста ловились в совершенно разное время, показывают, что период размножения водяной полевки в Карелии сильно растянут. Пользуясь таблицами для определения возраста молодых водяных полевок, приведенными В.А. Поповым (1960) и П.Л. Пантелеевым (1968), мы установили, что отловленные нами в период с 8 июня по 24 июля сеголетки находились в возрасте 30–60 дней, т. е. родились в мае–первой половине июня (Ивантер, 1975, 2018). В то же время в августе вновь стали попадаться молодые зверьки 20–30-дневного возраста. Таким образом, у зимовавших водяных полевок имеется не менее двух пометов: первый в мае и второй (его рождение более растянуто во времени) в июле–августе. Не ис-

ключено, что у части взрослых самок имеется и третий помет, но прямого подтверждения этому нет. Наличие у большинства водяных полевок Карелии не менее двух выводков в течение года доказывается и результатами исследования половых органов взрослых самок в июле–августе (на рогах матки – следы рождения двух пометов), а также поимкой в июле самок, одновременно подсосных и беременных.

При этом число пометов в году, помимо прочего, зависит от продолжительности сезона размножения. До середины 1950-х гг. число пометов определяли обычно расчетным числом: от начала сезона размножения прибавляли срок беременности, срок полового созревания, наступление новой беременности и так до срока окончания сезона репродукции. Лишь Н.В. Тупикова и Ю.Г. Швецов (1956) показали, что перезимовавшие самки и самки-сеголетки дают разное количество пометов, и что между пометами у самок бывает перерыв в размножении, имеющий больший срок, чем это допускалось при расчетах.

Прибылые водяные полевки размножаются в Карелии с гораздо меньшей интенсивностью, чем зимовавшие, и участие их в размножении зависит от времени рождения. Разделение сеголеток на две возрастные группы (родившиеся в мае–первой половине июня и в июле–августе) показало, что в год рождения размножается только 70% самок и 45% самцов ранних выводков, а прибылые, родившиеся во второй половине июня–августе, в

Таблица 3. Плодовитость самок водяной полевки в Карелии

Возрастная группа	Число исследованных самок	Количество самок (экз.) с числом эмбрионов									Среднее число эмбрионов на 1 самку
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Зимовавшие	27	1	—	2	3	8	6	4	2	1	6.5 (3.4 + 3.1)
Прибылые	16	—	1	2	6	4	1	—	1	1	5.7 (3.0 + 2.7)

Примечание. В скобках указано число эмбрионов в правом и левом рогах матки.

текущем году вообще не достигают половой зрелости и не размножаются (табл. 2). При этом большинство размножающихся самок-сеголеток успевают принести за первый сезон только один выводок (в наших сборах их было 70.6%) и лишь около трети (29.4%) — два вывода. Тем не менее значение прибылых особей в воспроизводстве популяции и нарастании ее численности не менее существенно, чем зимовавших полевок.

При этом раннее начало размножения и низкая численность весенней популяции вызывают более активное размножение молодых и роль их в воспроизводстве популяции еще более возрастает. Таким образом, в Карелии, как и в других местах (Шварц и др., 1957; Максимов, 1966 Попов, 1960; Соломонов, 1980; Пантелеев, 1968, и др.), ведущее значение в нарастании численности популяции имеют зверьки первого весеннего помета, интенсивность размножения которых связана с весенними условиями существования и уровнем плотности популяции. Заканчивается размножение в августе, причем зимовавшие самки прекращают размножаться на 2–3 недели раньше, чем сеголетки.

По данным Г.Г. Назаровой и Л.П. Проскурняк, (2017), регулирование репродуктивного вклада сеголеток осуществляется в основном за счет изменения скорости полового созревания самок. На пике и спаде численности размножается не более 26% прибылых самок (имеется в виду, очевидно, вся популяция сеголеток); в период депрессии их доля начинает увеличиваться, а на подъеме достигает 60%. В результате около 50% прибылых зверьков на подъеме численности — это потомки сеголеток, тогда как на пике и спаде их доля не превышает 3% (Евсиков и др., 1997).

В общем же, весь сезон размножения от начала попадания первых беременных самок весной до последних только что разродившихся особей осенью длится у нас в отдельные годы от 4 до 6 мес. в зависимости от местных погодных условий (срока наступления весны, ее хода и т.п.).

Важным показателем репродуктивного потенциала популяции принято считать число детенышей в помете (разовая плодовитость) (табл. 3). Вообще-то этот показатель у водяной полевки отличается высокой изменчивостью (Пантелеев,

2001). Его колебания связаны с климатическими условиями, в которых находится данная популяция, также с географической широтой региона. Чем в более холодном климате — в более высоких широтах или выше над уровнем моря — находится популяция, тем большее среднее число детенышей в помете ей свойственно. Среди прочего это связано с необходимостью компенсировать репродуктивные потери, которые вынуждена нести популяция в связи с сокращением периода размножения и повышенной эмбриональной и постнатальной смертностью.

Средняя величина выводка у зимовавших и прибылых самок водяной полевки в нашем регионе оказалась близка к видовой норме и составляет соответственно 6.5 ± 0.37 и плодовитости 5.7 ± 0.41 (табл. 3). В первом случае имеет место стабилизация средней величины плодовитости (показатель асимметрии $A = -0.01$), а во втором — процесс ее увеличения еще продолжается (Ивантер, 1975). Это говорит о том, что отбор на повышенную плодовитость затрагивает в основном молодых самок, а у взрослых он уже завершился.

Важным фактором, определяющим снижение репродуктивного потенциала водяной полевки, является эмбриональная смертность. Как убедительно показали специальные исследования в Северной Барабе (Евсиков и др., 1991), смертность эмбрионов способна изменяться в разные фазы многолетних циклов динамики численности популяции в 2–3 раза. В фазе спада численности уровень этой формы эмбриональной смертности достигал там 52%, а на подъеме он снижался до 4%.

В условиях таежного Северо-Запада России эмбриональная смертность водяной полевки, вычисленная по разности между числом желтых тел и живых эмбрионов, равна 2.7%. Это близко к данным по Западной Сибири (1.7%) и низовьям Волги (2.5%), но ниже, чем в Татарии (7.2%).

Эмбриональная и ранняя постнатальная смертность определяет фактическую плодовитость — число выращенных потомков. При этом и та, и другая обьязаны своим существованием стрессовым явлениям в популяции (Евсиков и др., 1991). После того, как популяция в течение нескольких репродуктивных сезонов находится в фазе депрессии и на уровне низкой численности, она осво-

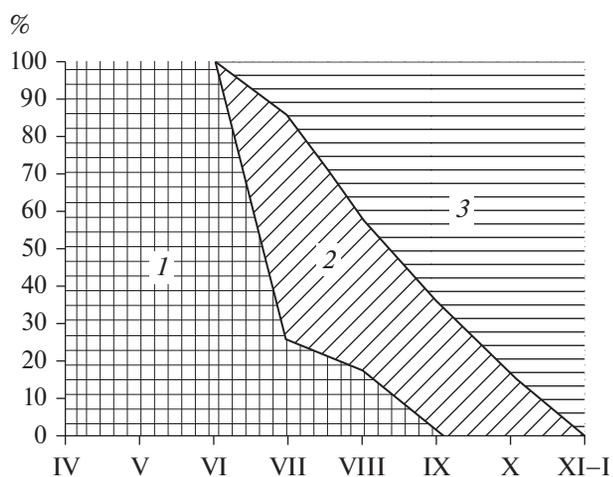


Рис. 2. Сезонные изменения возрастного состава популяции водяной полевки по данным отлова. 1 – зимовавшие; 2 – прибылые ранних выводков; 3 – прибылые поздних выводков. По оси абсцисс: месяцы; по оси ординат: относительное число зверьков определенного возраста, % от общего числа.

бождается от стрессовых явлений, и при наличии высокой емкости угодий начинает нормально реализовывать свой репродуктивный потенциал. Для достижения нормального (среднего) уровня численности, популяция, очевидно, не нуждается в каких-то особых факторах: достаточно наличия определенной емкости угодий и снятия популяционного стресса.

Выше уже указывалось, что, продолжительность жизни водяной полевки, по наблюдению в виварии, составляет около 2 лет, в природных же условиях, видимо, не более 22 мес. Кроме того, размножаются у этого вида не только взрослые (перезимовавшие) и сеголетки ранних рождений, но и прибылые, родившиеся позднее, включая и

появившихся на свет в конце лета. Это еще несколько усложняет возрастную структуру, характерную для данного вида. Представленные на рис. 2 и в табл. 4 сезонные изменения возрастного состава отловленных в природе водяных полевок показывают постепенное “разбавление” зимовавшей части популяции сеголетками. В июне на их долю приходится 47.8%, в июле – 54.6, в августе–сентябре – 90, в октябре – 100%. При этом вместе с зимовавшими полевыми из популяции исчезают и прибылые ранних выводков. Их, очевидно, можно отнести к скороспелой весенней генерации, сочетающей в себе быстрое половое развитие с коротким жизненным циклом. Поэтому весеннее поголовье водяных полевок однородно в возрастном отношении и состоит преимущественно из зверьков, родившихся во второй половине лета прошлого года.

Тем не менее, в северо-западных частях ареала, а значит, и на его периферии, куда относится и изучаемый нами регион, возрастная структура популяции водяной полевки имеет свои особенности. Как уже указывалось, это прежде всего относительная ее сложность, являющаяся следствием активного участия в размножении трех возрастных когорт, что может считаться и одной из весьма характерных для пограничных популяций адаптаций к повышенной здесь смертности зверьков.

Напомним, что период массового размножения водяных полевок в Карелии обычно начинается в первой декаде мая и заканчивается уже в августе. За эти четыре месяца большинство перезимовавших самок успевает принести два помета, размножается и часть молодых самок первых двух пометов. В отдельные годы с неблагоприятными погодными-климатическими условиями многие самки вообще не размножаются. С таким “замедленным” размножением связана и сложность возрастной структуры осенней популяции. Она представлена

Таблица 4. Возрастной и половой состав популяции водяной полевки в Карелии по данным многолетних учетов

Месяц	Число прибылых			Число зимовавших			Общее число исследованных зверьков	
	абс.	из них самцы, %	χ^2	абс.	из них самцы, %	χ^2	абс.	из них зимовавшие, %
Май	–	–	–	13	61.5	0.7	13	100.0
Июнь	13	53.8	0.1	14	58.3	0.3	27	48.0
Июль	43	58.1	1.1	22	54.5	0.2	65	33.8
Август	65	50.8	0.01	6	50.0	–	71	5.8
Сентябрь	59	54.3	0.6	10	70.0	1.6	69	14.5
Октябрь	2	–	–	–	–	–	2	–
Декабрь	2	50.0	–	–	–	–	2	–
Всего	184	53.3	0.8	65	59.0	2.0	249	26.1

в два раза большим числом генераций, по сравнению, например, с западносибирскими популяциями из Барабинской низменности. Тем не менее, воспроизводство популяции водяной полевки в Карелии обеспечивается в основном за счет размножения перезимовавших самок. Из самок-сеголеток в размножении принимает участие лишь некоторая часть особей первой генерации и то не каждый год. Однако именно в годы более полного участия прибылых в воспроизводстве популяции создаются необходимые условия для заметного ее усложнения и увеличения численности вида.

Среди пойманных зимовавших полевок преобладают самцы, очевидно, в связи с их большей активностью в период размножения. Молодые самцы также количественно преобладают над самками, но диспропорция эта невелика и статистически недостоверна.

Изменения численности. Годовые изменения численности водяных полевок довольно значительны, что в свое время сказывалось и на динамике заготовок шкурок (рис. 3). Максимальная за 40 лет величина добычи (1940 г.) превышает минимальную (1961 г.) в 22 раза, причем за смежные годы объем промысла изменялся в 3–6 раз. Основными причинами динамики численности водяной полевки служат изменения гидрологического режима водоемов (неблагоприятный водный режим был, в частности, главной причиной снижения численности водяной полевки и ондатры в 1955–1961 гг.; Ивантер, 1965, 1975) и вспышки туляремии, что наблюдалось в Карелии в 1959–1960 гг. (Андреев, 1961). Последнему способствует высокая зараженность водяных полевок Карелии эктопаразитами (экстенсивность до 70 и даже 100% при общей интенсивности 0.5–2.2).

Вообще же, на севере европейской части страны (поймы рек Северная Двина, Печера, Вычегда, Сухона, Онега, а в Карелии – Суна и Кемь) по литературным данным (Пантелеев и др., 2001) вспышки массовых размножений водяной полевки отмечались в 1904, 1907, 1923 и в 1926–1928 гг. (пик в 1927 г.). Затем, судя по заготовкам шкурок, в поймах рек Архангельской обл. (вместе с Ненецким автономным округом, где основной промысел велся в дельте р. Печоры) и Вологодской обл. (р. Сухона и др.), максимально высокие подъемы численности грызунов происходили в середине и в первой половине 1950-х гг. (рис. 3). Сходная динамика имела место в Коми и у нас в Карелии (1927, 1934–1937, 1955–1956 гг. и менее значительные подъемы в 1942, 1949, 1952, 1960 и 1968 гг.).

Обнаруживаются и некоторые различия в динамике численности водяных полевок в поймах разных северных рек. Это подтверждают и данные Б.П. Доброхотова и В.М. Неронова (1965). Так, в долине р. Онеги (нижнее течение) в период с 1950 по 1962 г. по их данным наблюдалось три

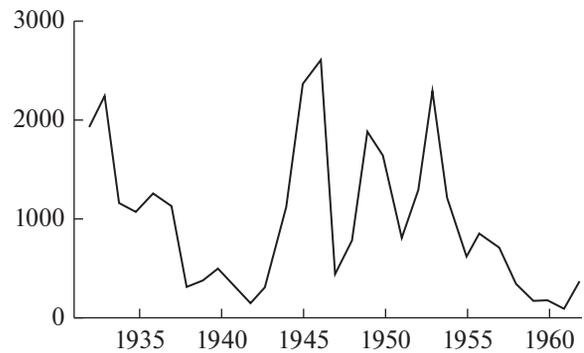


Рис. 3. Кривая заготовок шкурок водяной полевки в Карелии в 1932–1962 гг. По оси абсцисс: годы; по оси ординат: число шкурок.

подъема численности зверьков: в 1952, 1956, 1959–1960 гг.; в долине р. Северной Двины, в основном ниже впадения в нее р. Пинеги и в дельте, отмечались три волны высокой численности с пиками в 1952, 1957, 1961 гг.; в долине р. Мезени и ее притока – р. Башки – было также три подъема численности вида: в 1952, 1956–1957, 1960 гг.; в пойме р. Печоры и по ее притокам Ижме, Пижме и Цильме – в 1952, 1955 и 1956 гг.

При этом интенсивность вспышек массового размножения в поймах северных рек достигала весьма высоких показателей. Так, в дельте Печоры, где складывались наиболее благоприятные на севере условия для жизни водяных полевок, заготовки превышали 0.5 млн шкурок в год (1953), в Коми – 380 тыс. (1934 г.). В Вологодской обл. максимальная заготовка была в 1935 г. (9 тыс.).

Однако при некоторых различиях периодов развития вспышек массового размножения в бассейнах разных рек наблюдались и периоды синхронных подъемов численности. Из 36 краев и областей европейской части страны, по которым имеются данные о заготовках шкурок за довоенные годы, пики численности помимо общего подъема в 1956–1959 гг. регистрировались в 1933–1935 гг. (в 21 регионе) и в 1940–1941 гг. (14 регионов).

Что же касается связи массовых размножений этого вида с цикличностью солнечной активности (Максимов, 1966; Пантелеев, 1968), то на нашем материале она не прослеживается. Из четырех достоверных подъемов численности водяной полевки в Карелии с максимумом солнечной активности совпал лишь один (1949–1950 гг.), а остальные (1932, 1945–1946 и 1953) пришлись на минимум или спад цюрихских среднегодовых чисел Вольфа. Это, конечно, не значит, что космические факторы вообще не влияют на численность водяной полевки, но они опосредованы многолетними колебаниями гидрологического режима водоемов и сильно затушевываются действием внутривидовых

ляционных и биоценотических факторов. В очагах массового размножения рост численности может затормаживаться авторегуляторно через стресс (Евсиков и др., 1991), а также путем компенсаторной перестройки возрастной структуры размножающихся зверьков. В данном случае речь идет о более массовом половом созревании и об участии в размножении сеголеток-первопометников в условиях разреженной популяции и о почти полном не созревании их при переуплотнении населения. Компенсаторная перестройка возрастной структуры за счет изменения скорости полового созревания у полевок чаще всего связана именно с эффектами хронического стресса, развивающейся при высокой плотности популяции.

Вместе с тем, как было показано С.С. Шварцем с соавторами (1957), интенсивность размножения популяции тесно связана с весенними условиями существования. Ранняя и благоприятная по гидроклиматическим условиям весна способствует более дружному и раннему началу размножения зимовавших полевок, раннему половому созреванию и более полному вступлению в размножение сеголеток весенне-летних выводков. При раннем начале сезона размножения как зимовавшие самки, так и сеголетки первого весеннего помета дают за лето по “лишней” генерации (Пантелеев, 1968). В то же время сроки и характер весны могут быть связаны с солнечной активностью. Таким образом, численность водяной полевки, как и других мелких млекопитающих Карелии, определяется совокупным действием многих факторов, каждый из которых может превалировать в определенных годы и определенных ситуациях.

Заключение. Как показали проведенные исследования, выявленные выше экологические особенности, свойственные водяной полевке в специфических условиях северо-западной периферии ареала, отличаются значительной лабильностью и гармоничной согласованностью как с плотностью и состоянием популяции, так и с внешними факторами среды. Разнообразие экологически приспособлений, их трансформация и смена во времени и пространстве, адаптивный динамизм и ориентированность на конкретную экологическую ситуацию, складывающуюся из взаимодействия экзогенных и эндогенных факторов, обуславливают относительную стабильность и оптимальное состояние популяций рассматриваемого вида в экстремальных для него приграничных условиях. Вместо узких специальных приспособлений индивидуального ранга в периферических его населенных успешно реализуются широкие структурно-популяционные адаптивные комплексы, отличающиеся динамичностью и высокой скоростью компенсаторной перестройки. Весьма характерны для обитающей на северо-западе ареала водяной полевки, имеющие существенное адаптивное значение синантропизм в биотопическом

размещении, трехкортность участия зверьков в репродукции и значительно более сложная, чем в оптимуме ареала, экологическая структура популяции. Определенную роль в жизни и особенно воспроизводстве периферических популяций водяной полевки могут играть и специфические регуляторные, в том числе стресс-факторные, механизмы направленного действия, осуществляющие поддержание численности на оптимальном уровне. Однако у северо-западных границ ареала действие эти механизмов более ограничено и поддержание динамического баланса популяции с ресурсами ее местообитания в основном достигается при более значительном участии внешних факторов. Все это подтверждает выдвинутую нами ранее концепцию периферических популяций (Ивантер, 1975, 1985, 2008, 2017), согласно которой в экологическом центре (оптимуме) видовой ареала животных население вида благодаря функционированию внутривидовых компенсаторных механизмов отличается не только высоким уровнем численности, но и большей устойчивостью и однородностью, тогда как у границ распространения действие этих механизмов более ограничено, и организация населения изменяется в более широком диапазоне и с большей амплитудой. Вместе с тем для периферически популяций водяной полевки характерны и так называемые “популяционные волны”, возникающие с чрезвычайно резкими и неритмичными изменениями численности. Соответственно более выражены и гораздо рельефнее проявляются вблизи границ ареала и специфические структурно-популяционные адаптации, направленные в частности на максимально эффективное воспроизводство населения, способное обеспечить виду и его популяциям необходимое преодоление экстремальных условий экологического пессимума. Такого, в частности, отмеченное нами для северо-западных зон ареала водяной полевки более полное и частое созревание и участие в размножении прибылых особей.

Финансирование. Работу проводили в соответствии с Государственным заданием федерального исследовательского центра “Карельский научный центр РАН”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андреев И.Ф. Численность микромаммалия в Карелии и факторы, определяющие ее // Тез. докл. конф. по итогам работ Ин-та биол. Карельск. фил. АН СССР за 1960 г. Петрозаводск. 1961. С. 118–120.
- Бобрецов А.В. Мышевидные грызуны // Млекопитающие Печоро-Ильчского заповедника. Сыктывкар: Коми. книжн. изд-во, 2004. С. 206–301.
- Громов И.М., Ербаева М.А. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. — СПб., 1995. 522 с

- Громов В.С.* Пространственно-этологическая структура популяций грызунов. М.: Т-во научн. изданий КМК, 2008. 581 с.
- Доброхотов Б.П., Неронов В.Н.* Поселения водяных крыс и природные очаги туляремии на Севере Европейской части СССР // Туляремия и сопутствующие инфекции // Омск. 1965. С. 211–216.
- Евсиков В.И., Мошкин М.П., Назарова Г.Г.* Реализация репродуктивного потенциала и стресс в цикле численности водяных полевков // Экология популяций. М., 1991. С. 213–228.
- Евсиков В.И., Назарова Г.Г., Потапов М.А.* Генетико-экологический мониторинг циклирующей популяции водяной полевки (*Arvicola terrestris L.*) на юге Западной Сибири // Генетика, 1997. Т. 33. № 8. С. 1133–1143.
- Ердаков Л.И.* Циркадный ритм активности и питание водяной полевки и обыкновенного хомячка в условиях эксперимента. Автореф. дис. канд. биол. наук. Новосибирск, 1972. 23 с.
- Ердаков А.Н.* Организация ритмов активности грызунов. Новосибирск: Наука, 1984. 181 с.
- Жарков М.Д., Теплов В.П.* Данные по биологии и промыслу водяной крысы в Татарской республике // Работы Волжско-Камской краевой промышленной станции. Казань. 1931. Вып. С. 17–28.
- Зверев М.Д., Пономарев М.Г.* Биология водяных крыс и отравленные приманки в борьбе с ними // Изв. Сибкрайста. Новосибирск. 1930. Т. 4(7). Вып. 1. С. 26–47.
- Зудова Г.А.* Сезонно-возрастная динамика состава лейкоцитов крови у водяной полевки // Актуальные вопросы ветеринарной биологии, 2014. № 3(23). С. 79–87.
- Ивантер Э.В.* Состояние запасов и причины снижения численности ондатры в Карельской АССР // Проблемы ондатроводства. М., 1965. С. 27–28.
- Ивантер Э.В.* Материалы по размножению ондатры карельской популяции // Уч. зап. Петрозаводск. гос. ун-та. Петрозаводск. 1966. Т. 14, вып. 3. С. 109–116.
- Ивантер Э.В.* Популяционная экология мелких млекопитающих таежного Северо-Запада СССР. Л.: Наука. 1975. 318 с.
- Ивантер Э.В.* Основы практической биометрии. Введение в статистический анализ биологически явлений. Петрозаводск: Изд-во "Карелия", 1079. 96 с.
- Ивантер Э.В.* Эволюционная роль периферических популяций // Микропопуляция. М. 1985. С. 80–84.
- Ивантер Э.В.* К изучению популяционной организации политипического вида // Уч. зап. Петр. ГУ. 2008. № 1. С. 39–60.
- Ивантер Э.В.* К разработке экологической концепции периферических популяций // Экология. 2017. № 1. С. 60–65.
- Ивантер Э.В.* Очерки популяционной экологии мелких млекопитающих на северной периферии ареала. М.: Т-во научн. изд. КМК. 2018. 70 с.
- Ивантер Э.В., Коросов А.В.* Основы биометрии. Введение в статистический анализ биологических явлений и процессов. Петрозаводск. Изд-во Петр. ГУ, 1992. 168 с.
- Ивантер Э.В., Коросов А.В.* Введение в количественную биологию: Учеб. пособие. Петрозаводск: Изд-во Петр. ГУ. 2003. 304 с. .
- Карасева Е.В., Телецына А.Ю., Жигальский О.А.* Методы изучения грызунов в полевых условиях. М.: Изд-во ЛКИ, 2008. 416 с.
- Максимов А.А.* Размножение и изменение численности водяной крысы в различных ландшафтах Западной Сибири. Распределение водяной крысы по зонам и ландшафтам Западной Сибири // Водяная крыса и борьба с ней в Западной Сибири. Новосибирск. 1959. С. 19–48, 71–121.
- Максимов А.А.* Цикличность массовых размножений водяной крысы в Западной Сибири в сопоставлении с солнечной активностью // Вопр. зоологии. Томск. 1966. С. 232–241.
- Максимов А.А., Андрусевич Е.К.* Убежища (норы и гнезда) и питание водяной крысы // Водяная крыса и борьба с ней в Западной Сибири. Новосибирск. 1950. С. 49–71.
- Максимов А.А., Ердаков Л.Н.* Циклические проблемы и сообщества животных. Новосибирск: Наука СО. 1985. 236 с.
- Марвин М.Я.* Млекопитающие Карелии. Петрозаводск. 1959. 237 с.
- Назарова Г.Г., Проскурняк Л.П.* Возрастная изменчивость репродуктивных показателей водяной полевки (*Arvicola terrestris L.*) // Вестник Ир. ГСХА. 2017. № 83. С. 141–145.
- Пантелеев П.А.* Популяционная экология водяной полевки и меры борьбы. М., 1968. 254 с.
- Пантелеев П.А. и др.* Водяная полевка. М.: Наука, 2001. 387 с.
- Петров П.А.* Видовой состав и эволюция грызунов Волго-Ахтубинской поймы // Тр. Ростовского н/Д НИИПЧИТ. 1956. Т. 3. С. 127–146.
- Плюснин Ю.М., Евсиков В.И.* Сезонные изменения формы организации репродуктивных групп водяной полевки // Популяционная изменчивость вида и проблемы охраны генофонда млекопитающих. М.: Наука, 1983. С. 53–55.
- Попов В.А.* Млекопитающие Волжско-Камского края. Казань. 1960. 466 с.
- Рогов В.Г.* Динамика численности и демографические параметры популяции водяной полевки в подтаежной зоне Западной Сибири. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск. 1999. 23 с.
- Соловьев В.А.* Водяная полевка // Фауна Европейского Северо-Востока России. Млекопитающие. Т. II. Ч. I. СПб.: Наука. 1994. С. 224–236.
- Соломонов Н.Г.* Экология водяной полевки в Якутии. Новосибирск: Наука. 1980. 26 с.
- Тупикова Н.В., Швецов Ю.Г.* Размножение водяной крысы в Волго-Ахтубинской пойме // Зоол. журн. 1056. Т. 35. Вып. 1. С. 130–140.
- Формозов А.Н.* Мелкие грызуны и насекомоядные Шарьинского района Костромской области в период

- 1930–1940 гг. // Матер. по грызунам. М. Изд-во МОИП. 1948. Вып. 3. С. 3–110.
- Шварц С.С., Павлинин В.И., Сюсюмова Л.М. Теоретические основы построения прогнозов численности мышевидных грызунов в лесостепном Зауралье // Тр. Ин-та биол. Уральск. фил. АН СССР. Свердловск. 1957. Вып. 8. С. 3–59.
- Handbuch der Säugetiere Europas /Niethamme J. Krapp. F. (eds.). Bd. 2/1. Nagetiere 2. – Wiesbaden: Acad. Verlag., 1982. 649 s.
- Pelican J. *Arvicola terrestris* (L.), indexes of reproduction in Czechoslovakia // Prirodoved pr Ustavu CSAV Brno. 1972. V. 6. № 11. 50 p.
- Stoddart M.D. Breeding and survival in a population of Water voles // J. Ann. Ecol. 1971. V. 40. № 2. P. 487–494.

To the Study of a Water Vole (*Arvicola amphibius*) at the North-Western Area

E. V. Ivanter^{1, 2, #}

¹ Petrozavodsk State University, Lenin pr., 33, Petrozavodsk, 185910 Russia

² Karelian Scientific Center of the RAS, Pushkinskaya st., 11, Petrozavodsk, 185035 Russia

[#]e-mail: Ivanter@petrsn.ru

We have conducted the long-term expeditionary and stationary studies in the taiga Northwest of Russia (1958–2018) to characterize the population, biotopic distribution, nutrition, reproduction, spatial and ecological structure of the population, and the dynamics of the number of water voles, including those associated with its habitat in northern range boundaries: timing, reproductive cycles, course and intensity of reproduction, participation in the reproduction of individual age groups, variations in brood size, etc. The breeding season from the first pregnant females are caught in spring to the last newly born females in autumn lasts 4–6 months. It depends on the state of the population and weather and phenological conditions of the year. The average brood in wintering and arrived female voles in our region was close to the species norm and amounted to 6.5 ± 0.37 and 5.7 ± 0.41 . The main reasons for the long-term dynamics of the species abundance are changes in the hydrological regime of water bodies.

Keywords: population, range periphery, reproduction periods, reproductive cycles, arrived, wintering, fertility, population changes, hydrological regime of water bodies

**ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И ЭКСПРЕССИИ ОСНОВНЫХ
РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ
СИСТЕМЫ В АОРТЕ И МИОКАРДЕ КРЫС**

© 2023 г. Л. М. Кожевникова*, @, И. Ф. Суханова*

*ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», ул. Балтийская, 8, Москва, 125315 Россия

@E-mail: lubovmih@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.11.2021 г.

После доработки 01.12.2021 г.

Принята к публикации 14.03.2022 г.

Оценены половые различия возрастных изменений функциональной активности и экспрессии рецепторных и регуляторных белков ренин-ангиотензиновой системы (RAS) в аорте и миокарде крыс. Установлено, что с возрастом у самок повышается чувствительность аорты к вазоконстрикторному действию ангиотензина II, в то время как у старых самцов она остается неизменной. В аорте старых самок выявлено снижение уровня мРНК *ACE*, *MasR* и *ACE2* в 1.6, 1.8 и 4.4 раза соответственно. Показано, что в процессе старения в левом желудочке самок уровень мРНК *MasR* и *ACE2* снижается, у самцов, напротив, уровень мРНК *ACE* и *MasR* повышается. Полученные результаты свидетельствуют о половых особенностях возрастных изменений активности RAS в сосудах и сердце крыс.

Ключевые слова: старение, экспрессия генов, ренин-ангиотензиновая система, аорта, миокард

DOI: 10.31857/S1026347022700056, EDN: HANDOI

Наиболее частой причиной смерти среди пожилых людей являются сердечно-сосудистые и цереброваскулярные заболевания. Борьба с возрастными сосудистыми заболеваниями имеет решающее значение, поскольку с каждым годом увеличивается число людей старше 65 лет. В основе развития возрастной сосудистой патологии лежат нарушения сократительной, барьерной, секреторной, транспортной функций сосудистой системы (Lakatta 2015; Lacolley *et al.*, 2018; Ungvari *et al.*, 2018). Результаты эпидемиологических исследований артериального давления у мужчин и женщин, а также данные, полученные на экспериментальных моделях животных, указывают на существенные половые различия в возникновении артериальной гипертензии и последующих осложнений, включая инфаркт миокарда, инсульт, ретинопатию, хроническую почечную недостаточность, сахарный диабет (Boese *et al.*, 2017; Kavousi, 2020).

У молодых людей артериальное давление определяется в основном резистентностью периферических сосудов, в то время как у пожилых — в большей степени жесткостью магистральных сосудов (Quinn *et al.*, 2012; Thijssen *et al.*, 2016; Saeed *et al.*, 2018). Прогрессирующее увеличение жесткости крупных эластических артерий, преж-

де всего аорты, является ранним показателем их старения. Важная функция аорты заключается в том, чтобы гасить повышение давления, вызванное выбросом крови из левого желудочка во время систолы. По мере потери эластичности аорты повышается систолическое кровяное давление на единицу крови, выбрасываемой из левого желудочка, что приводит к увеличению систолического давления и к нагрузке на левый желудочек сердца. Все это способствует развитию гипертонии, гипертрофии левого желудочка, субэндокардиальной ишемии и фиброза сердца (Mazzaro *et al.*, 2005; Sheydina *et al.*, 2011).

Большинство исследований по изучению возрастных изменений проводится на артериях с преобладающей резистивной функцией. Физиологические эффекты старения магистральных сосудов, в том числе изменения их чувствительности по отношению к вазоактивным соединениям, и механизмы развития гипертонии в пожилом возрасте у мужчин и женщин изучены недостаточно.

В настоящее время доказано влияние окислительного стресса на процессы старения сосудов. Активные формы кислорода обладают цитотоксическим действием, негативно влияют на функцию митохондрий и увеличивают синтез широкого спектра

воспалительных цитокинов и хемокинов, что приводит к активации воспалительных процессов в стареющих сосудах (Wang, Shah, 2015; Ungvari *et al.*, 2018). Снижение синтеза и биодоступности NO является одной из причин возрастного снижения эндотелий зависимой дилатации сосудов, увеличения вазоконстрикции и нарушения перфузии тканей (Taddei *et al.*, 2000; Rodriguez-Manas *et al.*, 2009; Donato *et al.*, 2015).

Решающая роль в возрастной дисфункции сосудов отводится рецепторам плазматической мембраны клеток, связанных с G-белками (GPCR), которые активируют сходные сигнальные пути и регулируют широкий спектр клеточных физиологических и патологических процессов (Wirth *et al.*, 2016). Важную роль в регуляции функциональной активности сосудов играет ренин-ангиотензиновая система (RAS). RAS состоит из двух осей регуляции внутриклеточной сигнализации: 1) классической ACE/ATII/AT1R, активация которой приводит к вазоконстрикции, пролиферации клеток, гипертрофии органов, задержке ионов натрия, высвобождению альдостерона и др. и 2) альтернативной ACE2/AT(1-7)/MasR. Посредством ACE2/AT(1-7)/MasR-сигнального каскада реализуются вазодилатационный, антипролиферативный, антигипертрофический, кардиопротективный, противовоспалительный эффекты RAS. При активации данного каскада подавляется процесс тромбообразования в микрососудах и фиброобразования легочной ткани (Verdecchia *et al.*, 2020).

Связанное с возрастом повышение активности RAS в значительной степени способствует развитию гипертонии и широкого спектра нарушений, включая гипертрофию сердца, фибрилляцию предсердий и сердечную недостаточность (Mehta, Griendling, 2007; Yamamoto *et al.*, 2007; Lakatta, 2015; Wang, Shah, 2015). Мы предположили, что в стареющих сосудах и миокарде происходят значительные изменения на уровне экспрессии генов, кодирующих важнейшие регуляторные белки RAS, что приводит к дисбалансу функциональной активности двух осей регуляции внутриклеточной сигнализации: ACE/ATII/AT1R и ACE2/AT(1-7)/MasR.

В настоящем исследовании мы оценили функциональную активность и экспрессию генов ангиотензиновых рецепторов AT1A-типа, а также экспрессию генов MasR и ангиотензинпревращающих ферментов — ACE и ACE2 в аорте и миокарде молодых и старых крыс обоего пола для понимания вклада RAS в развитие сердечно-сосудистых заболеваний в старости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на беспородных крысах обоего пола.

Крысы, включенные в исследование, были рандомизированы на четыре группы: 1 группа — самки в возрасте 4 мес. (молодые, $n = 19$); 2 группа — самки в возрасте 24 мес. (старые, $n = 19$); 3 группа — самцы 4 мес. (молодые, $n = 19$); 4 группа — самцы в возрасте 24 мес. (старые, $n = 19$).

Анестезированных крыс (25% раствор уретана, 4 мл/кг) декапитировали, извлекали сердце и грудной отдел аорты для проведения дальнейших физиологических и молекулярно-биологических исследований. Часть изолированной аорты (~1 см) помещали в раствор Кребса–Хенселейта, охлажденный до $+4^{\circ}\text{C}$, и использовали в физиологических экспериментах. Состав раствора Кребса–Хенселейта в мМ: NaCl — 121; KCl — 4.69; KH_2PO_4 — 1.1; NaHCO_3 — 23.8; MgSO_4 — 1.6; CaCl_2 — 1.6; ЭДТА — 0.032; D-глюкоза — 8. Остальную часть аорты и фрагмент левого желудочка сердца помещали в охлажденный до $+4^{\circ}\text{C}$ физиологический раствор NaCl и использовали для проведения ПЦР анализа.

Измерение силы сокращения аорты в изометрическом режиме. Сосуды очищали от жировой и соединительной тканей и нарезали на кольца шириной 1.5–2.2 мм, которые крепили на держателях, помещенных в раствор Кребса–Хенселейта, аэрируемый карбогеном (5%-ная CO_2 в O_2) в проволочном четырехканальном миографе (“DanishMyo Technology”, модель Multi Myograph System — 620M).

После достижения в камерах миографа температуры раствора $37.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ фрагменты аорты растягивали радиально до оптимального диаметра просвета, соответствующего 90% пассивного диаметра сосуда при 100 мм Hg (Mulvany, Halpern, 1977). После процедуры растяжения и последующего периода стабилизации в течение 20 мин жизнеспособность сосудов проверяли с помощью 1 мкМ фенилэфрина — агониста α -адренорецепторов (α -AR, “Sigma”, США). Сохранность эндотелия тестировали с помощью агониста мускариновых рецепторов 10 мкМ карбахола—негидролизированного ацетилхолинэстеразами аналога ацетилхолина (Sigma, США).

После процедуры стандартизации сосудов приступали к измерению силы сокращения колец аорты в ответ на воздействие АТII в концентрации 100 нМ (Sigma, США). Данная концентрация АТII является насыщающей концентрацией для сосудов в условиях наших экспериментов.

Обработка результатов физиологических экспериментов. Результаты обрабатывали в Microsoft Excel с использованием количественных данных силы сокращения сосудов (мН), экспортированных из программного обеспечения миографа (LabChartPro).

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Graph Pad Prism 5. Для сравнения средних значений и статистических различий между группами использова-

Таблица 1. Последовательность праймеров, используемых в работе

Ген	Прямой праймер	Обратный праймер	Праймер с флуоресцентным зондом
<i>Actb</i>	CTGACAGGATG CAGAAGGAG	GATAGAGCCACCAA TCCAC	FAM-CAAGATCATTGCTCCTCCTGAGC-BHQ1
<i>ATIAR</i>	CACCAGGTCAA GTGGATTTC	STTTTGATACCATCT TCAGCA	FAM-AGTGTCTGAGACCAACTCAACCCA-BHQ1
<i>MasR</i>	CATCCTGCCAGA GAGAAAATG	GGTATTCATGGCTT TCTCCTCA	FAM-CCAGCACAAGAACTCCTCATGGACC-BHQ1
<i>ACE</i>	CAAAGTACGTG GACTTCTCCA	GCTCCAAGTCGTCG GACTC	FAM-CAAGCTCAACGGCTACTCTGATGC-BHQ1
<i>ACE2</i>	GGCTGAAAGAG CAGAACAG	CCCAAGAGCTGATT TTAGGCT	FAM-ACTGGAGCCCATATGCCGACC-BHQ1

ли дисперсионный анализ (ANOVA) с последующими апостериорными тестами Тьюки. Расхождения считали достоверными при $p < 0.05$.

Проведение количественного ПЦР анализа. Экспрессию мРНК рецепторов *ATIAR* и *MasR* и ферментов *ACE* и *ACE2* измеряли в тканях аорты и левого желудочка сердца. Возрастные изменения оценивали по разнице в уровне мРНК.

Выделение тотальной РНК. После извлечения фрагментов сердца и аорты кровь отмывали физиологическим раствором хлорида натрия охлажденным до $+4^{\circ}\text{C}$. Затем ткани помещали в раствор RNeasy (Ambion, США) и хранили до выделения РНК при -20°C .

Кусочки ткани левого желудочка и аорты измельчали в жидком азоте. Экстракцию РНК из ткани проводили с использованием набора GeneJET™ (ThermoFisher Scientific Inc., США) согласно протоколу производителя. Выделенную тотальную РНК обрабатывали ДНКазой I (Thermo Fisher Scientific Inc., США) для предотвращения загрязнения геномной ДНК. Концентрацию тотальной РНК определяли количественно на спектрофотометре NanoDrop® ND-1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Для проведения реакции обратной транскрипции с использованием набора Revert Aid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., США) брали 1 мкг РНК. Реакцию обратной транскрипции проводили в соответствии с инструкциями производителя, используя случайные гексамерные праймеры.

Проведение количественной полимеразной цепной реакции. Количественную ПЦР проводили с использованием набора qPCRmix-HS (“Евроген”, Россия) согласно инструкции производителя праймеров. Праймеры для реакции были подобраны, синтезированы и валидированы ООО “ДНК-Синтез” (Россия) (табл. 1)

Количественную ПЦР проводили в амплификаторе CFX96 Cyclo-RealTime PCR Detection System (BioRad Laboratories, Inc., Hercules, CA, США) в 96-луночной планшете, в объеме 20 мкл,

используя 1 мкл кДНК. Все эксперименты включали отрицательный контроль и были повторены дважды.

Реакцию проводили при следующих условиях: начальная денатурация (инициация фермента) – 3 мин при 95°C , далее 40 циклов (денатурация – 15 с при 95°C , отжиг/элонгация – 1 мин при 60°C). Для нормализации уровней экспрессии генов использовали β -актин. Различия в экспрессии целевого гена оценивали по изменению соотношения уровней мРНК гена/мРНК β -актина. Отрицательные контроли были поставлены в соответствии с общепринятыми стандартами для отрицательных контролей при проведении количественной ПЦР. Реакцию проводили без фрагментов кДНК, чтобы исключить контаминацию реагентов, и с образцом тотальной РНК, чтобы исключить контаминацию кДНК геномной ДНК.

Анализ результатов количественной ПЦР. Результаты обрабатывали в Microsoft Excel с использованием алгоритма $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$.

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Graph Pad Prism 5. Для сравнения средних значений и статистических различий между группами использовали дисперсионный анализ (ANOVA) с последующими апостериорными тестами Тьюки. Расхождения считались достоверными при $p < 0.05$. Данные в тексте представлены в виде средних значений и ошибки среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Аорта. У самок в процессе старения аорта становится более чувствительной к вазоконстрикторному действию ангиотензина II (АТII). Так, в ответ на воздействие АТII в концентрации 100 нМ на изолированные кольца аорты старых самок прирост силы их сокращения составлял 5.9 ± 0.5 мН, что значительно превышало величину агонист-индуцированного сокращения сосудов молодых самок (2.6 ± 0.3 мН) (рис. 1). В отличие от самок,

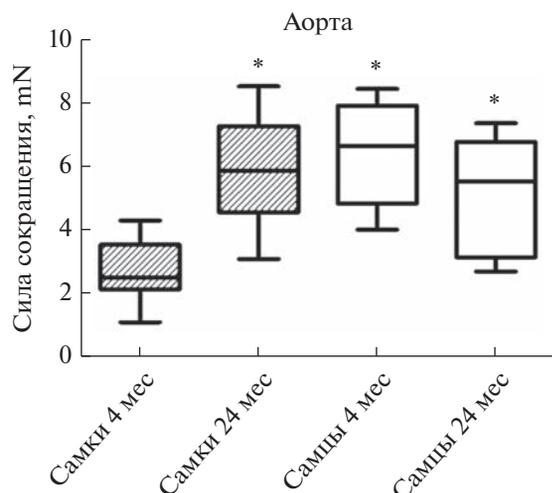


Рис. 1. Влияние возраста на силу сокращения изолированных колец аорты крыс самок и самцов в ответ на воздействие ангиотензина II (АТII, 100нМ). * – $p < 0.001$ при сравнении с самками в возрасте 4 мес.

у старых крыс самцов реакция аорты на воздействие АТII существенно не отличалась от реакции сосудов молодых животных (рис. 1). Воздействие АТII (100 нМ) на изолированные кольца аорты молодых и старых крыс самцов приводило к одинаковому приросту силы их сокращения (6.5 ± 0.5 мН и 5.5 ± 0.6 мН соответственно), что свидетельствовало об отсутствии возрастных изменений реактивности аорты старых самцов по отношению к действию АТII. Отмечено, что чувствительность аорты молодых крыс самок к вазоконстрикторному действию АТII (100 нМ) достоверно ниже, чем

сосудов молодых самцов (соответственно 2.6 ± 0.3 мН и 6.5 ± 0.5 мН, $p < 0.001$) (рис. 1).

Установлено, что в сосудах старых крыс независимо от пола животных уровень мРНК рецепторов АТ1А-типа, через которые реализуется вазоконстрикторный эффект АТII, остается неизменным и сопоставим по величине у самок и самцов (рис. 2а).

Как показано на рис. 2б, в процессе старения в аорте крыс самок снижается уровень мРНК ACE с 0.7 ± 0.04 до 0.41 ± 0.02 относительных единиц (ОЕ), в то время как в сосудах самцов он остается неизменным. Отмечено, что у самцов в аорте уровень мРНК ACE превышает в 1.5 и в 2.6 раза аналогичные показатели в сосудах молодых и старых самок (соответственно 0.7 ± 0.04 и 1.02 ± 0.05 ; 0.41 ± 0.02 и 1.06 ± 0.05 ОЕ).

В аорте старых крыс самок более чем в полтора раза снижается уровень мРНК *MasR* по сравнению с уровнем данных рецепторов в сосудах молодых животных (с 1.46 ± 0.1 до 0.83 ± 0.06 ОЕ) (рис. 3а). В отличие от самок, в аорте крыс самцов не выявлено возрастных изменений уровня мРНК *MasR*. Однако отмечено, что в сосудах крыс самцов уровень экспрессии *MasR* значительно ниже, чем в сосудах молодых самок (рис. 3а). Выявлена аналогичная динамика возрастных и половых изменений уровня экспрессии гена *ACE2*. Так, по сравнению с сосудами молодых крыс уровень мРНК *ACE2* в аорте старых самок падает более чем в 4 раза, в то время как в аорте старых самцов он остается неизменным (рис. 3б). В аорте самцов уровень мРНК *ACE2* более чем в 2 раза ниже аналогичных показателей в сосудах молодых самок. Следует отметить, что в сосудах старых самцов уровень мРНК *ACE2* выше, чем в аорте старых самок (соответственно 0.65 ± 0.07 и 0.35 ± 0.05 ОЕ), что

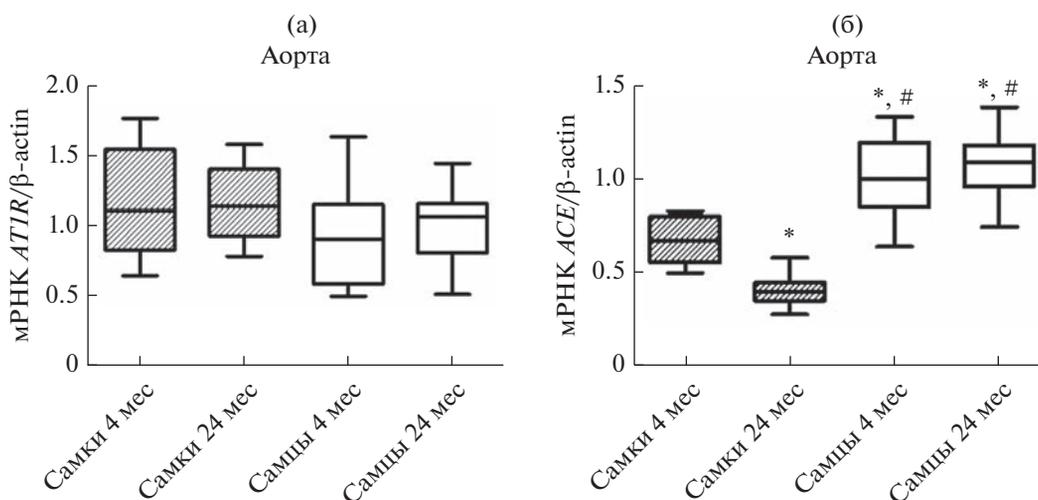


Рис. 2. Влияние возраста на уровень экспрессии генов (а) ангиотензиновых рецепторов АТ1А-типа и (б) ангиотензин-превращающего фермента (ACE) в аорте крыс самок и самцов. * – $p < 0.0001$ при сравнении с самками в возрасте 4 мес.; # – $p < 0.0001$ при сравнении с самками в возрасте 24 мес.

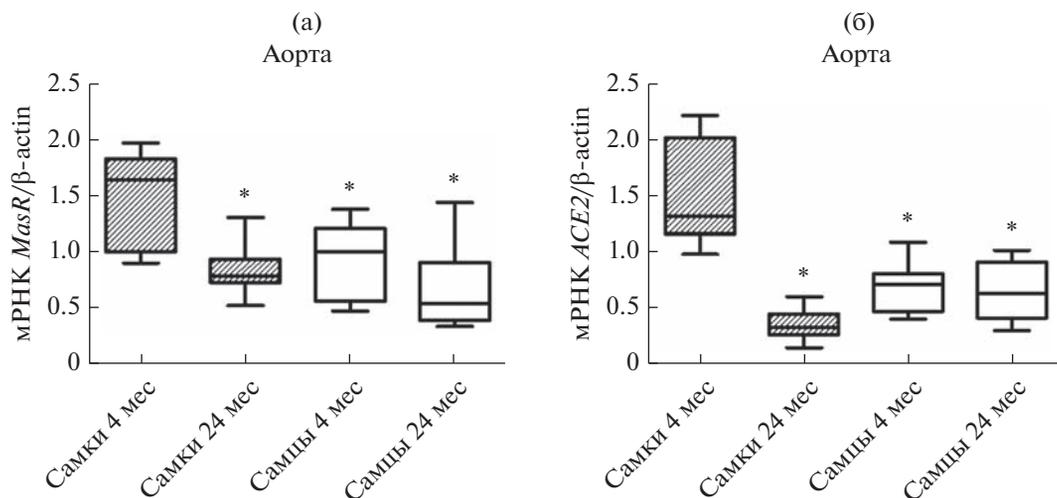


Рис. 3. Влияние возраста на уровень экспрессии генов (а) рецепторов *MasR* и (б) ангиотензинпревращающего фермента 2 (*ACE2*) в аорте крыс самок и самцов. *— $p < 0.01$ при сравнении с самками в возрасте 4 мес.

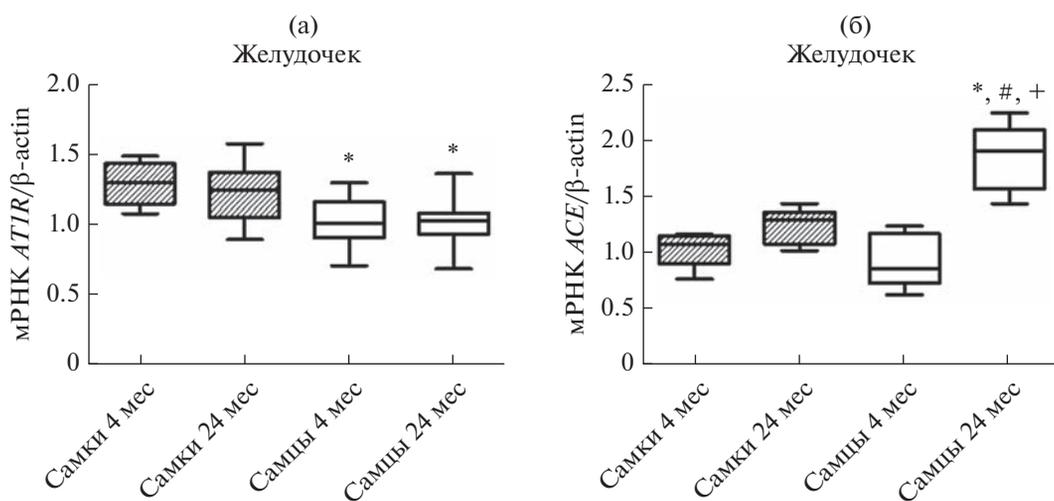


Рис. 4. Влияние возраста на уровень экспрессии генов (а) *AT1R* и (б) *ACE* в левом желудочке крыс самок и самцов. *— $p < 0.05$ при сравнении с самками в возрасте 4 мес.; # — $p < 0.05$ при сравнении с самками в возрасте 24 мес.; + — $p < 0.05$ при сравнении с самцами в возрасте 4 мес.

обусловлено исключительно только значительным падением экспрессии гена *ACE2* в аорте старых самок (рис. 3б).

Сердце. Возрастных изменений содержания мРНК рецепторов ангиотензина АТ1А-типа в левом желудочке сердца крыс обоего пола не обнаружено. Важно отметить, что независимо от возраста уровень мРНК *AT1AR* в левом желудочке крыс-самок был достоверно выше, чем у самцов (рис. 4а).

В желудочке молодых крыс обоего пола уровень экспрессии гена *ACE* (рис. 4б) одинаков. Однако при старении экспрессия гена *ACE* увеличивается

в желудочке старых самцов крыс в 2 раза по сравнению с молодыми самцами.

В желудочке молодых самок крыс уровень экспрессии генов *MasR* и *ACE2* выше, чем у самцов (рис. 5). В миокарде старых самок по сравнению с молодыми самками уровень мРНК *MasR* снижается с 1.9 ± 0.1 до 1.2 ± 0.03 ОЕ и мРНК *ACE2* с 1.24 ± 0.04 до 0.83 ± 0.03 ОЕ. Важно подчеркнуть, что у самок наблюдается сходная динамика возрастных изменений экспрессии исследуемых генов в миокарде и аорте. В отличие от самок крыс, у старых самцов в левом желудочке выявлено достоверное увели-

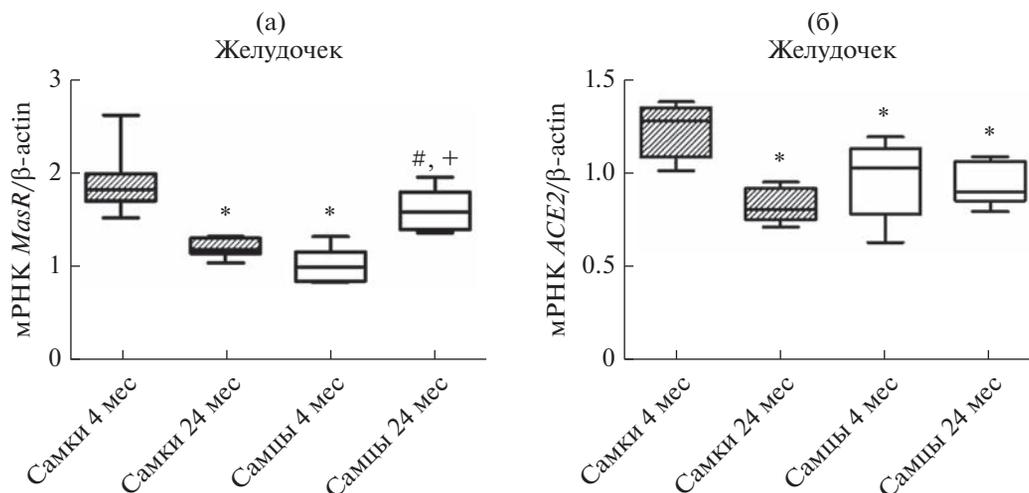


Рис. 5. Влияние возраста на уровень экспрессии генов (а) рецепторов *MasR* и (б) *ACE2* в левом желудочке крыс самок и самцов. * – $p < 0.05$ при сравнении с самками в возрасте 4 мес.; # – $p < 0.05$ при сравнении с самками в возрасте 24 мес.; + – $p < 0.05$ при сравнении с самцами в возрасте 4 мес.

чение экспрессии гена *MasR*, при этом уровень экспрессии гена *ACE2* не изменился (рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учитывая нынешний и прогнозируемый рост числа пожилых людей, в ближайшем будущем возрастет частота сердечно-сосудистых заболеваний и увеличится нагрузка на здравоохранение. До сих пор причина возрастного повышения артериального давления плохо изучена. С возрастом возрастает активность вазоактивных медиаторов, в том числе ангиотензина II, которые участвуют в физиологии старения сосудов, способствуя структурно-функциональным изменениям гладкомышечных и эндотелиальных клеток сосудов, уменьшению эластичности и изменению сократительных свойств артерий. Ранее было установлено, что активация RAS напрямую зависит от уровня половых гормонов (Paul *et al.*, 2006). Эстрогены подавляют активность RAS как на системном, так и на тканевом уровнях (Fischer *et al.*, 2002). Показано, что эстрогены снижают уровень мРНК *ACE* в почках, легких и аорте крыс, подавляют экспрессию рецептора АТ1. Несмотря на многочисленные экспериментальные и клинические свидетельства того, что половые гормоны регулируют RAS и тем самым опосредуют воздействие на сердечно-сосудистую систему у мужчин и женщин в пре- и постменопаузе/андропаузе в физиологических условиях, их роль в развитии половых различий при возникновении сердечно-сосудистых заболеваний и смертности полностью не установлена.

Известно, что мужчины предрасположены к развитию сердечно-сосудистых заболеваний, включая атеросклероз и гипертонию, в более раннем

возрасте по сравнению с женщинами, что связывают с защитной функцией эстрогенов. В частности, у женщин эндотелиальная дисфункция возникает более чем на десять лет позже, чем у мужчин (LeBlanc *et al.*, 2009, 2013; Stanhewicz *et al.*, 2018). В процессе физиологического старения у женщин в большей степени, чем у мужчин, сохраняется целостность структуры миокарда (Olivetti *et al.*, 1995). Что, по-видимому, обуславливает более высокую частоту возникновения фибрилляций предсердий (Atrial fibrillation, AF) у пожилых мужчин, чем у женщин (Tsuneda *et al.*, 2009; Magnani *et al.*, 2012, 2014; Lin *et al.*, 2018; Kavousi, 2020). Полагают, что это связано с более ранним поражением коронарных артерий у мужчин. У женщин AF диагностируется в более пожилом возрасте, но риск развития связанных с AF осложнений у них значительно выше, чем у мужчин того же преклонного возраста. То есть негативные проявления процесса старения сосудов и миокарда раньше проявляются у мужчин, чем у женщин, но по мере увеличения продолжительности жизни эти различия нивелируются, и имеют тенденцию к прогрессированию отдельных проявлений в зависимости от пола.

Нами установлено, что сила сокращения аорты молодых крыс самок в ответ на воздействие АТII почти в 2 раза меньше силы сокращения сосудов молодых самцов (рис. 1). Мы полагаем, что при одинаковом уровне мРНК *AT1AR* в аорте молодых крыс обоего пола гипочувствительность сосудов молодых самок к действию АТII обусловлена более низким уровнем экспрессии *ACE* и высоким – *ACE2* и *MasR*, чем в аорте молодых крыс самцов (рис. 2, 3). Полученные результаты согласуются с данными литературы. Показано, что у

молодых здоровых самцов мыши по сравнению со здоровыми самками сосудосуживающий ответ на действие АП II и эндотелин-1 более выражен, что связано не только с более высоким синтезом АП II и ET-1, но также с половыми различиями в экспрессии их рецепторов (Stanhewicz *et al.*, 2018). Кроме того, у самок выше концентрация АТ(1–7) в крови и уровень экспрессии *MasR* в сосудах, что также способствует менее выраженному агонист индуцированному повышению тонуса сосудов у здоровых молодых самок, по сравнению с молодыми самцами. Более низкий сосудосуживающий эффект на воздействие АП II у самок крыс, чем у самцов, также связан с действием эстрогенов (Sampson *et al.*, 2012). На хирургической модели менопаузы (овариэктомированные крысы) показано, что сосудосуживающий ответ на воздействие АП II был значительно выше, а на АТ(1–7) – ниже, чем у контрольных животных (Endlich *et al.*, 2017).

Нами установлено, что по мере старения у старых самок чувствительность аорты к вазоконстрикторному действию АП II значительно возрастает, в то время как чувствительность сосудов старых самцов остается неизменной (рис. 1). При этом в аорте крыс обоего пола не выявлено возрастных изменений уровня экспрессии гена *AT1AR*. Поскольку эстроген оказывает сильное вазодилаторное влияние на сосудистую сеть, полагают, что у особей женского пола в старости снижение циркулирующего эстрогена может привести к усилению GPCR-опосредованных сосудосуживающих ответов артерий (Mouat *et al.*, 2018). Высокую распространенность артериальной гипертензии у женщин в постменопаузе связывают с активацией RAS (Lima *et al.*, 2012). Ранее в экспериментах на молодых (4 мес.) и старых (24 мес.) мышьях самцах C57BL6 также было продемонстрировано, что в сонных артериях сокращения, вызванные воздействием АП II, а также экспрессия генов двух изоформ рецептора *AT1AR* и *AT1BR*, которые опосредуют вазоконстрикторные эффекты АП II, не изменяются в процессе старения (Meuer *et al.*, 2014). Следует отметить, что только в старости сила сокращения аорты самок в ответ на воздействие АП II сопоставима по величине с реакцией сосудов, как молодых, так и старых крыс самцов (рис. 1). Столь значительный рост сократительной реакции аорты старых самок на воздействие АП II вероятно обусловлен падением уровня экспрессии генов *ACE2*, *MasR* и *ACE* в стареющих сосудах (рис. 2, 3). В отличие от крыс самок у старых самцов в сосудах не было выявлено возрастных изменений экспрессии генов основных регуляторных белков как классической *ACE*/*AT1AR*/*AT1R*, так и альтернативной *ACE2*/*AT(1–7)*/*MasR* осей RAS.

Тканеспецифическая активация RAS, связанная с процессом старения, была продемонстрирована на примере различных органов, включая

сердце (Wang *et al.*, 2010; Yoon, Choi, 2014; Yoon *et al.*, 2016). АП II действует как модулятор ремоделирования желудочков после инфаркта миокарда и может вызывать гипертрофию и фиброз сердца за счет прямого воздействия на сердце независимо от артериального давления (De Smet *et al.*, 2003; Dasgupta, Zhang, 2011). Клеточные процессы, которые запускает АП II в сердце в основном опосредованы *AT1AR*. Было обнаружено, что *AT1AR* индуцирует экспрессию β -трансформирующего фактора (*TGF β 1*), за счет которого реализуется гипертрофический рост кардиомиоцитов (Campbell, Katwa, 1997; Kupfahl *et al.*, 2002; Schulz *et al.*, 2002). Активация сигнального каскада от рецепторов *TGF β 1* также увеличивает ядерную транслокацию белков Smad и транскрипцию генов белков, таких как коллаген, фибронектин и фактор роста соединительной ткани (*CTGF*) (Lim, Zhu, 2006). Таким образом, индуцированные АП II/*TGF β 1* аутокринно-паракринные клеточные ответы в фибробластах, интерстиции миокарда и кардиомиоцитах вызывают гипертрофию сердца. Гипертрофические изменения миокарда, вызванные АП II, также могут опосредоваться активацией MAP-киназы и сигнальных каскадов JAK/STAT (Marrero *et al.*, 1995; Paul *et al.*, 2006; Dasgupta, Zhang, 2011; Karnik *et al.*, 2015). *AT1R* также является мощным медиатором окислительного стресса, что является одним из вредных последствий активации RAS. Активные формы кислорода играют важную роль в прогрессировании сердечно-сосудистой дисфункции и хронической сердечной недостаточности (Seshiah *et al.*, 2002; Taniyama, Griendling, 2003; Touyz, 2005).

Мы обнаружили, что у крыс обоего пола в процессе старения в левом желудочке не изменяется содержание мРНК *AT1AR*. Важно отметить, что в левом желудочке как молодых, так и старых крыс самок экспрессия *AT1AR* была, в среднем, на 20% выше, чем у самцов (рис. 4а). В сердце старых самок экспрессия гена *ACE* остается неизменной, тогда как в миокарде старых самцов уровень мРНК *ACE* значительно возрастает по сравнению с аналогичными показателями у молодых самцов и самок независимо от их возраста (рис. 4б). Ранее показано, что у половозрелых мышей в сердце самцов в большей степени, чем у самок экспрессируется *ACE* (Freshour *et al.*, 2002). Выявленные половые различия в экспрессии гена *ACE* позволяют предположить, что синтез этого фермента значительно усиливается в сердцах стареющих крыс самцов, что приводит к последующей генерации АП II и чрезмерной хронической активации *AT1AR*-индуцированных внутриклеточных сигнальных каскадов в кардиомиоцитах.

В левом желудочке молодых самок уровень экспрессии генов *MasR* и *ACE2* достоверно выше, чем у молодых самцов, в 1.5 и 1.3 раза соответственно (рис. 5). Однако, с возрастом у самок наблюда-

лось значительное снижение уровней мРНК *MasR* и *ACE2*. Эти данные позволили предположить, что в левом желудочке старых самок (24 мес.) активность альтернативной RAS оси *ACE2/AT(1–7)/MasR* снижается, что может способствовать усилению повреждающего влияния АП II на функциональную активность миокарда. Кардиопротекторный эффект эстрогенов продемонстрирован в многочисленных исследованиях. В сердце мышцей, подвергнутой овариэктомии, было обнаружено снижение экспрессии генов *ACE2*, *MasR* и *AT2R* и увеличение экспрессии *AT1R*, что свидетельствует о нарушении баланса между осями RAS: *ACE/ATII/AT1R* и *ACE2/AT(1–7)/MasR* (Borges *et al.*, 2017).

В отличие от крыс самок, в левом желудочке старых самцов уровень мРНК *MasR* не снижался, а, напротив, увеличился на 71% по сравнению со значениями в сердце молодых самцов (рис. 5а). Биологические функции *MasR* в сердце менее изучены, чем в сосудах. Экспрессия *MasR* обнаруживается в кардиомиоцитах, сердечных фибробластах и клетках синоатриального узла (Ferreira *et al.*, 2011). *MasR*— это GPCR, который обладает высокой конститутивной активностью, взаимодействуя с белками $G\alpha_i$, $G\alpha_q$, $G\alpha_q/11$, $G\alpha_{12/13}$ (Canals *et al.*, 2006; Zang *et al.*, 2012; Tirupula *et al.*, 2014; Karnik *et al.*, 2015). Сложность изучения функционального значения *MasR*-индуцированной передачи сигналов обусловлена не только их высокой конститутивной активностью и взаимодействием с различными G-белками, но и способностью образовывать гетеродимеры с рецепторами ангиотензина *AT1R* и *AT2R* и брадикинина *B2R*. Образование гетеродимеров существенно влияет на десенситизацию, транспортные свойства и передачу сигналов каждого из рецепторов, входящих в комплекс (Castro *et al.*, 2005; Rukavina Mikusic *et al.*, 2020).

Влияние *MasR* на функцию сердца в основном оценивалась по эффектам *AT(1–7)* (Santos *et al.*, 2019). Одним из основных эффектов *AT(1–7)* является стимуляция сигнального каскада PI3K-Akt, что приводит к увеличению активности eNOS и nNOS и синтеза NO в кардиомиоцитах (Sampaio *et al.*, 2007; Dias-Reixoto *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2010). Показано, что активация NO/cGMP сигнального пути ингибирует АП II-индуцированную транслокацию ядерного фактора активированных Т-клеток (NFAT) и предотвращает патологическое ремоделирование кардиомиоцитов (Gomes *et al.*, 2010, 2012). Однако роль в этих процессах *MasR* остается не ясной, поскольку *AT(1–7)* может регулировать сердечно-сосудистую систему независимо от них посредством *AT1R* и *AT2R* (Clark *et al.*, 2001; Walters *et al.*, 2005).

Конститутивная активность *MasR* в сверхэкспрессирующих клетках активирует передачу сигналов от G-белков (Gomes *et al.*, 2012; Tirupula *et al.*,

2014). Сверхэкспрессия *MasR* в кардиомиоцитах новорожденных крыс приводит к развитию гипертрофии миоцитов. Эти эффекты происходят через активацию сигнального пути $G\alpha_q/PLC/IP_3/Ca^{2+}$ (Zhang *et al.*, 2012). Агонисты *MasR* активируют передачу сигналов $G\alpha_q$ и уменьшают коронарный кровоток в изолированных сердцах мышцей и крыс. Напротив, обработка изолированных сердец крыс обратным агонистом приводит к улучшению коронарного кровотока, снижению желудочковых аритмий и апоптоза кардиомиоцитов после ишемического реперфузионного повреждения сердца. Ранее показано, что у мышцей с нокаут-ом *MasR* размер инфаркта был меньше, чем у мышцей с физиологической экспрессией *MasR* (Santos *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2012). Авторы полагают, что активация *MasR* во время инфаркта миокарда усугубляет течение процесса, а ингибирование передачи сигнала $G\alpha_q/PLC/IP_3/Ca^{2+}$ может обеспечить новую терапевтическую стратегию, направленную на кардиопротекцию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у крыс самок в процессе старения повышается чувствительность аорты к вазоконстрикторному действию АП II, что, по-видимому, связано со снижением экспрессии генов *ACE2* и *MasR* и дисбалансом прессорного и депрессорного эффектов RAS в сторону первого. В отличие от самок, у старых самцов реактивность аорты по отношению к действию АП II не изменяется, что может быть обусловлено отсутствием значимых возрастных изменений уровня экспрессии важнейших регуляторных белков RAS. Установлено, что в процессе старения в левом желудочке крыс самок снижается активность *ACE2/AT(1–7)/MasR* сигналинга, у самцов, напротив, повышается в результате почти двукратного увеличения содержания мРНК *MasR* при неизменном уровне мРНК *ACE2*. Многообразие и разнонаправленность эффектов *MasR*, обусловленных высокой конститутивной активностью и их взаимодействием с различными G-белками, позволяют предположить, что возраст-ассоциированное как снижение (у самок крыс), так и повышение (у самцов) экспрессии гена *MasR* в левом желудочке старых крыс может негативно влиять на функциональную активность стареющего сердца. Выявленные возрастные изменения функциональной активности и экспрессии генов основных регуляторных белков RAS в сосудах и сердце могут быть факторами риска развития сердечно-сосудистых заболеваний в старости и влиять на динамику их возникновения в зависимости от пола животного.

Соблюдение этики в работе с животными. Исследование проведено в соответствии с рекомен-

дациями этического комитета Института общей патологии и патофизиологии и было одобрено Комитетом по этике (протокол утверждения проекта № 5 от 7 июня 2019 г.; протокол окончательного утверждения № 1а от 2 октября 2020). Благополучие животных соответствовало приказу Министерства здравоохранения РФ № 708н “Об установлении правил лабораторной практики” от 23.08.2010 г. и этическим стандартам, изложенным в Хельсинкской декларации о надлежащей лабораторной практике (GLP). (2000).

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (0520-2019-0024).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Boese A.C., Kim S.C., Yin Ke-Jie, Lee Jean-Pyo, Hamblin M.H.* Sex differences in vascular physiology and pathophysiology: estrogen and androgen signaling in health and disease // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2017. V. 313(3). P. 524–545.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00217.2016>
- Borges C.C., Penna-de-Carvalho A., Medeiros Junior J.L., Aguila M.B., Mandarim-de-Lacerda C.A.* Ovariectomy modify local renin-angiotensin-aldosterone system gene expressions in the heart of ApoE (–/–) mice // *Life Sci.* 2017. V. 191. P. 1–8.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.10.002>
- Campbell S.E., Katwa L.C.* Angiotensin II stimulated expression of transforming growth factor- β 1 in cardiac fibroblasts and myofibroblasts // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1997. V. 29. P. 1947–1958.
<https://doi.org/10.1006/jmcc.1997.0435>
- Canals M., Jenkins L., Kellett E., Milligan G.* Up-regulation of the angiotensin II type 1 receptor by the MAS proto-oncogene is due to constitutive activation of Gq/G11 by MAS // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281(24). P. 16757–16767.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M601121200>
- Castro C.H., Santos R.A.S., Ferreira A.J., Bader M., Alenina N., Almeida A.P.* Evidence for a functional interaction of the angiotensin-(1-7) receptor Mas with AT1 and AT2 receptors in the mouse heart // *Hypertension.* 2005. V. 46(4). P. 937–942.
<https://doi.org/10.1161/01.hyp.0000175813.04375.8a>
- Clark M.A., Tallant E.A., Diz D.I.* Downregulation of the AT1A receptor by pharmacologic concentrations of angiotensin-(1-7) // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2001. V. 37(4). P. 437–448.
<https://doi.org/10.1097/00005344-200104000-00011>
- Costa M.A., Lopez Verrilli M.A., Gomez K.A., Nakagawa P., Peña C., Arranz C., Gironacci M.M.* Angiotensin-(1-7) upregulates cardiac nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2010. V. 299(4). P. 1205–1211.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00850.2009>
- Dasgupta C., Zhang L.* Angiotensin II receptors and drug discovery in cardiovascular disease // *Drug Discov. Today.* 2011. V. 16(1–2). P. 22–34.
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.11.016>
- De Smet H.R., Menadue M.F., Oliver J.R., Phillips P.A.* Endothelin ETA receptor antagonism does not attenuate angiotensin II-induced cardiac hypertrophy *in vivo* in rats // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2003. V. 30(4). P. 278–283.
<https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2003.03831.x>
- Dias-Peixoto M.F., Santos R.A.S., Gomes E.R.M., Alves M.N.M., Almeida P.W.M., Greco L., Rosa M., Fauler B., Bader M., Alenina N. et al.* Molecular mechanisms involved in the angiotensin-(1–7)/mas signaling pathway in cardiomyocytes // *Hypertension* 2008. V. 52(3). P. 542–548.
<https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.114280>
- Donato A.J., Morgan R.G., Walker A.E., Lesniewski L.A.* Cellular and molecular biology of aging endothelial cells // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2015. V. 89 (Pt B). P. 122–135.
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2015.01.021>
- Endlich P.W., Claudio E.R.G., Lima L.C.F., Ribeiro Júnior R.F., Peluso A.A.B., Stefanon I., Bissoli N.S., Lemos V.S., Santos R.A.S., Abreu G.R.* Exercise modulates the aortic renin-angiotensin system independently of estrogen therapy in ovariectomized hypertensive rats // *Peptides.* 2017. V. 87. P. 41–49.
<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2016.11.010>
- Ferreira A.J., Moraes P.L., Foureaux G., Andrade A.B., Santos R.A.S., Almeida A.P.* The angiotensin-(1–7)/mas receptor axis is expressed in sinoatrial node cells of rats // *J. Histochem. Cytochem.* 2011. V. 59(8). P. 761–768.
<https://doi.org/10.1369/0022155411411712>
- Fischer M., Baessler A., Schunkert H.* Renin angiotensin system and gender differences in the cardiovascular system // *Cardiovasc. Res.* 2002. V. 53(3). P. 672–677.
[https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(01\)00479-5](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(01)00479-5)
- Freshour J.R., Chase S.E., Vikstrom K.L.* Gender differences in cardiac ACE expression are normalized in androgen-deprived male mice // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2002. V. 283(5). P. 1997–2003.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.01054.2001>
- Gomes E.R.M., Lara A.A., Almeida P.W.M., Guimarães D., Resende R.R., Campagnole-Santos M.J., Bader M., Santos R.A.S., Guatimosim S.* Angiotensin-(1-7) prevents cardiomyocyte pathological remodeling through a nitric oxide/guanosine 3',5'-cyclic monophosphate-dependent pathway // *In Proceedings of the Hypertension.* 2010. V. 55(1). P. 153–160.
<https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.143255>
- Gomes E.R.M., Santos R.A.S., Guatimosim S.* Angiotensin-(1-7)-mediated signaling in cardiomyocytes // *Int. J. Hypertens.* 2012. V. 2012. P. 493129.
<https://doi.org/10.1155/2012/493129>
- Karnik S.S., Unal H., Kemp J.R., Tirupula K.C., Eguchi S., Vanderheyden P.M.L., Thomas W.G.* International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCIX. Angiotensin Receptors: Interpreters of Pathophysiological

- Angiotensinergic Stimuli [corrected] // *Pharmacol. Rev.* 2015. V. 67. P. 754–819.
<https://doi.org/10.1124/pr.114.010454>
- Kavousi M.* Differences in Epidemiology and Risk Factors for Atrial Fibrillation Between Women and Men // *Front. Cardiovasc. Med.* 2020. V. 7. P. 3.
<https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.00003>
- Kupfahl C., Pink D., Friedrich K., Zurbrügg H.R., Neuss M., Warnecke C., Fielitz J., Schultz J.E.J., Witt S.A., Glascock B.J., Nieman M.L., Reiser P.J., Nix S.L., Kimball T.R., Doetschman T.* TGF- β 1 mediates the hypertrophic cardiomyocyte growth induced by angiotensin II // *J. Clin. Invest.* 2002. V. 109(6). P. 787–796.
<https://doi.org/10.1172/jci200214190>
- Lacolley P., Regnault V., Avolio A.P.* Smooth muscle cell and arterial aging: Basic and clinical aspects // *Cardiovasc. Res.* 2018. V. 114(4). P. 513–528.
<https://doi.org/10.1093/cvr/cvy009>
- Lakatta E.G.* So! What's aging? Is cardiovascular aging a disease? // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2015. V. 83. P. 1–13.
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2015.04.005>
- LeBlanc A.J., Reyes R., Kang L.S., Dailey R.A., Stallone J.N., Moninka N.C., Muller-Delp J.M.* Estrogen replacement restores flow-induced vasodilation in coronary arterioles of aged and ovariectomized rats // *Am. J. Physiol. – Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2009. V. 297(6). P. 1713–1723.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00178.2009>
- LeBlanc A.J., Chen B., Dougherty P.J., Reyes R.A., Shipley R.D., Korzick D.H., Muller-Delp J.M.* Divergent effects of aging and sex on vasoconstriction to endothelin in coronary arterioles // *Microcirculation.* 2013. V. 20(5). P. 365–376.
<https://doi.org/10.1111/micc.12028>
- Lim H., Zhu Y.Z.* Role of transforming growth factor- β in the progression of heart failure // *Cell. Mol. Life Sci.* 2006. V. 63. P. 2584–2596.
<https://doi.org/10.1007/s00018-006-6085-8>
- Lima R., Wofford M., Reckelhoff J.F.* Hypertension in postmenopausal women // *Curr. Hypertens. Rep.* 2012. V. 14. P. 254–260.
<https://doi.org/10.1007/s11906-012-0260-0>
- Lin Y.K., Chen Y.A., Lee T.I., Chen Y.C., Chen S.A., Chen Y.J.* Aging modulates the substrate and triggers remodeling in atrial fibrillation // *Circ. J.* 2018. V. 82(5). P. 1237–1244.
<https://doi.org/10.1253/circj.CJ-17-0242>
- Magnani J.W., Moser C.B., Murabito J.M., Nelson K.P., Fontes J.D., Lubitz S.A., Sullivan L.M., Ellinor P.T., Benjamin E.J.* Age of natural menopause and atrial fibrillation: The Framingham Heart Study // *Am. Heart J.* 2012. V. 163(4). P. 729–734.
<https://doi.org/10.1016/j.ahj.2012.01.010>
- Magnani J.W., Moser C.B., Murabito J.M., Sullivan L.M., Wang N., Ellinor P.T., Vasan R.S., Benjamin E.J., Coviello A.D.* Association of sex hormones, aging, and atrial fibrillation in men the framingham heart study // *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.* 2014. V. 7(2). P. 307–312.
<https://doi.org/10.1161/CIRCEP.113.001322>
- Marrero M.B., Schieffer B., Paxton W.G., Heerd L., Berk B.C., Delafontaine P., Bernstein K.E.* Direct stimulation of Jak/STAT pathway by the angiotensin II AT1 receptor // *Nature.* 1995. V. 375(6528). P. 247–250.
<https://doi.org/10.1038/375247a0>
- Mazzaro L., Almasi S.J., Shandas R., Seals D.R., Gates P.E.* Aortic input impedance increases with age in healthy men and women // *Hypertension.* 2005. V. 45(6). P. 1101–1106.
<https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000164579.73656.c4>
- Mehta P.K., Griendling K.K.* Angiotensin II cell signaling: Physiological and pathological effects in the cardiovascular system // *Am. J. Physiol. – Cell Physiol.* 2007. V. 292(1). P. 82–97.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00287.2006>
- Meyer M.R., Fredette N.C., Barton M., Prossnitz E.R.* Endothelin-1 but not angiotensin II contributes to functional aging in murine carotid arteries // *Life Sci.* 2014. V. 118(2). P. 213–218.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2014.02.027>
- Mouat M.A., Coleman J.L.J., Smith N.J.* GPCRs in context: sexual dimorphism in the cardiovascular system // *Br. J. Pharmacol.* 2018. V. 175(21). P. 4047–4059.
<https://doi.org/10.1111/bph.14160>
- Mulvany M.J., Halpern W.* Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats // *Circ. Res.* 1977. V. 41. P. 19–26.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.41.1.19>
- Olivetti G., Giordano G., Corradi D., Melissari M., Lagrasta C., Gambert S.R., Anversa P.* Gender differences and aging: Effects on the human heart // *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995. V. 26(4). P. 1068–1079.
[https://doi.org/10.1016/0735-1097\(95\)00282-8](https://doi.org/10.1016/0735-1097(95)00282-8)
- Paul M., Mehr A.P., Kreutz R.* Physiology of local renin-angiotensin systems // *Physiol. Rev.* 2006. V. 86(3). P. 747–803.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00036.2005>
- Quinn U., Tomlinson L.A., Cockcroft J.R.* Arterial stiffness // *JRSM Cardiovasc. Dis.* 2012. V. 1(6). P. cvd.2012.012024.
<https://doi.org/10.1258/cvd.2012.012024>
- Rodríguez-Mañas L., El-Assar M., Vallejo S., López-Dóriga P., Solís J., Petidier R., Montes M., Nevado J., Castro M., Gómez-Guerrero C., Peiró C., Carlos F Sánchez-Ferrer C.F.* Endothelial dysfunction in aged humans is related with oxidative stress and vascular inflammation // *Aging Cell.* 2009. V. 8(3). P. 226–238.
<https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2009.00466.x>
- Rukavina Mikusic N.L., Silva M.G., Pineda A.M., Gironacci M.M.* Angiotensin Receptors Heterodimerization and Trafficking: How Much Do They Influence Their Biological Function? // *Front. Pharmacol.* 2020. V. 11. P. 1–20.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01179>
- Saeed Y., Temple I.P., Borbas Z., Atkinson A., Yanni J., Maczewski M., Mackiewicz U., Aly M., Logantha S.J.R.J., Garratt C.J., Dobrzynski H.* Structural and functional remodeling of the atrioventricular node with aging in rats: The role of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated and ryanodine 2 channels // *Heart Rhythm.* 2018. V. 15(5). P. 752–760.
<https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2017.12.027>

- Sampaio W.O., Dos Santos R.A.S., Faria-Silva R., Da Mata Machado L.T., Schiffrin E.L., Touyz R.M.* Angiotensin-(1-7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways // *Hypertension*. 2007. V. 49(1). P. 185–192. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000251865.35728.2f>
- Sampson A.K., Hilliard L.M., Moritz K.M., Thomas M.C., Tikellis C., Widdop R.E., Denton K.M.* The arterial depressor response to chronic low-dose angiotensin II infusion in female rats is estrogen dependent // *Am. J. Physiol. – Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2012. V. 302(1). P. 159–165. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00256.2011>
- Santos R.A.S., Castro C.H., Gava E., Pinheiro S.V.B., Almeida A.P., De Paula R.D., Cruz J.S., Ramos A.S., Rosa K.T., Irigoyen M.C., Bader M., Alenina N., Kitten G.T., Ferreira A.J.* Impairment of *in vitro* and *in vivo* heart function in angiotensin-(1-7) receptor mas knockout mice // *Hypertension*. 2006. V. 47(5). P. 996–1002. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000215289.51180.5c>
- Santos R.A.S., Oudit G.Y., Verano-Braga T., Canta G., Steckelings U.M., Bader M.* The renin-angiotensin system: Going beyond the classical paradigms // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2019. V. 316(5). P. 958–970. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00723.2018>
- Schultz J.E.J., Witt S.A., Glascock B.J., Nieman M.L., Reiser P.J., Nix S.L., Kimball T.R., Doetschman T.* TGF- β 1 mediates the hypertrophic cardiomyocyte growth induced by angiotensin II // *J. Clin. Invest.* 2002. V. 109(6). P. 787–796. <https://doi.org/10.1172/jci200214190>
- Seshiah P.N., Weber D.S., Rocic P., Valppu L., Taniyama Y., Griendling K.K.* Angiotensin II stimulation of NAD(P)H oxidase activity: Upstream mediators // *Circ. Res.* 2002. V. 91(5). P. 406–413. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000033523.08033.16>
- Sheydina A., Riordon D.R., Boheler K.R.* Molecular mechanisms of cardiomyocyte aging // *Clin Sci (Lond)*. 2011. V. 121(8). P. 315–329. <https://doi.org/10.1042/CS20110115>
- Stanhewicz A.E., Wenner M.M., Stachenfeld N.S.* Sex differences in endothelial function important to vascular health and overall cardiovascular disease risk across the lifespan // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2018. V. 315(6). P. 1569–1588. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00396.2018>
- Taddei S., Galetta F., Viridis A., Ghiadoni L., Salvetti G., Franzoni F., Giusti C., Salvetti A.* Physical activity prevents age-related impairment in nitric oxide availability in elderly athletes // *Circulation*. 2000. V. 101(25). P. 2896–2901. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.101.25.2896>
- Taniyama Y., Griendling K.K.* Reactive Oxygen Species in the Vasculature: Molecular and Cellular Mechanisms // *Hypertension*. 2003. V. 42(6). P. 1075–1081. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000100443.09293.4F>
- Thijssen D.H.J., Carter S.E., Green D.J.* Arterial structure and function in vascular ageing: Are you as old as your arteries? // *J. Physiol.* 2016. V. 594(8). P. 2275–2284. <https://doi.org/10.1113/JP270597>
- Tirupula K.C., Desnoyer R., Speth R.C., Karnik S.S.* Atypical signaling and functional desensitization response of MAS receptor to peptide ligands // *PLoS One*. 2014. V. 9(7). P. e103520. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103520>
- Touyz R.M.* Intracellular mechanisms involved in vascular remodelling of resistance arteries in hypertension: Role of angiotensin II // *In Proceedings of the Experimental Physiology*. 2005. V. 90(4). P. 449–455. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2005.030080>
- Tsuneda T., Yamashita T., Kato T., Sekiguchi A., Sagara K., Sawada H., Aizawa T., Fu L.T., Fujiki A., Inoue H.* Deficiency of testosterone associates with the substrate of atrial fibrillation in the rat model // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2009. V. 20(9). P. 1055–1060. <https://doi.org/10.1111/j.1540-8167.2009.01474.x>
- Ungvari Z., Tarantini S., Donato A.J., Galvan V., Csiszar A.* Mechanisms of vascular aging // *Circ. Res.* 2018. V. 123(7). P. 849–867. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.311378>
- Verdecchia P., Cavallini C., Spanevello A., Angeli F.* The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection // *Eur. J. Intern. Med.* 2020. V. 76. P. 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2020.04.037>
- Walters P.E., Gaspari T.A., Widdop R.E.* Angiotensin-(1-7) acts as a vasodepressor agent via angiotensin II type 2 receptors in conscious rats // *Hypertension*. 2005. V. 45(5). P. 960–966. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000160325.59323.b8>
- Wang M., Shah A.M.* Age-associated pro-inflammatory remodeling and functional phenotype in the heart and large arteries // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2015. V. 83. P. 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2015.02.004>
- Wang M., Zhang J., Walker S.J., Dworakowski R., Lakatta E.G., Shah A.M.* Involvement of NADPH oxidase in age-associated cardiac remodeling // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2010. V. 48(4). P. 765–772. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2010.01.006>
- Wirth A., Wang S., Takefuji M., Tang C., Althoff T.F., Schweda F., Wettschureck N., Offermanns S.* Age-dependent blood pressure elevation is due to increased vascular smooth muscle tone mediated by G-protein signalling // *Cardiovasc. Res.* 2016. V. 109(1). P. 131–140. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvv249>
- Yamamoto R., Akazawa H., Ito K., Toko H., Sano M., Yasuda N., Qin Y., Kudo Y., Sugaya T., Chien K.R., Komuro I.* Angiotensin II type 1a receptor signals are involved in the progression of heart failure in MLP-deficient mice // *Circ. J.* 2007. V. 71(12). P. 1958–1964. <https://doi.org/10.1253/circj.71.1958>
- Yoon H.E., Choi B.S.* The renin-angiotensin system and aging in the kidney // *Korean J. Intern. Med.* 2014. V. 29(3). P. 291–295. <https://doi.org/10.3904/kjim.2014.29.3.291>
- Yoon H.E., Kim E.N., Kim M.Y., Lim J.H., Jang I.A., Ban T.H., Shin S.J., Park C.W., Chang Y.S., Choi B.S.* Age-associated changes in the vascular renin-angiotensin system

in vice // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016. V. 2016. P. 6731093.
<https://doi.org/10.1155/2016/6731093>

Zhang T., Li Z., Dang H., Chen R., Liaw C., Tran T.A., Boatman P.D., Connolly D.T., Adams J.W. Inhibition of Mas

G-protein signaling improves coronary blood flow, reduces myocardial infarct size, and provides long-term cardioprotection // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2012. V. 302(1). P. 299–311.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00723.2011>

Sex Differences in Age-Related Changes in Functional Activity and Expression of the Main Regulatory Proteins of the Renin-Angiotensin System in the Aorta and Myocardium of Rats

L. M. Kozhevnikova^{1, #} and I. F. Sukhanova¹

¹ *The Institute of General Pathology and Pathophysiology, ul. Baltiyskaya 8, Moscow, 125315 Russia*

[#]*e-mail: lubovmih@yandex.ru*

The sex differences of age-related changes in the functional activity and expression of receptor and regulatory proteins of the renin-angiotensin system (RAS) in the aorta and myocardium of rats is evaluated. It was found that with age in females, the sensitivity of the aorta to the vasoconstriction action of angiotensin II increases, while in older males it remains unchanged. In the aorta of old females, a decrease in the mRNA levels of *ACE*, *MasR* and *ACE2* was revealed by 1.6, 1.8 and 4.4 times, respectively. It has been shown that during aging in the left ventricle of females, the level of *MasR* and *ACE2* mRNA decreases, in males, on the contrary, the level of *ACE* and *MasR* mRNA increases. The results obtained indicate the sexual characteristics of age-related changes in RAS activity in the vessels and heart of rats.

Keywords: aging, gene expression, renin-angiotensin system, aorta, myocardium

УДК 574.583:57.018.4

РАЗМЕРНАЯ СТРУКТУРА (РАЗМЕРНО-ТАКСОНОМИЧЕСКИЕ И РАЗМЕРНО-ТРОФИЧЕСКИЕ СПЕКТРЫ) ОДНОКЛЕТОЧНОГО ПЛАНКТОНА ГИПЕРТРОФНОГО ВОДОЕМА

© 2023 г. М. В. Уманская*, С. В. Быкова*, @, Н. Г. Тарасова*

*Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Институт экологии Волжского бассейна РАН, ул. Комзина, 10, Тольятти, Самарская обл., 445003 Россия

@E-mail: svbykova514@gmail.com

Поступила в редакцию 14.01.2022 г.

После доработки 15.02.2022 г.

Принята к публикации 16.02.2022 г.

Представлены результаты анализа размерных спектров одноклеточного планктона (бактерии, водоросли, инфузории) в пресноводном гипертрофном городском озере (оз. Большое Васильевское, Тольятти, Россия). В сезонном цикле выделены два основных типа размерных спектров. Нанопланктонный максимум, образованный преимущественно фототрофными цианобактериями и зелеными водорослями, регистрируется в период открытой воды; максимум/максимумы пикопланктона (преимущественно гетеротрофные бактерии) и повышенная доля микропланктона (гетеротрофные и миксотрофные инфузории) – в подледный период. Особенностью исследуемого озера, в отличие от менее продуктивных, является стабильность размерной структуры планктона на протяжении последних 25 лет.

Ключевые слова: гипертрофный водоем, планктон, бактерии, водоросли, инфузории, размерное распределение, сезонные и межгодовые особенности размерных спектров

DOI: 10.31857/S102634702270010X, **EDN:** HJXAGN

Известно, что состояние водных экосистем во всем мире ухудшается вследствие техногенных изменений (Vitousek *et al.*, 1997; Wetzel, 2001). Кроме того, в условиях глобального изменения климата (Brohan *et al.*, 2006) происходит увеличение продуктивности водных экосистем, выражающееся в эвтрофировании пресных водоемов и переходе их в состояние гиперпродуктивности (Moss *et al.*, 2011; O'neil *et al.*, 2012). Таксономическая принадлежность и размер организмов одноклеточного планктона являются важнейшими показателями при анализе особенностей структуры и функционирования водных экосистем. С размерами клеток напрямую связан тип трофической стратегии тех или иных планктонных организмов (Chakraborty *et al.*, 2017). Поскольку размер организмов часто рассматривается как “главный признак” для их описания (Litchman, Klausmeier, 2008; Andersen *et al.*, 2016), то анализ их размерного спектра является одним из существенных инструментов, позволяющих охарактеризовать планктонное сообщество целиком, выявить определенные особенности его развития и провести анализ пространственно-временных изменений водных экосистем. Наиболее эффективным является комплексный подход, заключающийся в одновремен-

ном анализе размерного, таксономического и трофического спектров планктонного сообщества или его отдельных компонентов (Kamenir *et al.*, 2006; Chakraborty *et al.*, 2017).

В большинстве исследований размерного спектра проводят анализ преимущественно фитопланктона, реже вместе с зоопланктоном (Kamenir, Morabito, 2009; Kamenir, 2017; Chakraborty *et al.*, 2017). Крайне редко предметом подобного исследования становится бактериопланктон (Кузнецова и др., 2020). Однако, без учета бактерио- и протозоопланктона, анализ состояния пресноводных экосистем и, тем более, создание моделей структуры планктонных сообществ (Banas, 2011; Ward *et al.*, 2012) будет недостаточно полным. Изучение размерных спектров одноклеточного планктонного сообщества в условиях глобального изменения климата и вызываемого им эвтрофирования пресноводных экосистем (Moss *et al.*, 2011; O'neil *et al.*, 2012) приобретает особое значение и будет весьма полезно как для анализа особенностей их развития, так и для прогнозирования изменений в состоянии водных экосистем.

Цель работы – исследовать размерно-таксономическую и размерно-трофическую структуру одноклеточного планктонного сообщества в вы-

Таблица 1. Параметры размерных классов: минимальный объем класса (V , $\mu\text{м}^3$), его логарифм ($\text{Lg}V$) и входящие в него таксоны

Класс	V	$\text{Lg}V$	Таксон	Класс	V	$\text{Lg}V$	Таксон
1	0.001563	-2.81	НВ	16	51	1.71	Cy; Cr; Chl; Bc
2	0.003125	-2.51	НВ	17	102	2.01	Cy; Eu; Chl; Bc
3	0.00625	-2.20	НВ	18	205	2.31	Cil; Cy; Cr; Chl; Bc
4	0.0125	-1.90	НВ	19	410	2.61	Cil; X; Eu; Cr; Chl; Chr; Bc
5	0.025	-1.60	НВ	20	819	2.91	Cil; Eu; Chl; Chr; Bc
6	0.05	-1.30	НВ; Cy	21	1638	3.21	Cil; Cr; Eu; Chl; Bc
7	0.1	-1.00	НВ; Cy	22	3277	3.52	Cil; Cr; D; Eu; Chl; Bc
8	0.2	-0.70	НВ; Cy	23	6554	3.82	Cil; Cr; D; Eu; Bc
9	0.4	-0.40	НВ; Cy	24	13107	4.12	Cil; D; Chl; Bc
10	0.8	-0.10	НВ; Cy	25	26214	4.42	Cil; X; Bc
11	1.6	0.20	НВ; Cy; Chl	26	52429	4.72	Cil; Eu
12	3.2	0.51	НВ; Cy; Chl	27	104858	5.02	Cil
13	6.4	0.81	НВ; Cy; Chl	28	209715	5.32	Cil
14	12.8	1.11	НВ; Cy; Chl	29	419430	5.62	Cil
15	25.6	1.41	Cy; Chl	30	838861	5.92	—

Примечание. НВ – гетеротрофные бактерии; Cy – цианобактерии; эукариотические водоросли: Chl – зеленые и стрептофитовые, Bc – диатомовые, Chr – золотистые, X – желтозеленые, Cr – криптофитовые, Eu – эвгленовые, D – динофитовые; Cil – инфузории.

сокопродуктивном водоеме и оценить ее изменения в кратко- и долгосрочной перспективе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В озере Большое Васильевское (г. Тольятти, Самарская обл., Россия) в июне–октябре 1991 г. и в мае 1992 г. пробы воды отбирали на всей акватории, как описано в работах (Жариков и др., 2009; Иватин, 2012). С июня 2013 г. по ноябрь 2014 г. пробы воды отбирали из поверхностного слоя воды на мелководных (ст. 1, (53.548873; 49.545014) и ст. 2 (53.543506; 49.529179)) и глубоководных (ст. 3 (53.536907; 49.519969)) участках озера. В 2013 г. были проанализированы пробы, взятые на мелководных и глубоководной станциях, а в 2014 г. – только на глубоководной станции. Для анализа размерно-таксономической и размерно-трофической структуры одноклеточного планктона оз. Б. Васильевское были использованы опубликованные данные о количественном развитии фитопланктона, бактериопланктона и инфузорий оз. Б. Васильевское (Жариков и др., 2009; Иватин, 2012; Кривина, 2018; Кривина, Тарасова, 2019; Шерышева и др., 2021), а также ранее не публикованные данные авторов о развитии планктонных инфузорий и бактериопланктона в 2014 г.

Все клетки исследованных компонентов одноклеточного планктона (фитопланктон, включая пикофитопланктон, гетеротрофный бактериопланктон и инфузории) были разделены на несколько размерных классов в зависимости от их

объема, как было описано ранее (Уманская, 2004). Размерные классы были сформированы путем удвоения объема клеток; в наименьший размерный класс входят клетки объемом 0.001563–0.003125 $\mu\text{м}^3$ ($\text{Lg}V$: -2.81... -2.51, включая минимальный объем). В табл. 1 приведены нижние границы классовых интервалов и таксоны, входящие в соответствующий класс; границы между пико-, нано- и микропланктоном проведены в соответствии с работами (Sieburth *et al.*, 1978; Kamenir *et al.*, 2006). Для анализа размерной структуры сообщества учитывали вклад клеток каждого класса в суммарную биомассу. Для анализа размерно-таксономической и размерно-трофической структуры сообщества отдельно учитывали вклады клеток различных таксономических групп и групп с разными трофическими стратегиями в каждом размерном классе.

При анализе многолетних изменений структуры планктона для более корректного сравнения все клетки гетеротрофных бактерий в 2013/2014 гг. были сведены в один размерный класс, соответствующий среднему объему клеток, поскольку в 1991 г. размерную структуру бактериопланктона не определяли и есть данные только о среднем объеме клеток (Иватин, 2012).

Статистический анализ проводили в стандартных программах Statistica 12, Excel 2017, SigmaPlot 12.5, Canoco for Windows v. 4.51.

Таблица 2. Среднее значение \pm стандартное отклонение некоторых факторов среды в поверхностном слое воды озера в 1991/1992 гг. и в 2013/2014 гг. (по: Номоконова и др., 2001; Горбунов и др., 2017; Уманская и др., 2018; Шерышева и др., 2021; с изменениями)

Показатель	2013/2014				Безледные периоды (V–X)	
	весна (IV–V)	лето VI–IX	осень X–XI	зима II–III	2013/2014	1991/1992
T, °C	16.7 \pm 6.5	22.8 \pm 2.5	7.0 \pm 3.3	0.6 \pm 0.3	20.7	20.8
Прозрачность, м	0.55 \pm 0.06	0.20 \pm 0.05	0.47 \pm 0.21	отс.	0.24	0.35
pH	9.08 \pm 0.37	9.5 \pm 0.83	9.0 \pm 0.58	7.1 \pm 0.1	9.6	9.1
O ₂ , мг/л	7.89 \pm 0.54	10.47 \pm 2.31	13.86 \pm 7.95	0.01 \pm 0.02	11.1	9.6
Σ ионов, мг/л	373 \pm 31	374 \pm 140	393 \pm 30	418 \pm 9	385	209
P _{общ.} , мкгP/л	132 \pm 85.1	371 \pm 114	199 \pm 47.5	64.6 \pm 9.1	334	451
Xл a, мкг/л	101 \pm 55.0	234 \pm 111	107 \pm 14.7	18.2 \pm 5.2	176	85.9

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общая характеристика оз. Б. Васильевское. Озеро расположено в лесостепной зоне на северо-восточной границе г. Тольятти (Самарская обл., Россия) и представляет собой вытянутый в меридиональном направлении водоем, площадью 72.5 га. Большая часть акватории мелководна с глубинами \sim 1–1.5 м, в южной части глубина достигает 3.5–4 м. В течение большей части XX в. наблюдений за состоянием озера не проводили, однако, по крайней мере, с начала 1990-х гг. и до настоящего времени, для экосистемы озера характерны низкая прозрачность воды, щелочная pH и высокое содержание общего фосфора (табл. 2). За исследованный период в озере увеличилась общая минерализация воды, а ее тип изменился с гидрокарбонатно-кальциевого (1991/1992 гг.) на гидрокарбонатно-натриевый к 2013/2014 гг. (Горбунов и др., 2014; Шерышева и др., 2021). Несмотря на то, что средняя температура воды для безледных периодов практически не изменилась с 1991 г. (табл. 2), в период отбора проб четверть века назад вода максимально прогревалась до 24.3°C, а в 2013/2014 – до 27.5°C. Кроме того, за прошедшие годы в озере выявлено небольшое уменьшение средней прозрачности воды, содержания общего фосфора при стабильной концентрации минерального, и более чем двукратное увеличение концентрации Xл a (табл. 2). Несмотря на незначительное снижение, концентрация общего фосфора в озере остается высокой и не выходит за пределы значений, характерных для гипертрофных вод. В целом, по совокупности всех показателей трофности, в течение последних 25–30 лет озеро находится в гипертрофном состоянии со слабо выраженной тенденцией к дальнейшему росту продуктивности (Уманская и др., 2018; Шерышева и др., 2021). Обнаруженные изменения физико-химических показателей могут быть, хотя бы отчасти, связаны с процессами глобального изменения климата и их

влиянием на водные экосистемы (Rogora *et al.*, 2003; Moss *et al.*, 2011).

Общая характеристика одноклеточного планктона в 2013/2014 гг. Биомасса одноклеточного планктона в целом и его отдельных компонентов в поверхностном слое оз. Б. Васильевское в 2013–2014 гг. изменялась в широких пределах (табл. 3). Минимальные значения общей биомассы (1.4 мг/л) были зафиксированы в подледный период, а максимальные (32.9 мг/л) – в сентябре 2013 г. В течение всего периода открытой воды основу биомассы одноклеточного планктонного сообщества в озере формировали цианобактерии и зеленые водоросли, тогда как в подледный период – гетеротрофные бактерии и цианобактерии (табл. 3).

В отличие от абсолютных значений биомассы, доли отдельных групп в общей биомассе точнее характеризует структуру и позволяют проводить сравнение сообществ, поскольку не зависят от общего количественного развития всего планктона. Кроме того, поддаются учету “минорные” компоненты планктона. Поэтому в основе размерных спектров лежат вклады (доли) отдельных компонентов одноклеточного планктона.

Почти все характеристики организмов, особенности структуры и функционирования их сообществ, начиная от молекулярного, клеточного и общеорганизменного уровня до экологического и эволюционного, коррелирует с размерами тела. С размерами напрямую связаны такие физиологические свойства организмов планктона, как диффузионное поглощение растворенных неорганических питательных веществ, эффективность фотосинтеза, скорость метаболизма, биотические взаимоотношения и т.д. (Brown *et al.*, 2007; Chakraborty *et al.*, 2017).

Одноклеточный планктон сильно вариабелен в размерном отношении, а объемы клеток различных таксономических и функциональных групп планктона, хотя и перекрываются между собой, но в целом довольно существенно различаются

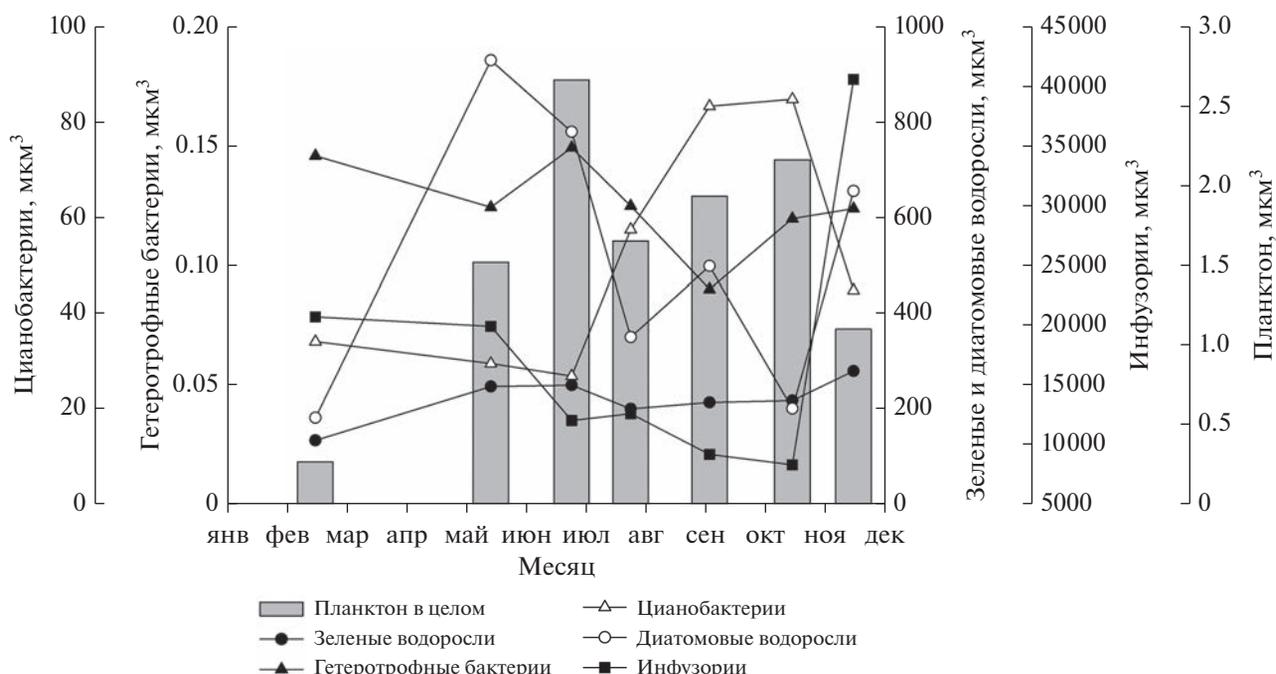
Таблица 3. Средняя биомасса (\pm стандартное отклонение, мг/л) компонентов одноклеточного планктонного сообщества оз. Б. Васильевское (2013/2014 гг.)

Группы	Весна	Лето	Осень	Зима
Гетеротрофные бактерии	1.4 \pm 0.3	1.6 \pm 0.7	0.8 \pm 0.2	0.8 \pm 0.4
Пикофитопланктон	0.3 \pm 0.2	0.3 \pm 0.1	0.08 \pm 0.06	0.12 \pm 0.10
Цианобактерии	1.71 \pm 0.48	17.1 \pm 5.2	3.63 \pm 2.91	0.45 \pm 0.57
Зеленые водоросли	4.4 \pm 2.2	4.6 \pm 3.2	3.98 \pm 0.95	0.11 \pm 0.04
Диатомовые водоросли	2.6 \pm 0.8	2.1 \pm 1.3	0.86 \pm 0.45	0.02 \pm 0.01
Прочие водоросли	2.1 \pm 0.5	0.9 \pm 0.6	0.67 \pm 0.41	0.16 \pm 0.2
Инфузории	0.48 \pm 0.15	0.054 \pm 0.053	0.067 \pm 0.065	0.08 \pm 0.01
Планктон в целом	12.6 \pm 3.9	26.5 \pm 4.0	10.1 \pm 3.1	2.0 \pm 0.8

(Sieburth *et al.*, 1978; Andersen *et al.*, 2016; Кузнецова и др., 2020 и др.). В оз. Б. Васильевское в 2013/2014 гг. индивидуальные размеры клеток гетеротрофных бактерий изменялись в пределах 0.001–25.6 мкм³ (1–14 классы), цианобактерий – 0.05–409.6 мкм³ (6–18 классы), эукариотических водорослей – 6.4 мкм³ – 1.05 \times 10⁵ мкм³ (13–26 классы), инфузорий 204.8 мкм³ – 8.39 \times 10⁵ мкм³ (18–29 классы) (табл. 1). Средние объемы клеток различных групп планктона являются важной размерной характеристикой сообществ. Данный показатель (средний объем клетки в планктонном сообществе) и его сезонные изменения косвенно отражают видовые структурные перестройки внутри отдельных групп: так, крупноклеточные виды диатомовых развивались в основном весной, цианобактерий –

осенью, а инфузорий – поздней осенью и зимой (рис. 1).

Размерно-таксономический спектр одноклеточного планктона: сезонные изменения. В литературе много примеров исследования размерно-таксономической структуры, в основном, фитопланктона (Kamenir *et al.*, 2004, 2006; Kamenir, Morabito, 2009; Chakraborty *et al.*, 2017; Kamenir, 2017; Zohary *et al.*, 2021 и др.). С другой стороны, начинают появляться работы по размерной структуре, затрагивающие сразу все планктонное сообщество, но только в морских экосистемах (Zaraus *et al.*, 2009; Ward *et al.*, 2012; Anderson *et al.*, 2016; Lampe *et al.*, 2021). Оценив сразу несколько компонентов пресноводного одноклеточного планктона (водоросли, бактерии и инфузории) и, соответственно, рас-

**Рис. 1.** Динамика среднего объема клеток всего планктона и его различных групп в 2013/2014 гг.

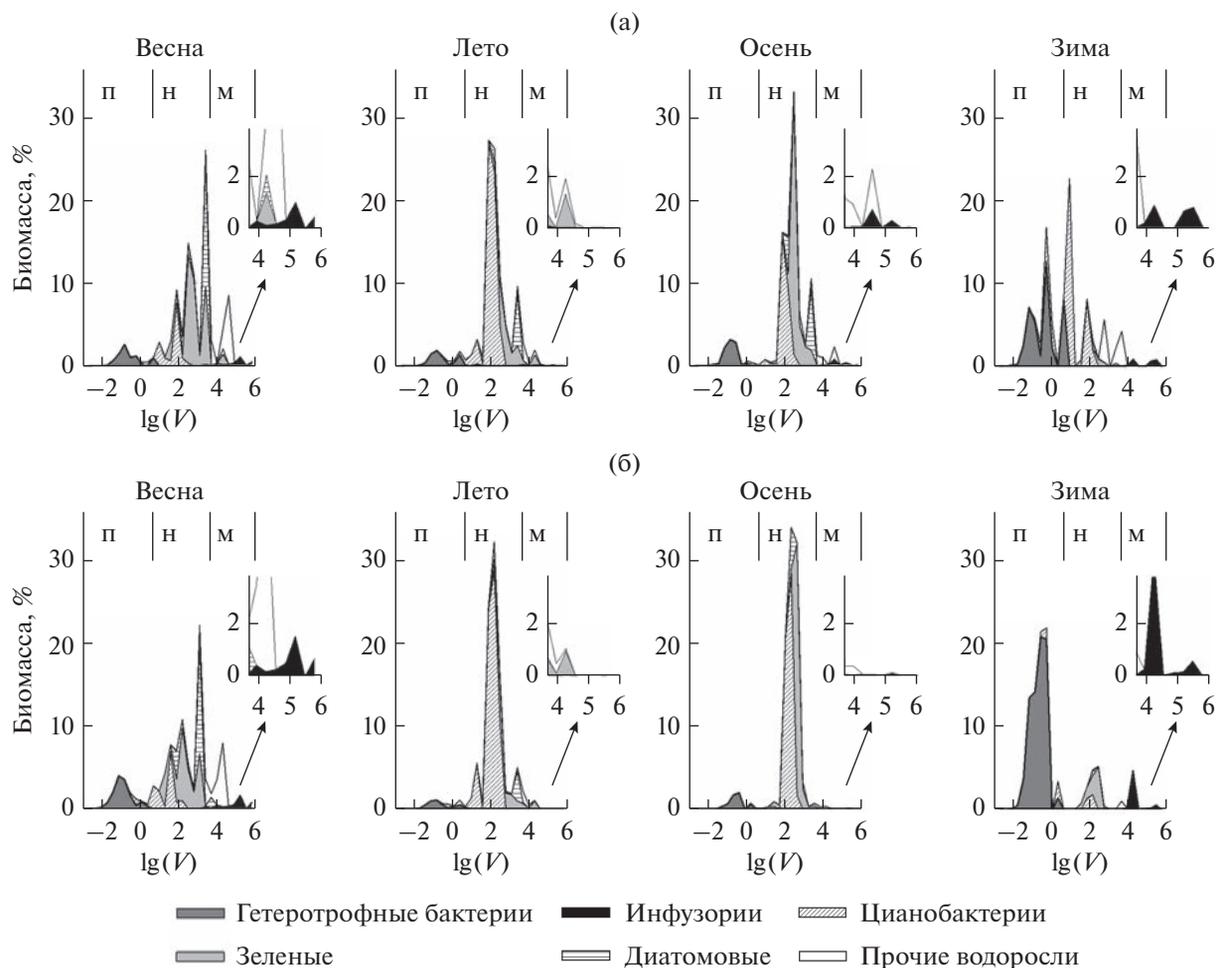


Рис. 2. Сезонные изменения размерно-таксономической структуры (по биомассе) одноклеточного планктонного сообщества в глубоководном (а) и мелководном (б) участках озера в 2013/2014 гг. На врезках: структура микропланктонной фракции. Обозначения: п – пико-, н – нано-, м – микропланктонная фракция.

ширив размерный диапазон от пико- до микропланктонной области, мы получили более подробную и полную характеристику его размерной структуры. Поскольку фитопланктон играет определяющую роль в суммарной биомассе исследованного нами гипертрофного озера (табл. 3), полученные нами размерные спектры вполне можно сравнивать с таковыми, полученными для фитопланктона в других пресных водоемах (Kamenir *et al.*, 2004, 2006; Kamenir, Morabito, 2009; Chakraborty *et al.*, 2017; Kamenir, 2017).

В оз. Б. Васильевское в летне-осенний период размерные спектры планктона на всех станциях очень близки и практически не зависят от глубины станции (рис. 2). Основной вклад в биомассу в этот период вносят клетки нанопланктона, причем главный максимум все время находится в области 16–18 классов (рис. 2), а разные даты отличаются только соотношением величин основного и минорных пиков.

Летом главный максимум регистрируется в области 16–17 классов (рис. 2; номера классов см. табл. 1). Его основу составляют цианобактерии, чей вклад в течение лета увеличивается от 42 до 73% общей биомассы планктона. При этом на долю двух колониальных видов, *Microcystis aeruginosa* (Kütz.) Kütz. и *Microcystis wesenbergii* Komarek (Cyanobacteria: Chroococcales) приходится $41 \pm 15\%$ общей биомассы. Также здесь велика доля Chlorophyta (*Scenedesmus acuminatus* (Lagerh.) Chod., *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb., *Oocystis borgei* Snow, *Golenkinia radiata* Chod.), хотя их суммарный вклад снижается с 21% в июне до 12% в сентябре. Второй по величине пик в наноразмерной фракции (21 класс) формируется в основном за счет Bacillariophyta (*Cyclotella meneghiniana* Kütz., *Stephanodiscus hantzschii* Grun.) и Chlorophyta (*Scenedesmus magnus* Meyen, *Chlamydomonas simplex* Pasch., *Pediastrum duplex* Meyen, *Geminellopsis fragilis* Korsch.). Вклад микропланктонной фракции также снижается к концу лета (рис. 2), а ее основу составляют

представители Streptophyta (*Staurastrum gracile* Ralfs., *Staurastrum chaetoceros* (Schrod.) G.M. Smith).

Осенью главный максимум несколько смещается в сторону 17–18 класса (рис. 2) и до 42% возрастает вклад Chlorophyta, среди которых преобладают следующие виды: *S. quadricauda*, *Scenedesmus protuberans* Fritsch, *G. radiata*. При этом вклад цианобактерий составляет 27.6%, в том числе 23.8% – два вида *M. aeruginosa* и *M. wesenbergii* (Chroococcales) и 3.8% – нитчатые *Anabaenopsis elenkinii* V. Miller (Nostocales) и *Geitlerinema amphibium* (Ag. ex Gom.) Anag. (Oscillariales). В крупноклеточной части размерного спектра (21 класс) преобладают Bacillariophyta (*C. meneghiniana*), которые формируют довольно выраженный пик в ноябре (рис. 1, 2). В микропланктонной области (рис. 2) осенью основной вклад вносят Cryptophyta (*Cryptomonas borealis* Skuja), Euglenophyta (*Euglena* spp.), Dinophyta (*Peridiniopsis oculatum* (Stein) Bourrelly) и Ciliata (*Linostomella vorticella* (Ehrenberg, 1833) Aesch, 1999, *Phascododon vorticella* Stein, 1859, *Pelagovorticella natans* (Faure-Fremiet, 1924) Jankowski, 1985, *Coleps hirtus viridis* Ehrenberg, 1831).

В подледный период размерно-таксономический спектр заметно меняется, а различия между глубоководной (рис. 2а) и мелководной (рис. 2б) частями озера весьма существенны. Пикопланктонный максимум (максимумы) на мелководной станции образованы гетеротрофными бактериями (6–9 классы, рис. 2б), а на глубоководной к ним добавляются пикоцианобактерии (12–13 классы, на границе между пико- и нанопланктоном) (рис. 2а). В наноразмерной фракции спектра на мелководной станции преобладают Chlorophyta (*Scenedesmus falcatus* Chod., *S. quadricauda*, *Scenedesmus spinosus* Chod.), а на глубоководной – цианобактерии (*M. aeruginosa*, *Planktolyngbia limnetica* (Lemmermann) Komárková-Legnerová et Cronberg, *Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs) и Cryptophyta (*Cryptomonas erosa* Ehr., *Cryptomonas ovata* Ehr.). В микропланктонной фракции на всей акватории доминируют инфузории – 5.8% общей биомассы планктона на мелководье и 2.5% – на глубоководной станции (рис. 2). На мелководье на долю *Coleps hirtus* и *C. hirtus viridis* приходится 4.7% биомассы, на глубоководной станции вклад этих видов уменьшается до 0.8%, и преобладание переходит к другим видам: *Frontonia leucas* (Ehrenberg, 1833) Ehrenberg, 1838 и *Pelagothrix plancticola* Foissner, Berger & Schaumburg, 1999 (1.3%).

Весной основной пик биомассы снова смещается в сторону наноразмерной области спектра (21 класс), дополнительные пики образуют клетки 16 и 18 классов (рис. 2). Основу нанопланктонной фракции составляют Chlorophyta (38.5% общей биомассы планктона, 14–21 классы, преимущественно *Oocystis* spp., *Scenedesmus* spp., *Nephrochlamys* spp., *Tetraedron* spp.) с заметным вкладом Bacillariophyta

(19.5%, 16–21 классы, *Stephanodiscus hantzschii*, *Cyclotella* spp., *Synedra* spp., *Fragilaria atomus* Hust.). Доля цианобактерий невелика (13%), причем, в отличие от осени, вклады нитчатых (*P. limnetica*, *Aph. flos-aquae*) и Chroococcales (*M. aeruginosa*) сравнимы. Меньший по величине пик зарегистрирован в микропланктонной области (25 класс). Здесь основной вклад вносят Dinophyta (около 11%, *Sphaerodinium cinctum* (Her.) Wolosz. и *Gymnodinium lacustre* Schill. in Rabenh.), Bacillariophyta (*Actinocyclus normanii* (Greg.) Hust.) и инфузории (*Nassula* sp., *Epistylis procumbens* Zacharias, 1897, *Monodinium balbiani* Fabre-Domergue, 1888). Кроме того, доминирование какого-либо размерного класса менее выражено, по сравнению с летне-осенним периодом.

В целом, размерно-таксономическая структура на всей акватории более гетерогенна в подледный период (средние величины индекса разнообразия Шеннона $H_b = 3.74$; индекса выравненности Пиелу $E_b = 0.80$), по сравнению с периодом открытой воды ($H_b = 3.16$; $E_b = 0.66$). При этом наибольшая гетерогенность наблюдается на глубоководной станции ($H_b = 3.60$; $E_b = 0.51$). Соответствующие величины на мелководной станции составляют $H_b = 2.30$ и $E_b = 0.78$.

Таким образом, сезонные различия структуры одноклеточного планктона в основном проявляются при сравнении двух “полярных” периодов: периода открытой воды и подледного периода. Так, в течение практически всего безледного периода на всей акватории озера Б. Васильевское в размерной структуре одноклеточного планктона преобладали клетки нанопланктона, с выраженным доминированием цианобактерий, причем размерно-таксономические спектры практически идентичны на всей акватории озера и не зависят от глубины станции. В подледный период основной максимум размерного спектра смещался в пикопланктонную область (преимущественно гетеротрофные бактерии), с одновременным увеличением доли микропланктона (инфузории) (рис. 1, 2). В подледный период пространственная гетерогенность размерных спектров выражена намного сильнее. В целом, в исследованном нами гипертрофном оз. Б. Васильевское наибольший вклад в суммарную биомассу вносят клетки тех же (или близких) размерных групп, что и в пресноводных озерах разного уровня трофности: морфометрии и химического состава (Kamenir *et al.*, 2006; Kamenir, 2017; Chakraborty *et al.*, 2017; Zohary *et al.*, 2021 и др.).

Размерно-трофический спектр. Основные физиологические свойства планктонных организмов (поглощение питательных веществ, эффективность фотосинтеза, скорость погружения и т.д.) напрямую зависят от их размеров. Поэтому, тип трофической стратегии планктонных организмов – автотрофия, гетеротрофия, миксотрофия – во

Таблица 4. Трофическая структура разных размерных фракций планктона в 2013 и 2014 гг.

Размерная группа	Трофическая стратегия	Доля общей биомассы планктона (%)	
		период открытой воды	подледный период
		2013/14 гг.	2014 г.
Пико-	Гетеротрофный	6.3	52.4
	Фото-осмотрофный	0	0
	Фото-фаготрофный	0	0
	Фотоавтотрофный	1.8	7.4
Нано-	Гетеротрофный	0.1	0.04
	Фотоавто-осмотрофный	6.0	14.8
	Фотоавто-фаготрофный	2.1	8.0
	Фотоавтотрофный	80.1	13.7
Микро-	Гетеротрофный	0.5	1.6
	Фотоавто-осмотрофный	0	0
	Фотоавто-фаготрофный	1.8	2.0
	Фотоавтотрофный	1.1	0

многим определяется размерными характеристиками организма, а не только концентрацией доступных ресурсов (Chakraborty *et al.*, 2017). В оз. Б. Васильевское в период открытой воды в 2013/14 гг. (табл. 4.) гетеротрофы составляют только 6.9% суммарной биомассы планктона и представлены в основном бактериями (6.3%, 3–14 размерные классы, с максимумом – 6–8 классы), с очень небольшим вкладом инфузорий (0.6%, 20–29 классы, пики в 25 и 27 классах), преимущественно крупных колоний *E. procumbens*. Фотоавтотрофные водоросли составляют 83% суммарной биомассы планктона, причем 80% относятся к нанопланктонной фракции (табл. 4). Фото-осмотрофные виды фитопланктона представлены, преимущественно, цианобактериями (5.2% общей биомассы; 13–16 классы) и зелеными водорослями (0.8%; 16–21 классы). Фото-фаготрофные виды водорослей составляют 5.1% (17–29 классы), причем среди них преобладают Dynophyta, Cryptophyta, Chrysophyta (в сумме дают 3.9%, 17–26 классы). Миксотрофные инфузории (в данном исследовании условно включены в фотоавто-фаготрофную группу) слабо развиваются в этот период, и их вклад составляет всего 0.1% суммарной биомассы планктона (23–29 классы).

В подледный период в условиях пониженных освещенности и температуры, дефицита кислорода и т.д., как и следовало ожидать, соотношение клеток с различными трофическими стратегиями существенно изменилось (табл. 2–4). Вклад гетеротрофных бактерий вырос с 7% до 54% общей биомассы планктона (табл. 4), при этом с 0.2 до 5% увеличился вклад крупной фрак-

ции гетеротрофных бактерий (12–13 классы). В эту фракцию входят *Lamproedia hyalina* (Ehrenberg 1832) Schroeter 1886 и *Planctomyces bekefii* Gimesi 1924, которые хотя и регистрируются в течение всего года, но наиболее интенсивно развиваются в подледный период. Также увеличилась доля осмотрофных цианобактерий (до 14.8%; 13–16 классы), фаготрофных водорослей (8%, 17–22 классы) и миксотрофных инфузорий (2%, 24–28 классы). В целом, вклад фотоавтотрофных водорослей в суммарную биомассу планктона снизился в подледный период почти в 4 раза, по сравнению с периодом открытой воды. Особенно заметно это снижение в наноразмерной фракции, однако, одновременно с этим существенно возрос вклад фототрофного пикопланктона (табл. 4).

Полученные результаты до некоторой степени соответствуют литературным данным. В общем, в эвтрофных условиях, характеризующихся высоким обилием питательных веществ и достаточно невысоким из-за затенения уровнем освещенности преимущество получают мелкие фотоавтотрофы (Chakraborty *et al.*, 2017). Фотоавтотрофия является оптимальной трофической стратегией для клеток пико- и, преимущественно, нано-размерных фракций, как в нашем случае летом (табл. 4). При возобновлении неблагоприятных условий по какому-либо параметру преимущество получают миксотрофные организмы, гетеротрофы и фаготрофы (хищники) (Chakraborty *et al.*, 2017). Гетеротрофы могут быть как мелкими (в нашем случае – бактерии), так и крупными (в нашем случае, инфузории).

Размерная структура в пространстве факторов среды. Использование кластерного анализа (ме-

тод Варда, расстояние Хеллингера) позволило четко выделить подледный кластер и группу кластеров открытой воды. В последней группе отделяется позднеосенний кластер, две группы летних кластеров и весенний (рис. 3а). Ординация планктонного сообщества на основе его размерной структуры методом главных компонент также подтверждает его относительную пространственную однородность в период открытой воды (рис. 3б). Результаты ординации показали, что первая главная компонента объясняет 72% варируемости размерной структуры в исследованном гипертрофном водоеме, вторая и третья – 9 и 7% соответственно (рис. 3б). Можно предположить, что первая главная компонента отражает комплекс таких факторов, как температура, освещенность и кислородное насыщение; вторая главная компонента – комплекс факторов, так или иначе связанных с трофностью водоема: прозрачность, содержание общего фосфора, Хл *a*. Это подтверждается и расположением станций в пространстве факторов при каноническом анализе ССА (рис. 3в). Из-за относительно небольшого диапазона изменений всех исследованных нами абиотических факторов оказалось невозможно выявить наиболее значимые из них. Тем не менее, вполне очевидно, что сообщества в феврале отделились от других сообществ по вектору температуры, содержания кислорода, и, отчасти, фосфора (рис. 3в). Все остальные сообщества выстроились по вектору минерализации и векторам, отражающим трофическое состояние водоема (Хл *a*, фосфор и прозрачность). Подобные, но более четко выраженные зависимости размерной структуры планктона и его отдельных компонентов от факторов среды (температура, световой режим, концентрация фосфора и некоторые другие) выявлены и в менее продуктивных водоемах (Kamenir *et al.*, 2006; Banas, 2011; Ward *et al.*, 2012; Rasconi *et al.*, 2015; Zohary *et al.*, 2021 и др.).

По-видимому, в исследованном гипертрофном водоеме важные экологические факторы (температура, освещенность, газовый режим и т.д.) и их сочетания меняются в узком диапазоне на всем протяжении периода открытой воды и, очевидно, клетки только определенных размерных классов, независимо от их таксономической принадлежности (рис. 2), получают максимальное экологическое преимущество. При резкой смене жизненных условий (резкое снижение температуры, освещенности, концентрации кислорода и т.д.) (Zohary *et al.*, 2021), что в нашем случае происходит после установления ледового покрова, размерно-таксономическая структура планктонного сообщества резко меняется (рис. 1–3).

Многолетние изменения структуры планктона озера. Суммарная биомасса одноклеточного планктона за прошедшие 25 лет увеличилась в 1.2 раза с 16.5 до 20.3 мг/л. Основу ее в оба периода составлял фитопланктон, но к 2013/2014 гг. его биомасса

увеличилась в 1.6 раза, тогда как биомасса бактерий, напротив, уменьшилась в 2.6 раза (рис. 4а). В общей структуре планктона наиболее заметно увеличилась роль цианобактерий за счет снижения вклада гетеротрофных бактерий. Вклад эукариотических водорослей остался прежним. Среди эукариот наиболее выраженным было увеличение на порядок как биомассы инфузорий, так и ее доли в общей биомассе.

Подобное увеличение биомассы цианобактерий (как в абсолютных, так и в относительных величинах) было отмечено и в ряде озер Нидерландов, сходных с оз. Б. Васильевское по морфологии и уровню продуктивности (Moore *et al.*, 2005). Авторы высказывают предположение, что подобное изменение может быть вызвано региональными факторами, но может быть и следствием процессов глобального изменения климата.

Основной нанопланктонный максимум биомассы в оба периода формировали цианобактерии и зеленые водоросли 16–18 классов (рис. 4б, 5а). Основу данного максимума составляли хроококковые цианобактерии (Chroococcales), с выраженным доминированием *M. aeruginosa* и *M. wesenbergii*. Заметное увеличение вклада Chroococcales в суммарную биомассу в 2013/2014 гг. (40.1%), по сравнению с 1991/1992 гг. (26.8%) (рис. 5а), произошло почти исключительно за счет *M. wesenbergii* (3.7% в 1991/1992 и 17% 2013/2014 гг.), при этом *M. aeruginosa* в оба периода формировал 20% биомассы. Кроме хроококковых, в этот максимум входили и нитчатые цианобактерии, которые формировали около 16% суммарной биомассы планктона в оба периода (рис. 5а). В 1991/1992 гг. среди нитчатых цианобактерий преобладали *Aph. flos-aquae* (5%), *Anabaena flos-aquae* (2.9%) и *A. planctonica* Brunth. (3.2%), размеры клеток которых соответствовали 16–18 классам. В 2013/2014 гг. состав преобладающих видов несколько изменился – *Anabaenopsis elenkinii* (3.4%, 17 класс) и *A. flos-aquae* (3.5%, 18 класс), *Phormidium molle f. tenue* (3.1%, 14 класс) и *P. limnetica* (1.3%, 14 класс). Таким образом, в 2013/2014 гг. наблюдалось более четкое разделение крупно- и мелкоклеточных фракций нитчатых цианобактерий с заметным увеличением доли мелкоклеточной фракции, по сравнению с 1991/92 гг. (рис. 5а).

Пик биомассы на границе нано- и микропланктона, соответствующий 21–22 классам и сформированный преимущественно диатомовыми водорослями (с доминированием нескольких видов родов *Cyclotella* и *Stephanodiscus*), практически не изменился за прошедшие 25 лет (рис. 4б, 5а).

Вклад гетеротрофных бактерий в суммарную биомассу планктона снизился с 20 до 6.5%, а положение пика сместилось от 7 к 6 классу (рис. 4а, 5а). Возможно, действительно за прошедшие годы произошло некоторое “измельчение” бактериаль-

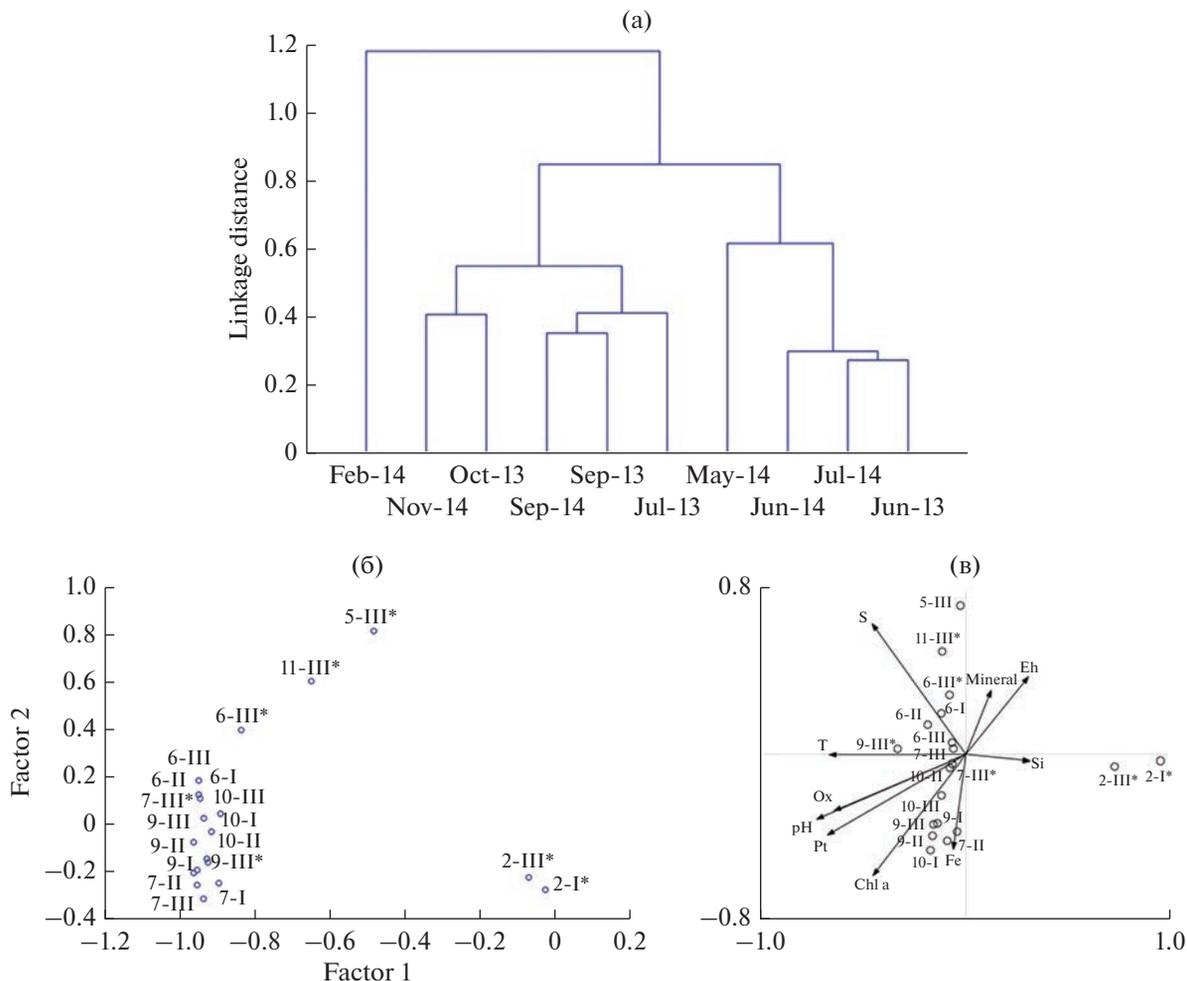


Рис. 3. Дендрограмма различий размерной структуры планктонного сообщества оз. Б. Васильевское в 2013–2014 гг. (а) и результаты ординации размерной структуры методом главных компонент (б) и канонического анализа (в). Обозначения: S – прозрачность, м; Mineral – минерализация, мг/л; T – температура, °C; Ox – содержание кислорода, мг/л; Pt – общий фосфор, мкгP/л; Chl a – Хл a, мкг/л; арабскими цифрами обозначены месяцы отбора проб; римскими – станция; * – пробы 2014 г.

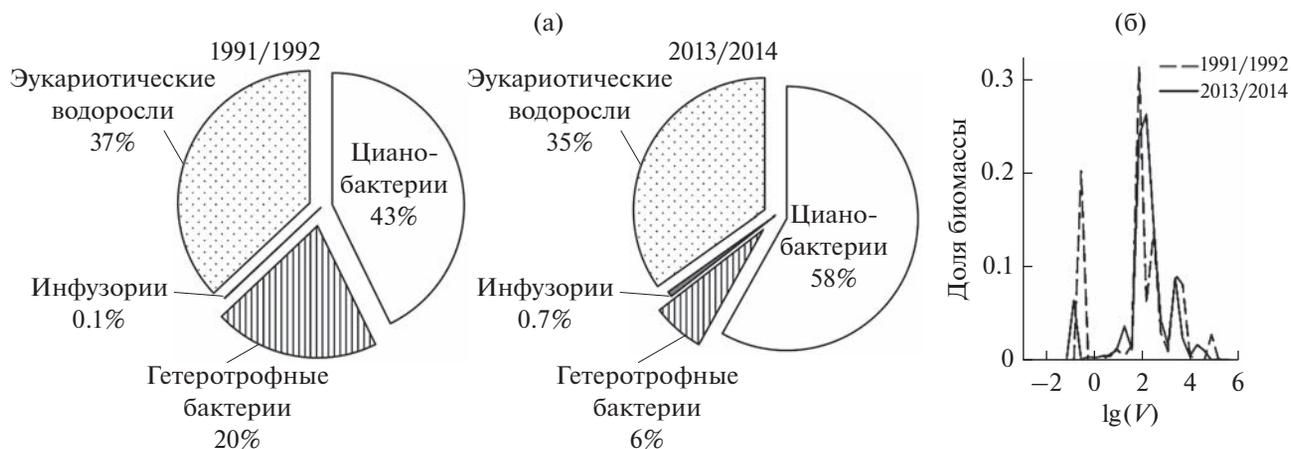


Рис. 4. Макротаксономический состав одноклеточного планктона (а) и его размерный спектр (б) в безледные периоды 1991/1992 и 2013/2014 гг.

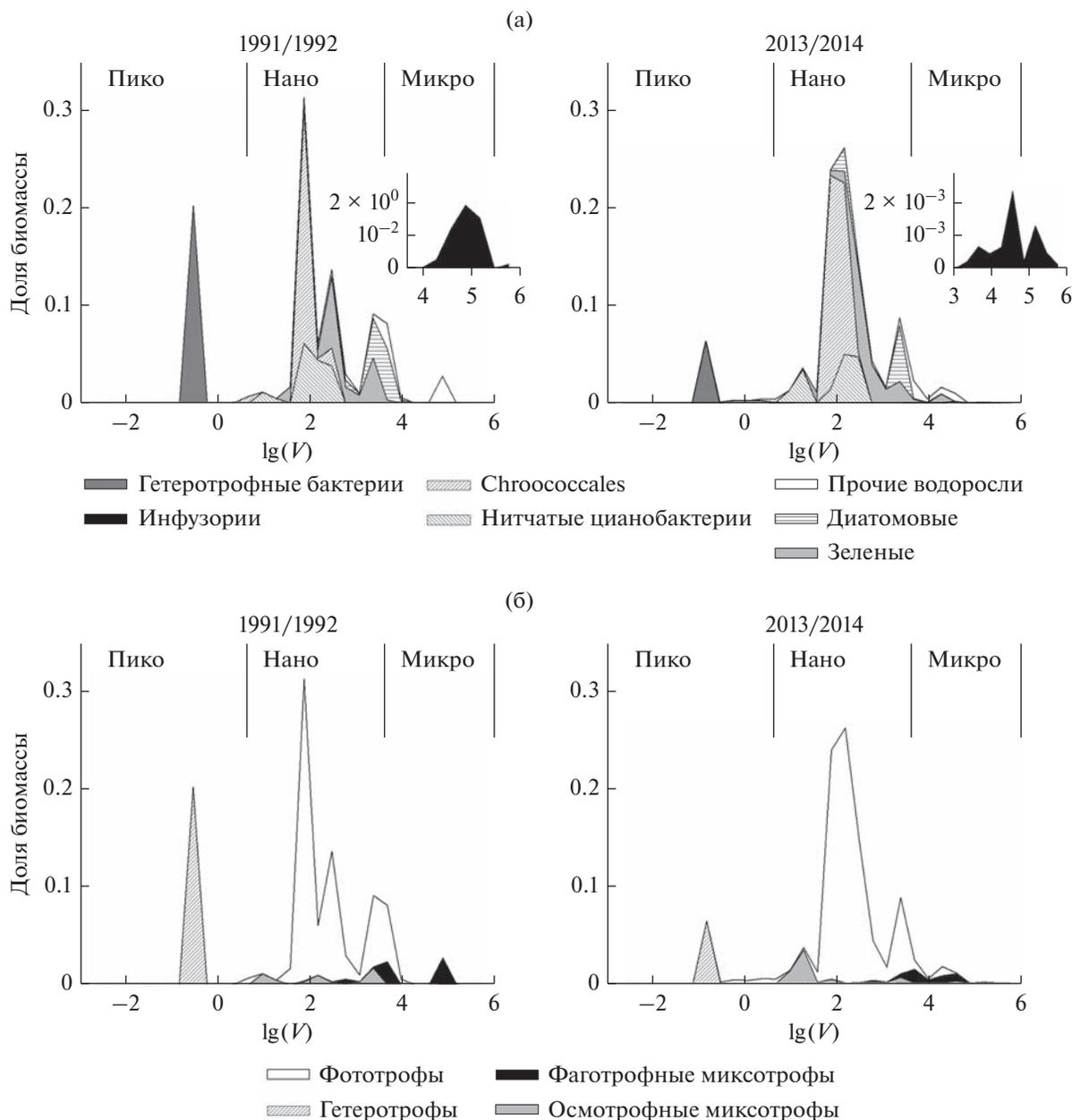


Рис. 5. Размерно-твксономическая (а) и размерно-трофическая (б) структуры планктона в 1991/1992 и 2013/2014 гг.

ных клеток в озере, при остающейся относительно стабильной численности. Однако нельзя исключать и того, что выявленные различия (хотя бы до некоторой степени) являются артефактом и объясняются различными методами анализа бактерий в разные годы (с использованием DAPI (наши данные) в 2013/2014 гг. и карболового эритрозина (Ивагин, 2012) в 1991/1992 гг.). Напротив, вклад инфузорий в суммарную биомассу увеличился более чем в 2 раза, и их размерная структура стала более разнообразной, а размерный диапазон расширился (рис. 5а). Однако средний вес особи в сообществе инфузорий уменьшился из-за увеличения

вклада видов мелких размерных классов. Возможно, частично это связано с недоучетом мелких инфузорий в пробах конца 20 века, но полностью произошедшие изменения не объясняет.

Распределение организмов планктона с разными трофическими стратегиями по размерных фракциям в период открытой воды тоже в целом сохранилось (рис. 5б). В настоящее время, как и четверть века назад, в планктоне оз. Б. Васильевское преобладают фотоавтотрофы. Однако вклад их в суммарную биомассу сообщества увеличился на 15% (с 74 до 89%), в то время как вклад гетеротрофов и миксотрофов снизился (с 20 до 7% и с

5.8 до 4% соответственно). При этом в составе гетеротрофов появились клетки микропланктонной фракции (8% суммарной биомассы) (колониальные инфузории), а в составе фотоавтотрофов, напротив, вклад крупных (микропланктонных) клеток уменьшился (с 8.6 до 2.3%). В целом, характер распределения организмов разных стратегий по размерным фракциям сохранился: биомасса пикопланктона на 99% в 1991/1992 гг. и 91% в 2013/2014 гг. состоит из гетеротрофных организмов (бактерии), биомасса нанопланктона — соответственно, на 90 и 96% из фотоавтотрофных (цианобактерии, зеленые и диатомовые водоросли), а биомасса микропланктона — на 88 и 82% из организмов с миксотрофной стратегией (инфузории, криптофитовые и динофитовые водоросли).

В целом, несмотря на изменения таксономического состава планктона за более чем 25-летний период, его размерный спектр остался почти неизменным (рис. 4б) с очень незначительными отличиями: уменьшился вклад клеток пико- и микропланктонной фракций и увеличился вклад клеток нанопланктонной фракции. Об этом свидетельствует и средний объем клетки в сообществе: он практически не изменился: 1.9 мкм³ — в 1991/1992 гг. и 2.0 мкм³ — в 2013/2014 гг., что косвенно подтверждает относительную многолетнюю стабильность размерной структуры одноклеточного планктона в гипертрофном озере, несмотря на таксономические и трофические различия (рис. 5). Возможно, малая вариабельность размерной структуры одноклеточного планктона и есть особенность стабильно гипертрофных водоемов с отсутствием резких и сильных изменений факторов на протяжении многих лет, что отличает их сообщества от таковых в менее продуктивных водоемах (Zohary *et al.*, 2021; Rasconi *et al.*, 2015).

На фоне практически стабильной размерной структуры планктона произошли незначительные видовые перестройки: в 2013/2014 гг. снизился вклад гетеротрофных бактерий и вырос вклад цианобактерий; в состав доминирующих видов вошли виды рр. *Phormidium* и *Planktolynghia*, которые ранее, в 1991/1992 г., были минорными; в составе доминирующего комплекса инфузорий появились мелкие скутикоцилиаты рр. *Cyclidium*, *Cinetochilum* и *Ctedoctema*, предпочитающие повышенное содержание органических веществ. Вполне вероятно, что все эти изменения отражают продолжающийся процесс эвтрофирования оз. Б. Васильевское. Но, возможно, они укладываются в пределы межгодовых и сезонных варьирований размерного спектра. То, как практически идентично накладываются друг на друга размерные спектры в 1991/1992 и 2013/2014 гг. (рис. 4б), свидетельствует в пользу того, что уже довольно продолжительное время экосистема стабильно и устойчиво находится на уровне высокоэвтрофного водоема,

переходя лишь из весенне-летне-осеннего состояния в зимнее (подледное) и обратно. И, вероятно, требуется значительное изменение условий для перевода ее на другой уровень.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в гипертрофных условиях (при продолжающемся незначительном увеличении трофности), в которых водоем находится, как минимум четверть века, формируется стабильный размерно-таксономический и размерно-трофический комплекс планктонных организмов, и для значимых изменений в нем необходимо очень резкое изменение экологического состояния. Вероятно, на уровне планктонного сообщества в целом, существует компенсаторный механизм, при котором происходит “заполнение” определенной размерной фракции разными таксономическими группами. В сезонном цикле выделены два основных типа размерных спектров. Нанопланктонный максимум, образованный преимущественно фотоавтотрофными цианобактериями и зелеными водорослями, регистрируется в период открытой воды; максимум/максимумы пикопланктона (преимущественно гетеротрофные бактерии) и повышенная доля микропланктона (гетеротрофные и миксотрофные инфузории) — в подледный период. Продолжающееся увеличение внутренней и внешней биогенной нагрузки, рост уровня продуктивности и изменения видового состава одноклеточного планктона на данном этапе развития экосистемы озера недостаточны для существенного изменения его размерного спектра. Полученные нами данные по размерно-таксономической структуре одноклеточного планктона могут быть использованы для создания моделей функционирования и прогноза состояния пресноводных экосистем, а также экологического менеджмента и управления природными ресурсами.

Благодарности. Авторы выражают признательность всем коллегам, принимавшим участие в отборе проб, обсуждении данной рукописи и отделе — Кривиной Е.С. за обработку части проб фитопланктона озера.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания по теме №122032500063-0.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Горбунов М.Ю., Уманская М.В., Краснова Е.С. Современное экологическое состояние озера Большое Васильевское // Известия СНЦ РАН. 2014. Т. 16. № 1. С. 183—187.
- Горбунов М.Ю., Уманская М.В., Краснова Е.С. Современное экологическое состояние некоторых пригородных озер системы Васильевских озер. г. Тольятти: Гидрохимический режим озер в 2013—2015

- гг. // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2017. Т. 26. № 1. С. 28–40.
- Жариков В.В., Горбунов М.Ю., Быкова С.В., Уманская М.В., Тарасова Н.Г., Буркова Т.Н., Шерышева Н.Г., Ротарь Ю.М.* Протисты и бактерии озер Самарской области. Тольятти: Кассандра. 2009. 240 с.
- Иватин А.В.* Бактериопланктон и бактериобентос Куйбышевского водохранилища. Тольятти: Кассандра. 2012. 183 с.
- Кривина Е.С.* Трансформация малых водоемов урбанизированных территорий в условиях изменения антропогенной нагрузки: Дис. ... канд. биол. наук. Тольятти. 2018. 186 с.
- Кривина Е.С., Тарасова Н.Г.* Фитопланктон малых естественных водоемов антропогенно трансформированного ландшафта Самарской области: флористический состав, показатели количественного развития и структурные характеристики. Свидетельство о регистрации БД RU № 2019620111. 18.01.2019. Заявка № 2018621953 от 26.12.2018.
- Кузнецова Е.В., Косолапов Д.Б., Косолапова Н.Г.* Таксономическая и размерно-морфологическая структура бактериопланктона двух водохранилищ Монголии // Изв. РАН. Сер. биол. 2020. №1. С. 22–29.
- Номоконова В.И., Выхристюк Л.А., Тарасова Н.Г.* Трофический статус Васильевских озер в окрестностях г. Тольятти // Известия СамНЦ РАН. 2001. Т. 3. № 2. С. 274–283.
- Уманская М.В.* Экологические особенности развития бактериопланктона малых эвтрофных озер Самарской Луки: Дис. ... канд. биол. наук. Тольятти. 2004. 148 с.
- Уманская М.В., Горбунов М.Ю., Краснова Е.С., Жариков В.В.* Трофический статус некоторых пригородных озер г. Тольятти (Васильевские озера) в 2013–2015 гг. // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2018. Т. 27. № 2. С. 183–188.
- Шерышева Н.Г., Уманская М.В., Быкова С.В., Горбунов М.Ю., Тарасова Н.Г., Кривина Е.С., Мухортова О.В., Краснова Е.С.* Экологическое состояние урбанизированного высокопродуктивного водоема (озеро Большое Васильевское). Тольятти: Анна. 2021. 187 с.
- Andersen K.H., Berge T., Goncalves R.J., Hartvig M., Heuschele J., Hylander S., Jacobsen N.S., Lindemann C., Martens E.A., Neuheimer A.B., Olsson K., Palacz A., Prowe F., Sainmont J., Traving S.J., Visser A.W., Wadhwa N., Kjørboe T.* Characteristic sizes of life in the oceans, from bacteria to whales // Ann. Rev. Marine Sci. 2016. V. 8. № 3. P. 1–25.
- Banas N.S.* Adding complex trophic interactions to a size-spectral plankton model: Emergent diversity patterns and limits on predictability // Ecol. Modelling. 2011. V. 222. P. 2663–2675.
- Brohan P., Kennedy J.J., Harris I., Tett S.F., Jones P.D.* Uncertainty estimates in regional and global observed temperature changes: A new data set from 1850 // J. Geophys. Res.: Atmospheres. 2006. V. 111. № D12.
- Brown J.H., Allen A.P., Gillooly J.F.* The metabolic theory of ecology and the role of body size in marine and freshwater ecosystems // Body size: the structure and function of aquatic ecosystems. Cambridge: University Press. 2007. P. 1–15.
- Chakraborty S., Nielsen L.T., Andersen K.H.* Trophic strategies of unicellular plankton // Amer. Naturalist. 2017. V. 189. № 4. P. 77–90.
- Kamenir Y.* The living whirl self-maintenance of stable size structure patterns of aquatic communities // Int. J. Environ.rotection. 2017. V. 7. Iss. 1. P. 46–52
- Kamenir Y., Dubinsky Z., Zohary T.* Phytoplankton size structure stability in a meso-eutrophic subtropical lake // Hydrobiologia. 2004. V. 520. № 1. С. 89–104.
- Kamenir Y., Dubinsky Z., Zohary T.* The long-term patterns of phytoplankton taxonomic size-structure and their sensitivity to perturbation: A Lake Kinneret case study // Aquat. Sci. 2006. V. 68. P. 490–501.
- Kamenir Y., Morabito G.* Lago Maggiore oligotrophication as seen from the long-term evolution of its phytoplankton taxonomic size structure // J. Limnology. 2009. V. 68. № 1. С. 146–161.
- Lampe V., Nöthig E.-M., Schartau M.* Spatio-temporal variations in community size structure of arctic protist plankton in the Fram Strait // Front. Mar. Sci. 2021. V. 7. P. 579880.
- Litchman E., Klausmeier C.A.* Trait-based community ecology of phytoplankton // Ann. Rev. of Ecology, Evolution, and Systematics. 2008. V. 39. P. 615–639.
- Mooij W.M., Ismann S.H., De Senerpont Domis L.N., Nolet B.A., P.L.E. Bodelier, Boers P.C.M., Pires L.M.D., Gons H.J., Ibelings B.W., Noordhuis R., Portielje R., Wolfstein K., Lammens E.H.R.R.* The impact of climate change on lakes in the Netherlands: a review // Aquatic Ecology. 2005. V. 39. P. 381–400.
- Moss B., Kosten S., Meerhoff V., Battarbee R.W., Jeppesen E., Mazzeo N., Karl Havens, Lacerot G., Liu Z., De Meester L., Paerl H., Scheffer M.* Allied attack: climate change and eutrophication // Inland Waters. 2011. V.1. № 2. P. 101–105.
- O'neil J.M., Davis T.W., Burford M.A., Gobler C.J.* The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change // Harmful algae. 2012. V. 14. P. 313–334.
- Rasconi S., Gall A., Winter K., Kainz M.J.* Increasing water temperature triggers dominance of small freshwater plankton // PLoS ONE. 2015. V. 10. № 10. P. e0140449.
- Rogora M., Mosello R., Arisci S.* The effect of climate warming on the hydrochemistry of alpine lakes // Water, Air, and Soil Pollution. 2003. V. 148. №. 1. P. 347–361.
- Sieburth J.M., Smetacek V., Lenz J.* Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments and their relationship to plankton size fractions // Limnol. Oceanogr. 1978. V. 23. P. 1256–1263.
- Vitousek P.M., Mooney H.A., Lubchenco J., Melillo J.M.* Human domination of earth's ecosystems // Science 1997. V. 277. P. 494–499.
- Ward B.A., Dutkiewicz S., Jahn O., Follows M.J.* A size-structured foodweb model for the global ocean // Limnology and Oceanography. 2012. V. 57. P. 1877–1891.

- Wetzel R.G. Limnology: Lake and River Ecosystems. 3rd Edition. San Diego: Academic Press. 2001. 1006 p.
- Zarauz L., Irigoien X., Fernandes J.A. Changes in plankton size structure and composition, during the generation of a phytoplankton bloom, in the central Cantabrian Sea // J. plankton research. 2009. V. 31. № 2. P. 193–207.
- Zohary T., Flaim G., Sommer U. Temperature and the size of freshwater phytoplankton // Hydrobiologia. 2021. V. 848. P. 143–155.

Unicellular Plankton Size Structure (Size-Taxonomic and Size-Trophic Spectra) in a Hypertrophic Urban Lake

M. V. Umanskaya¹, S. V. Bykova^{1, #}, and N. G. Tarasova¹

¹Samara Federal Research Scientific Center RAS, Institute of Ecology of Volga River Basin RAS, Komzjin str., 10, Togliatti, 445003 Russia

#e-mail: svbykova514@gmail.com

The results of an analysis of the size spectra of unicellular plankton (bacteria, algae, ciliates) in the hypertrophic freshwater urban lake (L. Bolshoe Vasilyevskoe, Togliatti, Russia) are presented. Two types of size spectra have been identified in the seasonal cycle. Strong nanoplanktonic maximum formed mainly by phototrophic cyanobacteria and Chlorophyta was found during the period of open water (spring to autumn); picoplankton maximum/maxima (mainly heterotrophic bacteria) and increased proportion of microplankton (heterotrophic and mixotrophic ciliates)—in the ice period. The peculiarity of the studied lake, in contrast to less productive ones is the stability of the plankton size structure over the past 25 years.

Keywords: hypertrophic water body, plankton, bacteria, algae, ciliates, size-frequency distribution, seasonal and interannual peculiarities of size spectra

УДК 599.363.2:574.38:34

СОСУЩЕСТВОВАНИЕ КОНКУРИРУЮЩИХ ВИДОВ ОБЫКНОВЕННОЙ КУТОРЫ (*NEOMYS FODIENS*) И ОБЫКНОВЕННОЙ БУРОЗУБКИ (*SOAREX ARANEUS*) ВО ФЛУКТУИРУЮЩЕЙ СРЕДЕ: КОММУНИКАбельНОСТЬ И ПРОСТРАНСТВЕННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В “СУХОМ” МЕСТООБИТАНИИ

© 2023 г. Н. А. Щипанов*, @, М. В. Касаткин**

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, 119071 Россия

**Государственный биологический музей им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия

@E-mail: shchipo@mail.ru

Поступила в редакцию 24.09.2022 г.

После доработки 19.10.2022 г.

Принята к публикации 19.10.2022 г.

Устойчивое (отсутствие тренда к изменению обилия взаимодействующих видов) сосуществование видов может поддерживаться благодаря флуктуациям их численности и биотопического распространения в гетерогенной среде. У обыкновенной куторы и обыкновенной бурозубки совместные поселения существуют на околородных участках и эпизодически возникают в “сухих” местообитаниях, куда кутора периодически вселяется. С учетом хорошо известного перекрытия пищевых ниш этих видов можно было бы ожидать обнаружения механизмов, снижающих конкуренцию, однако в “сухих” местообитаниях, мы таких механизмов не обнаружили. Использование пространства характеризуется случайным совмещением домашних участков зверьков. В тесте выбора (контейнер со зверьком против пустого контейнера) индивидуальная повторяемость коммуникабельности выявлена в тестах со стимулятором конспецификом, но отсутствует в тестах со стимулятором другого вида. Присутствие куторы (в качестве стимулятора) в поведенческом тесте не вызвало беспокойности обыкновенных бурозубок, а лишь повышало тщательность исследования. Реакции кутор на бурозубок в межвидовых тестах не обнаружено. В отсутствие специфических адаптаций, направленных на пространственную сегрегацию зверьков, сосуществование куторы и бурозубки достаточно хорошо объясняется “флуктуационно-зависимыми” моделями сосуществования.

Ключевые слова: конкуренция, сосуществование, использование пространства, коммуникабельность

DOI: 10.31857/S1026347022700123, EDN: НКСJBL

Межвидовые взаимодействия — один из ведущих экологических и эволюционных факторов увеличения биологического разнообразия и формирования сообществ (Day, Young, 2004; Grant, Grant, 2006; Pfennig *et al.*, 2007; Levine *et al.*, 2017; Adler *et al.*, 2018). Экологически близкие виды, заселяющие общую территорию, неизбежно конкурируют за жизненно важные ресурсы (Бигон и др., 1989; Adler *et al.*, 2018). Межвидовая конкуренция может быть ослаблена за счет экологического разобщения видов, и рассматривается как одна из движущих сил возникновения межвидовых различий (Hutchinson, 1957; Бигон и др., 1989; Freeman, Herron 2001; Day, Young, 2004; Grant, Grant, 2006; Pfennig *et al.*, 2007). Вместе с тем, хорошо известна избыточность встречающихся совместно видов, и вопрос Хатчинсона (Hutchinson, 1959) о природе избыточного видообразия яс-

ного ответа до сих пор не имеет (Day, Young, 2004). Предположительно, устойчивое сосуществование (отсутствие долгосрочного тренда к изменению обилия) экологически близких видов может поддерживаться благодаря флуктуациям численности и занятого в неоднородной среде пространства, (Chesson 1994, 2000). “Флуктуационно-зависимая” (fluctuation-dependent) модель включает модели относительной “нелинейности конкуренции” (relative nonlinearity) и “эффекта накопления” (storage effect) (Chesson, 2000). Модель “нелинейной конкуренции” оценивает коэффициент размножения конкурирующих видов (r) с учетом варьирования лимитирующего фактора. Более выраженная нелинейность r делает вид конкурентно слабее, но варьирование лимитирующего фактора оказывает стабилизирующий эффект, предотвращая элиминацию более слабого вида. “Эффект

накопления”, стабилизирующий сосуществование, возникает как совокупный результат трех составляющих: “дифференцированный ответ” на изменения среды (differential responses to the environment), “ковариация между средой и конкуренцией” (covariance between environment and competition) и “буферный эффект” (buffer effect). “Дифференцированный ответ” подразумевает различия в реакции видов на флуктуации среды; “ковариация” — различия в уровне конкуренции, связанные с флуктуациями (например, ухудшение среды ослабляет, а улучшение — увеличивает конкуренцию); “буферный эффект” — компенсирует уменьшение *r* вида вселенца при неблагоприятном состоянии среды, и, у мелких млекопитающих, может быть обусловлен различными биотопическими предпочтениями (Chesson, 1990, 2000).

С учетом морфологической однотипности, симпатрии и синтопичности многих видов землероек, их сходных требований к среде, и, хорошо известного, высокого метаболизма, у этих млекопитающих следовало бы ожидать особенно острой конкуренции за пространство (Churchfield, 1990, 2002). Землеройки (*Soricidae*) являются хищниками, охотящимися на беспозвоночных среднего и мелкого размера (Churchfield, 1990). Эволюционный успех в этой таксономической группе определяется “уникальным механизмом жевания”, обеспеченного морфологическими особенностями краниального скелета, который определяет возможность одновременного удержания и поедания жертв (Зайцев, 2005). Особенности морфологии позволяют зверькам использовать жертвы из разных таксонов беспозвоночных, но ограничивают их в других источниках пищи. Пищевые ниши землероек перекрываются на 40–90%, причем перекрывание пищевых ниш выше у близких по размеру видов (Churchfield, Sheftel, 1994; Churchfield *et al.*, 1999; Churchfield, Rychlik, 2006). Конкурирующие виды насекомоядных взаимно влияют на пищевую базу (Dickman, 1991). Согласно принципу конкурентного исключения, такие виды не должны образовывать устойчивые многовидовые сообщества. Однако у бурозубочьих (*Soricinae*) часто сосуществуют 4–9 видов (напр. Churchfield, Sheftel, 1994; Churchfield *et al.*, 1997, 1999; Churchfield, Rychlik, 2006).

Предположительно, сосуществованию землероек должно способствовать их различие в размерах: ожидается различие в размерах предпочитаемых жертв, и сужение пищевой ниши у мелких видов (Kirkland, 1991, Churchfield, Sheftel, 1994; Churchfield, 2002). Однако, в паре *Sorex araneus* — *Sorex minutus* (более чем двукратная разница в размерах) в горных лесах Словении обнаружено практически полное совпадение пищевых ниш и совместное использование микроместообитаний (Klenovšek *et al.*, 2013). Обсуждая результаты, авторы последней публикации предполагают обра-

тить внимание на возможность временного разделения ниш, что может препятствовать реализации конкурентного исключения.

Ряд видов землероек характеризуется выраженной динамикой обилия. В частности, обыкновенная бурозубка на всем ареале демонстрирует колебания численности, циклические (Большаков и др, 1996; Бобрецов, 2004; Sheftel, 1989; Tkadlec, Stenseth, 2001; Tast *et al.*, 2005) или нециклические (Henttonen *et al.*, 1989; Churchfield *et al.*, 1995; Tomášková *et al.*, 2005). В местностях с периодически меняющейся влажностью климата численность и биотопическое распространение обыкновенной куторы также может резко изменяться (Панов, Карпенко, 2004). С учетом флуктуаций обилия и распространения по местообитаниям в паре видов обыкновенная кутора — обыкновенная бурозубка, речь может идти о “природной модели” для изучения “флуктуационно-зависимых” механизмов сосуществования. Ареалы этих видов практически полностью совпадают (Mitchell-Jones *et al.*, 1999; Harris, Yalden, 2004). Обыкновенная бурозубка встречается практически во всех местообитаниях умеренной и бореальной зон, способна использовать широкий спектр пищевых объектов, легко переключается на наиболее обильные и доступные (и сезонно и локально) жертвы (Churchfield, 1990; Hanski, 1994). Обыкновенная кутора является полуводным видом, имеет специфические адаптации к плаванию и нырянию (Greenwood *et al.*, 2002; Champneys 2012), а обыкновенная бурозубка — наземный вид (Churchfield, 1990; Shchipanov *et al.*, 2019). Однако, несмотря на различия в предпочитаемых местообитаниях, оба вида сосуществуют на влажных территориях: болотах, сырых лугах, по берегам различных водотоков (Churchfield, 1984 a, b; Rychlik, 2000; Churchfield, Rycplik, 2006; Czabán *et al.*, 2015). Оба вида характеризуются как территориальные (Krushinska, Rychlik, 1993; Rychlik, 1998) и можно было бы ожидать проявления наиболее острой, интерференционной, конкуренции, приводящей к вытеснению одного из видов. Однако, обыкновенную бурозубку нельзя рассматривать как территориальный вид в полном смысле этого слова. Зверьки специально не охраняют территорию, а разобщение особей в пространстве определяется случайными столкновениями (Щипанов, 2021). При использовании радиоактивного мечения отмечено наложение участков и у кутор (Lardet, 1988). Сосуществование обыкновенной куторы (*Neomys fodiens*) и обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus*) в “сухих” местообитаниях, ранее не изучали.

В настоящей работе: 1) проведен анализ многолетней динамики этих видов на модельном участке в “сухом” местообитании, 2) охарактеризовано использование пространства и его совместное использование обоими видами, 3) изучена коммуникабельность (sociability) в одновидовых

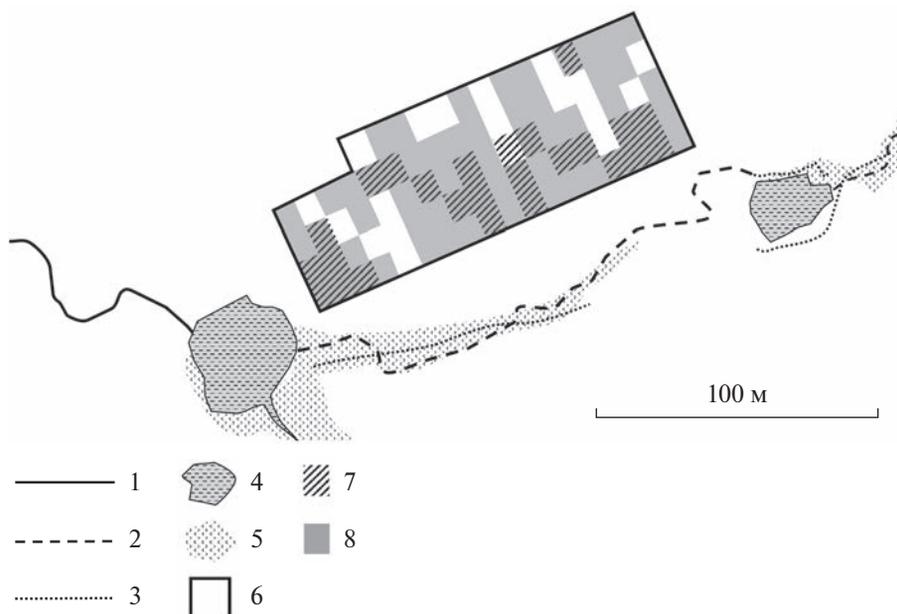


Рис. 1. Место работы: 1 — постоянный ручей, 2 — пересыхающий ручей, 3 — места дополнительных отловов, 4 — пруды, 5 — заросли болотной растительности (осоки, таволга, камыш), 6 — площадка мечения, 7 — пространство занятое участками обыкновенной куторы (2021 г.), 8 — пространство занятое участками обыкновенной бурозубки (2021 г.).

и межвидовых тестах предпочтения и 4) с привлечением известных данных по экологии сравниваемых видов, предпринята попытка сопоставить полученные результаты с “флуктуационно-зависимыми” моделями сосуществования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место работы и животные. Материал собран в окрестностях деревни. Баканово, Старицкого р-на, Тверской области (56°18' С.Ш.; 34°54' В.Д.). Основные данные получены на площадке мечения (“сухое” местообитание) в 2014–2021 гг. Площадка расположена на заброшенной части деревни, соседствует с оврагом, в котором весной, осенью и во влажные годы протекает ручей, рядом расположены два небольших пруда (рис. 1). Территория заросла крапивой, кипреем, имеются пятна злакового разнотравья; есть участок молодого березняка, смешанного с ольхой, отдельные старые липы, кусты ивняка. Ловушки (всего 87) выставлены как пять линий с интервалом 10 м между линиями (четыре линии по 18, и одна — 15 ловушек), между ловушками в линии — 7.5 м. Наблюдаемая площадь — 0.65 га.

В 2014, 2015, 2018 и 2021 гг. проведены отловы вдоль водотоков (влажное местообитание) на участках, заросших камышом, таволгой, смородиной и ивняком (рис. 1). Ловушки (50 шт.) представляли линейей.

Мечение животных проводили в соответствии с разработанным для бурозубок протоколом

(Щипанов и др., 2000): использовали оригинальную ловушку, в качестве приманки — геркулес, смоченный нерафинированным подсолнечным маслом, проверка не реже, чем через 1.5 ч. После проверки ловушки оставляли открытыми, ненастороженными, доступными для свободного посещения. В данном исследовании мы ограничивались одной проверкой в сутки. При таком режиме животное может свободно перемещаться более 90% времени суток, и частота поимок особи отражает частоту ее присутствия в месте расположения ловушки. Зверьков метили ампутацией когтевых фаланг. У бурозубок такое мечение не влияет на выживание зверьков (Shchipanov *et al.*, 2005). Для кутор использовали номера, требующие обрезания максимум двух пальцев. Оседлыми считали зверьков, пойманных повторно в течение одной сессии отлова (14 дней). Всего на площадке в августе 2014–2021 гг. было поймано 223 обыкновенных бурозубки (1005 поимок) и 29 обыкновенных кутор (65 поимок). При отловах вдоль водотоков было поймано 38 обыкновенных бурозубок и 21 кутора.

Поведение изучали в 2021 г. Животных на 3 ч изымали с площадки во время проверки (до 9 ч утра), помещали в отсадники с кормом в избытке (измельченные куриные сердца и кузнечики) и использовали в тестах сразу по окончании проверки. Испытания заканчивали не позже 11.30, затем зверьков возвращали на место поимки. Особи в повторных (и разнотипных) экспериментах использованы в разные дни. Всего в тестах участво-

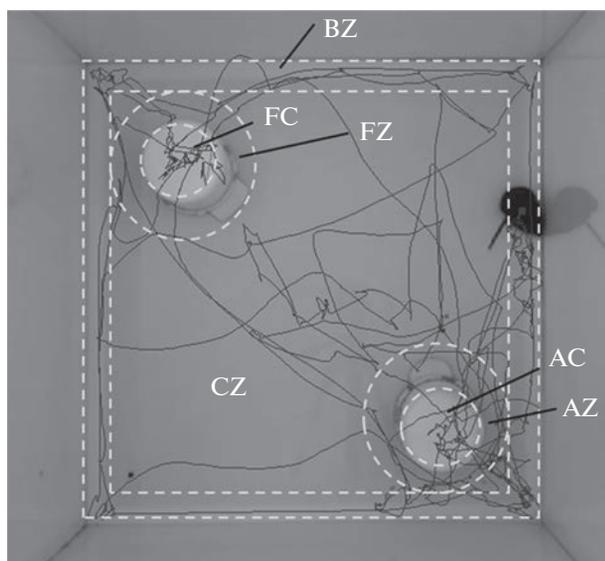


Рис. 2. Пример оцифрованной дистанции (следа) в эксперименте с фокусным видом – кутора и стимулятором в контейнере – обыкновенная бурозубка. Пунктиром обозначены виртуальные зоны (пояснения в тексте).

вало 20 сеголеток обыкновенных бурозубок и 15 обыкновенных кутор (12 молодых кутор весом до 16 г и 3 взрослые самки с весом >17 г). Из них в 36 одновидовых тестах участвовали 17 бурозубок, а в 21 одновидовом тесте – 10 кутор, в 12 межвидовых тестах кутора – бурозубка (стимулятор) – 11 кутор и 6 бурозубок, в 22 опытах бурозубка – кутора (стимулятор) – 16 бурозубок и 8 кутор. Для оценки повторяемости коммуникабельности в одновидовых тестах использованы данные, полученные в первом и втором испытаниях особи (9 бурозубок и 4 куторы; 18 и 8 испытаний соответственно); в межвидовых тестах использовали результаты первых одновидового и межвидового тестов особи (14 бурозубок и 7 кутор, 28 и 14 испытаний).

Оценки увлажненности территории. Для характеристики увлажненности в “сухом” местообитании использовали количество выпадающих в теплое время года (май–август) осадков для ближайшего (20 км от места наблюдений) г. Старица (Погода и климат). Летнее высыхание временного ручья происходило в 2016, 2019 и 2020 гг.

Оценка коммуникабельности. Склонность зверьков к социальному контакту – коммуникабельность (Moу *et al.*, 2004) оценивали в модифицированном тесте выбора (preference test) (Crawley, 2000). Схема эксперимента и оценка валидности результатов подробно описаны ранее (Shchipanov, Demidova, 2020, 2022). Тест проводили в квадратном открытом поле (50 × 50 см), с двумя сетчатыми цилиндрическими контейнерами (10 см высотой и 8 см в диаметре), в один из которых помещали стимулирующее животное. Зверьки могли визуаль-

но, ольфакторно и акустически взаимодействовать через сетчатую стенку. Крышка контейнера – сплошная, препятствует контактам. Контейнеры помещали в фиксированных положениях (рис. 2). Фокусное животное выпускали в центре арены из пластикового стаканчика вручную, затем оператор покидал помещение. Испытание записывали на видеокамеру Sony Handycam в формате MPEG-2. Оцифровку записи теста проводили в пакете программ EthoVision XT (Noldus), с момента, когда оператор покидал помещение, чистое время оцифрованного испытания – 5 мин. Оценивали пройденную фокусным животным дистанцию, время пребывания и среднюю скорость перемещения в зоне. Выделяли виртуальные зоны (рис. 2): BZ – краевая зона – 3 см полоса вдоль стенок арены; зоны контейнера с животным (AZ) и пустого (FZ) – 3 см вокруг стенок контейнеров; крышки контейнеров с животным (AC) и пустого (FC); и центральную зону (CZ) – пространство арены за исключением площади перечисленных зон (рис. 2). Выбор 3 см полосы определяли тем, что цифровой след особи, находится в пределах 3 см от границы исследуемого объекта (рис. 2).

Используемые характеристики и индексы. Обилие животных (N) на площадке мечения оценено как количество присутствовавших на ней оседлых животных. Вслед за Кантони (Cantoni, 1993) на линии вдоль водотоков обилие оценено как количество особей, пойманных на 100 м линии. Варьирование обилия (нелинейность) оценивали с использованием индекса $S_1 = \text{SDLg}N$ (Stenseth, Framstad, 1980; Henttonen *et al.*, 1985).

Для количественной характеристики совмещения резидентов в пространстве оценивали долю ловушек, посещенных совместно (H_j) с конспецификами или, в зависимости от задачи, особями чужого вида:

$$H_j = \sum T_j / (\sum T_x + \sum T_j),$$

где T_x – число ловушек, посещенных только хозяином участка, а T_j – число ловушек, посещенных совместно с соседями. Совмещение пространственной активности A_j оценено как относительная частота посещения ловушек участка хозяином, свои поимки, (C_h) и другими особями своего или иного вида – чужие поимки (C_a):

$$A_j = \sum C_h / (\sum C_h + \sum C_a).$$

При оценке коммуникабельности использовали две группы индексов: индексы предпочтения (I) и мобильности (D) (Shchipanov, Demidova, 2020, 2022). Индексы предпочтения характеризуют предпочтение обследования “социального” объекта – контейнера со зверьком (стимулятором). Индексы предпочтения во времени I_t и в пространстве I_d рассчитаны как:

$$I_t = t_{AZ} / (t_{AZ} + t_{FZ}) - 0.5 \text{ и}$$

$$I_d = d_{AZ} / (d_{AZ} + d_{FZ}) - 0.5,$$

где t — время присутствия, а d — пройденная дистанция в зонах контейнера со стимулятором — AZ и пустого — FZ. Индексы изменяются от -0.5 до $+0.5$, положительное значение — преобладающая активность в зоне стимулятора.

Индекс мобильности характеризует относительную плотность обследования анализируемой зоны (Z):

$$D_Z = d_Z S_a / d_T S_Z,$$

где d_Z — дистанция, пройденная в анализируемой зоне, d_T — общая дистанция, пройденная в испытании, S_Z — площадь анализируемой зоны, а S_a — общая площадь арены. Индекс равен 1, если плотность следов в зоне соответствует случайно-му блужданию по арене.

Анализ данных и статистика. Нормальность распределения проверяли в тесте Шапиро–Уилка. При необходимости проводили нормализацию данных с использованием логарифмирования или арксинусной трансформации (в случае I_r и I_d к величине индекса прибавляли 0.5). Варьирование нормально распределенных данных в тексте и на рисунках показано как $\pm SD$, если не даны соответствующие пояснения. Корреляции нормально распределенных данных оценивали коэффициентом Пирсона (r), ненормально распределенных данных — ранговым коэффициентом Спирмена (R_s). Синхронность динамики обилия оценивали, используя коэффициент ранговой корреляции Спирмена для логарифмированных показателей обилия, как это было ранее предложено для полевых (Saitoh *et al.*, 1998). При сравнениях выборок, в зависимости от типа данных, использовали параметрические или непараметрические тесты (указаны в тексте).

Для оценки возможности случайного совпадения посещенных ловушек в пространстве N особями, каждая из которых, в среднем, посещает k (округлено до целого) ловушек, в компьютерном эксперименте определено ожидаемое число совместно посещаемых ловушек. При этом модель предполагает генерирование случайных номеров в Nk испытаниях. По результатам 1000 итераций в среде Excel 2016 с использованием встроенного генератора случайных чисел определено математическое ожидание и 95% доверительный интервал (CI) — $1.96SD$ (подробнее см. Щипанов, 2021).

Для выявления устойчивых индивидуальных поведенческих реакций в среде R с использованием функции `rpt` в пакете `rptR` (Stoffel *et al.*, 2017) рассчитана скорректированная повторяемость (Nakagawa, Schielzeth, 2010) — R : внутригрупповая дисперсия среди особей, деленная на общую дисперсию. В каждом вычислении индивидуальный

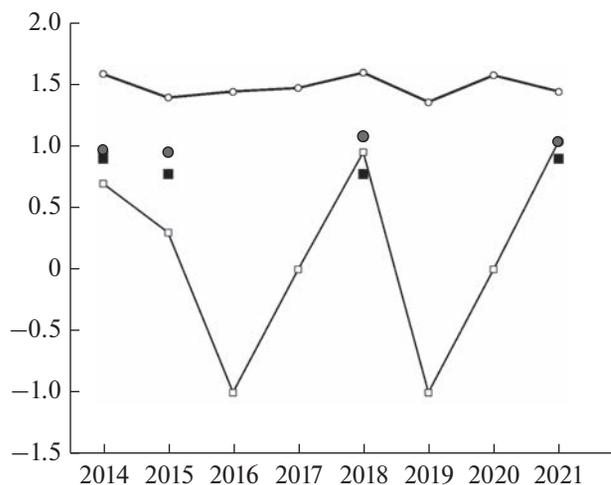


Рис. 3. Динамика обилия на площадке мечения (Lg числа оседлых) — сплошная линия: обыкновенная кутора (квадратный маркер) и обыкновенная бурозубка (круглый маркер). На месте дополнительных учетов (Lg числа обнаруженных на 100 м дистанции) — отдельные маркеры: обыкновенная кутора — черный квадрат, обыкновенная бурозубка — серый круг.

номер животного (ID) являлся случайным, а номер эксперимента — фиксированным фактором. Для определения 95% CI проведено 1000 итераций. Статистическая значимость R оценена с помощью пермутаций и теста максимального правдоподобия (LRT) в пакете `rptR`.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обилие. Обыкновенная бурозубка преобладала по численности: в “сухом” местообитании на площадке за все время наблюдений, число кутор составило 10.6% от общего количества пойманных особей обоих видов; во “влажных” местообитаниях — 35.6%. По средней геометрической обилия (за все годы отловов) преобладание бурозубки еще заметнее: на площадке — 1.3 куторы против 30.1 обыкновенных бурозубок, вдоль водотоков — 1.4 куторы против 3.2 бурозубок. Динамика обилия этих видов на площадке независима ($R_s = 0.47$, $p > 0.2$). Обыкновенная бурозубка не показала существенных колебаний (рис. 3): S_1 на площадке составил 0.09, т.е. много меньше 0.5 — критического значения для флуктуирующих популяций (Henttonen *et al.*, 1985). Колебания обилия кутор на “сухой” площадке мечения ярко выражены, $S_1 = 0.79$. На околотовных участках в годы проведения учетов обилие кутор практически не изменялось (рис. 3): $S_1 = 0.07$.

Влияние увлажненности территории мы могли корректно оценить лишь для “сухого” местообитания — площадки мечения. У кутор на площадке мечения обнаружена значимая отрицательная кор-

Таблица 1. Ранговый коэффициент корреляции Спирмена (R_S) Lg числа оседлых зверьков на площадке мечения и количеством осадков (мм). Жирным шрифтом выделены коэффициенты с $p < 0.05$, жирным курсивом – с $p < 0.1$

Вид	За год	Май-Август	Июнь	Июль	Август	Июль + Август
<i>S. araneus</i>	-0.19	-0.51	0.26	-0.06	-0.40	-0.22
<i>N. fodiens</i>	-0.43	-0.65	0.25	-0.45	-0.64	-0.75

реляция обилия с суммарным количеством осадков в конце лета, в июле и августе, но лишь тенденция ($p < 0.1$) к увеличению обилия при меньшем суммарном количестве осадков за лето, и более сухом августе (табл. 1). Летнее количество осадков текущего года не связано с наличием проточной воды в ручье, которая сохранялась в сухие годы и, по-видимому, зависела от накопленной в почве влаги. Если в годы с проточной водой маркировать как 1, а сухие как 0, мы обнаружим, что обилие куторы на площадке положительно коррелирует с наличием воды в ручье ($R_S = 0.80$, $p < 0.02$).

Использование пространства. Достаточно полные данные для анализа получены только в “сухом” местообитании. Оседлые обыкновенные бурозубки посещали, в среднем, $72.6 \pm 13.2\%$ ловушек (от всех 87 на площадке), в 2021 – 77%. От 30 до 61% (в 2021 – 49%) ловушек на участке обыкновенной бурозубки посещались также и бурозубками соседями. Доля совместно посещаемых ловушек (H_j) коррелировала ($R_S = 0.91$, $p < 0.01$) с долей ловушек (от всех 87) посещаемых оседлыми бурозубками (рис. 4).

Ранее было показано, что совмещение обыкновенных бурозубок в ловушках в период 2014–2020 гг. соответствует ожиданию для случайного совпадения номеров ловушек (Щипанов, 2021).

Эта ситуация не изменилась и в 2021 г. Всего бурозубки посетили 68 ловушек, из них двумя и более особями посещалось 30 ловушек, т.е. $H_j = 0.49$; среднее число ловушек на участке особи – 4.5, суммарное число ловушек на участках всех 25 оседлых зверьков – $Nk = 113$; при таком количестве испытаний в модели случайно совпадают, в среднем, 32 номера ловушек, границы 95% CI – 26–38 совпадающих номеров. Таким образом, фактическое число ловушек, посещенных бурозубками совместно с соседями – 30, не выходит за пределы доверительного интервала, ожидаемого для случайного совпадения. Посещаемость пространства пропорциональна доле совместно посещаемых ловушек. Фактическая частота посещения ловушек хозяевами участка совместно с “чужаками” – $A_j = 0.54$ (74:88), не отличается ($\chi^2 = 1.58$, $df = 1$, $p > 0.20$) от ожидаемой – 0.51 (82 : 80).

В 2021 г. при высокой плотности на площадке мы смогли оценить вероятность случайного совпадения посещаемых ловушек и для кутор. Всего обыкновенные куторы посетили 26 ловушек, из них двумя и более особями посещалось 6 ловушек, т.е. $H_j = 0.23$. Среднее число ловушек на участке куторы равно 4, суммарное число ловушек на участках всех 8 оседлых зверьков – $Nk = 32$. В модели случайно совпадают, в среднем, 4 номера

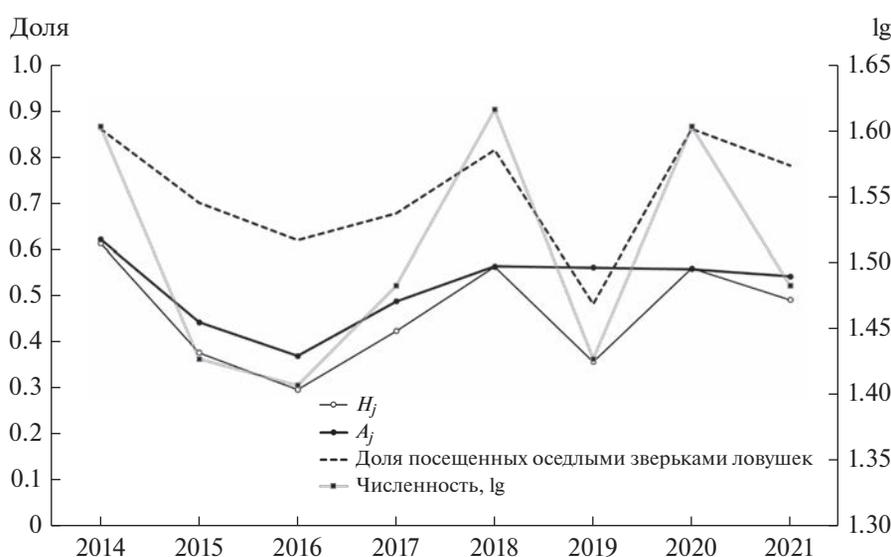


Рис. 4. Использование пространства сеголетками обыкновенной бурозубки. H_j – доля ловушек на участке, посещаемых совместно с конспецификами, A_j – доля поймок в ловушки, посещаемые совместно с оседлыми соседями.

ловушек, 95% CI от 1.1 до 7.5. Таким образом, и у кутор число ловушек, посещенных совместно с соседями – 6, находится в пределах доверительного интервала, ожидаемого для случайного совпадения. Частота посещения ловушек хозяевами участка совместно с “чужаками” $A_j = 0.18$ (8 : 36) не отличается ($\chi^2 = 0.52$, $df = 1$, $p > 0.47$) от ожидаемой – 0.23 (10 : 34) для соотношения пропорционального доле совместно посещаемых ловушек.

Совмещение в ловушках обыкновенной бурозубки и куторы соответствовало случайному совпадению номеров, посещаемых ловушек. Из 68 посещаемых обыкновенной бурозубкой ловушек, 25 посещалось так же и куторами. Случайные номера ловушек были генерированы для каждого из видов в отдельных моделях. Совпадающие номера определены в парах моделей кутора–бурозубка по результатам 1000 итераций. В итоге, среднее количество случайно совпадающих у обоих видов номеров ловушек составило 26, а 95% CI от 20 до 32. Таким образом, фактическое число совместно посещенных обоими видами ловушек – 25, не выходит за пределы доверительного интервала, ожидаемого для случайного совпадения.

Для проверки предположения влияния занятости ловушек на частоту их посещения особями разных видов мы оценили частоту попаданий в ловушки, посещаемые конспецификами и “чужим” видом. В результате не обнаружено зависимости частоты посещения ловушки одним из видов, от частоты посещений ловушки другим видом ($R_s = 0.096$, $p > 0.6$), а количество посещений ловушек своим и чужим видом (медиана числа попаданий бурозубки в ловушки, посещаемые и конспецификами и куторой равна 2 в обоих случаях), не различаются (Манн–Уитни $U = 487.5$, $p > 0.37$).

Достоверная положительная корреляция числа занимаемых на площадке обыкновенными бурозубками ловушек и Lg обилия кутор в период 2014–2021 гг. ($r = 0.78$, $p < 0.023$), показывает, что пригодность пространства площадки для резидентов и бурозубки, и куторы меняется синхронно.

Поведение. Общая активность в тесте, т.е. средняя скорость перемещений и суммарная дистанция, пройденная в тесте, значимо (ANOVA, ID – random, $p < 0.05$) больше у обыкновенной бурозубки (рис. 5). У обыкновенной бурозубки активность в открытом поле в присутствии стимулятора куторы значимо ($t = 3.65$, $df = 32$, $p < 0.001$) уменьшилась: общая дистанция в одновидовых тестах – 2960 ± 1124 см, а с куторой – 1671 ± 903 см. У кутор изменение общей дистанции в тестах со стимулятором обыкновенной бурозубкой (рис. 5) незначимо ($p > 0.18$).

Распределение пространственной активности в разных зонах арены (D-индекс) у куторы и обыкновенной бурозубки однотипно (рис. 6). Во

всех типах тестов, плотность посещения центральной части арены, D_{CZ} , значимо меньше 1 (табл. 2). Мобильность в одновидовых тестах в центральной части вольеры (D_{CZ}) у бурозубки значимо ($t = -2.34$, $df = 56$, $p < 0.023$) меньше, чем у куторы, что свидетельствует о большей осторожности зверьков этого вида. В межвидовых экспериментах обыкновенная бурозубка значимо уменьшила перемещения в краевой зоне ($t = 2.41$, $df = 58$, $p < 0.019$) и увеличила подвижность в зоне пустого контейнера – FZ ($t = -2.3$, $df = 58$, $p < 0.023$), другие изменения в межвидовых тестах обоих видов не значимы (рис. 6).

Плотность посещения крышек контейнеров не отличалась от 1 у обоих видов, что позволяет говорить о случайном посещении этой зоны. Однако можно заметить, что плотность посещения крышки пустого контейнера – несоциального исследуемого объекта в одновидовых тестах у бурозубки превышала тот же показатель у кутор на уровне тенденции (Манн–Уитни $U = 272.5$, $p < 0.08$), свидетельствуя о большей тщательности исследования.

Плотность посещения зон контейнеров была во всех случаях достоверно выше плотности перемещений в краевой зоне (табл. 3), что свидетельствует об интересе зверьков к исследованию этих объектов. Достоверно меньшая скорость перемещения в зоне стимулятора (AZ) обнаружена в одновидовых экспериментах у обоих видов (табл. 4). В межвидовых тестах у бурозубки это различие пропадает, так как высоко достоверно ($t = 3.96$, $df = 31$, $p < 0.001$) снижается скорость перемещения в зоне обследования пустого контейнера (FZ). У кутор заметных изменений в межвидовых тестах не наблюдалось (табл. 4).

Индекс предпочтения перемещений, I_d , у бурозубок составлял от -0.48 до 0.28 (в среднем, в одновидовых тестах – 0.01 , со стимулятором куторой – -0.06), у кутор – от -0.44 до 0.43 (в среднем – -0.01 в одновидовых тестах и 0.01 в тестах со стимулятором бурозубкой). Во всех выборках I_d не отличался от 0. Учитывая значимые различия в скорости перемещения в зонах объекта, более показательным является индекс предпочтения во времени, I_t . Этот индекс у обыкновенной бурозубки в одновидовых тестах изменялся от -0.49 до 0.38 , в среднем, по выборке составлял 0.11 , и был достоверно (критерий знаков) больше 0 ($n = 38$, % $I_t > 0 = 68$, $p < 0.034$). У кутор I_t (от -0.41 до 0.49) в среднем составил 0.09 , и достоверно от 0 не отличался. В межвидовых тестах I_t у бурозубок значимо ($t = -2.58$, $df = 57$, $p < 0.013$) уменьшился, стал слабо отрицательным (-0.04), не отличающимся от 0. У кутор значимых изменений не обнаружено, в среднем I_t составил 0.06 .

Повторяемость (R) индексов предпочтения была обнаружена только в одновидовых тестах, т.е., у обоих видов выявлены устойчивые индиви-

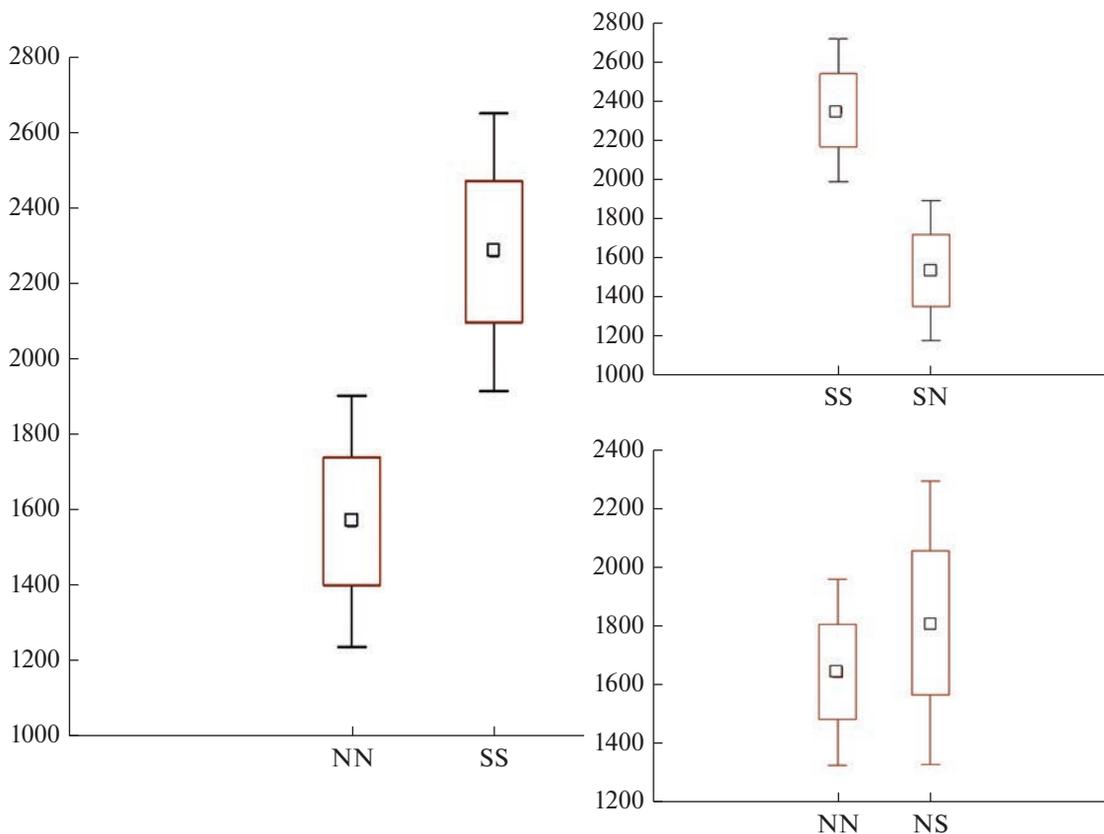


Рис. 5. Среднее значение суммарной дистанции перемещений (см) в одновидовых экспериментах с куторой (NN) и обыкновенной бурозубкой (SS); в экспериментах с куторой и бурозубкой в качестве стимулятора (NS); в экспериментах с бурозубкой и куторой в качестве стимулятора (SN). Ящик – SE, усы – 1.96SE.

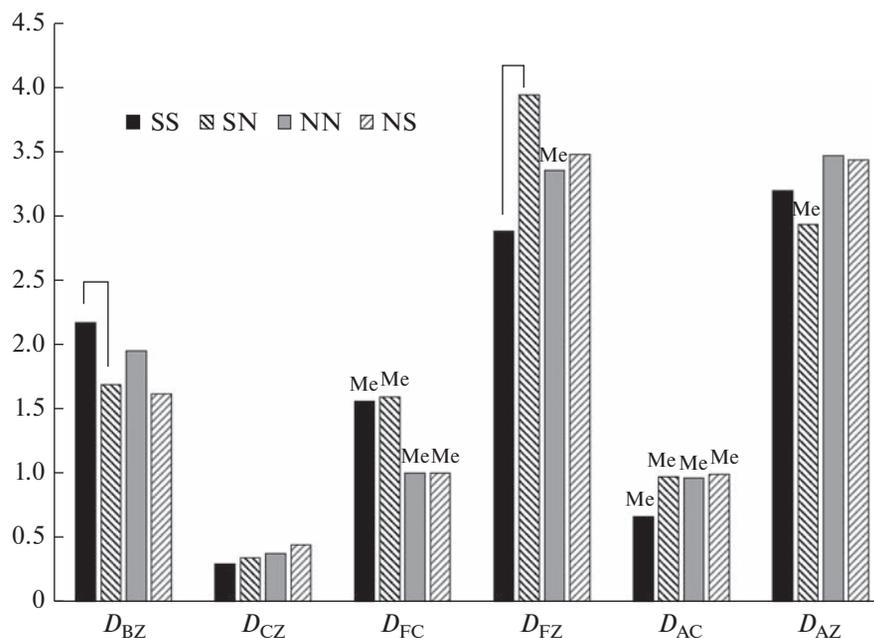


Рис. 6. Плотность перемещений в краевой зоне – D_{BZ} , центральной зоне – D_{CZ} , на крышке пустого контейнера – D_{FC} и контейнера со стимулирующим животным – D_{FZ} и контейнера со стимулирующим животным – D_{AZ} . Обыкновенная бурозубка в одновидовых тестах (SS), в испытаниях с куторой в качестве стимулятора (SN), и кутора в одновидовых тестах (NN) и испытаниях с бурозубкой в качестве стимулятора (NS). Показаны средние значения, для нормально распределенных (см. табл. 2) и медианы (Me) для ненормально распределенных данных. Достоверные различия с одновидовыми тестами ($p < 0.05$) показаны квадратными скобками.

Таблица 2. Величина индекса мобильности в разных зонах арены. Для нормально распределенных данных показано среднее значение $\pm SD$ и результаты t теста для сравнения с 1; для не нормально распределенных – медиана и результаты теста знаков. Индексы достоверно меньше 1 выделены жирным, ненормально распределенные данные – курсивом. Тип поведенческого теста обозначен как на рис. 5. **** – $p < 0.00001$, *** – $p < 0.0001$, ** – $p < 0.001$, значения $p > 0.001$ показаны цифрами

Тип теста	Характеристики	D_{BZ}	D_{CZ}	D_{FC}	D_{FZ}	D_{AC}	D_{AZ}
SS ($n = 38$)	Shapiro–Wilk W; p	0.96; 0.15	0.96; 0.26	<i>0.87; 0.0006</i>	0.94; 0.059	<i>0.80; 0.0001</i>	0.97; 0.28
	Ср./Ме	2.18 ± 0.69	0.30 ± 0.11	<i>1.57</i>	2.87 ± 1.47	<i>0.67</i>	3.20 ± 1.85
	$t/\% < 1$	10.37	–38.88	<i>34.21</i>	7.91	<i>60.53</i>	7.35
	p	****	****	<i>0.07</i>	****	<i>0.26</i>	****
NN ($n = 20$)	Shapiro–Wilk W; p	0.95; 0.41	0.98; 0.97	<i>0.85;</i> <i>0.006</i>	0.92; 0.13	<i>0.85;</i> <i>0.005</i>	0.96; 0.53
	Ср./Ме	1.95 ± 0.69	0.38 ± 0.14	<i>1.01</i>	3.02 ± 1.67	<i>0.97</i>	3.47 ± 2.26
	$t/\% < 1$	6.16	–20.24	<i>50.00</i>	5.38	<i>50.00</i>	4.88
	p	****	****	<i>0.82</i>	***	<i>0.82</i>	***
SN ($n = 21$)	Shapiro–Wilk W; p	0.95; 0.42	0.94; 0.19	<i>0.54; 0.0001</i>	<i>0.89; 0.03</i>	<i>0.86;</i> <i>0.001</i>	<i>0.88; 0.02</i>
	Ср./Ме	1.67 ± 0.82	0.34 ± 0.14	<i>1.6</i>	<i>3.36</i>	<i>0.98</i>	<i>2.94</i>
	$t/\% < 1$	3.77	–20.24	<i>38.10</i>	<i>0.00</i>	<i>47.62</i>	<i>14.29</i>
	p	**	****	<i>0.38</i>	****	<i>0.99</i>	<i>0.002</i>
NS ($n = 12$)	Shapiro–Wilk W; p	0.93; 0.38	0.95; 0.61	0.93; 0.38	0.90; 0.20	0.91; 0.22	0.93; 0.43
	Ср./Ме	1.95 ± 0.69	0.38 ± 0.14	1.01	3.48 ± 2.03	1.00 ± 0.82	3.44 ± 2.26
	$t/\% < 1$	6.16	–20.24	50.00	4.23	0.02	4.88
	p	0.005	****	0.11	**	0.98	**

Таблица 3. Результаты попарного t теста сравнения плотности посещения зон контейнеров со стимулятором (D_{AZ}) и пустым контейнером (D_{FZ}) с плотностью посещения краевой зоны (D_{BZ}). Тип поведенческого теста обозначен как на рис. 5

Тип теста	D_{FZ}			D_{AZ}		
	t	df	p	t	df	p
SS	–2.14	37.00	0.04	–2.64	37.00	0.012
NN	–2.24	19.00	0.04	–2.60	19.00	0.018
SN	–4.14	21.00	0.001	–2.79	21.00	0.011
NS	–2.62	11.00	0.02	–3.69	11.00	0.004

Таблица 4. Средние скорости перемещения фокусного животного в зоне стимулятора (AZ) и в зоне пустого контейнера (FZ) и величина различий (критерий знаков). Значимые различия выделены жирным шрифтом. Тип теста как на рис. 5

Тип теста	FZ	AZ	n	%FZ < AZ	Z	$p <$
NN	7.4 ± 2.7	4.1 ± 1.6	17	11.8	2.91	0.004
SS	9.5 ± 3.4	6.2 ± 3.0	17	5.9	3.4	0.001
SN	5.4 ± 2.3	5.1 ± 1.5	16	43.8	0.25	0.80
NS	6.2 ± 1.8	4.8 ± 1.4	12	50.0	–0.29	0.77

Таблица 5. Повторяемость (R) индексов предпочтения во времени – I_t и в пространстве – I_d в одновидовых и межвидовых тестах (тип теста по рис. 5). CI – доверительный интервал, p – вероятность, оцененная в тесте пермутаций, LRT – в тесте отношения правдоподобия (Likelihood-ratio test). Достоверные значения выделены жирным шрифтом

Тип теста	Индекс	R	CI	p	LRT
SS	I_d	0.718	0.182, 0.934	0.021	0.006
	I_t	0.755	0.283, 0.950	0.011	0.003
NN	I_d	0.891	0.285, 0.994	0.04	0.006
	I_t	0.855	0.121, 0.992	0.06	0.011
SN	I_d	0.171	0, 0.643	0.338	0.26
	I_t	0.029	0, 0.554	0.517	0.457
NS	I_d	0.463	0, 0.926	0.224	0.114
	I_t	0.169	0, 0.843	0.409	0.338

Таблица 6. Коэффициенты корреляции (r) индексов предпочтения во времени – I_t и в пространстве – I_d и плотности перемещения в разных зонах открытого поля (D -индексы) в одновидовых тестах с обыкновенными бурозубками (SS) и куторами (NN). Достоверные корреляции выделены жирным шрифтом

Тип теста	Индекс		D_{BZ}	D CZ	D FC	D FZ	D AC	D AZ
SS	I_t	r	-0.2084	-0.1223	-0.1548	-0.2384	0.3482	0.6794
		p	0.209	0.464	0.353	0.149	0.032	0.0001
	I_d	r	-0.038	-0.0305	-0.3521	-0.4639	0.1757	0.5706
		p	0.821	0.856	0.030	0.003	0.291	0.0001
NN	I_d	r	-0.1542	-0.3347	0.0131	-0.5436	0.4877	0.8607
		p	0.516	0.149	0.956	0.013	0.029	0.0001
	I_t	r	-0.2997	-0.2334	0.1831	-0.4473	0.54	0.8807
		p	0.199	0.322	0.440	0.048	0.014	0.0001

дуальные различия в коммуникабельности с конспецификом и “социальное безразличие” в отношении “чужого” вида (табл. 5).

Индексы предпочтения (I_d и I_t) высоко достоверно ($p < 0.0001$) связаны между собой: у бурозубки ($r = 0.89$) и у куторы ($r = 0.95$), однако у бурозубки индекс предпочтения по времени – I_t положительно коррелирует с плотностью перемещений в зоне стимулятора (AZ) и на крышке контейнера со стимулятором (AC), а индекс предпочтения в пространстве – I_d , отрицательно связан с перемещениями в зоне (FZ) и на крышке (FC) пустого контейнера (табл. 6). Таким образом, у обыкновенных бурозубок I_t в основном отражает социальную составляющую поведения, а I_d – исследовательскую активность. У кутор оба индекса, достоверно связаны с зонами контейнеров: положительно со стимулятором и отрицательно с пустым. Перемещения на крышке контейнера со стимулятором коррелируют с обоими индексами предпочтения, тогда как перемещения на крышке пустого кон-

тейнера с индексами не связаны (активность на крышках контейнеров показывает, является ли препятствием для обследования объекта наличие в нем стимулятора). Подвижность в центральной и краевой зонах арены с индексами предпочтения у этих видов не связана (табл. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Колебания обилия куторы обыкновенной в постоянно влажных, околородных местообитаниях обычно не выражены (Churchfield, 1984a, Michelat, Giraudoux, 2006). В то же время, обилие кутор связано с колебанием уровня воды: в болотах Малого Балатона численность и распространенность значительно возрастают в периоды большого заливания территории (Czabán *et al.*, 2015). В Барабинской низменности, где чередуются сухие и влажные фазы климатического цикла, обилие обыкновенной куторы многократно возрастает во годы наибольшей увлажненности, периодиче-

ски достигая пиковых значений, и тогда кутора занимает свыше 40% в общем улове землероек (Панов, Карпенко, 2004). В периоды повышения численности куторы выходят в примыкающие, более сухие, местообитания (Панов, Карпенко, 2004). Заметим, что обилие кутор в Барабе было связано не с текущим обилием осадков, а с уровнем воды в болотах, который повышался спустя несколько лет после обильных осадков. В рассматриваемом нами случае выселение куторы в “сухие” местообитания коррелировало с более сухой погодой, однако, при этом наблюдалось лишь в те годы, когда не пересыхал ближайший к площадке ручей. По-видимому, появление кутор на площадке мечения определялось сочетанием успешного размножения во влажных местообитаниях и возникшим в засушливый период дефицитом благоприятных микроместобитаний около воды. Обнаруженный нами в “сухом” местообитании уровень популяционной плотности сопоставим с плотностью во влажных местообитаниях: у нас от 0 до 12.3 (во время пика) особей на га, в среднем – 2.7 ос/га; на заливаемых плантациях жерухи обыкновенной – 3–5 особей на га (Churchfield, 1984a). Показатель обилия вдоль ручья – 1.4 особи на 100 м (у нас) близок показателю обилия вдоль каналов в Швейцарии: 1.8 на 100 м (Cantoni, 1993). Обилие бурозубки на площадке, 30–40 особей на га, соответствует известным уровням плотности этого вида в травянистых местообитаниях (Shchipanov *et al.*, 2019). Обыкновенная бурозубка обитает на ареале с повсеместно густой сетью рек и ручьев, и наблюдаемое нами периодическое сосуществование с куторой в “сухих” местообитаниях не уникально.

В питании обыкновенной куторы, обитающей около воды, преобладают водные животные (DuPasquier, Cantoni, 1992), но, в более сухих местообитаниях и в более сухое время года (с середины лета) кутора использует, в основном, наземные виды беспозвоночных (Haberl, 2002; Churchfield, 1984b). Обыкновенные бурозубки чувствительны к кормообеспеченности территории (Лукьянова и др., 2021). Во влажных местообитаниях снижение конкуренции у кутор и бурозубок может достигаться за счет предпочтения разных микроместобитаний (Churchfield, Rychlik, 2006). Однако в “сухом” местообитании нами обнаружена положительная корреляция числа посещаемых оседлыми обыкновенными бурозубками ловушек и числа оседлых кутор. Это позволяет предполагать, что благоприятные условия для резидентов обоих видов в этом месте сходны.

Как замечает О.А. Жигальский (2007) требования видов к среде “скорее указывают на возможность существования межвидовой конкуренции, чем служат ее непосредственным доказательством”. Мы не обнаружили в “сухом” местообитании пространственного разобщения оседлых обыкновенных бурозубок

и кутор: совмещение в пространстве соответствовало вероятности случайного совпадения домашних участков. Не выявлено и каких-либо специфических поведенческих реакций, способных снизить вероятность прямого контакта зверьков. И обыкновенная кутора, и обыкновенная бурозубка агрессивны и во внутривидовых, и в межвидовых взаимодействиях, обладают сходным набором поведенческих паттернов, причем, как у других землероек более крупный вид доминирует в контактах (Калинин и др., 1998; Rychlik, Zwolak, 2006). Поведение обыкновенных кутор в межвидовых взаимодействиях неоднократно изучали в вольерах и в контактных тестах. В частности, во взаимодействиях обыкновенной и малой куторы (*Neomys anomalus*) было обнаружено, что число агрессивных контактов между оседлыми зверьками намного меньше, чем у нерезидентных особей этих видов, и, с учетом, обнаруженного (в этом эксперименте) снижения в течение 1–3 дней числа конфликтов, предполагалось быстрое обоюдное обучение (Krushinska *et al.*, 1994). В экспериментах, в паре *N. fodiens* – *N. anomalus* меньшая по размеру малая кутора, субординант в межвидовых контактах, избегает более крупную обыкновенную кутору, ориентируясь, в числе прочего, на акустические и ольфакторные сигналы (Krushinska, Rychlik, 1993). Можно было бы ожидать, что совместное обитание с куторой будет подобным образом влиять и на поведение обыкновенной бурозубки. Вопреки ожиданиям, в паре *S. araneus* – *N. fodiens* нами не выявлено реакций, направленных на избегание или вытеснение “чужого” вида. Оба вида показали устойчивые индивидуальные различия (повторяемость коммуникативности) в одновидовых тестах и безразличие к “социальному объекту” в межвидовых тестах. В межвидовых тестах оба вида проявили одинаковую заинтересованность в исследовании контейнера со зверьком и пустого контейнера. Реакция на присутствие “чужого” вида наблюдалась только у бурозубки: общая двигательная активность существенно понижалась, но одновременно снижалась посещаемость краевой зоны открытого поля, и скорость перемещений около контейнеров (возросла тщательность исследования). Таким образом, кутора воспринималась бурозубками не как угрожающий субъект, а, скорее, как беспокоящий объект, стимулирующий общую исследовательскую активность. Это предположение соответствует наблюдениям, в которых при совместном содержании с обыкновенными куторами доминировали обыкновенные бурозубки, а число внутривидовых конфликтов превышало число межвидовых (Köhler, 1985).

Таким образом, в сухих местообитаниях мы не обнаружили пространственного разобщения и каких-либо поведенческих механизмов способных снизить вероятность прямых контактов обыкновенной куторы и обыкновенной бурозуб-

ки. Вместе с тем, рассмотренная ситуация хорошо соответствует моделям “флуктуационно-зависимого” сосуществования. Оба вида имеют устойчивый тренд обилия (Hutterer, Křůstufek, 2016; Hutterer *et al.*, 2016). Оба вида имеют нелинейную динамику численности, но в “сухих” местообитаниях доминирующий в прямых столкновениях вид – кутора (Rychlik, Zwolak, 2006) имеет больший коэффициент нелинейности (S_1), что, согласно модели “нелинейной конкуренции”, снижает давление на конкурента (Chesson, 2000). На месте вселения благоприятные для оседлого существования обоих видов условия совпадают, и мы видим положительную ковариацию между средой и конкуренцией. Однако, если обилие кутор связано с увлажнением территории, то на обыкновенных бурозубок этот фактор не влияет. Увлажненность территории можно рассматривать, как “лимитирующий фактор”, варьирование которого мы наблюдаем у кутор. “Буферный эффект” в данном случае проявляется как разделение предпочитаемых местообитаний в неблагоприятных условиях среды: в маловодные периоды обыкновенная кутора сохраняется на ограниченных по площади околоводных участках. Таким образом, рассматривая сосуществование обыкновенной бурозубки и куторы, можно говорить о реализации “эффекта накопления”, как результата трех составляющих: “дифференцированного ответа” на изменения среды, “ковариации между средой и конкуренцией” и “буферного эффекта”, как это и предполагается в моделях (Chesson, 1990, 2000).

Нам представляется, что взаимодействия в этой паре видов могут являться хорошей природной моделью для проверки предпосылок следующих из теоретических моделей “флуктуационно-зависимого” сосуществования и заслуживают более глубокого изучения.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания (АААА-А18-118042490060-1).

Соответствие этическим норма. Соблюдались все применимые международные, национальные и/или институциональные рекомендации по уходу и использованию животных. Все процедуры с участием животных были одобрены Биоэтическим комитетом по исследованиям на животных и людях при Институте им. Северцов РАН (разрешение № 30 от 27 февраля 2019 г.) в соответствии со всеми соответствующими законами и нормативными актами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бигон М., Харпер Д., Таунсенд К. Экология. Особи, популяции и сообщества. Межвидовая конкуренция. М.: Мир, 1989. Т. 1. С. 341–395.

Бобрецов А.В. Млекопитающие Печоро-Ильчского заповедника. Обыкновенная бурозубка. Ред. Купри-

янов А.Г. Сыктывкар: Коми Книж. Изд-во, 2004. С. 46–64.

Большаков В.Н., Васильев А.Г., Шарова Л.П. Фауна и популяционная экология землероек урала (Mammalia, Soricidae). Екатеринбург: Изд-во Екатеринбург, 1996. 268 с.

Жигальский О.А. Пространственно-временные взаимоотношения трех симпатрических видов полевков (Mammalia: Rodentia) на Южном Урале // Журн. общей биологии. 2007. Т. 68. Вып. 6. С. 468–478.

Зайцев М.В. Эколого-морфологические особенности функционирования жевательного аппарата землероек. Эволюционные факторы формирования разнообразия животного мира. М.: КМК, 2005. С. 135–145.

Калинин А.А., Щипанов Н.А., Демидова Т.Б. Поведение четырех видов землероек-бурозубок *Sorex isodon*, *S. araneus*, *S. caecutiens*, *S. minutus* (Insectivora, Soricidae) при межвидовых контактах. Зоологический журн. 1998. Т. 77. Вып. 7. С. 838–849.

Лукьянова Л.Е., Ухова Н.Л., Ухова О.В., Городилова Ю.В. Население обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus*, Eulipotyphla) и кормообеспеченность ее местообитаний в экологически контрастной среде // Экология. 2021. № 4. С. 298–311.

Панов В.В., Карпенко С.В. Динамика популяции куторы обыкновенной – *Neomys fodiens* (Mammalia: Soricidae) и ее гельминтофауны в северной Барабе // Паразитология. 2004. Т. 38. № 5. С. 448–456.

Погода и климат. http://www.pogodaiklimat.ru/history/26499_2.htm.

Щипанов Н.А. Случайные процессы и использование территории обыкновенной бурозубкой (*Sorex araneus* L.) // Экология. 2021. № 2. С. 153–160.

Щипанов Н.А., Калинин А.А., Олейниченко В.Ю., Демидова Т.Б., Гончарова О.Б., Нагорнев Ф.В. К методике изучения использования пространства землеройками-бурозубками // Зоол. журн. 2000. Т. 79. Вып. 3. С. 362–371.

Adler P.B., Smull D., Beard K.H., Choi R.T., Furniss T., Kulmatiski A. *et al.* Competition and coexistence in plant communities: intraspecific competition is stronger than interspecific competition // Ecology Letters. 2018. V. 21. P. 1319–1329.

Cantoni D. Social and spatial organization of free-ranging shrews, *Sorex coronatus* and *Neomys fodiens* (Insectivora, Mammalia) // Animal Behaviour. 1993. V. 45. I. 5. P. 975–995.

Champneys A. Factors affecting distribution and habitat selection of water shrews *Neomys fodiens*. Thesis PHD: Nottingham Trent University (United Kingdom). 2012. 282 p.

Chesson P.L. Geometry, heterogeneity and competition in variable environments // Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B. 1990. V. 330. P. 165–173.

Chesson P. Multispecies competition in variable environments // Theor. Popul. Biol. 1994. V. 45. P. 227–276.

Chesson P. Mechanisms of maintenance of species diversity // Annual review of Ecology and Systematics. 2000. P. 343–366.

Churchfield S. An investigation of the population ecology of syntopic shrews inhabiting water-cress beds // J. Zoology. 1984a. V. 204. I. 2. P. 229–240.

Churchfield S. Dietary separation in three species of shrew inhabiting water-cress beds // J. Zoology. 1984b. V. 204. I. 2. P. 211–228.

- Churchfield S. The natural history of shrews: Cornell University Press. 1990. 178 p.
- Churchfield S. Why are shrews so small? The costs and benefits of small size in northern temperate *Sorex* species in the context of foraging habits and prey supply // *Acta theriologica*. 2002. V. 47. I. 1. P. 169–184.
- Churchfield S., Rychlik L. Diets and coexistence in *Neomys* and *Sorex* shrews in Białowieża forest, eastern Poland // *J. Zoology*. 2006. V. 269. I. 3. P. 381–390.
- Churchfield S., Sheftel B.I. Food niche overlap and ecological separation in a multi-species community of shrews in the Siberian taiga // *J. Zoology*. 1994. V. 234. I. 1. P. 105–124.
- Churchfield S., Nesterenko V.A., Shvarts E.A. Food niche overlap and ecological separation amongst six species of coexisting forest shrews (Insectivora: Soricidae) in the Russian Far East // *J. Zoology*. 1999. V. 248. I. 3. P. 349–359.
- Churchfield S., Sheftel B.I., Moraleva N.V., Shvarts E.A. Habitat occurrence and prey distribution of a multi-species community of shrews in the Siberian taiga // *J. Zoology*. 1997. V. 241. I. 1. P. 55–71.
- Churchfield S., Hollier J., Brown V.K. Population dynamics and survivorship patterns in the common shrew *Sorex araneus* in southern England // *Acta Theriologica*. 1995. V. 40. P. 53–68.
- Crawley J. What's Wrong with My Mouse? Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice. N.Y.: John Wiley & Sons, Inc. 2000. 544 p.
- Czabán D., Zsebok S., Cserkés T., Farkas J. Impact of changing water level on shrew populations in the kibalaton wetlands, Western Hungary // *Applied Ecology and Environmental Research*. 2015. V. 13. I. 2. P. 349–360.
- Day T., Young K.A. Competitive and facilitative evolutionary diversification // *BioScience*. 2004. V. 54. I. 2. P. 101–109.
- Dickman C.R. Mechanisms of competition among insectivorous mammals // *Oecologia*. 1991. V. 85. P. 464–471.
- DuPasquier A., Cantoni D. Shifts in benthic macroinvertebrate community and food habits of the water shrew, *Neomys fodiens* (Soricidae, Insectivora) // *Acta oecologica*. 1992. V. 13. I. 1. P. 81–99.
- Freeman S, Herron J.C. Evolutionary Analysis. 2nd ed. Upper Saddle River (NJ): Prentice Hall. 2001. 704 p.
- Grant P.R., Grant B.R. Evolution of character displacement in Darwin's finches // *Science*. 2006. V. 313. P. 224–226.
- Greenwood A., Churchfield S., Hickey C. Geographical distribution and habitat occurrence of the Water Shrew (*Neomys fodiens*) in the Weald of South-East England // *Mammal Review*. 2002. V. 32. I. 1. P. 40–50.
- Haberl W. Food storage, prey remains and notes on occasional vertebrates in the diet of the Eurasian water shrew, *Neomys fodiens* // *Folia zoologica*. 2002. V. 51. I. 2. P. 93–102.
- Hanski I. Population biological consequence of body size in *Sorex* // *Advances in the biology of shrews*. Eds. J.F. Merritt, G.L. Kirkland, Jr., R.K. Rose. 1994. Carnegie Museum of Natural History Special Publikation 18. P. 15–26.
- Harris S., Yalden D.W. An integrated monitoring programme for terrestrial mammals // *Mammal Rev*. 2004. V. 34. P. 157–167.
- Henttonen H., Haukisaari V., Kaikusalo A., Korpimäki E., Norrdahl K., Skarén U.A.P. Long-term population dynamics of the common shrew *Sorex araneus* in Finland // *Annales Zoologici Fennici*. 1989. V. 26. P. 349–355.
- Henttonen H., McGuire A.D., Hansson L. Comparisons of amplitudes and frequencies (spectral analyses) of density variations in long-term data sets of *Clethrionomys* species // *Annales Zoologici Fennici*. 1985. V. 22. I. 3. P. 221–227.
- Hutchinson G.E. Homage to Santa Rosalia or why are there so many kinds of animals? // *Amer. Naturalist*. 1959. V. 93. P. 145–159.
- Hutchinson G.E. "Concluding remarks" // *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. 1957. V. 22. I. 2. P. 415–427.
- Hutterer R., Kryštufek B. *Sorex araneus*. The IUCN Red List of Threatened Species. 2016: e.T29661A115170489.
- Hutterer R., Meinig H., Bertolino S., Kryštufek B., Sheftel B., Stubbe M., Samiya R., Ariunbold J., Buuveibaatar V., Dorjderem S., Monkhsul Ts., Otgonbaatar M., Tsoobadrakh *Neomys fodiens* (errata version published in 2017). The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T29658A115170106.
- Kirkland G.L., Jr. Competition and coexistence in shrews (Insectivora, Soricidae). Eds. Findley J.S., Yates. The biology of soricinae. Special Publication. Albuquerque: The Museum of Southwestern Biology, University of New Mexico. 1991. P. 15–22.
- Klenovšek T., Novak T., Čas M., Trilar T., Janžekovič F. Feeding ecology of three sympatric *Sorex* shrew species in montane forests of Slovenia // *Folia Zoologica*. 2013. V. 62. I. 3. P. 193–199.
- Köhler D. Zum interspezifischen Verhalten von *Neomys fodiens* und *Sorex araneus* // *Säugetierkd. Inf*. 1985. B. 2. P. 299–300.
- Krushinska N.L., Rychlik L. Intra- and interspecific antagonistic behaviour in two sympatric species of water shrews: *Neomys fodiens* and *N. anomalus* // *J. Ethology*. 1993. V. 11. I. 1. P. 11–21.
- Krushinska N.L., Rychlik L., Pucek Z. Agonistic interactions between resident and immigrant sympatric water shrews: *Neomys fodiens* and *N. anomalus* // *Acta theriologica*. 1994. V. 39. I. 3. P. 227–247.
- Lardet J.P. Spatial behaviour and activity patterns of the water shrew *Neomys fodiens* in the field // *Acta Theriologica*. 1988. V. 33. I. 21. P. 293–303.
- Levine J.M., Bascompte J., Adler P.B., Allesina S. Beyond pairwise mechanisms of species coexistence in complex communities // *Nature*. 2017. V. 546(7656). P. 56–64.
- Michelat D., Giraudoux P. Synchrony between small mammal population dynamics in marshes and adjacent grassland in a landscape of the Jura plateau, France: a ten year investigation // *Acta Theriologica*. 2006. V. 51. I. 2. P. 155–162.
- Mitchell-Jones A.J., Amori G., Bogdanowicz W., Kryštufek B., Reijnders P.J.H., Spitzenberger F., Stubbe M., Thissen J.B.M., Vohralic V., Zima J.E. The atlas of European mammals (Vol. 3). London: Academic Press. 1999. 484 p.
- Moy S.S., Nadler J.J., Perez A., Barbaro R.P., Johns J.M., Magnuson T.R., Piven J., Crawley J.N. Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: an approach to assess autistic-like behavior in mice // *Genes, Brain, Behav*. 2004. V. 3. I. 5. P. 287–302.
- Nakagawa S., Schielzeth H. Repeatability for Gaussian and non-Gaussian data: a practical guide for biologists // *Biol. Rev*. 2010. V. 85. P. 935–956.

- Pfennig D.W., Rice A.M., Martin R.A.* Field and experimental evidence for competition's role in phenotypic divergence // *Evolution*. 2007. V. 61. I. 2. P. 257–271.
- Rychlik L.* Evolution of social systems in shrews. Eds. Wójcik J.M., Wolsan M. *Evolution of Shrews*. Białowieża: Mammal Research Institute, 1998. P. 347–406.
- Rychlik L.* Habitat preferences of four sympatric species of shrews // *Acta Theriologica*. 2000. V. 45. Suppl. 1. P. 173–190.
- Rychlik L., Zwolak, R.* Interspecific aggression and behavioural dominance among four sympatric species of shrews // *Canadian Journal of Zoology*. 2006. V. 84. I. 3. P. 434–448.
- Saitoh T., Stenseth N.C., Bjørnstad O.N.* The population dynamics of the vole *Clethrionomys rufocanus* in Hokkaido // *Japan. Population Ecology*. 1998. V. 40. I. 1. P. 61–76.
- Shchipanov N.A., Demidova T.B.* A test for studying sociability of the common shrew, *Sorex araneus* // *Russian J. Theriology*. 2020. V. 19. I. 2. P. 105–111.
- Shchipanov N.A., Demidova T.B.* Inter-annual fluctuations of sociability in the common shrew (*Sorex araneus* L.) as determined by a preference test: A case of balancing selection? // *Behavioural Processes*. 2022. V. 198. 104625.
- Shchipanov N.A., Kalinin A.A., Demidova T.B., Oleinichenko V.Yu., Aleksandrov D.Yu., Kouptzov A.V.* Population ecology of red-toothed shrews, *Sorex araneus*, *S. caecutiens*, *S. minutus*, and *S. isodon*, in Central Russia. *Advances in the Biology of Shrews II*. Eds. Merritt J.F., Churchfield S., Hutterer R., Sheftel B. N.Y.: Special Publication of the International Society of Shrew Biologists, 2005. P. 201–216.
- Shchipanov N.A., Zima J., Churchfield S.* Introducing the common shrew. *Shrews, Chromosomes and Speciation*. Eds. Searle J., Polly P., Zima J. Cambridge: Cambridge University Press. 2019. P. 19–67.
- Sheftel B.I.* Long-term and seasonal dynamics of shrews in Central Siberia // *Annales Zoologici Fennici*. Finnish Zoological Publishing Board, formed by the Finnish Academy of Sciences, Societas Scientiarum Fennica, Societas pro Fauna et Flora Fennica and Societas Biologica Fennica Vanamo, 1989. P. 357–369.
- Stenseth N.C., Framstad E.* Reproductive effort and optimal reproductive rates in small rodents // *Oikos*. 1980. V. 34. № 1. P. 23–34.
- Stoffel M.A., Nakagawa S., Schielzeth H., Goslee S.* rptR: repeatability estimation and variance decomposition by generalized linear mixed-effects models // *Methods Ecol. Evol.* 2017. V. 8. P. 1639–1644.
- Tast J., Kaikusalo A., Järvinen A.* Population fluctuations of *Sorex araneus* at Kilpsjärvi, Finnish Lapland, as compared with rodent cycles. *Advances in the Biology of Shrews II*. Eds. Merritt J.F., Churchfield S., Hutterer R., Sheftel B. N.Y.: Special Publication of the International Society of Shrew Biologists, 2005. P. 215–228.
- Tkadlec E., Stenseth N.C.* A new geographical gradient in vole population dynamics // *Proceedings of the Royal Society of London B*. 2001. V. 268. P. 1547–1552.
- Tomášková L., Bejček V., Sedláček F., et al.* (2005). Population biology of shrews (*Sorex araneus* and *Sorex minutus*) from a polluted area in central Europe. *Advances in the Biology of Shrews II*. Eds. Merritt J.F., Churchfield S., Hutterer R., Sheftel B. N.Y.: Special Publication of the International Society of Shrew Biologists, 2005. P. 189–197.

Coexistence of the Water Shrew (*Neomys fodiens*) and the Common Shrew (*Sorex araneus*), the Competing Species, in a Fluctuating Environment: Sociability and Space Use in a “Dry” Habitat

N. A. Shchipanov^{1, #} and M. V. Kasatkin²

¹ *Severtzov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia*

² *State Biological Museum named after K.A. Timiryazev, Moscow, Russia*

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

Sustainable (no trend in the abundance of interacting species) coexistence of species can be maintained due to fluctuations in their abundance and distribution over habitats in a heterogeneous environment. In the water shrew and the common shrew, joint settlements exist in near-water areas and occasionally appear in “dry” habitats, where the water shrew periodically invades. Given the well-known overlapping food niches of these species, one would expect the discovery of mechanisms that reduce competition, however, in “dry” habitats, we did not find such mechanisms. The use of space is characterized by a random overlapping of the home ranges of animals. In the preference test (a container with an animal versus an empty container), individual repeatability of sociability was found in tests with a conspecific stimulator, but was absent in tests with a stimulant of another species. The presence of the water shrew (as a stimulant) in the behavioral test did not increase of anxiety of common shrews, but increased the thoroughness of exploration. The reaction of the water shrew to the common shrew was not found in interspecific tests. In the absence of specific adaptations aimed at the spatial segregation of animals, the coexistence of the water shrew and the common shrew is quite well explained by “fluctuation-dependent” models of coexistence.

Keywords: competition, coexistence, use of space, sociability